

## 장형 조기 위암에서 p53 단백질의 과발현

계명대학교 의과대학 병리학교실 및 일반외과학교실\*

이 상 숙 · 김 상 표 · 손 수 상\*

= Abstract =

### Overexpression of p53 Protein in Intestinal-type Early Gastric Carcinomas

Sang-Sook Lee, M.D., Sang-Pyo Kim, M.D. and Soo-Sang Sohn, M.D.\*

Departments of Pathology and Surgery\*, Keimyung University School of Medicine,  
Taegu, Korea

Alteration of p53 tumor suppressor gene has been demonstrated in gastric adenocarcinomas. To determine the frequency of p53 expression in the primary tumors and their positive regional lymph nodes(LNs) in early gastric carcinomas(EGC), we studied p53 immunostaining using D07 monoclonal antibody in 108 patients with surgically resected stomach for EGC.

Nuclear p53 staining was detected in carcinoma cells in 41 of 108 EGCs(38.0%), but not in normal mucosa or mucosa with intestinal metaplasia. Intestinal or mixed type EGCs (Lauren classification) showed more frequent p53-positivity(56.7%) than diffuse type EGCs(14.6%). p53-positive EGCs(34.1%) had more frequent regional LN involvement than p53-negative EGCs(13.4%). These differences were statistically significant( $P=0.0005$  and  $P=0.01$ ). p53 positivity was found in 8 of 23 LNs with tumor metastasis(34.8%). All patients with p53-positive LNs had p53 positivity in tumor cells of their primary tumors. This difference was also statistically significant( $p=0.005$ ). There were no correlations between the p53 expression and age, sex, and depth of invasion. These results suggest that p53 expression occurs at a significant frequency in EGCs, especially of intestinal type and perhaps plays a role in the development and progression of these tumors.

**Key Words:** p53 expression, Early gastric carcinoma, Intestinal type

### 서 론

p53 종양억제유전자는 사람에 생기는 유방암, 직장암, 폐암 등에서 많이 연구되어<sup>1-4)</sup> 이들 종양의 발생

에 p53 유전자의 변이가 중요한 역할을 함이 알려져 있다. p53 유전자는 사람의 제17번 염색체의 단완에 위치하며<sup>5)</sup> 세포증식을 조절하는 53 kDa의 핵인 단백을 encode하여<sup>6)</sup> 특히  $G_0$ 기에서  $G_1$ 기로의 이행에 관여한다고 알려져 있다<sup>7)</sup>. 대부분의 정상세포들은 낮은 치의 p53 mRNA를 발현하나 p53 단백질은 검출되지 않으며<sup>8,9)</sup> p53 mRNA농도가 높은 정상적으로 분열하는 세포에서 직접 분석해도 거의 단백을 검출할

\* 본 논문은 1993년도 동산의료원 특수과제연구비에 의해 보조되었음.

수 있는데 이는 아주 짧은 반감기 때문으로 생각된다<sup>8,9)</sup>. p53 유전자의 변이가 일어날 경우 성장능력의 변화를 초래하는 단백질을 생성하며, 궁극적으로 악성 종양의 발생에 도달하는 것으로 알려져 있고<sup>10,11)</sup> 이때 생성된 p53 변이 단백질은 구조적으로 안정되어 세포에 축적되게 되며 이런 비정상적 p53 단백을 p53 항체를 이용한 면역조직화학적 염색에 의해 검출할 수 있다<sup>2~4)</sup>. 최근 위암에 대한 분자생물학적 연구가 시도되고 있는데 위암에서 p53의 변이가 초기, 즉 장화생과 선종에서부터 생기기 시작하여 위암발생의 후기인 이형성, 조기암 및 침윤암으로 진행할수록 p53의 변이가 많이 생겨 위암 발생의 후기인 이형성부터 관여함이 알려져 있다<sup>12,13)</sup>. 그 밖에 p53의 변이와 p53단백의 과발현이 위암에 미치는 임상병리학적 의의 및 예후에 미치는 영향 등에 대해서 연구되고 있다<sup>13~16)</sup>.

저자들은 조기 위암과 전이한 주변림프절의 조직절편에서 microwave를 사용한 면역조직화학적 염색을 실시하여 p53의 변이단백을 검출하고 이의 생물학적 표지자로서의 의의를 알아보고자 연구를 시행하였다.

## 재료 및 방법

### 1) 재 료

1990년부터 1993년까지 계명대학교 동산의료원 일반외과에서 조기 위암으로 위를 절제한 108 환자를 연구 대상으로 하였고 그 중 남자는 75명, 여자는 33명이었다. Lauren 분류<sup>17)</sup>에 의하면 일부 혼합형을 포함한 장형(intestinal type)이 60예, 미만형(diffuse type)이 48예였다.

대상환자는 남자 75명, 여자 33명이었으며 연령분포는 23세부터 70세까지 다양하였으며 평균 연령은 54세였다. 점막에만 국한된 경우가 40예였고 68예에서 점막 하까지 침범하였다. 위 절제 당시 점막에만 국한된 암환자 3명을 포함한 총 23명(21.3%)에서 주변림프절에 전이가 있었다. 조기 위암 조직의 대표적 파라핀 블록 2~3개와 전이된 주변림프절의 파라핀 블록 모두를 사용하였다.

### 2) 방 법

면역조직화학적 염색을 시행하기 위하여 두께 5  $\mu$ m의 파라핀 절편을 유리슬라이드에 부착시키고 60°C에서

1시간 동안 고정시킨 후 xylene과 계열알코올에서 탈 파라핀 및 합수를 시켰다. 내인성 peroxidase의 차단을 위해 메탄올과 30% 과산화수소가 9:1의 비율로 섞인 용액에서 15분간 처리하고 phosphate buffered solution(PBS)으로 수세하였다. 그 후 포르말린 고정으로 감추어진 항원을 들어내기 위해 1% zinc sulfate 용액에 담구어 microwave를 이용하여 5분간 가열하였다. 실온에서 식힌 후 30분간 normal horse serum을 가한 후 일차항체인 p53 단백을 탐지(DO7, Novocastra, U.K.)를 1:500으로 희석하여 37°C에서 2시간동안 반응시킨 후 PBS로 수세하고 이차항체인 biotinylated anti-mouse IgG (Vectastain kit)를 가하여 37°C에서 30분간 둔 후 PBS로 수세하였다.

Peroxidase-conjugated streptavidin (Dako, U.S.A), 1:500을 37°C에서 30분간 처리한 후 PBS로 수세하고 6 mg의 3,3'-diaminobenzidine tetra-chloride(DAB)를 10 ml의 0.05 M Tris 완충액에 용해한 후 사용 직전에 1% 과산화수소 0.1 ml를 첨가시켜 만든 용액에 10~20분간 실온에서 발색시키고 Mayer hematoxylin으로 대조염색을 실시하였다. 음성대조는 일차항체 대신 PBS 만을 도포시킨 것을 사용하였고 양성 대조로는 사전 실험에 의해 p53의 발현이 증명된 폐의 편평상피암조직을 이용하였다. 5% 이상의 종양세포의 핵에 진갈색으로 염색된 경우를 양성으로 간주하였다.

## 결 과

비정상적 p53 단백질의 발현은 총 108예의 조기 위암 중 41예(38.0%)에서 종양세포의 핵에 양성 반응을 보였다. p53 단백질은 유두상이거나 분화가 좋은, 장형의 선암세포에서 흔히 관찰되었으나(Fig. 1) 인환 세포암이나, 점액성 선암 또는 미만형의 분화가 나쁜 선암에서는 매우 드물게 발현되었다. Lauren 분류에 의하면 장형 또는 혼합형 조기 위암의 56.7%에서 p53 단백질의 양성율을 보였다. 이는 미만형의 14.6% 보다 통계학적으로 유의한 차를 나타내었다( $p=0.0000$ ). p53 단백질은 주로 위 점막의 선 경부지역을 중심으로 다발성으로 암세포의 핵에서 발현되었다. p53의 양성율은 41예 중 점막 하로 침윤한 암이 30예(44.1%)로 점막

**Fig. 1.** Diffuse, strong p53 immunostaining of the early gastric carcinoma of intestinal type by Lauren's classification. Immunohistochemistry using D07 p53-monoclonal antibody,  $\times 400$ .

내에 국한된 암 11예(27.5%)보다 높았으나 통계학적 유의성은 없었다( $p=0.086$ ). 그러나 점막하부까지 침범된 종양세포에서 점막내의 종양세포보다 상대적으로 p53에 더 강하게 염색되었다. 또한 충실성 종양소에서는 주변에 위치한 암세포가 중심에 있는 세포보다 더 강하게 염색되었다. 때로는 혈관내의 종양 색전도 염색되어 눈에 잘 띄었다. 그러나 위의 정상 선상피세포, 장화생 세포를 포함한 양성 세포에는 염색되지 않았다. p53에 양성염을 보인 41명의 위암환자 중 14명(34.1%)에서 주변림프절로 전이를 보여 이는 p53에 음성인 67명 중 9명의 전이율 13.4%보다 훨씬 높은치를 나타내었다( $p=0.011$ ). 수술당시 림프절에 전이된 23예 중 8예(34.8%)에서 전이된 림프절의 종양세포에 p53이 양성이었다. 원발암이 p53에 양성인 41예에서는 림프절 전이가 있는 14명의 환자 중 8명(57.1%)에서 p53에 양성이었으나 반면 원발암이 p53에 음성인 67명에서는 림프절에 전이된 9명 전부에서 p53에 음성 반응을 보였다. 림프절에 전이된 암세포가 p53에 양성인 모든 예에서 원발암에도 역시 p53의 양성염색을 보였다( $p=0.005$ ). 그러나 p53 발현과 환자의 성별,

연령과는 상관관계가 없었다. 이상의 결과를 종합하면 p53의 과발현은 상당수의 장형의 조기 위암 발생에 관여함을 알 수 있었다. 또한 p53의 발현은 위암의 진단 및 주변림프절로의 파급에도 중요한 역할을 함이 제시되었다.

## 고 찰

위암은 한국에서 가장 흔한 암으로서 다른 장기에서 생기는 암, 즉 대장암 또는 유방암에 비교하면 수년 전까지만 해도 위암에서 생기는 유전자이상에 대한 정보가 거의 없었다. 대장암의 발생이 ras변이, 5q 소실, 18q 소실과 17p 소실 같은 여러 유전자의 변화가 축적되어 다단계의 과정에 걸쳐 일어남은 잘 알려져 있다. 이런 과정 중에 염색체 5q에 있는 MCC 또는 APC 유전자, 염색체 18q에 있는 DCC 유전자와 염색체 17p에 있는 p53 유전자가 종양억제 유전자로서 중요한 역할을 한다고 간주된다<sup>18,19</sup>.

최근에 위암에서 비교적 흔히 생기는 유전자의 변화가 많이 밝혀지기 시작하였다<sup>20,21</sup>. 그 중 위암발생의

초기에 가장 흔히 생기는 변화는 p53 유전자의 변이와 allele 상실에 의한 불활성과 c-met 유전자의 비정상적 발현과 증폭에 의한 활성화다. 그밖에 염색체 5q (APC locus)의 loss of heterozygosity (LOH)가 염색체 18q (DCC locus)와 bcl-2 유전자의 LOH와 함께 잘 분화된 선암에서 흔히 생긴다.

염색체 1q와 7q의 LOH는 잘 분화된 선암의 진행에 관여한다. 반대로 분화가 나쁜 선암의 발생에는 p53과 c-met 유전자들의 변화 외에 cadherin의 감소 또는 기능이상도 요구된다. bcl-2 단백질의 과발현은 분화가 나쁜 선암이나 인환 세포암에서 관찰된다. 위의 장형 화생과 선종 역시 p53 변이와 함께 k-ras 변이 또는 tpr-met 재배열을 갖는다. 이와 같이 위암이 형태적으로나 생물학적으로 양상이 매우 다양한 것과 같이 암이 발생도 위암의 분화 정도에 따라 각기 다른 유전적 경로를 밟는다고 추측된다.

대장암에서의 다단계 암발생 이론의 도입으로 조기 위암이 진행된 위암의 전구체라고 믿게 되었다. 조기 위암은 림프절 전이 유무에 관계없이 위의 점막과 점막하층을 침범한 위의 원발암으로 정의된다<sup>22)</sup>. 위암의 조직학적 분류는 Lauren<sup>17)</sup>과 WHO 분류<sup>23)</sup>에 의한다. Lauren 분류<sup>17)</sup>에 의하면 장형과 미만형으로 분리한다. 위암은 성장 양상에 따라 역시 확장형과 침윤형<sup>24)</sup>, 또는 분화형과 미분화형으로 나누기도 한다<sup>25)</sup>. 위암의 장형, 팽창형과 분화형 사이에는 서로 유사점이 많고 미만형, 침윤형과 미분화형간에도 서로 유사점이 많다. 이와 같이 위암은 이질적 질환이나 현재는 단지 형태에 의존하여 분류하고 있다.

장형의 위암은 특히 환경요소와 관계가 있어 H. pylori 감염과 동반된 표재성 위염이 진행되어 만성 위염 및 위의 위축이 초래되면 무산종과 함께 위의 비정상적인 미세환경을 초래하여 장화생과 이행성과정을 거쳐 결국 위암, 특히 장형 위암을 일으킨다고 알려져 있다. 반면 미만형 위암은 gastric pit의 증식대의 정상 점막에서 처음부터 흔히 생긴다. 미만형의 위암은 유전되는 성향이 높아 더 젊은 나이에 생기고 가족력이 있는 사람에서 생긴다<sup>26~29)</sup>. 임상적, 역학적, 형태적으로 볼 때 정상 위 세포에서 여러 유형의 암이 생기는 경로에 현재 알려진 전구체를 포함하는 경로 외에도 또 다른 분자학적 경로가 있을 수 있음을 추측할 수 있다.

종양억제 유전자들은 암발생에 중요한 역할을 하는데 그 중에 대표적인 것이 p53과 Rb 유전자로서 종양억제 유전자를 갖는 한 염색체 allele의 상실과 남아 있는 allele내 유전자의 변화로 초래되는 비활성에 의한다<sup>10,11)</sup>.

정상 p53 유전자는 종양억제 능력이 있다고 알려졌고<sup>30)</sup> 종양 virus를 포함하는 여러 가지 내부 또는 외부의 요인이 의해 정상 p53의 불활성화가 초래되어 인체의 종양을 유발하는 것으로 알려져 있다<sup>10,11)</sup>. p53 유전자의 변이는 사람에게 생기는 다양한 악성종양에서 보고되었고<sup>1~4)</sup> 최근 상업적으로 개발된 p53 단구항체를 이용한 면역조직화학염색이 포르말린에 고정되고 파라핀에 포매된 조직에서도 가능하게 되어 p53 단백질의 과발현을 직위에서 볼 수 있어 손쉽게 p53 변이여부의 검색이 가능해 졌다<sup>31)</sup>. 저자들이 조기 위암에 실시한 면역조직화학 염색 결과 비정상적 p53 단백질 발현은 총 108예의 조기 위암 중 41예(38.0%)에서 종양세포의 핵에 양성 반응을 보였다. 비정상적 p53 단백질의 표현은 위암의 조직학적 유형과 밀접한 관련이 있는 것으로 나타났으며 유두상이거나 분화가 좋은, 장형의 선암세포에서 흔히 관찰되었다(56.7%). 이런 사실은 여러 사전 연구들에 의해서도 입증되었다<sup>13,15,32)</sup>. 인환 세포암이나, 점액성 선암 또는 미만형의 분화가 나쁜 선암에서는 매우 드물게 발현되었다(14.6%). 이 연구 결과로 미루어 보면 장형과 미만형 위암은 형태가 다른 것과 마찬가지로 분자생물학적 발생기전도 다를 것이라고 추측된다. 현재까지 위암에서 보고된 p53 단백질의 과발현의 빈도는 조기 위암은 20~30%<sup>13,33)</sup>, 진행된 위암의 경우 40~60%로서 다양하다<sup>34~36)</sup>.

본 연구에서 p53단백은 주로 위의 경부지역의 선구조의 암세포의 핵에서 발현되었고 점막을 통해 다발성으로 나타났다. 이는 Hattori<sup>37)</sup>가 암, 장화생과 이행성이 전부 경부지역의 선에서 생긴다는 보고와 부합하는 소견으로 경부지역의 선상피세포로부터 암세포로 변형됨을 추정해 볼 수 있다. 또한 p53 유전자의 변이가 질소성 화합물 등 식이성 발암원이나 H. pylori 감염 등에 의한 환경적 요소에 의한 위점막상피의 미세변화에 의해 다발적으로 생김을 알 수 있다<sup>38)</sup>. 본 연구에서는 p53의 양성률이 점막 하로 침윤한 암에서 44.1%로 점막 내에 국한된 암의 27.5%보다 높았다. 이는 Brito<sup>13)</sup>와 일치된 소견이다. 그러나 점막내의

종양세포보다 점막하부에 위치한 종양세포에서 상대적으로 p53에 더 강하게 염색되었다. 이런 사실은 조기 위암에서 p53단백의 과발현이 위암의 확산에 큰 역할을 함을 지지해 주는 소견으로 생각된다<sup>16)</sup>. 또한 충실성 종양소에서는 주변에 위치한 암세포가 중심에 있는 세포보다 더 강하게 염색되었다. 이러한 사실들은 p53 유전자가 세포 주기 중 특히 G0에서 G1로 들어가는 데 관여하는 세포증식능력을 가졌다는 사실에 미루어 보면 이해가 가능하다<sup>7)</sup>. p53 양성인 종양세포는 높은 세포증식능을 가져 주로 침윤성 종양의 최단부에 존재한다. 본 연구에서는 암 주변의 위의 정상 선상피세포, 장화생 세포에는 염색되지 않았다. 이는 p53 단백질의 과발현이 위암발생의 비교적 늦은 시기에 생김을 의미한다고 생각된다. 이는 사전 연구에 의해 p53 단백질의 과발현이 위암 발생의 비교적 늦은 시기인 이행성시기부터 생긴다는 보고를 뒷받침하고 있으나<sup>12~14, 39~40)</sup> 반면 SSCP 분석과 직접 DNA 분석에 의한 p53 변이는 Shiao<sup>40)</sup>에 의하면 장화생부터 시작하여(37%) 이행성의 55.3%와 암의 66.7%에서 발견하였다. 또한 Tohdo<sup>41)</sup>은 위선종의 30%에서 p53의 변이를 보여 이런 missense mutation은 선종에서 암으로 변하는데 절대적 역할을 함을 시사하였다. p53에 양성을 보인 위암의 34.1%에서 주변림프절로 전이를 보여 이는 p53에 음성인 위암의 전이율 13.4%보다 훨씬 높은 치를 나타내었다. 이런 사실은 조기 위암에서 p53 변이가 있는 암세포가 증식력이 높아 림프절에 전이하는율이 높아<sup>40)</sup> p53단백의 과발현이 위암의 확산에 큰 역할을 함을 지지해 주는 또 다른 소견이 된다. 수술당시 림프절에 전이된 23예 중 8예(34.8%)에서 전이된 림프절의 종양세포에 p53이 양성이었다. 림프절이 p53에 양성인 모든 예에서 원발암에도 p53의 양성을 보였다. 이런 사실은 원발암에 p53 변이가 있는 암세포가 전이할 때도 변이된 p53 유전자를 가진 암세포가 움직인다는 사실을 알 수 있다. 그러나 p53 발현과 환자의 성별, 연령과는 상관관계가 없었다.

본 결과를 종합하면 p53 유전자가 조기 위암, 특히 장형의 위암발생에 비교적 늦은 시기에 중요한 역할을 하는 듯하다. 또한 p53의 경부 점막의 선조직에서 다발성으로 발현된 위암도 장암 등과 마찬가지로 환경적 요인 및 분자생물학적 변이의 결과로 다단계의 과정을 거쳐 생성됨을 알 수 있었다<sup>42)</sup>. 또한 p53 단백질의

발현은 위암의 진전 및 주변림프절로의 파급에도 중요한 역할을 함이 제시되어 불량한 예후를 짐작하게 하는 한 요소로 작용하리라 생각된다.

## 요 약

조기 위암 발생에 p53 종양억제 유전자의 변이로 생기는 비정상적 p53 단백질의 과발현과 조기 위암의 조직학적 유형에 따른 상관관계를 보고자 p53 단클론항체를 이용하여 포르말린에 고정되고 파라핀에 포매된 108예의 조기 위암조직 및 전이된 림프절의 모든 조직을 이용하였다.

비정상적 p53 단백질은 조기 위암 중 38.0%에서 종양세포의 핵에 양성 반응을 보였다. p53 단백질은 유두상이거나 분화가 좋은 장형 또는 혼합형 조기 위암의 56.7%에서 발현되었다. 반면 인환 세포암이나, 점액성 선암 또는 미만형의 분화가 나쁜 선암에서는 p53 발현은 매우 드물었다. p53단백은 주로 선 경부지역의 암세포의 핵에서 발현되었고 점막을 통해 다발성으로 나타났다. 그러나 위의 정상 선상피세포, 장화생 세포를 포함한 양성 위점막의 세포에는 염색되지 않았다. 이상의 소견으로 보아 p53의 과발현은 상당수의 장형의 조기 위암에 발생에 환경적 요소와 관련되어 생김을 알 수 있었다. p53의 양성율이 점막 하로 침윤한 조기 암에서 점막내 국한된 암보다 높고, p53에 양성을 보인 위암에서 p53에 음성인 경우보다 훨씬 높은 주변림프절로 전이를 보여 p53의 발현이 위암의 진전 및 주변림프절로의 파급에도 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다.

## 참 고 문 헌

- 1) Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC: p53 mutations in human cancers. *Science* 253: 49, 1991
- 2) Lee SS, Cho KR, Yun CH, Kim SP, Park KK, Chang ES, Sohn EI: Overexpression of Mutant p53 in Human Anaplastic Astrocytoma and Glioblastoma Multiforme. *Korean J Pathol* 28: 376, 1994
- 3) Jeon YJ, Han SB, Lee SS: p53 gene mutations in squamous cell carcinoma of the lung and

- their correlation with TNM stages. *Keimyung Univ Med J* **13**(4): 405, 1994
- 4) Kwon KI, Lee TS, Rhee JH, Cha SD, Lee SS, Suh YW: Expression of the mutant p53 gene in the carcinoma of the cervix uteri. *Korean J Gynecol Oncol Colposcopy* **5**: 23, 1994
  - 5) Isobe M, Emanuel BS, Givol D, Oren M, Croce CM: Localization of gene for human p53 tumor antigen to band 17p13. *Nature* **320**: 84, 1986
  - 6) Calabretta B, Kaczmarek L, Selleri L, Torelli G, Ming PML, Ming SC, Mercer WE: Growth dependent expression of human 53,000 tumor antigen messenger RNA in normal and neoplastic cells. *Cancer Res* **46**: 5738, 1986
  - 7) Kuerbitz SJ, Plunkett BS, Walsh WV, Kastan MB: Wild-type p53 is a cell cycle checkpoint determinant following irradiation. *Proc Natl Acad Sci USA* **89**: 7491, 1992
  - 8) Crawford L: The 53,000 dalton cellular protein and its role in transformation. London, Academic, 1983
  - 9) Oren M: The p53 cellular tumor antigen: gene structure, expression and protein properties. *Biochem Biophys Acta* **823**: 67, 1985
  - 10) Marshall CJ: Tumor suppressor genes. *Cell* **64**: 313, 1991
  - 11) Weinberg RA: Tumor suppressor genes. *Science* **254**: 1138, 1991
  - 12) Craanen ME, Blok P, Dekker W, Offerhaus GJ, Tytgat GN: Chronology of p53 protein accumulation in gastric carcinogenesis. *Gut* **36**: 848, 1995
  - 13) Brito MJ, Williams GT, Thompson H, Filipe MI: Expression of p53 in early (T1) gastric carcinoma and precancerous adjacent mucosa. *Gut* **35**: 1697, 1994
  - 14) Poremba C, Yandell DW, Huang Q, Little JB, Mellin W, Schmid KW, Bocker W, Dockhorn Dworniczak B: Frequency and spectrum of p53 mutations in gastric cancer-a molecular genetic and immunohistochemical study. *Virchows Archiv* **426**: 447, 1995
  - 15) Ranzani GN, Luinetti O, Padovan LS, Calistri D, Renault B, Burrel M, Amadori D, Fiocca R, Solcia E: p53 gene mutations and protein nuclear accumulation are early events in intestinal type gastric cancer but late events in diffuse type. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **4**: 223, 1995
  - 16) Oiwa H, Maehara Y, Ohno S, Sakaguchi Y, Ichiyoshi Y, Sugimachi K: Growth pattern and p53 overexpression in patients with early gastric cancer. *Cancer* **75**(6 Suppl): 1454, 1995
  - 17) Lauren P: The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. *Acta Pathol Microbiol Scand* **64**: 319, 1965
  - 18) Fearon ER, Vogelstein B: A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* **61**: 759, 1990
  - 19) Baker SJ, Preisinger AC, Jessup JM, Parakeve C, Markowitz S, Wilson JKV, Hamilton S, Vogelstein B: p53 gene mutations occur in combination with 17p allelic deletions as late events in colorectal tumorigenesis. *Cancer Res* **50**: 7717, 1990
  - 20) Tahara E: Molecular mechanism of stomach carcinogenesis [editorial]. *J Cancer Res Clin Oncol* **119**: 265, 1993
  - 21) Tahara E: Molecular biology of gastric cancer. *World J Surg* **19**: 484, 1995
  - 22) Murakami T: Pathomorphological diagnosis. Definition and gross classification of early gastric cancer. *Gann Monogr Cancer Res* **11**: 53, 1971
  - 23) Watanabe H, Jass JR, Sabin LH: Histological typing of esophageal and gastric tumours. World Health Organization International Histological Classification of Tumours. Berlin, Springer-Verlag, 1989, pp 20-26
  - 24) Ming SC: Gastric carcinoma: A pathobiological classification. *Cancer* **39**: 2475, 1977
  - 25) Nakamura K: Histogenesis of the gastric cancer and its clinical application. Tsukura International Center, Ibaraki, Japan, 1983
  - 26) Endo S, Ohkusa T, Saito Y, Fujiki K, Okayasu I, Sato C: Detection of *Helicobacter pylori* infection in early stage gastric cancer. A comparison between intestinal- and diffuse-type gastric adenocarcinomas. *Cancer* **75**: 2203, 1995
  - 27) Stemmermann G, Heffelfinger SC, Noffsinger A, Hui YZ, Miller MA, Fenoglio-Preiser CM: The molecular biology of esophageal and gastric cancer and their precursors: Oncogenes, tumor suppressor genes, and growth factors. *Hum Pathol* **25**: 968, 1994
  - 28) Antonioli DA: Precursors of gastric carcinoma: A critical review with a brief description of early (curable) gastric cancer. *Hum Pathol* **25**: 994,

1994

- 29) Wyatt JI: *Gastritis and its relation to gastric carcinogenesis. Sem Diagn Pathol* 8: 137, 1991
- 30) Finlay CA, Hinds PW, Levine AJ: *The p53 proto-oncogene can act as a suppressor of transformation. Cell* 57: 1083, 1989
- 31) Thomas DW: *p53 in tumor pathology: can we trust immunocytochemistry?* J Pathol 166: 329, 1992
- 32) Fukunaga M, Monden T, Nakanishi H, Ohue M, Fukuda K, Tomita N, Shimano T, Mori T: *Immunohistochemical study of p53 in gastric carcinoma. Am J Clin Pathol* 101: 177, 1994
- 33) Fonseca L, Yonemura Y, De Aretxabala X, Yamaguchi A, Miwa K, Miyazaki I: *p53 detection as a prognostic factor in early gastric cancer. Oncology* 51: 485, 1994
- 34) Hong SI, Hong WS, Jang JJ, Lee DS, Cho NS, Jung ME, Kim HB, Ha GW, Park IC, Cho DS, et al: *Alterations of p53 gene in primary gastric cancer tissues. Anticancer Res* 14(3B): 1251, 1994
- 35) Kakeji Y, Korenaga D, Tsujitani S, Baba H, Anai H, Maehara Y, Sugimachi K: *Gastric cancer with p53 overexpression has high potential for metastasising to lymph nodes. Br J Cancer* 67: 589, 1993
- 36) Rugge M, Shiao YH, Correa P, Baffa R, DiMario F: *Immunohistochemical evidence of p53 overexpression in gastric epithelial dysplasia. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1: 551, 1992
- 37) Hattori T: *Development of adenocarcinoma in the stomach. Cancer* 57: 1528, 1986
- 38) Joypaul BV, Newman EL, Hopwood D, Grant A, Qureshi S, Lane DP, Cuschieri A: *Expression of p53 protein in normal, dysplastic, and malignant gastric mucosa: an immunohistochemical study. J Pathol* 170: 279, 1993
- 39) Correa P, Shiao YH: *Phenotypic and genotypic events in gastric carcinogenesis. Cancer Res* 54: 1941s, 1994
- 40) Shiao YH, Rugge M, Correa P, Lehmann HP, Scheer WD: *p53 alteration in gastric precancerous lesions. Am J Pathol* 144: 511, 1994
- 41) Tohdo H, Yokozaki H, Haruma K, Kajiyama G, Tahara E: *p53 gene mutations in gastric adenomas. Virchows Arch B Cell Pathol* 63: 191, 1993
- 42) Correa P: *Human gastric carcinogenesis: A multistep and multifactorial process-First American Cancer Society Award Lecture on cancer epidemiology and prevention. Cancer Res* 52: 6735, 1992