

전립선암 및 전립선비대증에서의 bcl-2 와 p53 단백 발현

Differences In Expression of bcl-2 and p53 Protein In Prostate Carcinoma and Benign Prostate Hyperplasia

Byung Tae Lee, Choal Hee Park, Kwan Kyu Park*

From the Department of Urology and Pathology,* Keimyung University School of Medicine, Taegu, Korea

Purpose: To investigate the expression of mutant p53 and bcl-2 oncoprotein in human benign and neoplastic prostate.

Materials and Methods: The accumulation of p53 and the expression of bcl-2 were investigated immunohistochemically in paraffin-embedded tissue specimens (obtained by transurethral resection and biopsy) from 55 patients with primary prostatic cancer (mean age 69 years, range 54-86) and 47 patients with benign prostatic hyperplasia (BPH) (mean age 61 years, range 51-75).

Results: Positive immunoreactivity for p53 and bcl-2 was detected in 23(41.8%) and 32(58.2%) samples of prostatic cancer tissue, respectively. There were more samples expressing p53 in prostatic cancer with a high Gleason score than in samples from cancer with low score. In samples from 47 patients with BPH, positive immunoreactivity for p53 and bcl-2 was observed in 12(25.5%) and 19(40.4%), respectively; stained cells were restricted to the basal cell layers of the gland.

Conclusions: There was an association between prostatic tumor grade and the increasing expression of p53. The staining pattern of cells expressing p53 and bcl-2 may be different between prostatic cancer and BPH tissues.

(Korean J Urol 1998; 39: 656~61)

Key Words: p53, bcl-2, Prostatic cancer, Benign prostatic hyperplasia

대한비뇨기과학회지
제39권 제7호 1998년

계명대학교 의과대학 비뇨기과
학교실, 병리학교실*

이병태·박철희·박관규*

접수일자 : 1998년 1월 30일

교신저자 : 박 철 희
동산의료원 비뇨기과
대구시 중구 동산동 194
☎ 700-310
전화 : 053) 250-7642

서 론

p53 유전자는 인체 17번 염색체의 단원에 위치하는 중앙억제유전자로¹ 최근 인체의 여러 악성종양에서 이 유전자의 돌연변이 또는 불활성화 등의 유전적 변이가 관찰되어 p53 유전자의 유전적 형질변화가 암세포 형성에 중요한 작용을 하는 것으로 생각되고 있다.^{2,4}

Bcl-2는 18번 염색체에 위치하는 원종양유전자(protooncogene)로 세포고사(apoptosis)라고 알려져 있는 계획된 세포사망(programmed cell death)을 방해하여 세포의 생존을 연장시키는 기능을 수행한다.⁵ 이는 염색체의 전좌 t(14;18)를 가지고 있는 여포성림프종(follicular lymphoma)에서 최초로 발견되었으며,⁶ 그 유전자 산물인 bcl-2 단백은 미토콘드리아와 내형질세포, 혈액에서 발현되는 것으로 알려져 있다.⁷ 초기의 연구결과와는 달리 bcl-2 유전자의 발현이 다수의 비혈액 림프조직에서 확인되었고, 최근의 연구결과에 의하면 폐의 비소세포암, 비인두암, 신경아세포종, 유방암 및 전립선암 등

의 고형종양에서도 bcl-2가 발현하며 이의 발현이 환자의 예후와도 밀접한 관련이 있다고 보고되어 있다.^{8,11}

이에, 저자들은 전립선암 조직과 양성전립선비대증 조직에서 면역조직화학적 방법으로 p53, bcl-2의 발현율을 비교하였고, 전립선암에서는 기존의 예후인자로 알려진 임상병기, Gleason grade와의 관계를 비교 분석하였다.

대상 및 방법

1. 연구대상

1985년 6월부터 1995년 6월까지 본원 비뇨기과에 내원하여 경요도적 전립선절제술 또는 침생검으로 전립선암과 양성전립선비대증으로 진단 받고 파라핀 포매블록의 보존상태가 좋은 전립선암 55례와 양성전립선비대증 47례를 대상으로 하였다. 전립선암 환자군은 평균연령이 69세(54세-86세), 전립선비대증 환자군은 평균연령이 61세(51-75세)였다.

2. 병리학적 분화도 및 병기 결정

경뇨도적 전립선절제술 후 포르말린에 고정하고 파라핀에 포매된 절제조직을 4 μm 의 절편으로 절삭한 후 hematoxylin-eosin 염색을 시행하여 한 명의 병리 전문의가 다시 판독하여 진단 당시의 조직학적 분화도를 재검증하였다. 전립선암의 조직학적 분화도는 Gleason grade system에 의하여 분류하였으며, 전립선암의 선형성 형태 및 배경조직과의 관계를 관찰하여 선의 분화도의 정도에 따라 Gleason grade 1-5로 분류하였다. 종양의 병기는 환자의 이학적 검사소견, 흉부 X선 촬영, 초음파검사, 전산화단층촬영, 골주사 등의 여러 검사소견으로 결정하였다.

3. 면역조직화학적 염색

p53의 면역조직화학적 염색은 4 μm 두께의 파라핀 절편을 유리슬라이드에 부착시키고 60°C에서 1시간동안 방치한 후 xylene과 계열알코올로 탈 파라핀 및 함수를 하였다. 내인성 peroxidase의 차단을 위해 메탄올과 30% 과산화수소수가 9:1의 비율로 섞인 용액에서 15분간 처리하고 PBS(phosphate buffered saline, pH 7.2)로 수세하였다. 그 후 포르말린 고정으로 조직 내에 감추어진 항원을 노출시키기 위해 1% zinc sulfate-용액에 담구어 microwave 오븐을 이용하여 15분간 가열하였다. 실온에서 20분 가량 식힌 후 30분간 normal horse serum(Vectastain Elite kit)을 가한 후 일차항체인 p53 단클론항체(DO7, Novocastra, UK)를 1:100으로 희석하여 2시간동안 37°C에서 반응시켰다. PBS로 수세하고 이차항체인 biotinylated antimous IgG(Vectastain Elite kit)를 가하여 37°C에서 15분간 둔 후 PBS로 다시 수세하였다. 그후 peroxidase-conjugated streptavidin (Dako, USA) 1:500을 37°C에서 15분간 반응시킨 후 PBS로 수세하고 DAB(3,3'-diaminobenzidine tetrahy-

drochloride)로 10-20분간 실온에서 발색시키고 Mayer's hematoxylin으로 대조염색을 실시하였다. 양성대조로는 사전 실험에 의해 p53의 발현이 증명된 폐의 편평상피암조직을 이용하였고 염색결과의 판독은 핵에 갈색으로 염색되면 양성으로 간주하였다. 음성대조는 일차항체 대신 PBS를 사용하여 위와 동일한 과정에 의해 염색하였다.

bcl-2의 면역조직화학적 염색은 p53과 같은 방법으로 하였고 일차항체는 bcl-2 단클론항체(Dako, Carpenteria, USA)를 1:100으로 희석하여 사용하였다. 음성 대조표본 슬라이드는 bcl-2 항체 대신에 phosphated buffered saline을 사용하였으며, 양성 대조군은 표본 내에 침윤된 B-림프구로 하였고 염색결과의 판독은 세포질에 갈색으로 염색되면 양성으로 간주하였다.

4. 염색조직의 판독

염색된 조직의 판독은 광학현미경하에서 두 명의 독립된 연구자가 bcl-2와 p53의 발현유무와 발현양상을 관찰하였으며, bcl-2 단백의 면역조직화학적 반응은 종양세포의 세포질에 진하게 염색된 경우에 한해서 양성반응으로, p53의 경우는 종양세포의 핵에 염색되는 것을 양성으로 하고 두 유전자 모두 염색정도가 약한 세포도 염색되지 않는 세포와 구별되는 것은 양성으로 하였다. 두 유전자 모두 먼저 100배 시야의 저배율에서 염색된 부분을 선택한 후 400배 시야에서 염색된 세포가 전체세포의 5% 이상인 경우 양성으로 판정하였다.

5. 결과 분석

전립선암의 경우 bcl-2 와 p53의 발현과 경뇨도적 전립선절제술 또는 침생검 당시의 임상병기, 조직학적 분화도와의 상호관계를 고찰하였다. 통계학적 유의성은 Chi-square test 방법을 이용하여 분석하였고, p value는 0.05를 기준으로 하였다.

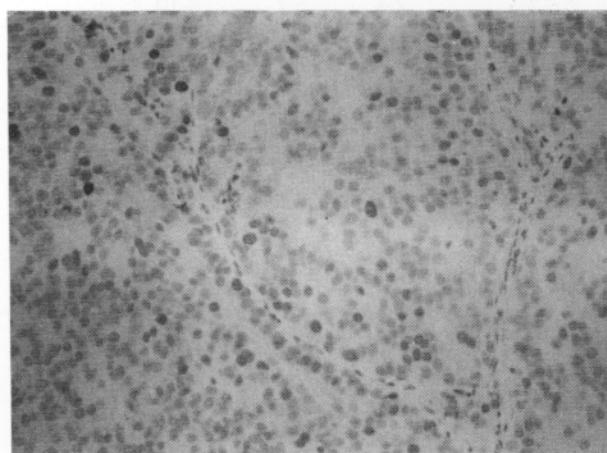


Fig. 1. Prostate adenocarcinoma. Many tumor cells show strong positive nucleus for p53 protein. The intervening stroma is exclusively negative($\times 100$).

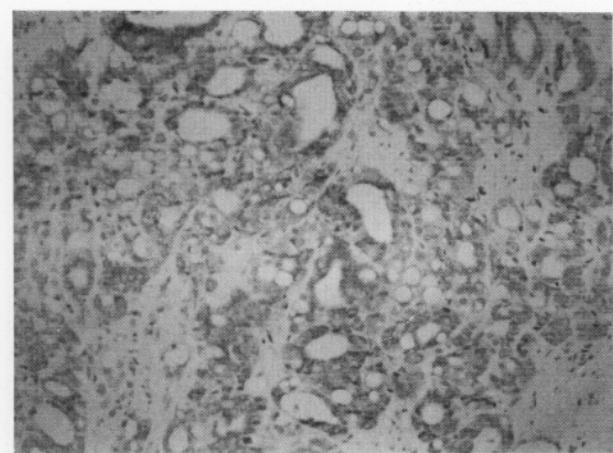


Fig. 2. Prostate adenocarcinoma. Many tumor cells show strong positive cytoplasm for bcl-2 protein. The intervening stroma is exclusively negative($\times 200$).

결 과

1. 전립선암 및 양성전립선비대증에서의 p53 및 bcl-2 종양단백의 발현

전립선암에서 p53 종양단백의 발현은 양성 대조군으로 선택한 폐암조직과 마찬가지로 전립선암 세포의 핵에 미만성으로 나타났으며(Fig. 1), bcl-2 종양단백의 발현은 전립선암세포의 세포질에 미만성으로 나타났다(Fig. 2). 전립선비대증에서의 p53 종양단백의 발현은 선의 기저세포의 핵에 국한되어 나타났고(Fig. 3), bcl-2 종양단백의 발현 역시 선의 기저세포의 세포질에 국한되어 나타났다(Fig. 4). 전체 전립선암 55례에서 p53과 bcl-2 종양단백의 발현율은 각각 41.8%(23/55), 58.2%(32/55)였고, 전립선비대증 47례에서의 p53과 bcl-2 종양단백의 발현율은 각각 25.5%(12/47), 40.4%(19/47)로 전립선암에서의 p53과 bcl-2 종양단백의 발현율이 전립선비대증에 비해 높았다(Table 1).



Fig. 3. Benign prostatic hyperplasia. Basal cells show positive nucleus for p53 protein($\times 200$).

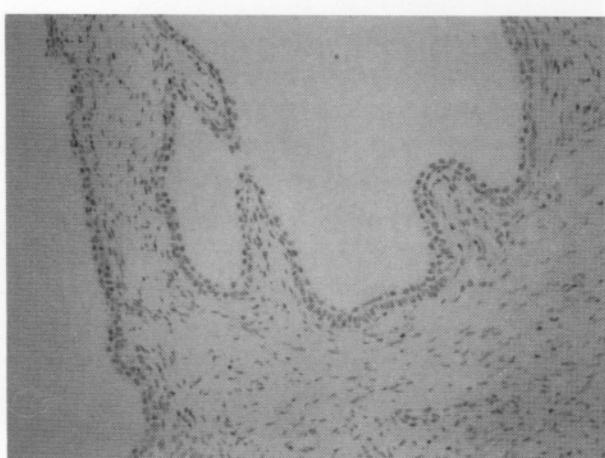


Fig. 4. Benign prostatic hyperplasia. Basal cells show positive cytoplasm for bcl-2 protein($\times 200$).

2. 전립선암의 조직학적 분화도에 따른 p53 및 bcl-2 종양단백의 발현율

전립선암의 각 조직학적 분화도에 따른 p53 종양단백의 발현율은 Gleason score 2-4군에서 20%, 5-7군이 35.7%, 8-10군이 54.5%였고, bcl-2 종양단백의 발현율은 Gleason score 2-4군에서 80%, 5-7군이 60.7%, 8-10군이 50%로서 p53 종양단백의 발현율은 병리조직학적으로 분화도가 나쁠수록, 즉 Gleason grade가 높을수록 발현율이 높았으나(Chi-square test, $p<0.05$) bcl-2 종양단백의 발현율은 분화도와는 상관관계가 없었다(Chi-square test, $p>0.05$)(Table 2,3).

3. 전립선암의 임상병기에 따른 p53 및 bcl-2 종양단백의 발현율

각 임상병기에 따른 p53 종양단백의 발현율은 임상 병기 A군에서 60%, B군에서 0%, C군에서 33.3%, D1군에서 28.6%, D2군에서 44.1%였고, bcl-2 종양단백의 발현율은 임상병기 A군에서 70%, B군에서 100%, C군에서 66.7%, D1군에서 71.4%, D2군에서 50%였으나 임상 병기 B군과 C군의 환자수가 각각 1례와 3례로 적어 통계학적 의의를 알 수 없었다.

Table 1. Overall expression of p53 and bcl-2 gene product in prostatic cancer and benign prostatic hyperplasia

	Prostate cancer	Benign prostate hyperplasia
p53	41.8%(23/55)*	25.5%(12/47)
bcl-2	58.2%(32/55)*	40.4%(19/47)

*; $p<0.05$, compare with benign prostate hyperplasia

Table 2. Frequency distribution of p53 gene product expression related to Gleason grade

p53 expression	Gleason score(%)			Total
	2-4	5-7	8-10	
Positive	1(20.0)	10(35.7)	12(54.5)*	23(41.8)
Negative	4(80.0)	18(64.3)	10(45.5)	32(58.2)
Total	5	28	22	55

*; $p<0.05$ compare with Gleason score 2-4, 5-7

Table 3. Frequency distribution of bcl-2 gene product expression related to Gleason grade

bcl-2 expression	Gleason score(%)			Total
	2-4	5-7	8-10	
Positive	4(80.0)	17(60.7)	11(50.0)*	32(58.2)
Negative	1(20.0)	11(39.3)	11(50.0)	22(41.8)
Total	5	28	22	55

*; $p>0.05$ compare with Gleason score 2-4, 5-7

고 찰

면역조직화학적 방법은 초기에는 형태학적 소견이 난해한 종양의 진단 및 세분화에 주로 이용되었으나 최근에는 일부 특수한 종양들에서 치료에 대한 반응이나 임상경과를 예측하기 위한 예후지표로 그 초점이 바뀌어져가는 경향이다.

세포는 다양한 형태의 자극에 대하여 세포고사라는 계획된 세포사망 기전이 발동되며, 이러한 기전은 일종의 세포내 방어기전으로 생각되고 있다. Bcl-2는 세포의 증식에 영향을 미치지 않으면서 세포고사를 억제하여 세포의 사멸을 조절함으로써 조직의 항상성 유지에 기여하고 있다.⁵ 아직까지 bcl-2가 종양의 발생이나 진행에 있어서 어떠한 역할을 수행하는지는 정확히 밝혀지지는 않았으나 세포의 세포고사를 억제함과 동시에 p53이나 c-myc 등과 같은 기존의 종양유전자들과 상호연계를 통하여 암화(tumorigenesis)에 기여하는 것으로 생각되고 있다.^{12,13}

Bcl-2 단백의 발현은 여러 종양조직에서 검색되어 왔으며 이의 발현이 갖는 임상적 의의에 대하여도 많은 연구가 있어왔다. 보고된 바로는 폐의 비소세포암(non-small cell lung cancer),¹¹ 유방암,¹⁴ 난소암¹⁵ 등에서는 bcl-2의 발현이 환자의 더 높은 생존율과 관계가 있으며, lymphoproliferative disorder¹⁶나 전립선암⁸ 등에서는 예후가 좋지 않음을 시사하는 소견이 될 수 있다고 알려져 있다. 서로 다른 조직에서 기원한 종양들에서 bcl-2의 발현이 갖는 예후적 의미가 이와 같이 다른 것으로 보아 bcl-2는 조직간에 서로 다른 기능을 수행할지도 모른다고 생각되고 있지만, 이제까지의 여러 가지 연구결과를 종합해보면 bcl-2의 발현이 에스트로겐 수용체와 관련된 호르몬 조절과 밀접한 관련이 있으며¹⁷ 이러한 사실이 서로 다른 종양에서 bcl-2 발현의 차이를 일부 설명해주고 있다.

전립선암에서의 bcl-2 종양단백은 안드로겐의 존성 전립선암보다 안드로겐비의 존성 전립선암에서 발현율이 높게 보고됨으로서 전립선암에서 bcl-2의 발현이 있을 경우 예후가 좋지 않음을 시사하고 있다.^{8,18,19} Colombell 등⁸은 침윤성 전립선암에서 bcl-2의 발현율이 62%이고, 전립선내에 국한된 전립선암에서는 세포의 분화도와 bcl-2의 발현과는 상관관계가 없었으나 내분비요법저항성 전립선암의 경우는 대부분에서 bcl-2가 발현하였다고 보고하여 전립선암의 악성도와 bcl-2의 발현과 상관관계가 있음을 시사하였다. McDonnell 등¹⁰은 안드로겐의 존성 전립선암의 경우 bcl-2의 발현율이 32%, 안드로겐비의 존성의 경우 77%로 보고하여 역시 bcl-2와 전립선암의 악성도와의 상관관계를 규명하였다. Kyprianou 등²⁰은 양성전립선비대증에서의 bcl-2 종양단백의 발현은 주로 기저세포에서 나타나며 또한 양성전립선비대증에서의 발현이 정상 전립선조직에서보다 높다고 하여 양성전립선비대증에서 세포고사가 억

제됨으로서 궁극적으로 전립선조직의 증식을 유도한다고 하였다.

저자들의 경우 전립선암에서의 bcl-2 종양단백의 양성을은 전체적으로는 58.2%(32/56)였고 전립선암의 분화도와 임상병기는 bcl-2 종양단백의 발현과는 상관관계가 없어 전립선암의 악성도와 bcl-2와의 상관관계를 규명하지는 못하였으나 향후 안드로겐의 존성과 비의 존성으로 구분하여 bcl-2 종양단백의 발현율을 비교할 필요가 있을 것으로 생각된다. 그리고 양성전립선비대증에서의 bcl-2 종양단백의 발현은 전립선암과는 달리 기저세포에 국한되어 나타났고 발현율에 있어서도 전립선암에 비해 낮았다.

인체의 17번 염색체에 존재하는 p53 유전자는 세포증식과 세포성장을 조절하는 것으로 알려져 있으며,¹ 정상적인 wild-type p53 유전자 산물은 세포성장을 억제시키는데 비해 mutant-type p53 유전자 산물은 정상적인(wild-type) p53 단백과 결합하여 종양성장을 억제하는 정상 p53 단백질의 기능을 상실하게 하거나, ras 같은 여러 C-oncogene과 연관되어 여러 세포주들을 악성변형(malignant transformation)시키는 것으로 알려져 있다. 특히 최근의 연구에 의하면 mutant type p53 핵단백질은 C-oncogene과 관계없이 단독으로도 발암기능을 가지는 것이 증명되었다.²¹⁻²³

면역조직화학적 연구에서 p53 단백질의 과발현은 wild-type p53 단백질이 반감기가 20분 이하로 짧아 거의 측정이 안되는 것에 비해, 돌연변이된 p53 유전자 산물인 mutant-type p53 단백질은 반감기가 4배 또는 20배 이상 증가되어^{24,25} 세포핵에 돌연변이체 p53 단백질이 축적되어 면역조직화학적 연구에서 과발현되는 것으로 관찰되며, 이러한 면역조직화학적 연구에 의한 p53 핵단백질의 과발현은 인체 악성종양에 대한 여러 연구에서 p53 유전자의 돌연변이와 일치율이 매우 높은 것으로 보고되고 있다.²⁶

전립선암에서의 p53 종양단백의 전반적인 발현율은 12.7-46.5%로 보고되고 있고 종양세포의 분화도가 나쁠수록 진행된 병기일수록 그리고 내분비요법저항성 전립선암일수록 발현율이 높게 보고되고 있어 전립선암의 예후인자로서의 가능성을 제시하고 있다.²⁷⁻³⁰

저자들의 연구에서 p53 단구형체에 대한 양성염색은 주로 전립선암의 종양세포의 핵에서 미만성으로 관찰되었으며 양성전립선비대증에서는 기저세포에 제한되어 관찰되었고 발현율에 있어서도 전립선암에 비해 양성전립선비대증에서의 발현율이 낮았다. 총 55례의 전립선암 중 41.8%에서 양성 반응을 보여 Mellon 등²⁷과 Thompson 등²⁸의 결과와 차이가 있었다. 염색되는 위치는 종양세포의 핵과 더불어 세포질에도 p53의 염색이 관찰되었는데 이에 대한 원인은 불분명하나 면역화학적 방법의 교차반응이거나 소량의 p53 생산물이 세포질 내에 생산된 것이거나 혹은 과파물질의 축적으로 생각되어 진다.³¹ 그리고 p53의 발현율은 전립선암 세포의 분화도가 불량할수록 현저히 높아 전립선암의

악성도와 상관관계가 있는 것으로 생각되며 향후 좀 더 많은 중례와 내분비요법에 대한 저항성 정도에 따른 p53의 발현과의 상관관계를 연구한다면 좀 더 명확히 p53과 전립선암의 악성도와의 관계를 파악할 수 있을 것으로 생각된다.

면역조직화학적 연구에서는 어떤 조직을 사용하느냐하는 것과 양성판정의 기준을 어떻게 정하느냐 하는 것에 따라 양성을 높일 수 있는 점이 문제점으로 대두되는 바 본 연구에서는 파라핀 포매조직을 사용하였는데 파라핀 포매조직을 이용한 p53에 대한 면역조직화학적 연구는 이전의 연구에서 신선동결조직을 이용한 연구와 일치율이 매우 높은 것으로 보고되고 있어서, 파라핀 포매조직을 이용한 연구는 후향성 연구가 가능하고, 많은 조직을 한꺼번에 할 수 있고, 실험실에서 빠르고 간편하게 시행할 수 있는 장점이 있다고 할 수 있다. 한편 p53 양성판정의 기준을 정하는 문제는 한 종양조직 내에서도 p53 양성을 높은 부위와 낮은 부위가 이질적으로 나타나므로 가장 높은 양성을 나타내는 부위를 찾아내어 그 범주를 판정하는 것이 주로 이용되어지고 있으나 아직 양성판정기준이 각기 달라 면역조직화학적 연구의 문제점으로 남아있다. 저자들의 경우에서의 양성기준은 가장 높은 양성을 나타내는 부위를 찾아 400배 시야에서 염색된 세포가 전체세포의 5% 이상인 경우 양성으로 판정하였다.

결 론

전립선암과 양성전립선비대증에서 p53과 bcl-2 종양단백의 발현을 면역조직화학적인 방법을 이용하여 본 결과 전립선암에서의 bcl-2와 p53 종양단백의 발현율이 양성전립선비대증에서의 bcl-2와 p53 유전자의 발현율보다 통계학적으로 의미 있게 높았고 또한 양성전립선비대증에서 각 유전자의 발현은 기저세포에 국한되어 있어 전립선암과 비교하여 발현양상에서도 차이를 보이고 있었다. 전립선암에서의 조직학적 분화도에 따른 각 유전자의 발현은 p53 종양단백만이 병리조직학적으로 분화도가 나쁠수록 높았으나(Gleason score 2-4군 20%(1/5), 5-7군 35.7%(10/28), 8-10군 54.5%(12/22), $p<0.05$) bcl-2 종양단백의 발현율은 병리조직학적 분화도와 상관관계가 없었다($p>0.05$). 이상으로, 면역조직화학적 방법을 통한 bcl-2 및 p53 유전자의 발현은 전립선암과 양성전립선비대증에서 발현양상과 분화도에서 차이를 보이고 있으며, p53 유전자의 발현은 전립선암의 조직학적 분화도와 밀접한 관계가 있는 것으로 생각된다. 향후 좀 더 많은 중례와 분자생물학적인 방법을 이용한 bcl-2와 p53의 발현에 대한 정량적 연구를 병행한다면 좀 더 명확히 두 유전자와 전립선암과 전립선비대증과의 상관관계를 규명할 수 있을 것으로 생각된다.

REFERENCES

- Miller C, Mohandas T, Wolf D, Prokocimer M, Rotter V, Koeffler HP. Human p53 gene is localized to short arm of chromosome 17. *Nature* 1988; 319: 705-9.
- Bressac B, Galvin KM, Liang TJ, Lisselbacher KJ, Wands JR, Ozturk M. Abnormal structure and expression of p53 gene in hepatocellular carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 1973-7.
- Nigro JM, Baker SJ, Preisinger AC, Jessup JM, Hostetter R, Cleary K, et al. Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumor types. *Nature* 1989; 342: 705-8.
- Takahashi T, Nau MM, Chiba I, Birrer MJ, Rosenberg RK, Vinocour M, et al. p53: a frequent target for genetic abnormalities in lung cancer. *Science* 1989; 246: 491-4.
- Korsmeyer SJ. bcl-2 initiate a new category of oncogenes: regulators of cell death. *Blood* 1992; 80: 879-86.
- Tsujimoto Y, Finger LR, Yunis J, Nowell PC, Croce CM. Cloning of the chromosome breakpoint of neoplastic B cells with t(14;18) chromosome translocation. *Science* 1984; 226: 1097-9.
- Monaghan P, Robertson D, Amos TAS, Dyer MJS, Mason DY, Greaves MF. Ultrastructural localization of bcl-2 protein. *J Histochem Cytochem* 1992; 40: 1819-25.
- Colombel M, Symmans F, Gil S, O'Toole KM, Chopin D, Benson M, et al. Detection of the apoptosis-suppressing oncoprotein bcl-2 in hormone refractory human prostate cancers. *Am J Pathol* 1993; 143: 390-400.
- Reed JC, Meister L, Tanaka S, Cuddy M, Yum S, Geyer C, et al. Differential expression of bcl-2 protooncogene in neuroblastoma and other human tumor cell lines of neural origin. *Cancer Res* 1991; 51: 6529-38.
- Lu QL, Elia G, Lucas S, Thomas JA. bcl-2 protooncogene expression in Epstein-Barr-virus-associated nasopharyngeal carcinoma. *Int J Cancer* 1993; 53: 29-35.
- Pezzella F, Turley H, Kuzu I, Tunekart MF, Dunnill MS, Pierce CB, et al. bcl-2 protein in non-small-cell lung carcinoma. *N Engl J Med* 1993; 329: 690-4.
- Strasser A, Harris AW, Bath ML, Cory S. Novel primitive lymphoid tumors induced in transgenic mice by cooperation between myc and bcl-2. *Nature* 1990; 348: 331-3.
- Ryan JJ, Prochownik E, Gottlieb CA, Apel LJ, Merino R, Nunez G, et al. c-myc and bcl-2 modulate p53

- function by altering p53 subcellular trafficking during the cell cycle. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 5878-82.
14. Silvestrini R, Veneroni S, Daidone MG, Benini E, Boracchi P, Mezetti M, et al. The bcl-2 protein: a prognostic indicator strongly related to p53 protein in lymph node negative breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86: 499-504.
 15. Henriksen R, Wilander E, Berg K. Expression and prognostic significance of bcl-2 in ovarian tumors. *Br J Cancer* 1995; 72: 1324-9.
 16. Campos L, Rouault JP, Sabido O, Oriol P, Roubi N, Vasselon C, et al. High expression of bcl-2 protein in acute myeloid leukemia cells is associated with poor response to chemotherapy. *Blood* 1993; 81: 3091-6.
 17. Bhargava V, Kell DL, van de Rijn M, Warnke RA. bcl-2 immunoreactivity in breast carcinoma correlates with hormone receptor positivity. *Am J Pathol* 1994; 145: 535-40.
 18. Taniguchi J, Moriyama S, Kurimoto S, Kameyama S, Kawabe K. Histochemical detection of intranuclear DNA fragmentation and its relation to the expression of bcl-2 oncogene in human prostatic cancer. *Br J Urol* 1996; 77: 719-23.
 19. McDonell TJ, Troncoso P, Brisbay SM, Logothetis C, Chung LWK, Hsieh JT, et al. Expression of the protooncogene bcl-2 in the prostate and its association with emergence of androgen-independent prostate cancer. *Cancer Res* 1992; 52: 6940-4.
 20. Kyprianou N, Tu H, Jacobs SC. Apoptotic versus proliferative activities in human benign prostatic hyperplasia. *Hum Pathol* 1996; 27: 668-75.
 21. Eliyahu D, Michalovitz D, Oren M. Overproduction of p53 antigen makes established cell highly tumorigenic. *Nature* 1985; 316: 158-60.
 22. Jenkins JR, Rudge K, Chumakov, Currie GA. The cellular oncogene p53 can be activated by mutagenesis. *Nature* 1985; 317: 816-8.
 23. Parada LF, Land H, Weinberg RA, Wolf D, Rotter V. Cooperation between gene encoding p53 tumor antigen and ras in cellular transformation. *Nature* 1984; 312: 649-51.
 24. Finaly CA, Hinds PW, Tan TH, Eliyahu D, Oren M, Levine AJ. Activating mutations for transformations by p53 produced a gene product that forms an hsc70-p53 complex with altered hairpin. *Mol Cell Biol* 1988; 8: 531-9.
 25. Arnold JV, Jamil M, Cathy AF. The p53 tumor suppressor gene. *Nature* 1991; 351: 453-6.
 26. Iggo R, Gatter K, Bartek J, Lane D, Harris A. Increased expression of mutant forms of p53 oncogene in primary lung cancer. *Lancet* 1990; 335: 675-9.
 27. Mellon K, Thompson SJ, Charlton RG, Marsh C, Robinson M, Lane DP, et al. p53, c-erbB-2 and the epidermal growth factor receptor in the benign and malignant prostate. *J Urol* 1992; 147: 496-9.
 28. Thompson SJ, Mellon K, Charlton RG, Marsh C, Robinson M, Neal DE. p53 and Ki-67 immunoreactivity in human prostate cancer and benign hyperplasia. *Br J Urol* 1992; 69: 609-12.
 29. Henke RP, Kruger E, Ayhan N, Hubner D, Hammer P, Huland H. Immunohistochemical detection of p53 protein in human prostatic cancer. *J Urol* 1994; 152: 1297-301.
 30. Apridian AG, Sarkis AS, Fair WR, Zhang ZF, Fuks Z. Immunohistochemical determination of p53 protein nuclear accumulation in prostatic adenocarcinoma. *J Urol* 1994; 151: 1276-80.
 31. Thomas DW. p53 in tumor pathology: can we trust immunohistochemistry? *J Pathol* 1992; 166: 329-33.