

피부종양에서 Single-strand Conformation Polymorphisms법에 의한 p53 유전자 돌연변이 검색

계명대학교 의과대학 피부과학교실

손보성 · 권호준 · 류영옥 · 이규석 · 송준영

서 론

p53 단백질은 17번 염색체의 단완(band 13)에 위치하는 p53 유전자에 의해서 생겨나는 53 킬로달톤의 분자량을 갖는 핵내 인단백질이다(McBride et al., 1986). 본래 야생형의 p53 단백질은 정상 세포 주기 중 S기로의 진행을 방해함으로써 세포증식을 억제시킬 뿐 아니라 종양 발생 유전자에 의한 암 발생을 억제하는 기능을 가지는 것으로 알려져 있으나(Levine et al., 1991), 바이러스, 화학물질, 자외선 등의 외부발암인에 의해 돌연변이된 p53 유전자에 의해 생성된 p53 단백질은 구조상의 변화가 생겨 고유의 세포 증식 억제 기능을 상실하게 되어 암세포의 증식이 일어나게 된다(Lane and Benchemol, 1990). 이러한 p53 유전자의 돌연변이는 인체에 발생하는 여러 악성 종양 중에서 가장 흔히 관찰되는 유전자 이상으로 알려져 있다(Harris, 1990).

최근 p53 유전자의 돌연변이와 피부암에 관한 국내외의 연구 동향은 p53 유전자의 돌연변이가 자외선과 연관되어 편평상피세포암에 대한 연구와(Brash et al., 1991) 기저세포암에서의 p53 유전자의 돌연변이에 대해서 연구가 이루어지고 있다(Mertens et al., 1991).

이 연구는 피부에 발생하는 수종의 종양 조직에서 PCR-SSCP(polymerase chain reaction-single-strand conformation polymorphisms)법과 면역조직화학 염색법으로 p53 유전자의 돌연변이와 이상 발현을 연구 분석하여 피부 종양의 병인 연구에 기초 자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

1. 연구 대상

계명대학교 동산의료원 피부과를 내원하여 임상 및 병리조직학적으로 진단된 피부에 발생한 지루 각화증 2예, 기저세포암 3예, 편평상피세포암 3예, 전이성 편평상피세포암 1예의 파라핀 포매조직을 대상으로 연구하였으며 정상 피부 조직 2예를 대조군으로 사용하였다. 임상검체 11예의 연령분포는 21-89세로 평균연령은 55세였고 남녀비는 2.7 : 1 이었다. 종양의 발생부위는 9예중 6예에서 일광노출부에 발생하였고 그 중 5예에서 두경부에 발생하였다(Table 1). 피부 병변부를 생검하여 일부분은 파라핀 포매 조직을 만들었으며, 나머지는 액화 질소에 보관하여 냉동 조직으로 사용하였다.

Table 1. Clinical features of patients with skin tumors

Case No	Age/sex	Dx	Site
N 1	23/F	Normal control	Axilla
2	21/F	Normal control	Axilla
SK 1	70/M	Seborrheic keratosis	Face
2	51/M	Seborrheic keratosis	Forearm
BCC 1	57/M	BCC	Nose
2	78/F	BCC	Face
3	56/M	BCC	Nose
SCC 1	57/M	SCC	Lower lip
2	89/M	SCC	Scrotum
3	56/M	SCC	Sole
4	69/M	Metastatic SCC	Neck

BCC: basal cell carcinoma, SCC: squamous cell carcinoma

2. DNA 분리

액화 질소에 보관한 냉동 조직 절편(6 m)을 lysis buffer 100 μ 에 녹인 후, 60°C 수조에서 18시간 배

양한 다음 97°C에 15분간 가열하여 DNA를 분리하였다.

3. Primer 제작

피부암에서 p53 유전자 돌연변이는 exon 5, 7에서 주로 일어나므로(McBride et al., 1991) DNA 합성기를 사용하여 2개의 primer를 제작하였고 그 염기배열은 다음과 같다.

Exon 5(26mer)

P1 5' GGATC CATCT GTTCA CTTGT GCCCT G 3'

P2 5' GAATT CAACC AGCCC TGTCG TCTCT C 3'

Exon 7(26mer)

P1 5' GAATT GAGGG GTCAG CGGCA AGCAG A 3'

P2 5' GGATC CAGGC GCACT GGCCT CATCT T 3'

4. PCR-SSCP법

PCR-SSCP를 위한 PCR(polymerase chain reaction)은 10X reaction buffer(15mM MgCl₂, 100mM Tris-HCL pH 8.3, 500 mM KCL) 10 μl와 10mM dATP, dTTP, dGTP 각 2 μl씩, 10mM dCTP 1 μl, alpha 32P-dCTP(3,000Ci/mM, 10 mCi/ml) 1 μl, 20 μM sense 및 antisense primer 를 각각 10 μl 그리고 5 unit 의 Taq polymerase(Perkin Elmer co., USA)를 넣은 후 증류수로 95 μl로 용량을 맞추고 0.5ml tube에 9.5 μl씩 분주한 후 여기에 0.5 μl의 DNA(200 ng/ μl)를 넣고 잘 혼합한 후 20 μl의 mineral oil을 증층하고 DNA thermal cyler(Perkin Elmer Co., USA)를 사용하여 시행하였다. DNA denaturation은 95도 1분, annealing 55도에서 1분, extension 72도에서 1분씩 40 cycle을 시행하였다. 합성된 DNA product 1 μl를 9 μl의 98% formamide, 20mM EDTA, 0.05% bromphenol blue, 0.05% xylene cyanol 용액과 잘 섞고 90도에서 2분간 둔 후 8% non denaturing polyacrylamide gel에서 cooling system을 사용하여 40도를 유지하면서 TBE buffer로 10 W로 10시간 전기영동하였다. 전기영동된 gel은 Whatman filter paper상에서 gel dryer를 사용하여 건조시킨 후 autoradiography를 시행하였다.

5. 면역조직화학 염색법

p53 단백질에 대한 면역조직화학 염색은 Immunopure ABC peroxidase rabbit Ig G staining kit (Pierce Co., USA)을 사용하여 avidin biotin peroxidase complex법을 이용하였다. 파라핀 블록을 사

용하여 5 μm 두께의 절편을 만들어 poly-L-lysine으로 덧칠한 슬라이드에 붙이고 건조시킨 후 탈파라핀 과정을 거친다. 내인성과산화 효소의 활성을 억제하기 위하여 0.3% H₂O₂ in methanol로 30분간 처리하고 5% 정상 goat 혈청과 20분간 반응시킨 후 일차항체를 1 : 100으로 phosphate buffered saline(pH 7.4)에 희석하여 30분간 반응시키고 1 : 200으로 희석한 이차항체(bionylated affinity purified goat anti-rabbit IgG)와 30분간 반응시킨 다음 ABC 복합체를 30분간 반응시킨다. 3-3/-diaminobenzidine으로 적정시간 정색반응을 시키고 Mayer's hematoxyline으로 대조 염색한 후 탈수과정을 거쳐 permount로 봉입하여 광학 현미경으로 검경하였다.

결 과

1. PCR-SSCP법에 의한 돌연변이 검색

PCR-SSCP법을 이용하여 임상검체 11에서 p53 유전자 돌연변이 분석한 결과에서 정상 조직 2례, 지루각화증 2례, 기저세포암 3례, 편평상피세포암 3례, 전이성 편평상피세포암 1례 모두에서 exon 5과 exon 7에 대하여 p53 유전자 돌연변이는 관찰되지 않았다(Fig 1, 2).

2. 면역조직화학 염색

avidin biotin peroxidase complex법에 의한 p53 유전자의 단백질 발현도에서는 정상 조직 2례, 지루각화증 2례, 기저세포암 3례에서 모두 음성을 보였다(Fig 3). 편평상피세포암 2례와 전이성 편평상피세포암 1례에서는 음성을 보였으며(Fig 4), 일광

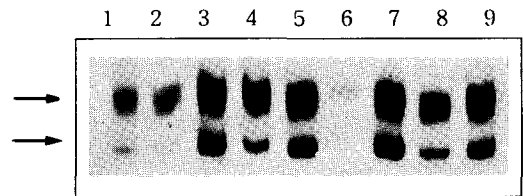


Fig 1. PCR-SSCP analysis of the skin tumors for exon 5 of the p53 gene. Lane 1: Normal(N 1) Lane 2-3: Seborrheic keratosis(SK 1,2) Lane 4-5: Basal cell carcinoma(BCC 1,2,3) Lane 6-8: Squamous cell carcinoma(SCC 1,2,3) Lane 9: Metastaticsquamous cell carcinoma(SCC 4)

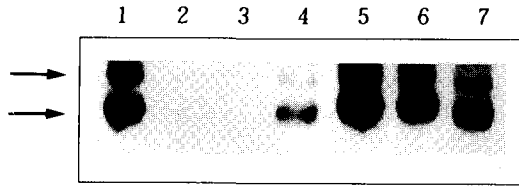


Fig 2. PCR-SSCP analysis of the skin tumors for exon 7 of the p53 gene.

- Lane 1: Normal(N 1)
- Lane 2: Seborrheic keratosis(SK 1)
- Lane 3: Basal cell carcinoma(BCC 1)
- Lane 4-6: Squamous cell carcinoma(SCC 1,2,3)
- Lane 7: Metastatic squamous cell carcinoma (SCC4)

노출 부위에 발생한 1례에서만 양성 소견을 관찰하였다(Fig. 5).

고 찰

종양의 발생기전은 분자 생물학적으로 ras나 myc 같은 암 유전자들이 직접 세포를 증식시켜서 암을 유발하는 기전과 Rb나 p53 유전자 같이 정상적으로는 세포의 증식을 억제하여 암발생을 막는 억제 유전자가 비활성화되어 종양이 유발되는 기전으로 설명되고 있다(Viallet and Minna, 1990; Perkins and Woude, 1993). 암세포의 증식 조절 능력 상실은 암 유전자 활동의 증가, 암억제 유전자 활동성의 감소에 의해 나타나는데(Novell, 1991), 인체 악성종양의 유전자 이상 중 가장 흔한 것이 p53 유전자 돌연변이라고 알려져 있다(Nigro et al., 1989; Bartek et al. 1990; Iggo et al., 1990; Purdie et al., 1991; Sasano et al., 1992).

p53 단백질은 17번 염색체의 단완(band 13)에 위치하는 p53 유전자에 의해서 생겨나는 53 킬로달톤의 분자량을 갖는 핵내 인단백질이다(McBride et al, 1986). p53 유전자의 정상 기능은 두가지가 있는데 첫째로 DNA의 일정부위에 결합하여 c-myc 등 세포 분열에 작용하는 물질들의 전사를 억제시킴으로써 세포를 G1기에 고정시키고 일시적으로 가역적인 세포주기 정지를 일으키며(Diller et al., 1990; Levine et al., 1991; Martinez et al., 1991; Kerns et al., 1992; Kerns et al., 1992), 둘째로 apoptosis를 일으켜 세포 사망을 초래하는 비가역적인 기전을 통해 세포증식을 억제함으로써 암발생을 억제하는 기능을 가진다(Yonish-Rouach et al., 1991; Shaw et al., 1992; Lowe and Ruley, 1993; Lowe et al., 1993;

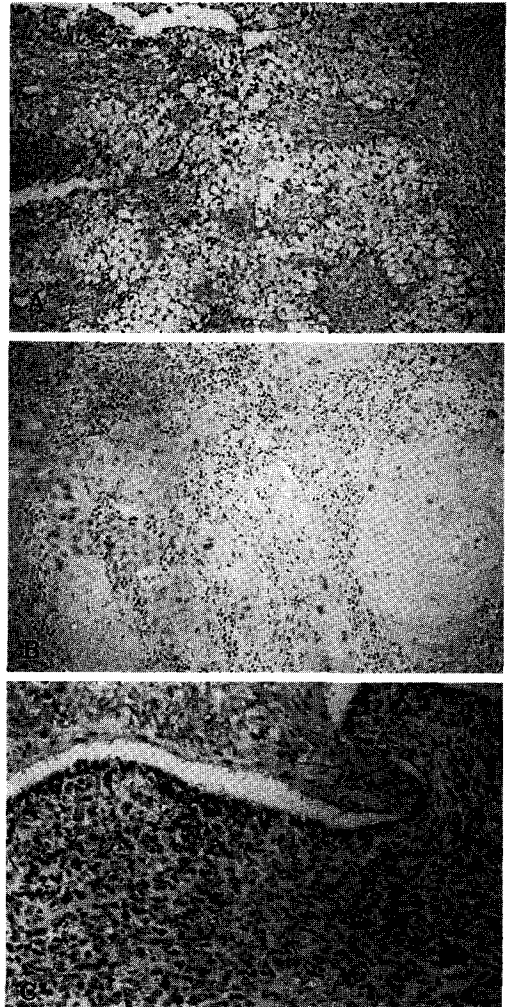


Fig 3. Negative immunohistochemical staining of p53 protein expression(Immunohistochemical stain, A,B X 100, C X 200).

- A; normal skin(N 1)
- B; seborrheic keratosis(SK 1)
- C; basal cell carcinoma(BCC 1)

Clarke et al., 1993). 그러나 돌연변이에 의하여 p53 유전자가 정상 기능을 상실하게 되면 암세포의 증식을 초래하게 된다(Yokoda et al., 1987; Takahashi et al., 1989). 이러한 p53 유전자의 변이는 대부분이 missense mutation(60%)에 의해 일어나고 non-sense, splicing 착오에 의해서가 각각 20% 정도된다(Minna et al., 1992). p53 돌연변이를 초래하는 원인의 하나로써 자외선이 관여하는데 Bowen병, 광선각화증, 편평상피세포암을 대상으로 많은 연구가 이루어져 왔다(Gusterson et al., 1991; Brash et al.,

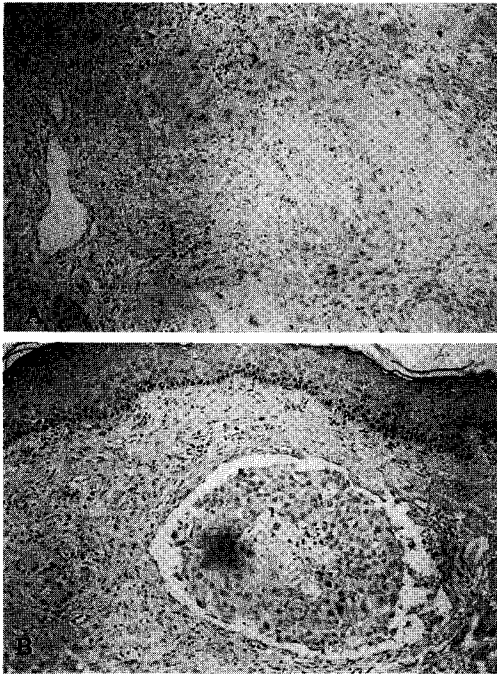


Fig 4. Negative immunohistochemical staining of p53 protein expression(Immunohistochemical stain, A X 100, B X 200)
A; squamous cell carcinoma(SCC 2)
B; metastatic squamous cell carcinoma(SCC 4)

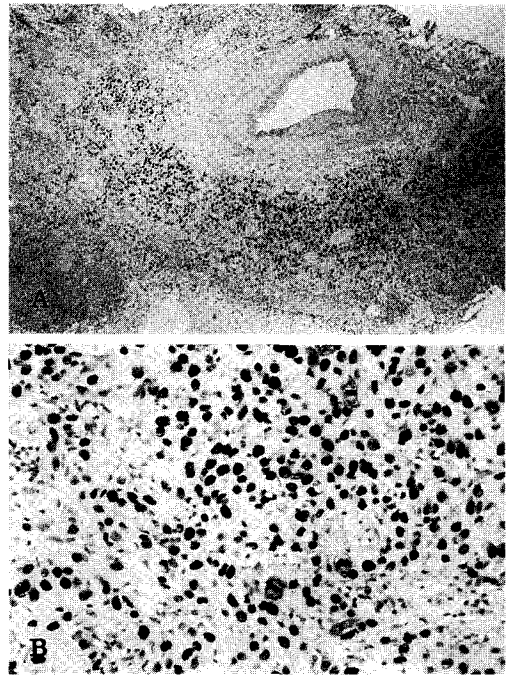


Fig 5. Positive immunohistochemical staining of p53 protein expression shows in SCC(SCC 1) developed on lower lip(arrow). (Immunohistochemical stain, A X40, B X400)

1991; McGregor et al., 1992; Ro et al., 1993; Campbell et al., 1993). Brash 등(Brash et al., 1991)은 24 레의 편평 상피 세포암을 분석하여 8레에서 자외선과 관련된 독특한 유전자 변이로 알려진 CC-TT 변화와 C-T 변화를 발견하였다. Mcgregor 등(McGregor et al., 1992)도 햇빛 노출부에 발생한 편평상피세포암 18례중 9레에서 양성을 관찰하였으며 박 등(박영민 외, 1994)의 연구에서는 두경부에 발생한 피부암에서 높은 양성율을 보였으며 Shea 등(Shea et al, 1992)은 일광 노출부위에서 발생한 기저세포암에 대해 연구하여 높은 양성율을 보고하였으며 기저세포암에 대한 연구에서 Rady 등(Rady et al., 1992)이 자외선에 특징적인 변화를 50%에서 관찰하였다.

p53 유전자의 돌연변이에 관한 연구는 암 실질 조직내 돌연변이된 p53 유전자의 염기서열의 변화를 분석하는 분자 생물학적 방법과 돌연변이된 p53 유전자로부터 생성된 p53 단백질의 이상 발현을 관찰하는 면역조직학적 염색 방법을 시행함으로써 암의 병인론에 대한 접근과 예후지표로 이용하고

있다. 먼저 분자생물학적 방법으로는 PCR-SSCP법과 직접 염기 서열 분석법이 있다. PCR-SSCP법은 p53 유전자 변이는 주로 exon 5-8사이에서 일어나므로 유전자의 구조적 변형 여부를 아는데 매우 유용하지만 p53 유전자 변이가 한 부위에만 국한되어 있지 않으므로 PCR-SSCP법보다는 직접 염기 서열 분석법이 많이 사용되고 있다. 둘째로 면역 조직 화학 염색은 SAB(streptavidin-biotin-peroxidase complex)법, ABC(avidin-biotin-peroxidase complex)법, PAP(peroxidase-antiperoxidase)법 및 간접적 방법 등이 있는데 자연형 p53 단백질은 반감기가 짧아 면역 조직 화학 염색으로 측정되지 않으나 변이형은 virus, 자연형 p53단백질, heat shock protein 등과 결합하여 안정되어 반감기가 늘어나므로(48시간), 면역조직화학 염색으로 측정 가능하다. 이 방법의 장점은 종양에서 p53 단백질의 발현 부위를 알 수 있으며 여러가지 병리조직학적 표식자들과의 연관성을 규명할 수 있다는 점이다. 그러나, p53 유전자에 대한 두개의 대립유전자 모두에 결핍이 있는 경우, p53 단백질이 안정화되지만 그 농도가 낮은 경우, 변이형 p53 단백질이 기존의 항

체에 의해 검출되지 않는 입체배치를 갖는 경우 (Wynford-Thomas, 1992) 등에서는 p53 유전자의 변이가 있어도 면역 조직 화학 염색상 음성 소견이 나타날 수 있다. PCR-SSCP법과 면역조직화학 염색사이에 p53 유전자 변이의 일치율은 대체로 65% 정도이다 (Carbone et al, 1993).

본 연구에서 PCR-SSCP법을 이용하여 임상검체 11예에서 p53 유전자 돌연변이 분석한 결과에서 정상 조직 2례, 지루각화증 2례, 기저세포암 3례, 편평상피세포암 3례, 전이성 편평상피세포암 1례 모두에서 exon 5과 exon 7에 대하여 p53 유전자 돌연변이는 관찰되지 않았다. avidin biotin peroxidase complex법에 의한 p53 유전자의 단백질 발현도에서는 정상 조직 2례, 지루각화증 2례, 기저세포암 3례에서 모두 음성을 보였다. 편평상피세포암 2례와 전이성 편평상피세포암 1례에서는 음성을 보였으며, 일광 노출 부위에 발생한 1예에서만 양성 소견을 관찰하였다. 이는 p53 유전자 변이가 피부종양 중 특히 편평 상피 세포암의 발생에 한 요인으로 작용하리라 생각되며, 특히 자외선이 이 유전자의 돌연변이에 중요한 역할을 하리라 생각된다. 또한 일광 노출 부위에 발생한 편평 상피 세포암의 경우, PCR-SSCP법에서는 p53 유전자 돌연변이가 관찰되지 않았으나, 면역 조직 화학 염색상 양성 소견을 보였다. 이것은 p53 유전자 돌연변이가 본 연구에서 PCR-SSCP법으로 검색한 exon 5과 exon 7 이외의 부위에서 일어났기 때문으로 생각된다.

요 약

피부에 발생하는 수종의 종양 조직에서 SSCP법과 면역조직화학 염색법으로 p53 유전자의 돌연변이와 이상 발현을 연구 분석하여 피부 종양의 병인 연구에 기초 자료로 활용하고자 본 연구를 시행한 결과, PCR-SSCP법을 이용하여 임상검체 11예에서 p53 유전자 돌연변이 분석한 결과에서 정상 조직 2례, 지루각화증 2례, 기저세포암 3례, 편평상피세포암 3례, 전이성 편평상피세포암 1례 모두에서 exon 5과 exon 7에 대하여 p53 유전자 돌연변이는 관찰되지 않았다. avidin biotin peroxidase complex법에 의한 p53 유전자의 단백질 발현도에서는 정상 조직 2례, 지루각화증 2례, 기저세포암 3례에서 모두 음성을 보였다. 편평상피세포암 2례와

전이성 편평상피세포암 1례에서는 음성을 보였으며, 일광 노출 부위에 발생한 1례에서만 양성 소견을 관찰하였다. 이는 p53 유전자 변이가 피부종양 중 특히 편평 상피 세포암의 발생에 한 요인으로 작용하리라 생각되며, 특히 자외선이 이 유전자의 돌연변이에 중요한 역할을 하리라 생각된다. 또한 일광 노출 부위에 발생한 편평 상피 세포암의 경우, PCR-SSCP법에서는 p53 유전자 돌연변이가 관찰되지 않았으나, 면역 조직 화학 염색상 양성 소견을 보였다. 이것은 p53 유전자 돌연변이가 본 연구에서 PCR-SSCP법으로 검색한 exon 5과 exon 7 외의 부위에서 일어났기 때문으로 생각된다. 향후 피부종양에서 p53 유전자가 돌연변이를 일으키는 정확한 염색체 상의 부위를 알기 위하여 p53 유전자 돌연변이에 대한 분자 생물학적 방법이 좀 더 연구되어야 할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- Bartek J, Bartkova J, Vojtesek B, et al: Patterns of expression of the p53 tumor suppressor in human breast tissues and tumors in situ and in vitro. *Iny J Cancer* 1990; 46: 839-844.
- Brash DE, Rudolph JA, Simon JA, et al: A role for sunlight in skin cancer: UV-induced p53 mutations in squamous cell carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 10124-10128.
- Campbell C, Quinn AG, Ro YS, et al: p53 mutations are common and early events that precede tumor invasion in squamous cell neoplasia of the skin. *J Invest Dermatol* 1993; 100: 746-748.
- Carbone DP, Mitsudomi T, Rusch V, et al: p53 protein overexpression, but not gene mutation, is predictive of significantly shortened survival in resected non-small cell lung cancer patients. *Proc ASCO* 1993; 12: 334-336.
- Clarke AR, Purdie CA, Harrison DG, et al: Thymocyte apoptosis induced by p53 dependent and independent pathways. *Nature* 1993; 362: 849-85.
- Diller L, Kassel J, Nelson, et al: p53 functions as a cell cycle control protein in osteosarcoma. *Mol Cell Biol* 1990; 10: 5772-5781.
- Gusterson BA, Anbazhagan R, Warren W, et al: Expression of p53 in premalignant and malignant squamous epithelium. *Oncogene* 1991; 6: 1785-1789.
- Harris AL: Mutant p53-the commonest genetic ab-

- normality in human cancer? *J Pathol* 1990; 162: 5-6.
- Iggo R, Gatter K, Bartek J, et al: Increased expression of mutant forms of p53 oncogene in primary lung cancer. *Lancet* 1990; 335: 675-679.
- Kerns S, Kinzler KW, Bruskin A, et al: Identification of p53 as a sequence specific DNA-binding protein. *Science* 1992; 252: 1708-1711
- Kerns S, Pientenpol JA, Thiagalingam S, Seymour A, Kinzler KW, Vogelstein B: Oncogenic forms of p53 inhibit p53 regulated gene expression. *Science* 1992; 256: 827-830.
- Lane DP, Benichou S: p53: oncogene or anti-oncogene. *Genes Dev* 1990; 4: 1-8.
- Levine AJ, Momand J, Finlay CA: The p53 tumor suppressor gene. *Nature* 1991; 351: 453-456.
- Lowe SW, Ruley HE: Stabilization of the p53 tumor suppressor is induced by adenovirus E1A and accompanies apoptosis. *Genes Dev* 1993; 7: 535-545.
- Lowe HE, Jacks T, Houseman DE: p53 dependent apoptosis modulates the cytotoxicity of anticancer agents. *Cell* 1993; 74: 957-967.
- Martinez J, Georgoff I, Martinex J, Levine AJ: Cellular localization and cell cycle regulation by a temperature-sensitive p53 protein. *Genes & Dev* 1991; 5: 151-159.
- McBride OW, Merry G, Givol D, et al: The gene for human p53 cellular tumor antigen is located on chromosome 17 short arm(17p13). *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986; 83: 130-134.
- McGregor JM, Yu CC-W, Dublin EA, et al: Aberrant expression of p53 tumor suppressor protein in non-melanoma skin cancer. *Br J Dermatol* 1992; 127: 643-649.
- Mertens F, Heim S, Mandahl N et al. Cytogenetic analysis of 33 basal cell carcinomas. *Cancer Res* 1991; 51: 954-957.
- Minna JD, D'Amico D, Bodner S, et al: p53 mutations in human lung cancer. *Proc Am Assoc Cancer Res* 1992; 33: 596-602.
- Nigro JM, Baker SJ, Preisinger AC, et al: Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumor types. *Nature* 1989; 342: 705-708.
- Novell PC: How many human cancer genes? *J Natl Cancer Inst* 1991; 83: 1061-1064.
- Perkins AS, Woude GFV: Principles of molecular cellular biology of cancer: *Oncogenes*. Philadelphia, J B Lippincott Co, 1993, pp. 35-39.
- Purdie CA, O'Grady J, Piris J et al: p53 expression in colorectal tumors. *Am J Pathol* 1991; 38: 807-813.
- Rady P, Scinicariello F, Wagner RF Jr, et al: p53 mutations in basal cell carcinomas. *Cancer Res* 1992; 52: 3804-3806.
- Ro YS, Cooper PN, Lee JA: p53 protein expression in benign and malignant skin tumors. *Br J Dermatol* 1993; 237-241.
- Sasano H, Miyazaki S, Goukon Y, et al: Expression of p53 in human esophageal carcinoma. *Hum Pathol* 1992; 23: 1238-1243.
- Shaw P, Bovey R, Tardy S, Sahli R, Sordat B, Costa J: Induction of apoptosis by wild type p53 in a human colon tumor derived cell line.
- Takahashi T, Nau M, Chiba I, et al: P53: a frequent target for genetic abnormalities in lung cancer. *Science* 1989; 246: 491-494.
- Vallet J, Minna JD: Dominant oncogenes and tumor suppressor genes in the pathogenesis of lung cancer. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1990; 2: 225-232.
- Wynford-Thomas D: P53 in tumor pathology: Can we trust immunohistochemistry? *J Pathol* 1992; 166: 329-330.
- Yokoda A, Wad M, Shimosato Y, Terada H, Sugimura T: loss of heterozygosity on chromosomes 3, 13, 17 in small cell carcinoma of the lung. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 9252-9256.
- Yonish-Rouach E, Resnitzky D, Lotem J, Sachs L, et al: Wild type p53 induces apoptosis of myeloid leukemic cells that is inhibited by IL-6. *Nature* 1991; 352: 345-347.

= Abstract =

Detection of Polymorphism of p53 Gene in Skin Tumors by Gel Electrophoresis as SSCP

Bo Sung Sohn, M.D., Ho June Kwon, M.D., Young Wook Ryoo, M.D.,
Kyu Suk Lee, M.D., and Joon Young Song, M.D

Department of Dermatology, Keimyung University School of Medicine, Taegu, Korea

The tumor suppressor gene p53, located on the short arm of chromosome 17, encodes for a nuclear protein which regulates cell proliferation by inhibiting cells entering S-phase. Mutations in p53 gene are the most frequent genetic alterations found in human cancers to date.

This study was examined mutant p53 gene mutation using PCR-SSCP method and mutant p53 oncoprotein expression using avidin biotin peroxidase complex method immunohistochemically, in 2 seborrheic keratosis, 3 basal cell carcinoma, 3 squamous cell carcinoma and 1 metastatic squamous cell carcinoma cases. With PCR-SSCP methods in exon 5 and 7, no genetic mutation of p53 gene was observed in 2 seborrheic keratosis, 3 basal cell carcinoma, 3 squamous cell carcinoma, and 1 metastatic squamous cell carcinoma cases. With immunohistochemical staining with ABC method, a case of squamous cell carcinoma developed on lower lip was positive but another were all negative.

This result means that p53 gene mutation on skin tumor may develop in squamous cell carcinoma developed on sun exposed area and this mutation on squamous cell carcinoma can develop other exonal site except exon 5 and 7.

Key words: p53 gene mutation, Skin tumor