

거세후 재발한 전립선암에서 면역조직화학적 안드로겐수용체의 변화

이화여자대학교 의과대학 비뇨기과학교실, 의과학연구소 세포조직학부,
연세대학교 의과대학 비뇨기과학교실*

최학룡 · 한상원* · 심봉석 · 박영요 · 권성원

=Abstract=

Immunohistochemical Androgen Receptor Change of Relapsed Prostate Cancer After Castration

Hak Ryong Choi, Sang Won Han*, Bong Suk Shim, Young Yo Park
and Sung Won Kwon

From the Department of Urology, Ewha Medical Research Center, Ewha Womans University
and Yonsei University* College of Medicine, Seoul, Korea

We tried to find out any differences between initial characteristics of androgen receptors and of relapse after castration in 6 stage D2 prostatic cancer (mean age, 68.7 ± 4.6) (Gleason score 5, 8, 9 ; 1, 3, 2 patients respectively), with immunohistochemical expression using the mouse monoclonal antibody against human androgen receptor. The prostate specimens were obtained by either transrectal needle biopsy or transurethral resection at the time of initial diagnosis and of relapse following castration. The age matched 6 benign prostatic hyperplasia (BPH) specimens were used as control. 200 cancer cells were chosen and staining intensity of each nuclei was graded (0-absent, +1-weak, +2-moderate, +3-strong) from randomly selected and photographed from 10 different fields of each specimen.

The means of staining intensity of nuclei from BPH and prostatic cancer before treatment were 1.93 ± 0.03 and 1.59 ± 0.03 respectively ($p < 0.05$). At the time of relapse after bilateral orchectomy (mean, 24.5 ± 5.0 months), the mean staining intensity of nuclei of all cancer patients (1.38 ± 0.03) was significantly different from that of before treatment ($p < 0.05$). But in individual comparison, we could find the decrement in only 2 patients. The intervals of relapse from castration of these two patients (29 and 32 months) were longer than the mean of 6 patients.

In conclusion, androgen receptors are still expressed significantly after castration in prostatic cancer. In some patients (2/6), castration down regulates the expression of androgen receptors and the down regulation closely correlated with the relapse time.

Key Words: Immunohistochemistry, Androgen receptor, Prostate cancer

서 론

전립선암은 남성홀몬과 밀접하게 관련되어 있으며 홀몬적치료, 즉 남성홀몬을 차단하는 방법

이 전이성 전립선암의 치료에 유익한 방법이라 는 것은 주지의 사실이다. 더구나 국내의 경우 처음 진단시에 이미 전이성으로 판명되는 경우 가 $60\sim70\%$ 로^{1,2} 서구의 $20\sim30\%$ 에³ 비하여 월등 히 높으므로 홀몬치료의 비중이 그만큼 높다고

* 본 연구는 1995년도 이화여자대학교 교내연구비의 지원에 의하여 이루어졌음.
접수일자 : 1996년 8월 6일

볼 수 있다. Huggins와 Hedges가⁴ 1941년에 전립선암에서 고환절제술의 효과를 발표한 이후 지난 50여년간 전립선암세포에 대하여 남성홀몬을 차단하기 위한 다양한 방법들이 시도되었다. 그러나 전립선암에 대한 홀몬치료의 문제점은 대다수의 환자에서 초기에는 효과가 있으나 종국에는 재발한다는 사실과^{5,6} 홀몬치료의 반응 정도나 기간을 예측할만한 지표가 현재까지 뚜렷하게 밝혀지지 않았다는 점이다. 남성홀몬을 차단하여도 결국 전립선암이 재발하는 것은 안드로겐에 의존하지 않는 세포군의 증식으로 이해되고 있으나 아직 증명되지 않았고, 안드로겐의 작용은 세포핵내의 안드로겐수용체와 결합하였을 때 나타나므로 결국 안드로겐 비의존성 세포의 특징은 안드로겐수용체와 관련이 있을 것으로 예상할 수 있다⁷⁻⁹. 따라서 최근 전립선암세포의 안드로겐수용체에 대한 일련의 연구가 진행되었으나 대부분 동물실험 이었거나, 사람의 전립선암세포를 대상으로 하였다 하더라도 전단시 또는 홀몬치료후 재발시에 국한된 단편적인 연구들이 있고 이들의 결과에 대해서도 아직 논란의 여지가 많다¹⁰⁻¹². 본 연구는 안드로겐수용체에 대한 단일클론 항체를 이용하여 전이성 전립선암 환자들을 대상으로 각각 거세 전과 거세 후 재발하였을 때의 전립선 조직에 면역조직화학염색을 시행하여 전립선암세포에서 안드로겐수용체의 변화를 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 연구대상

처음 진단시와 고환절제술 후 재발하였을 때 경뇨도절제술 또는 경직장생검을 통하여 전립선조직이 파라핀에 포매되어 있던 6명의 stage D2 전립선암 (Gleason score 5, 8, 9 각각 1, 3, 2명; 평균±표준오차, 68.7±4.6세) 환자를 대상으로 하였다. 대조군은 동일 연령군 (평균, 66.3±5.2세)의 전립선비대증 6명의 조직을 이용하였다. 전립선암의 판독은 Gleason의¹³ 기준을 참고로 하였고 1~3개월 간격으로 새로운 증상의 유무, 혈청내 prostatic acid phosphatase (PAP, enzymatic assay; 정상치 < 0.8U/l), prostatic specific antigen (IMxPSA, Abbott Diagnostics, Abbott Park, Illinois, USA)을 측정하였고 3~6개월 간격으로 펌주사를 시행하였다. 이중에서 재발의 판정은 증상의

악화내지 출현이 명확하거나 2회 연속이상에서 PSA의 뚜렷한 상승 또는 펌주사에서 새로운 전이소견이 있는 경우로 하였다. 고환절제후 재발까지의 기간은 24.5±5.0개월 이었다 (Table 1).

2. 면역조직화학염색

6μm로 자른 파라핀 포매 조직 절편으로부터 자일렌과 알콜로 파라핀을 제거하고 할수 후 중류수로 할수 시켰다. 슬라이드를 0.01M sodium citrate buffer에 담근후 microwave oven에 넣고 800 Watt에서 5분간 가열하였다. TBS (Tris buffered saline) 용액에 5분간 담근후 1.5% hydrogen peroxide/methanol 용액을 10분간 가하였다. 이후 중류수와 TBS buffer로 5분간 각각 두차례 세척한 다음 비특이결합을 줄이기 위하여 goat gamma-globulin (Cappel Lab., PA, USA)으로 30분간 처리하였다. 1:10의 anti androgen receptor mouse monoclonal antibody (Novocastra Lab., UK)을 슬라이드에 가하고 4℃에서 하룻밤 부화시킨 다음 TBS 용액에 세척하였다. Biotinylated goat antimouse serum (Vector Lab., CA, USA)을 30분간 가하고 TBS 용액으로 세척후 horseradish peroxidase-avidin complex (Vector Lab.)를 30분간 처리하였다. 5mg의 3'-3' di-amino-benzidine (DAB)을 TBS 용액 10ml에 용해하고 여기에 3% 과산화수소를 가한 다음 이 용액을 슬라이드에 5분간 반응시켜 발색하였다. 슬라이드를 TBS 용액으로 세척하고 haematoxylin으로 대비염색 하였으며 일차항체를 처리하지 않고 염색과정을 시행한 표본을 음성대조군으로 하였다.

3. 면역조직화학염색 판독 및 분석

염색후 각각의 조직에서 200개의 세포를 무작

Table 1. Profiles of metastatic prostatic cancer patients

Pt. No.	Age (years)	Gleason score	Relapse time (months)
1	71.6	8	17
2	63.4	9	32
3	81.7	5	43
4	87.5	9	14
5	50.2	8	29
6	60.0	8	12
Mean±SE	68.7±4.6	7.8±0.6	24.5±5.0

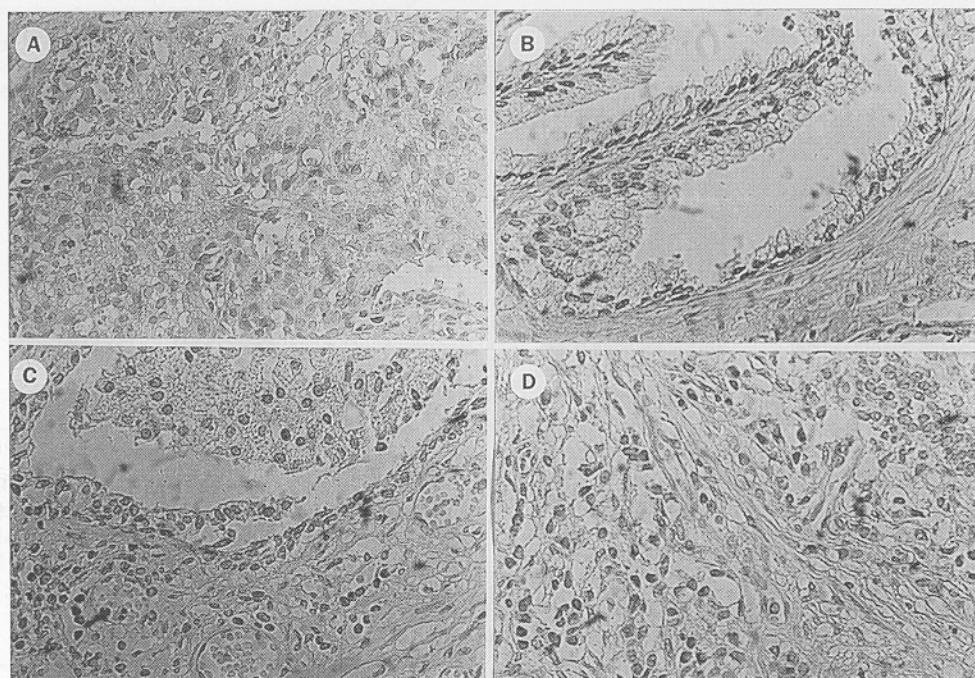


Fig. 1. Immunohistochemical staining for androgen receptor. A, negative control. B, positive control of BPH shows strong homogenous nuclear staining intensity. There is no gross difference in staining intensity between initial(C) and at the time of relapse after orchiectomy(D) for prostate cancer($\times 200$).

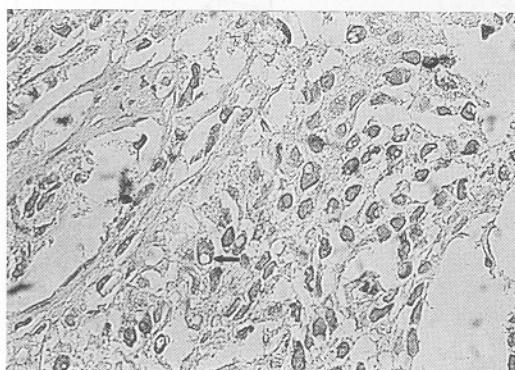


Fig. 2. Immunohistochemical staining of androgen receptor in relapsed prostate cancer following orchiectomy. The nuclear staining intensity is relatively inhomogenous and some nuclei show typical defect of staining (halo) ($\times 400$).

위 10개의 시야로부터 선택하여 400배 시야에서 촬영하고 인화하였다. 세포핵의 염색강도는 0, +1, +2, 또는 +3 (각각 발색무, 약발색, 중발색 또는 강발색)으로 구분하였고 각 세포핵의 염색강도는 2인이 관찰한 결과의 평균치로 정하였다. 전립선암 환자군과 대조군인 전립선비대증 환자군의 평균 염색강도에 대한 차이는 Mann-

Whitney U test로, 전립선암 환자군 (1,200개 세포)에서 그리고 개개의 환자 (각각 200개 세포)에서 처음 진단시와 고환절제후 재발시 염색강도의 비교는 Wilcoxon signed rank test로 검정하였다. 이상의 결과와 재발기간과의 상관관계는 단순회귀모형 (simple regression analysis)과 F-test로 분석하였으며 p 값이 0.05 이하인 경우를 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

안드로겐수용체에 대한 면역조직화학염색 결과 음성대조군에 비하여 전립선비대증 선상피세포의 핵에서 뚜렷한 발색을 관찰할 수 있었으며 대부분의 선상피핵의 발색강도는 비교적 균일하였다 (Fig. 1 A, B). 초기 진단시의 전립선암 조직과 거세후 재발하였을 때의 조직에서도 암세포핵은 뚜렷한 발색을 보였으며 부분적으로 괴사가 일어나는 부위의 발색강도는 상대적으로 미약하였다 (Fig. 1 C, D). 거세후 재발한 암조직의 일부 세포핵에서 뚜렷한 염색결소부위 (halo)가 관찰되었다 (Fig. 2).

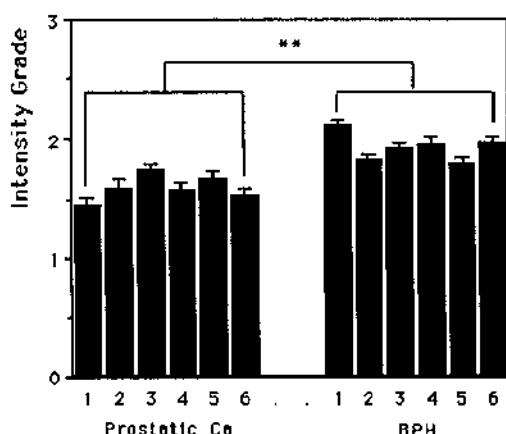


Fig. 3. Comparison of staining intensity between BPH and prostatic cancer patients*. *: Mann-Whitney U test, **: Statistically significant.

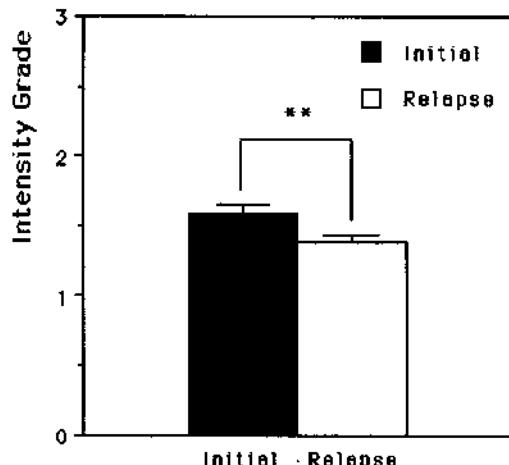


Fig. 4. Comparison of staining intensity in prostatic cancer at the time of initial diagnosis and relapse after orchiectomy*. *: Wilcoxon signed rank test, **: Statistically significant, ***: Mean relapse time after orchiectomy (months); 24.5 ± 5.0 .

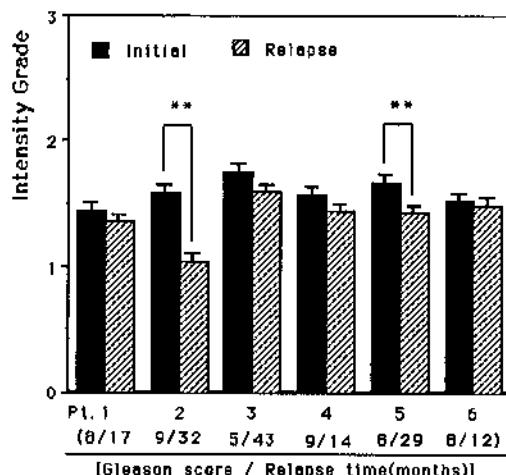


Fig. 5. Individual change of staining intensity in 6 prostatic cancer patients at the time of relapse after castration*. *: Wilcoxon signed rank test, **: Statistically significant.

전립선비대증에서 선상피핵의 평균 염색강도는 1.93 ± 0.03 이었으며 처음 내원시 전립선암의 염색강도는 1.59 ± 0.03 이었고 두 환자군 사이의 차이는 통계적으로 유의하였다 ($p < 0.05$) (Fig. 3). 전립선암 환자에서 거세후 재발까지의 기간은 24.5 ± 5.0 (평균 \pm 표준오차)개월 이었고, 전체 환자를 대상으로 하였을 때 재발후 암세포핵의 염색강도는 1.38 ± 0.03 으로 처음 진단시에 비하여 유의하게 감소되었다 ($p < 0.05$) (Fig. 4). 각 환자에서 재발 전과 후를 비교하면 6례중 2례에서만 발현이 유의하게 감소되었고 이들에서 재발까지의

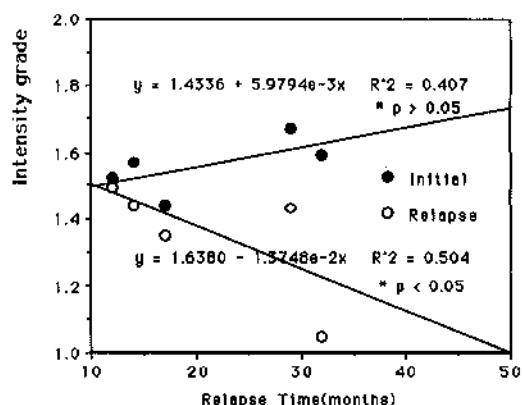


Fig. 6. Correlation between relapse time and staining intensity. *: Simple regression analysis and F-test.

기간은 각각 32개월과 29개월 이었다 (Fig. 5). Gleason score 5인 환자를 제외한 나머지 5명에서 거세 후 재발까지의 기간은 재발시의 염색강도와 ($R=0.71$, $p=0.019$) (Fig. 6), 그리고 처음 내원시 염색강도에 대한 재발시 염색강도의 감소 정도와 관계 있었다 ($R=0.88$, $p=0.050$) (Fig. 7).

고 안

전립선이 성장하고 기능을 유지하기 위해서는 남성호르몬의 작용이 필수적이다. 쥐에서 거세하

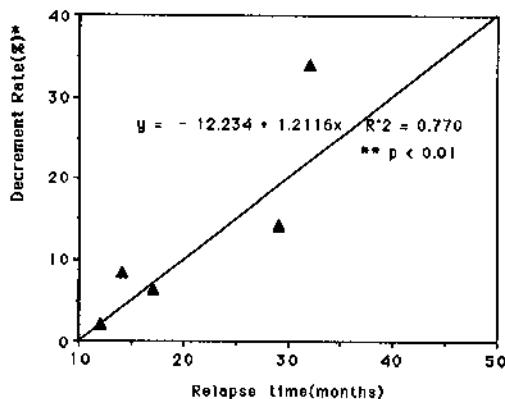


Fig. 7. Correlation between decrementation rate and relapse time.

*(Initial intensity-intensity at the time of relapse) / Initial intensity × 100(%)

**: Simple regression analysis and F-test.

면 전립선상피세포의 70~80%가 소실되고^{14,15} 사람에서도 거세하거나 남성홀몬의 작용을 차단하면 전립선의 용적이 현저하게 줄어든다¹⁶. 전립선의 이러한 홀몬 의존성을 이용하여 이미 오십여 년 전부터 남성홀몬을 차단하는 방법이 전립선암의 치료방법으로 이용된 이후 현재까지도 홀몬요법은 전이성 전립선암의 유일한 치료방법으로 이용되고 있다.

전립선암에서 홀몬치료가 전이가 있는 경우에 국한되어 사용되는 이유는 남성홀몬의 차단으로 전립선암을 근차시킬 수는 없기 때문이며 홀몬치료는 전립선암 치료의 보조요법에 불과하다고 볼수 있다. 실제로 전이성 전립선암에서 남성홀몬을 차단하였을 때 반응율은 70~80% 정도로 알려져 있으며 일단 전립선암의 관해가 이루어졌다 하더라도 거의 모든 환자에서 암의 재발과 진행은 피할 수 없는 과정이다^{17~20}. 전립선암에서 이런 특징의 원인으로는 암세포가 안드로겐의 존성과 비의존성의 세포로 구성되고 있다는 암세포의 이질성 때문으로 이해되고 있다^{21,22}. 다른 한가지의 가능성은 남성홀몬의 작용이 중지되면 적응기전의 일환으로 안드로겐의 존성 암세포가 비의존성암세포로 변환된다는²³ 가정도 할수 있으며 이에 대한 명확한 해답은 아직 밝혀지지 않았다. 뿐만아니라 개개의 전립선암에서 홀몬치료의 결과를 예측할 만한 지표도 아직 불충분하다.

홀몬의 작용은 홀몬이 홀몬수용체와 결합하고 이에 의해 발생한 신호가 전달되어 특정 유전자가 활성화되어 전사 발현하는 과정으로 이루어진다. 사람에서 안드로겐수용체는 다른 스테로이드홀몬 수용체와 마찬가지로 세포핵내에 주로 존재하며 전사조절 부위와 염색체결합 부위 그리고 홀몬결합 부위로 구성되어 있다²⁴. 대개의 스테로이드 수용체는 홀몬작용에 의해 수용체의 발현이 하향 조절되고 (down regulation), 반대로 홀몬을 차단하면 홀몬수용체는 상향 조절된다 (up regulation). 그러나 전립선에서는 이러한 원칙이 그대로 적용되는 것 같지는 않다²⁵. 그 이유는 전립선에서 안드로겐은 선상피세포의 기능을 유지하는 것 뿐만 아니라 자신의 생존에도 필수적이므로 안드로겐을 차단하면 정상 전립선 상피세포의 안드로겐수용체의 변화 이전에 선상피세포 자체가 고사될 것이기 때문이다. 정상 전립선에서 이러한 전립선의 안드로겐 의존도는 전립선의 부위와도 밀접한 관계가 있을지도 모른다. 이는 쥐에서 전립선측엽의 일부 선상피세포는 안드로겐 비의존성이라는 연구 결과²⁶와 사람의 전립선 중에서 중심구역 (central zone)은 다른 구역과 발생근원이 다르다는 사실^{27,28}로부터도 추측할 수 있다. 또 한가지 유의하여야 할 점은 안드로겐 차단에 의한 전립선퇴화는 가역적이며 이는 동물이나 사람에서 이미 알려진 사실이다.

정상 전립선은 안드로겐이 보충되지 않는 퇴화된 상태가 지속되는 것은 분명하지만 전립선암에서 안드로겐을 차단하여도 얼마 지나지 않아서 다시 재발하는 이유중의 하나로 안드로겐 비의존성 암세포의 증식으로 이해하고 안드로겐 비의존성 세포라면 안드로겐수용체가 당연히 소멸 내지는 감소할 것이라는 전제 하에 최근 전립선암에서 안드로겐 수용체에 대한 일련의 연구들이 이루어졌다^{10~12}. 아직 논란의 여지도 많고 일관된 견해가 정립된 것은 아니지만 대체로 안드로겐수용체의 발현이 강한 암은 비교적 악성도가 낮다는 보고와^{29,30} 홀몬치료 후 재발까지의 기간과 안드로겐수용체의 발현 정도와는 무관하다는, 즉 종양의 활성도와 안드로겐수용체의 발현정도는 연관이 없다고 하는^{11,13}, 서로 상반된 견해로 대립되고 있다. 이들의 연구는 대부분 처음 진단시 또는 홀몬치료 후 재발하였을 때 한시적으로 안드로겐수용체에 대한 면역조직화학 염색을 통한 연구였기 때문에 이들의 결과로

부터 안드로겐수용체와 종양의 활성도의 관계를 단정하기는 어렵다. 그러므로 본 연구에서는 같은 환자에서 처음 진단 당시와 홀몬치료 후 재발하였을 때 각각 얻은 조직을 이용하여 안드로겐 수용체에 대한 면역조직화학염색을 시행하였다. 결과적으로 처음 진단 시의 염색강도는 재발기간과 관계가 없었으며 재발시의 염색강도는 재발까지의 기간과 유의한 관계가 있었다. 특히 각각의 환자에서 거세 전과 재발시 염색강도의 차이 즉 염색강도의 감소정도는 재발기간과 매우 밀접한 관계가 있었다. 이들로부터 안드로겐수용체의 발현정도로 파악할 수 있는 전립선암세포의 안드로겐 의존도는 거세 전 또는 거세 후 재발사에 한시적으로 판단하는 것보다 거세 전과 재발 후의 차이에 의해서 더욱 잘 나타날 수 있다고 생각된다. 그리고 이보다 더욱 유의하여야 할 내용은 거세 후 재발한 전립선암 세포에서도 상당한 정도의 안드로겐 수용체가 존재한다는 사실이다. 이로부터 여러가지의 추정이 가능하다. 이는 안드로겐의 작용이 없이도 어떤 요인에 의해서든지 안드로겐수용체에 대한 유전자가 발현된다는 점, 그리고 안드로겐수용체가 있지만 이는 더이상 세포의 생존에 관여하지는 않을 것이라는 점 등이다. 본 연구에서 거세한 일부의 전립선암세포에서 나타난 "halo" 소견이 안드로겐수용체의 결함을 의미하는 것인지 아니면 세포고사의 한 과정으로 나타나는 것인지는 확실하지 않다.

이상의 결과로부터 전립선암세포의 생물학적 활성도는 안드로겐수용체의 발현정도와 유관한 것으로 보이기는 하지만 이는 극히 부분적인 현상일 것으로 판단된다. 왜냐하면 거세 후 재발한 암세포 즉, 임상적으로 안드로겐 비의존성이라고 판단되는 암세포에서도 여전히 안드로겐수용체가 풍부하게 발현되며 처음 진단 시와 재발 후의 안드로겐수용체 발현 차이의 정도는 개개의 암조직에 따라 다르고 이때의 기전은 홀몬차단이라는 외인적 요인보다는 세포의 내인적 요인 즉, 신호전달이나 전사 또는 전사 후의 과정에 의한 변화라고 추정되기 때문이다.

결 론

임상적으로 안드로겐 의존성 전이성 전립선암과 홀몬치료 후에 재발한 안드로겐 비의존성 전

립선암의 안드로겐수용체 변화를 면역조직화학 염색으로 고찰한 결과, 전립선암세포의 생물학적 활성도는 안드로겐수용체의 발현과 유관한 것으로 보이기는 하지만 이는 극히 부분적인 현상일 것으로 추정된다. 왜냐하면 거세후 재발한 암세포 즉, 임상적으로 안드로겐 비의존성이라고 판단되는 암세포에서도 여전히 안드로겐수용체가 풍부하게 발현되며 처음 진단 시와 재발 후의 안드로겐수용체 발현 차이의 정도는 개개의 암조직에 따라 다르다고 판단되기 때문이다. 따라서 전립선암세포의 생물학적 활성도에 대한 홀몬작용 이외의 내인적 요인 즉, 신호전달이나 전사 또는 전사 후의 과정에 대한 추가 연구가 필요하다고 생각된다.

참 고 문 헌

1. 천 준, 고성건. 전립선 악성종양 49례에 대한 임상적 연구. 대한비뇨회지 1987; 29: 505-15.
2. 이희찬, 박영요. 전립선암 30례에 관한 임상 경험. 대한비뇨회지 1989 ;30 :502-8.
3. Murphy GP, Natarajan N, Pontes JE, Schmitz RL, Smart CR, Schmidt JD, et al. The national survey of prostate cancer in the United States by the American College of Surgeons. J Urol 1982; 127: 928-34.
4. Huggins C, Hedges CV. The effect of castration, of estrogen and of androgen injection on serum phosphatase in metastatic carcinoma of the prostate. Cancer Res 1941; 1: 293-7.
5. Walsh PC. Physiologic basis for hormonal therapy in carcinoma of the prostate. Urol Clin North Am 1975; 2: 125-40.
6. Stamey TA, Mcneal JE. Adenocarcinoma of the prostate. In: Walsh PC, Retik AB, Stamey TA, Vaughan ED Jr, editors. Campbell's Urology. 6th ed. Philadelphia: Saunders, 1992; 1159-221.
7. Trachtenberg J, Walsh PC. Correlation of prostatic nuclear androgen receptor content with duration of response and survival following hormonal therapy in advanced prostate cancer. J Urol 1982; 127: 466-71.
8. Brendler CB, Issacs JT, Follansbee AL, Walsh PC. The use of multiple variable to predict response to endocrine therapy in carcinoma of

- the prostate: A preliminary report. *J Urol* 1984; 131: 694-700.
9. Diamond DA, Barrack ER, The relationship of androgen receptor levels to androgen responsiveness in the Dunning R3327 rat prostate tumor sublines. *J Urol* 1984; 132: 821-7.
 10. Chodak GW, Kranc DM, Puy LA, Takeda H, Johnson K, Chang C. Nuclear localization of androgen receptor in heterogenous samples of normal, hyperplastic and neoplastic human prostate. *J Urol* 1992; 147: 798-803.
 11. Sadi MV, Walsh PC, Barrack ER. Immunohistochemical study of androgen receptors in metastatic prostate cancer. *Cancer* 1991; 67: 3057-64.
 12. Miyamoto KK, McSherry SA, Dent GA, Sar M, Wilson EM, French FS, et al. *J Urol* 1993; 149: 1015-9.
 13. Gleason DF, Mellinger GT, the Veterans Administration Cooperative Urological Research Group. Prediction of prognosis for prostatic adenocarcinoma by combined histological grading and clinical staging. *J Urol* 1974; 111: 58-64.
 14. Lesser B, Bruchovsky N. The effect of testosterone, 5 alpha-dihydrotestosterone, and adenosine 3', 5'-monophosphate on cell proliferation and differentiation in rat prostate. *Biochem Biophys Acta* 1973; 308: 426-37.
 15. Juniewicz PE, Hoekstra SJ, Lemp BM, Barbolt TA, Devin JA, Gauthier E, et al. Effect of combination treatment with Zanoterone (WIN 49596), a steroid androgen receptor antagonist, and Finasteride (MK-906), a steroid 5 alpha-reductase inhibitor, on the prostate and testes of Beagle dogs. *Endocrinology* 1993; 133: 904-13.
 16. Schroder FH, Westerhof M, Bosch RJLH, Kurth KH. Benign prostatic hyperplasia treated by castration or the LH-RH analogue buserelin: A report on 6 cases. *Eur Urol* 1986; 12: 318-21.
 17. Drago JR, Santen RJ, Lipton A, Worgul TJ, Harvey HA, Boucher A, et al. Clinical effect of aminoglutethimide medical adrenalectomy in the treatment of 43 patients with advanced prostatic carcinoma. *Cancer* 1984; 53: 1447-50.
 18. Crawford ED, Nabors WL. Total androgen ablation: American experience. *Urol Clin North Am* 1991; 18: 55-63.
 19. Denis L, Smith P, Carneiro de Moura JL, Newling D, Bono A, Keuppens F, et al. Total abdrogen ablation: European experience. *Urol Clin North Am* 1991; 18: 65-73.
 20. Beland G, Elhilali M, Fradet Y, Laroche B, Ramsey EW, Trachetenberg J, et al. Total ablation: Canadian experience. *Urol Clin North Am* 1991; 18: 75-82.
 21. Isaacs JT, Kyprianou N. Development of androgen independent tumor cells and their implication for the treatment of prostatic cancer. *Urol Res* 1987; 15: 133-8.
 22. Isaacs JT, Schulze H, Coffey DS. Development of androgen resistance in prostatic cancer. *Prog Clin Biol Res* 1987; 243A: 21-31.
 23. Bruchovsky N, Rennie DS, Coldman AJ, Goldenberg SL, To M, Lawson D. Effects of androgen withdrawal on teh stem cell composition of the Shionogi carcinoma. *Cancer Res* 1990; 50: 2275-82.
 24. Marcelli M, Tilley WD, Wilson CM, Griffin JE, Wilson JD, Mcphaul MF. Definition of the human androgen receptor gene structure permits the identification of mutations that cause androgen resistance. Premature termination of the receptor protein of aminoacid residue 588 causes complete androgen resistance. *Mol Endocrinol* 1990; 4: 1105-16.
 25. Ruizeveld de Winter JA, van Weerden WM, Faver PW, van Steenbrugge GJ, Trapman J, Brinkmann AO, et al. Regulation of androgen receptor expression in the human heterotransplantable prostate carcinoma PC-92. *Endocrinology* 1992; 131: 3045-50.
 26. Prins GS, Birch L. Immunohistochemical analysis of androgen receptor along the ducts of the separate rat prostate lobes after androgen withdrawal and replacement. *Endocrinology* 1993; 132: 169-78.
 27. McNeal JE. Origin and evolution of benign prostatic enlargement. *Invest Urol* 1978; 15: 340-5.
 28. McNeal JE. Normal histology of the prostate.

- Am J Surg Pathol 1989;1 2; 619-33.
29. Fentie DD, Lakey WH, McBlain WA. Applicability of nuclear antigen receptor quantification to human prostatic adenocarcinoma. J Urol 1986; 135: 167-73.
30. Benson Jr RC, Gorman PA, O'Brien PC, Holicky EL, Veneziale CM. Relationship between androgen receptor binding activity in human prostate cancer and clinical response to endocrine therapy. Cancer 1987; 59: 1599-606.
31. Van Aubel, Bolt de Vries J, Blankenstein MA, Schroder FH. Prediction of time to progression after orchectomy by the nuclear androgen receptor content from multiple biopsy
-