

췌장암에서 p53 단백질발현의 임상적 의의

연세대학교 의과대학 내과학교실, 외과학교실*, 병리학교실** 및 소화기병연구소

이돈행* · 송시영 · 정재복 · 강진경 · 박인서 · 이우정* · 박영년** · 박찬일**

= Abstract =

p53 Protein Expression in Pancreatic Cancer

Don Haeng Lee, M.D., Si Young Song, M.D., Jae Bock Chung, M.D., Jin Kyung Kang, M.D.
In Suh Park, M.D., Woo Jung Lee, M.D.*, Young Nyun Park, M.D.** and Chan Il Park, M.D.**

Department of Internal Medicine, Surgery and Pathology**,
Institute of Gastroenterology, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea*

Background/Aims: Alteration in the p53 tumor suppressor gene are involved in the pathogenesis of diverse human cancer. Immunohistochemical detection of the p53 protein has been strongly correlated with mutations in the p53 gene. Although p53 overexpression or mutation have been elucidated in a variety of cancers, there has been no study in pancreatic cancer in Korea. The purpose of this study is to evaluate the expression rate of p53 protein in pancreatic cancer. In addition, we attempted to clarify the association between expression of p53 and clinicopathologic features including survival. **Methods:** Using immunohistochemistry with monoclonal antibody to p53(Zymed Lab. Clone No. BP53-12), we examined 47 formalin-fixed paraffin-embedded tissues of pancreatic cancer(39 intraductal adenocarcinoma, 8 mucinous adenocarcinoma) for overexpression of p53 gene product. **Results:** Positive nuclear p53 immunoreactivity was detected in 44.6% of pancreatic cancer. No clear correlation was found between p53-positive immunostaining and clinicopathologic features such as age, sex, tumor size, location, histologic type, differentiation of tumor cells and stage of tumor, etc. The mean duration of survival was 8.6 months in the group of p53 positive and 9.6 months in the group of p53 negative and no difference was noted between two groups. **Conclusions:** These results suggest that mutation of p53 tumor suppressor gene may play a role in the pathogenesis of pancreatic cancer. However there was no correlation between the presence of p53 overexpression and clinicopathologic features or survival. (Korean J Gastroenterol 1997; 30:98 - 102)

Key Words: Pancreatic cancer, p53 immunohistochemical staining, Prognosis

접수: 1996년 7월 8일, 승인: 1996년 12월 5일

연락처: 송시영, 서울시 서대문구 신촌동 134, 연세대학교 의과대학 내과학교실 소화기내과

* 제 1저자는 현재 인하의대 소화기내과에 근무중임

본 논문의 요지는 1995년도 제 34차 대한소화기학회 추계학술대회에서 발표되었음

본 논문은 1995년 연세대학교 의과대학 강사연구비로 이루어 졌음.

서 론

췌장암은 아직까지 우리나라에서 비교적 드문 악성 종양이나 최근들어 그 빈도가 점차 증가하고 있다.^{1,2} 다른 소화기암에서와 마찬가지로 췌장암에도 암의 발생 및 예후에 암유전자의 활성화또는 종양억제유전자의 비활성화와 같은 유전적 요인과의 관련성에 많은 관심이 집중되고 있다.^{3,7} 이 중 p53 종양억제유전자는 가장 활발하게 연구되고 있는 유전자의 하나로, 정상 p53 유전자는 암세포와 같이 변성된 세포의 손상된 DNA를 수선하여 정상으로 만들거나 또는 성장을 억제하여 암 발생을 억제한다. 그러나 돌연변이형 p53 유전자는 정상 p53 유전자의 기능을 억제하며, 나아가서 손상받은 세포의 변성을 촉진한다.⁸⁻¹² p53 유전자는 돌연변이를 통하여 비활성화 되는데 돌연변이율은 0~60%로 암의 종류에 따라 보고자에 따라 많은 차이를 보이고 있으며,¹³⁻¹⁵ 일반적으로 췌장암에서의 돌연변이율은 40% 내외로 보고되고 있으나,¹⁶⁻¹⁸ 아직까지 국내에서는 이에 대한 보고가 없었다.

췌장암의 예후에 관여하는 인자로는 종양의 크기, 조직학적 세포유형 및 분화도, 병기 등과 같은 임상병리적 특성^{1,2,19,20}과 아울러 암세포의 생물학적 특성으로 DNA ploidy²¹와 암유전자 및 종양억제 유전자의 돌연변이 유무 등^{17,18}이 거론되고 있으나 그 임상적 의의는 아직까지 확실하지 않다.

이에 저자들은 최근들어 그 빈도가 증가하고 있는 췌장암에서 단세포균향체를 이용한 면역조직화학염색법으로 p53 단백질 발현율을 알아보고 p53 단백질 발현 유무와 췌장암의 임상병리학적 특성 및 생존율과의 상관관계를 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

1981년 1월 부터 1990년 8월 까지 연세대학교 의과대학 세브란스병원에서 췌장암으로 수술을 시행받았던 47예(선암 39예, 점액성 선암 8예)를 대상으로 하였다. 대상환자의 평균 연령은 53(27~75)세였

고, 남자 38예 및 여자 9예였다. 대상환자의 의무기록을 조사하여 임상조건, 검사실조건, 조직학적 특성 및 병기 등을 분석하였고, 생존율은 의무기록의 열람, 전화문의 및 본적지조회를 통하여 확인하였다.

2. 방 법

1) 면역조직화학염색에 의한 p53단백 발현의 검색 조직은 증성 formalin에 고정하여 paraffin 포매된 조직을 사용하였고, p53에 대한 일차항체는 돌연변이형 및 야생형 p53에 모두 반응하는 Zymed사 (Clone No. BP 53-12)의 monoclonal mouse anti-p53을 사용하였다.

면역조직화학염색은 paraffin으로 포매된 조직을 4~5 μ m 두께로 절편을 만들어 xylene으로 paraffin을 제거한 후 alcohol로 탈수하고 조직내의 비특이적 peroxidase의 작용을 H₂O₂로 차단하였다. 일차항체를 buffer에 희석한 후 반응시켰고 이후에 방법은 면역조직화학염색의 공통된 방법인 ABC법으로 biotin이 부착된 이차항체를 반응시키고 avidin이 부착된 peroxidase를 반응시켰다. 발색은 3-amino-9-ethylcarbazole(AEC)로 하였고, hematoxyline으로 대조염색을 시행한 후 80% glycerol gelatin으로 mounting하였다.

췌장암세포의 핵에 뚜렷이 염색되는 경우를 양성으로 판정하였고, 양성대조군으로는 p53 돌연변이가 확인된 대장암 조직을 이용하였으며 음성대조군으로는 일차항체 대신에 PBS buffer를 사용하였다.

양성반응의 정도는 췌장암세포의 핵에서 전체 종양세포중 p53 발현세포의 비율에 따라 양성반응을 보이는 세포수가 전체종양세포의 25%미만인 경우를 1+, 25~50%인 경우를 2+, 50~75%인 경우를 3+, 75%이상인 경우를 4+로 판독하였다.

2) 통계분석

p53단백 발현 유무에 따른 비교는 교차분할방법(chi-square)으로 하였고 생존율의 비교는 Kaplan-Meier 방법을 이용하여 도식화 하였고 Log-Rank test로 통계적 의의를 검정하였다.

Table 1. Clinical Characteristics of the Patients

Parameters	Number(%) (n=47)
Sex	
Male	38(81)
Female	9(19)
Location	
Head	29(61)
Body/tail	18(39)
Size of tumor	
≤4.0cm	16(34)
>4.0cm	31(66)
Cell type	
Ductal adenoca.	39(83)
Mucinous adenoca.	8(17)
Differentiation	
Well	10(21)
Moderate	9(19)
Poor	28(60)
Lymph node metastasis	
Without	12(25)
With	35(75)
Local invasion	
Without	5(11)
With	42(89)
Distant metastasis	
Without	21(45)
With	26(55)
Tumor stage	
Stage I	3(6)
Stage II	3(6)
Stage III	14(30)
Stage IV	27(58)

결 과

1. 대상에의 임상적 특성

종양의 위치는 췌장 두부가 29예(61%), 체부 및 미부에 위치한 경우가 18예(39%)였으며, 종양의 크기는 4.0cm 이하인 경우가 16예(34%), 4.0cm 보다 큰 경우가 31예(66%)였다. 세포유형은 선암이 39예(83%), 점액성 선암이 8예(17%)였고, 조직학적 분화도는 분화가 좋은 경우 10예(21%), 중등도가 9예(19%) 및 나쁜 경우가 28예(60%)였다. 림프절 전이가 있었던 경우는 35예(75%), 없었던 경우는 12예

Fig. 1. A. Positive nuclear staining for antibody to p53 protein within an area of pancreatic carcinoma (Immunohistochemical stain; ×100). B. Most of the nuclei within the glands are reactive (Immunohistochemical stain; ×200).

(25%)였고, 주위조직 침윤은 42예(89%)에서, 원격 전이는 26예(55%)에서 관찰되었다. American Joint Comitee on Cancer(AJCC) 기준에 따른 병기는 제 1 병기 3예(6%), 제 2병기 3예(6%), 제 3병기 14예(30%) 및 제 4병기 27예(58%)로 대부분이 진행암이었다(Table 1).

2. p53 단백질 발현율

췌장암조직 47예 중 21예(44.6%)에서 면역화학 조직염색법에 의한 p53 단백질발현이 암세포의 핵에서 관찰되었으며(Fig. 1), 26예(55.4%)에서는 단백질 발현을 관찰할 수 없었다.

p53 단백질발현 양성의 정도에 따르면 전체 종양세포의 25%미만인 1+인 경우가 2예(9.5%), 25~50%인 2+ 5예(23.9%), 50~75%인 3+ 6예(28.5%),

Table 2. Relation between the Expression of p53 and Clinical Characteristics

Parameters	p53 protein expression		p value
	Negative (n=26)	Positive (n=21)	
	No. of patients(%)		
Sex			
Male	22(58)	16(42)	0.46
Female	4(44)	5(56)	
Location			
Head	18(62)	11(38)	0.21
Body/tail	8(44)	10(56)	
Size of tumor			
≤4.0 cm	9(56)	7(44)	0.89
>4.0 cm	17(55)	14(45)	
Cell type			
Ductal adenoca	22(54)	17(46)	0.95
Mucinous adenoca	4(50)	4(50)	
Differentiation			
Well	6(60)	4(40)	0.73
Moderate	6(67)	3(33)	
Poor	14(50)	14(50)	
Lymph node metastasis			
Without	7(58)	5(42)	0.80
With	19(54)	16(46)	
Local invasion			
Without	3(60)	2(40)	0.82
With	23(55)	19(45)	
Distant metastasis			
Without	12(57)	9(43)	0.68
With	14(54)	12(46)	
Tumor stage			
Stage I	2(67)	1(33)	0.21
Stage II	3(100)	0(0)	
Stage III	8(57)	6(43)	
Stage IV	13(48)	14(52)	

75%이상인 4+의 경우가 8예(38.1%)이었다.

3. p53 단백질 발현 유무에 따른 임상적 특성

p53 단백질 발현은 남자는 16예(42%), 여자는 5예(56%)에서 양성으로 성별에 따른 차이는 없었다. 종양의 크기는 4.0cm 이하인 경우에서 7예(44%), 4.0cm 보다 큰 경우는 14예(45%)에서 발현되어 차이가

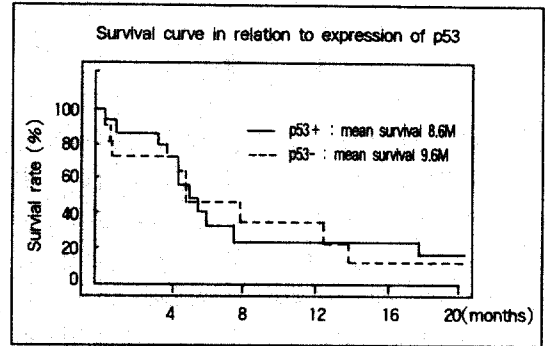


Fig. 2. Survival curve in relation to expression of p53 protein.

없었으며, 종양의 위치에 따른 차이도 없었다. 세포 유형에 따른 p53 단백질 발현은 선암에서는 17예(46%), 점액성 선암에서는 4예(50%)로 유사하였다. 조직학적 분화도에 따른 p53 단백질 발현을 역시 분화가 좋은 경우에는 4예(40%), 중간인 경우 3예(33%), 및 나쁜 경우 14예(50%)로 비슷하였다. 림파절전이 있었던 경우에서는 16예(46%)에서 발현되어 전이가 없는 경우의 5예(42%)와 유사하였고, 주위조직 침윤 유무나 원격전이 유무에 따라서는 p53 단백질 발현율의 차이는 없었다. 병기에 따른 발현율은 제 1병기 1예(33%), 제 2병기 0%, 제 3병기 6예(43%) 및 제 4병기 14예(52%)로 병기에 따른 의미있는 차이는 없었다(Table 2). 단백질발현 양성군에서 단백질발현 정도에 따라서 비교했을 때 임상적 특징, 조직학적 분화도에 있어 통계적으로 유의있는 차이는 없었다.

4. p53 단백질 발현 유무에 따른 생존율

p53 단백질 발현이 있었던 21예의 평균생존기간은 8.6개월로 발현이 없었던 26예의 9.6개월과 의미있는 차이가 없었다(Fig. 2).

1년이상 생존한 예를 비교했을 때에도 단백질발현 양성군 5예(23.8%), 음성군 5예(19.2%)로 양군간에 유사하였다.

단백질발현 양성군에서 단백질발현 정도에 따른 생존율은 1+군 8.8개월, 2+군 7.6개월, 3+군 9.0개월, 4+군 8.6개월로 역시 유의있는 차이는 없었다.

고찰

췌장암은 아직까지 우리나라에서 비교적 드문 악성 종양이나 최근들어 그 빈도가 점차 증가하고 있다. 췌장암의 조기진단은 매우 어려우며 진단 당시 이미 병이 진행되어 근치적 절제가 어려운 경우가 대부분인 예후가 매우 불량한 악성종양이다.^{1,2} 췌장암의 원인에는 화학물질, 바이러스 감염, 고칼로리식이, 흡연, 알코올을 섭취, 당뇨병, 췌장염 및 담낭질환 등과 관련이 있다고 알려져 있으나 아직 확실하지 않다.²²

분자생물학적 측면에서 암의 발생은 암유전자의 활성화 또는 종양억제 유전자의 비활성화에 의해 유발되는 것으로 알려져 있는데, 암이 발생하기 위해서는 단 한번의 유전자 변이로 일어나는 것이 아니라, 여러 유전자들이 다단계적으로 변화되어 발생하는 것으로 알려져 있으며,^{6,23,24} 이 중에서 종양억제 유전자로 p53에 대한 연구가 가장 활발하게 진행되고 있다. p53 유전자는 염색체 17p에 위치하며 정상적인 p53 유전자의 상보 DNA는 암세포와 같이 변성된 세포를 세포성장주기의 G1기에서 정지하게 하여 세포성장을 억제한다. 또한 방사선 또는 발암물질 등에 의해 손상받은 세포에 대해서도 G1기에서 성장을 억제하게 하는데 이때에 손상된 DNA를 수선하여 암 발생을 억제하게 한다. 그러나 돌연변이형 p53 유전자의 경우는 정상 p53 유전자의 기능을 dominant negative fashion으로 억제하게 되어 세포의 변성(transformation)을 촉진한다.⁷⁻¹⁰

p53 유전자는 돌연변이를 통하여 비활성화 되는데, 돌연변이 양상은 p53 유전자의 부분적 또는 전체적 소실, 점 돌연변이, 틀이동 돌연변이(frame shift mutation) 및 삽입 등 다양한 양상을 취하며, 이중 점 돌연변이가 가장 빈번히 발생한다.⁹ p53 유전자의 돌연변이를 검색하는 방법으로는 면역조직화학염색, 염기서열 확인법, 중합효소연쇄반응-단일가닥구조다형(polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism, PCR-SSCP)검사법 등이 있다.^{9,25} 염기서열확인법이나 PCR-SSCP는 유전자의 돌연변이를 직접 확인할 수 있으나 시간과 노력

이 많이 드는 단점이 있으며, 면역화학염색법은 p53 유전자 돌연변이를 간접적으로 검색하는 방법으로 비교적 용이하게 검사할 수는 있으나 민감도와 특이도가 60~70%로 낮은 것이 단점인데 최근들어 효과적인 고정법과 면역조직화학염색법의 발달로 민감도와 특이도가 점차 높아지고 있다.

정상형 p53 단백질의 반감기는 10-20분 정도로 짧은데 비하여 돌연변이형 p53 단백질은 반감기가 수 시간 또는 그 이상으로 연장되므로 이러한 특성을 이용하여 p53 단백질에 대한 단세포군항체를 이용한 면역조직화학염색법으로 돌연변이형 p53 단백질 검출이 가능하다. 즉 돌연변이형은 반감기가 길어져 세포내에 p53 단백질이 축적되게 되어 면역화학조직염색법으로 쉽게 검출이 가능하다.^{9,26}

각종 암에서 p53 유전자의 돌연변이율은 폐암의 경우는 약 50~60%의 환자에서 돌연변이를 관찰할 수 있으며, 대장암 50%, 간의 담관암 50%, 식도암 또는 난소암 40% 정도의 빈도로 보고되고 있다.¹³⁻¹⁵ 국내에서도 면역조직화학염색법에 의한 p53 단백질 발현율은 폐암에서 55%,²⁷ 간의담도암 50%,²⁹ 위암 61%³⁰로 보고되고 있으나 아직까지 국내에서 췌장암의 발현율에 대한 보고는 없었다. 일반적으로 췌장암에서 면역조직화학염색법 또는 PCR을 이용한 염기서열 분석법에 의한 p53 단백질 발현율 또는 돌연변이율은 약 40% 내외로 보고되고 있는데,¹⁶⁻¹⁸ 본 연구에서도 췌장암 47예 중 21예인 44.6%의 발현율을 보여 외국의 보고와 비슷하며 이는 p53 유전자의 돌연변이가 췌장암 암화과정(carcinogenesis)의 하나의 요인으로 작용함을 시사한다고 생각된다.

한편 췌장암의 예후에 관여하는 인자로는 환자의 일반적인 건강상태, 종양의 크기, 세포의 유형 및 분화도, 병기, 치료방법 등이 관여한다고 알려져 있다.^{1,2,19,20} 최근에는 암세포의 생물학적 특성으로 DNA ploidy²¹와 암유전자 및 종양억제 유전자의 돌연변이 유무 등과 예후와의 관련성이 제시되고 있다.^{17,18,30} 그러나 아직까지 인체의 다양한 악성종양에서 p53 유전자 돌연변이의 예후인자로서의 역할은 확실하지 않으며 보고자 또는 암의 종류에 따라 많은 차이를 보이고 있다.³¹⁻³³ 췌장암에서도 p53과 같은 종양억제유전자의 돌연변이 여부와 췌장암의

임상병리학적 특성 또는 생존율과의 상관 관계는 보고자에 따라 차이가 있으나, 일반적으로 p53 단백질 발현과 환자의 연령 및 성별, 종양의 위치, 크기, 병기, 조직학적 분화정도 등과는 관련성이 없다는 보고가 많으며,¹⁶⁻¹⁸ 본 연구에서도 p53 단백질 발현 유무에 따른 차이는 없었다. 또한 단백질 발현 정도에 따른 임상적 특성의 차이도 없었다. 한편 Zhang 등¹⁷은 선암인 췌장암에서는 37%에서 p53 단백질이 발현된 반면 점액성선암 3예에서는 한 예도 발현되지 않았다고 하였으나, 본 연구에서는 선암의 경우 46%에서, 점액성 선암의 경우 50%에서 발현되어 세포유형에 따른 차이는 없었다.

p53 단백질 발현 여부와 생존율과의 관계로 Nakamori 등¹⁸은 p53 유전자의 돌연변이가 있는 경우에는 예후가 불량하여 예후인자로서의 역할을 주장한 반면, Zhang 등¹⁷은 p53 단백질 발현 유무에 따른 생존율의 차이는 없다고 하여 상반된 결과를 보고하였다. 본 연구에서도 p53 단백질 발현 유무 및 정도에 따른 생존율의 차이가 없었고, 1년 이상 생존한 예에서도 발현에 따른 차이가 없어 p53 단백질 발현 여부를 예후 예측 인자로 간주하기는 어렵다고 생각된다. 그러나 본 연구의 대상이 수술을 통해 조직을 얻을 수 있었던 경우를 대상으로 하였기 때문에 수술을 시행할 수 없었던 보다 진행된 췌장암 환자 및 비록 매우 드물지만 조기 췌장암 환자에서의 결과와의 비교가 필요할 것으로 생각된다.

또한 췌장암의 암화과정에 있어 본 연구에서는 p53만을 조사하였으나 대부분의 암이 여러 가지 유전자의 복합적인 돌연변이에 의해 발생하는 것으로 알려져 있으므로 p53 이외에도 다른 유전자의 돌연변이에 대한 연구도 보완되어야 한다고 생각된다.

요 약

목적: 다른 소화기암에서와 마찬가지로 췌장암에서도 암의 발생 및 예후에 암유전자의 활성화 또는 종양억제유전자의 비활성화와 같은 유전적 요인과의 관련성에 많은 관심이 집중되고 있다. 이중 p53 종양억제유전자는 가장 활발히 연구되고 있는 유전자 중의 하나로 돌연변이를 통하여 비활성화 되는데 돌

연변이율은 암의 종류와 보고자에 따라 많은 차이를 보이고 있다. 또한 p53 유전자의 돌연변이가 암의 임상병리학적 특성 또는 생존율의 예후인자로서의 역할은 아직 논란이 많다. 따라서 최근들어 그 빈도가 증가하고 있는 췌장암에서 p53 종양억제유전자의 돌연변이율을 알아보고 이의 병기 및 예후에 미치는 영향을 알아보고자 하였다. **대상 및 방법:** 1981년 1월 부터 1990년 8월까지 연세대의 세브란스병원에서 수술을 시행받았던 47예의 췌장암(39예 선암, 8예 점액성선암) 환자를 대상으로 p53 단백질에 대한 단세포군항체(Zymed Lab. Clone No. BP53-12)를 이용한 면역조직화학염색법으로 발현율을 측정하고 임상상과 생존율을 조사하여 p53 단백질 발현 유무와의 상관 관계를 조사하였다. **결과:** 췌장암 47예 중 p53 단백질 발현 유무에 따라 양성 및 음성으로 구분한 결과 양성군은 21예(44.6%), 음성군은 26예(55.4%)이었다. 췌장암 중 선암 및 점액성선암에서의 양성율을 비교하였을 때 선암은 46.2%, 점액성선암에서는 50.0%에서 양성율을 보여 차이가 없었다. 종양의 크기, 위치, 종양세포의 분화도 및 병기 등에 따른 발현율의 의미있는 통계적 차이는 없었다. p53 단백질 발현유무 및 발현 정도에 따른 생존기간도 양성군에서 8.6개월로 음성군의 9.6개월과 유의한 차이가 없었다. **결론:** 우리나라 췌장암 환자에서 p53 단백질 발현율은 44.6%로 p53 유전자의 돌연변이가 췌장암의 암화과정에 있어 하나의 역할을 할 것으로 생각되며, p53 단백질 발현 유무와 췌장암의 임상적 특징, 조직학적 특성, 종양의 크기, 병기 및 생존율 등과의 상관관계는 없었다.

색인단어: 췌장암, p53 단백질 발현, 예후

참 고 문 헌

1. 이상주, 이용찬, 송시영, 정재복, 강진경, 박인서. 췌장암의 임상적 고찰. 대한소화기병학회지. 1994;26:1010-1020.
2. Warshaw AL, Castillo CF. Pancreatic carcinoma. N Engl J Med 1992;326:455-465.
3. Barton CM, Stoddon SL, Hughes CM. Abnor-

- malities of p53 tumos suppressor gene in human pancreatic cancer. *Br J Cancer* 1991;64:1076-1082.
4. Almoguera C, Shibata D, Forrester K, Martin J, Arnheim N, Perucho M. Most human carcinoma of the exocrine pancreas contain mutant c-k-ras genes. *Cell* 1988;53:549-552.
 5. Scarpa A, Capelli P, Mukai K, et al. Pancreatic adenocarcinomas frequently show p53 gene mutations. *Am J Pathol* 1993;142:1534-1543.
 6. Chang KW, Laconi S, Mangold KA, Hubchak S, Scarpelli DG. Multiple genetic alteration in hamster pancreatic ductal adenocarcinomas. *Cancer Res* 1995;55:2560-2568.
 7. Hinds P, Finlay C, Levin AJ. Mutation is required to activate the p53 gene for cooperation with ras oncogene and transformation. *J Virol* 1989;63:739-746.
 8. Levin AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumor suppressor gene. *Nature* 1991;6:453-456.
 9. 김주향. p53 종양억제유전자. *대한의학협회지* 1995; 38:241-244.
 10. Vogelstein B, Kinzler KW. p53 function and dysfunction. *Cell* 1992;70:523.
 11. Greenblatt MS, Benett WP, Hollstein M, Harris CC. Mutation in the p53 tumor suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis. *Cancer Res* 1994;54:4855-4878.
 12. Puisieux A, Lim S, Groopman J, et al. Selective targeting of p53 gene mutational hotspots in human cancers by etiologically defined carcinogens. *Cancer Res* 1991;51:6185-6189.
 13. Nigro JM, Baker SJ, Preisinger AC, et al. Mutation in the p53 gene occur in diverse human tumor types. *Nature* 1989;342:705-708.
 14. Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, et al. p53 mutations in human cancers. *Science* 1991;253:49-53.
 15. Porter PL, Gown AM, Kramp SG, Coltrera MD. Widespread p53 overexpression in human malignant tumors. *Am J Pathol* 1992;140:145.
 16. DiGiuseppe JA, Hruban RH, Goodman SN, et al. Overexpression of p53 protein in adenocarcinoma of the pancreas. *Am J Clin Pathol* 1994;101:684-688.
 17. Zhang SY, Ruggeri B, Agarwal P, et al. Immunohistochemical analysis of p53 expression in human pancreatic carcinomas. *Arch Pathol Lab Med* 1994; 118:150-154.
 18. Nakamori S, Yashima K, Murakami Y, et al. Association of p53 mutations with short survival in pancreatic adenocarcinoma. *Jpn J Cancer Res* 1995;86: 174-181.
 19. Cameron JL, Crist DW, Sitzman, et al. Factors influencing survival after pancreaticoduodenectomy for pancreatic cancer. *Am J Surg* 1991;161:120-125.
 20. Kellokumpu LP, Huovinen R, Tuominen J. Pancreatic cancer: evaluation of prognostic factors and treatment results. *Acta Oncologica* 1989;28:481-486.
 21. Allison DC, Bose KK, Hruban RH, et al. Pancreatic cancer cell DNA content correlates with long-term survival after pancreaticoduodenectomy. *Ann Surg* 1991;214:648-656.
 22. Farrow G, Davis S. Risk of pancreatic cancer in relation to medical history and the use of tobacco, alcohol, and coffee. *Int J Cancer* 1990;45:816-821.
 23. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 1990;61:759-767.
 24. Pellegata NS, Sessa F, Renault B, et al. K-ras and p53 gene mutations in pancreatic cancer. ductal and nonductal tumor progress through different genetic lesions. *Cancer Res* 1994;54:1556-1560.
 25. Murakami Y, Hayashi K, Sekiya T. Detection of aberrations of the p53 alleles and the gene transcript in human tumor cell lines by single-strand conformation polymorphism analysis. *Cancer Res* 1991;51: 3356.
 26. Bodner SM, Minna JD, Jensen SM, et al. Expression of mutant p53 proteins in lung cancer correlates with the class of p53 gene mutations. *Oncogene* 1992;7:743-749.
 27. 김동순, 성영주, 염호기, 이봉춘, 서연립, 주종은. 원발성 폐암에서의 p53 단백질 발현양상과 예후와의 관계. *대한내과학회지* 1993;45:736-743.
 28. 이용찬, 송시영, 정재복, 강진경, 박인서. 원발성 간의 담관암에서 p53 단백질 발현율의 임상적 의의. *대한소*

- 화기병학회 추계학술대회 초록집 1994;26 suppl:110.
29. 류도현, 주영은, 김태두, 등. 위암종에서 p53 유전자 산물에 대한 면역조직화학 연구. 대한내과학회지 1995;48:419-427.
 30. Tada M, Omata M, Ohto M. Clinical application of ras gene mutation for diagnosis of pancreatic adenocarcinoma. Gastroenterology 1991;100:233-237.
 31. Scott N, Sagar P, Stewart J, Blair GE, et al. p53 in colorectal cancer, clinicopathological correlation and prognostic significance. Br J Cancer 1991;63:317.
 32. Thor AD, Moore DH, Edgerton SM, et al. Accumulation of p53 tumor suppressor gene protein: An independent marker of prognosis in breast cancer. J Natl Cancer Inst 1992;84:845-854.
 33. Martin HM, Filipe MI, Moris RW, Lane DP, Silvestre F. p53 expression and prognosis in gastric carcinoma. Int J Cancer 1992;50:859.