

위암 절제조직에서 nm23 단백질 발현의 임상적 의의

영남대학교 의과대학 일반외과학교실
송선교 · 김홍진 · 김상운

The Clinical Eelevance of nm23 Protein Expression in Resected Gastric Cancer Patient

Sun Kyo Song, Hong Jin Kim, Sang Woon Kim

*Department of Surgery
College of Medicine, Yeungnam University, Taegu, Korea*

- Abstract -

The aim of present study was to elucidate whether the expression of nm23 protein might be of clinical value as a prognostic factor in gastric cancer.

The expression of nm23 protein was analyzed using an immunohistochemical method with formalin-fixed and paraffin embedded tissue samples from 76 gastric carcinoma patients. The cytoplasmic immunoreactivity of nm23 protein were detected in 53.9% of the sample tissues(41/76). When the immunoreactivity of nm23 protein with TNM status and other histopathologic findings were compared by using Chi-Square test, nm23 was found to have correlations with lymph node metastasis($p=0.04$), a number of metastatic lymph node, and the invasion of lymphatic vessels($p=0.007$); however, it had no correlation with TNM status.

The conventional prognostic factors such as the depth of invasion, the degree of lymph node metastasis and the presence of distant metastasis, a Borrmann type, size of tumor, and the curability with operation were found to have a strong correlation with the survival time ($p<0.003$). However, the expression of nm23 protein was not significantly correlated with survival time in survival analysis.

These results showed that the expression of nm23 protein is not a useful prognostic indicator in gastric cancer.

Key Words: nm23 protein, Gastric cancer

서 론

고형암의 생성, 성장 및 전이는 여러 인자들의 복합적 작용에 의해 일어난다.

암의 생성에 관해서는 현재까지 *K-sam*, *c-erb* B₂, *c-met*, *c-myc* 및 *K-ras* 등의 암 유발 유전자 및 p53, *DCC* 및 *APC* 등의 억제 유전자들에 관한 연구 (Nishi 등, 1993)가 많이 수행되었으며 최근 연구는 *nm23* 유전자, proteolytic factors (uPA, PAI 1) 및 cell adhesion molecules (CD 44, E-cadherin) 등과 같은 암의 전이와 침윤에 관여하는 인자들 (Aznavoorian 등, 1993)에 관심이 모아지고 있다. 그중 *nm23* (non-metastatic clone #23) 유전자는 지금까지 2종류의 murine 유전자와 2종류의 인간 유전자가 밝혀져 있다. 인간의 *nm23* 유전자는 염색체 17q 21에 위치하며 (Varesco 등, 1992; Stephenson 등, 1993), 88%의 상동성 (homology)을 갖고있는 *nm23H-1*과 *nm23H-2*가 있고 (Stahl 등, 1991), 효소학적으로는 nucleoside diphosphate kinase (NDPK)의 활성화와 관련이 있는 것으로 알려져 있으나 아직 정확한 작용 및 전이억제기전은 확실하지 않다. 1988년 Steeg 등이 전이능력이 낮은 2개의 K-1735 murine melanoma 세포주에서 전이능력이 높은 5개의 K-1735 murine melanoma 세포주보다 *nm23* mRNA가 10배정도 많이 표출되는 것을 보고하였다.

nm23 유전자 발현은 여러 암종에서 전이능력과 역상관관계를 나타낸다고 알려져 있다. 유방암에서 *nm23* mRNA의 표출이 낮은 경우 예후가 나쁘고 (Bevilacqua 등, 1989; Barnes 등, 1991; Hennessy 등, 1991) 악성흑색종의 경우 표출이 낮은 경우 병의 진행과 관련이 있다고 했다 (Florens 등, 1992). 간암의 예에서도 NDPK의 활성도가 떨어진 경우 원격전이와 많음을 보여주었고 (Nakayama 등, 1992), 위암에서는 원발암의 *nm23* 단백질의 발현이 낮은 경우 림프절전이와 간전이와 많음이 부검에서 확인되어 있으며, 원발암의 *nm23* 단백질의 발현이 간전이병소의 *nm23* 단백질보다 강하게 나타남은 전이 억제 작용을 하는 것으로 이해할 수 있다 (Nakayama 등, 1993). Kodera 등 (1994)은 위암조직에서 *nm23* mRNA치가 원격전이 및 림프절 전이가 있는 경우 감

소되어 나타난다고 하였다. 그러나 폐암이나 대장암의 경우 암조직보다 정상조직에서 *nm23* 단백질이 낮게 측정됨을 보고한 연구 (Haut 등, 1991)와 neuroblastoma의 경우 악성도가 강할수록 *nm23* 단백질이 증가되어 있다는 보고 (Hailat 등, 1991) 등이 있어 *nm23* 단백질이 전이억제인자인지 위험인자인지에 대한 의견이 양분되어 있다.

위암에 있어서 *nm23* 단백질 발현이 예후인자로서의 의의는 아직 논란이 많다. 이에 저자는 암의 전이와 관련있는 *nm23* 단백질을 위암 절제조직에서 면역조직화학적 염색을 통해 확인하고 이를 병리학적 소견, 재발 및 생존과의 상관관계를 관찰하여 위암환자의 예후인자로서의 영향을 규명하고자 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

1990년 1월부터 12월까지 영남대학교 의과대학 부속병원 일반외과에서 위선암으로 확진되고 동일한 외과의사에 의해 위절제술을 받은 환자중 절제표본 포매피의 상태가 양호한 76명을 대상으로 하였으며, 임상기록과 병리조직학 보고서에 의거 대상환자의 특성 및 암의 진행정도를 확인하고, 재발, 사망 및 생존은 의무기록과 전화로 추적조사 하였다. 대상환자들은 수술후 최소한 58개월이상 추적조사하였다.

nm23 단백질의 염색은 각 증례당 종양이 가장 깊이 침윤하고, 염증이 적은 부위 중에서 형태학적으로 가장 잘 보존된 파라핀 블록 한 개를 선택하여 4 μ m 두께로 절편을 만들어 30분간 부치 (incubation) 시키고 100% xylene으로 파라핀을 제거한 후 100%, 90%, 75% 알콜 및 증류수로 재수화 (rehydration) 하였다. 3% 과산화수소수를 20분간 작용시킨 후 PBS 완충액으로 3회 세척한 다음 protein blocker (DAKO, USA)를 10분간 도포하였다. 1차 항체로 *nm23* (NCL-*nm23*/NDPK-A protein, mouse monoclonal, Novocastra Lab. Ltd)을 1:100으로 희석하여 상온에서 1시간 부치 시킨후 PBS 완충액으로 3회 세척하였다. 그 후 2차 항체인 Link antibody (LSAB kit, DAKO, USA)를 5-10분간 도포한 후 PBS 완충액으로 3회 세척하였다.

Streptoavidin LSAB kit (DAKO, USA)로 10분간 도포한 후 PBS 완충액으로 3회 세척하였다. 3% AEC (3-amino-9-ethylcarbazole, DAKO, USA)을 5-10분간 도포하여 발색하였고 10% Mayer's hematoxylin을 1분간 도포시켜 대조염색을 시행하였다. nm23 단백질의 판독은 세포질에 염색 유무에 따라 음성은 세포질에 염색되지 않는 경우, 양성인 세포질 염색이 쉽게 식별되고 명확하게 인지될 수 있는 경우로 판정하였다(그림 1).

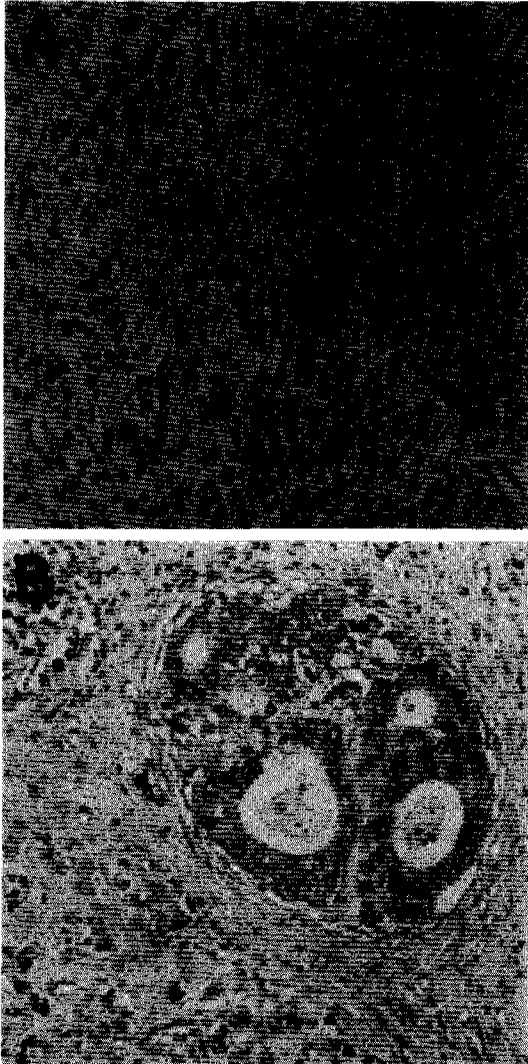


Fig. 1. Gastric carcinoma. Microphotographs of the immunohistochemical stain for nm23 show cytoplasmic reactivity (A: negative, B: positive stain)

nm23 단백질 염색의 대조군으로 매 염색시마다 양성 대조염색과 일차항체를 도포하지 않은 음성대조염색을 시행하였다. nm23 단백질 발현유무와 병리조직 및 임상 소견들과의 관계는 Chi-Square test를 이용하여 비교하였고, 기대치가 5이하인 수가 25%이상일 때 Fishers exact test를 실시하였다. 수술후 생존율은 Kaplan-Meier 방법으로 산출하고, log-rank 방법을 이용하여 각 인자들에 따른 생존율을 비교하였다. 이상의 통계분석은 SPSS/PC + window ver 6.2 프로그램을 이용하였다.

성 적

대상환자 76례중 남자 52명, 여자 24명이었고, 연령분포는 24세부터 76세 까지 다양하였으나, 그 빈도는 50대 (28례), 60대 (16례) 및 40대 (14례) 순이었다.

대상환자들의 TNM 병기 (UICC, 1987) 별 분포는 stage Ia가 14례 (18.4%), Ib가 10례 (13.2%), II가 11례 (14.5%), IIIa가 13례 (17.1%), IIIb가 17례 (22.4%) 및 stage IV가 11례 (14.5%)였다. 이중 조기위암은 18례 (23.7%)였고 진행암은 58례 (76.3%)였다. 림프절 전이가 없었던 경우 (N₀)는 27례 (35.5%), 림프절 전이가 있었던 경우 (N₁, N₂)는 49례 (64.5%)였다. 원격전이가 없었던 경우는 66례 (86.8%)였고, 원격전이가 있었던 경우는 10례 (13.2%)였다. 위암의 육안적 분류는 Borrmann I형은 없었고, II형 24례 (31.6%), III형 29례 (38.2%) 및 IV형 5례 (6.6%)였다. 위암의 조직형 (KRAGC 분류)은 고분화암 13례 (17.1%), 중분화암 12례 (15.8%), 저분화암 44례 (57.9%), 점액암 4례 (5.3%), 인환세포암 3례 (3.9%)였다. 암세포의 림프관 침습 (lymphatic invasion)이 있었던 경우는 51례 (67.1%), 없었던 경우는 25례 (32.9%)였고, 신경주위 침습 (perineural invasion)이 없었던 경우는 41례 (53.9%), 있었던 경우는 35례 (46.1%)였다. 대상환자들의 수술은 위아전절제술을 52례 (68.4%), 위전절제술을 24례 (31.6%)에서 시행했으며, 림프절 광검은 D₂+a 53례 (69.7%), D₂ 12례 (15.8%) 및 D₃ 11례 (14.5%)였다. 근처적 절

제술을 66례 (86.8%)에서 고식적 절제술을 10례 (13.2%)에서 실시했다.

1. 위암의 진행정도에 따른 nm23 단백질의 발현

대상환자 중 nm23 단백질의 양성발현율은 53.9% (41/76)였다. 이들 중 조기위암은 38.9% (7/18), 진행위암은 63.8% (37/58)에서 양성발현을 보였다. 종양의 침윤깊이에 따른 양성발현율은 T₁ 38.9% (7/18), T₂ 25.0% (3/12), T₃ 68.3% (28/41) 및 T₄ 60.0% (3/5)로 나타났다. 림프절 전이에 따른 양성발현율은 N₀ 33.3% (9/27), N₁ 60% (12/20) 및 N₂ 70% (20/29)로 전이정도가 심할수록 nm23 단백질 발현율이 높았으며 유의성이 있었다

($p < 0.05$). 전이양성 림프절의 숫자에 따른 양성발현율은 N₀ 33.3% (9/27), N₁ 64.0% (16/25) 및 N₂ 66.6% (16/24)로 나타났으며 유의성이 있었다 ($p < 0.05$). 원격전이 없이 없었던 66례의 nm23 단백질 양성발현율은 56.1% (37/66), 전이가 있었던 10례는 70% (7/10)로 원격전이군에서 높았으나 유의한 차이는 없었다. 병기별 nm23 단백질의 양성발현율은 Ia 42.8% (6/14), Ib 30% (3/10), II 18.2% (2/11), IIIa 69.2% (9/13), IIIb 82.4% (14/17) 및 IV 63.6% (7/11)로 나타났다 (표 1).

2. 위암의 육안형태, 조직형 및 조직소견에 따른 nm23 단백질의 발현

대상환자 중 조기위암을 제외한 58례의 육안적 분

Table 1. Comparison between positive immunohistoactivity of nm23 protein and TNM status of primary tumor in resected gastric cancer patients (n=76).

Variables	No. of patients	nm23 positive		P*
		No.	(%)	
Primary tumor(T)				0.03
T ₁	18	7	(38.9)	
T ₂	12	3	(25.0)	
T ₃	41	28	(68.3)	
T ₄	5	3	(60.0)	
Lymphnode metastasis(N)				0.02
N ₀	27	9	(33.3)	
N ₁	20	12	(60.0)	
N ₂	29	20	(70.0)	
No. of metastatic lymph nodes				0.03
0	27	9	(33.3)	
1-6	25	16	(64.0)	
>7	24	16	(66.6)	
Distant metastasis(M)				n.s
M ₀	66	34	(51.5)	
M ₁	10	7	(70.0)	
Stages				0.007
I _a	14	6	(42.8)	
I _b	10	3	(30.0)	
II	11	2	(18.2)	
III _a	13	9	(69.2)	
III _b	17	14	(82.4)	
IV	11	7	(63.6)	

*: $p < 0.05$, n.s.: $p > 0.05$.

Table 2. Comparison between positive immunohistoactivity of nm23 protein and histopathologic findings of primary tumor in resected gastric cancer patients (n=76).

Variables	No. of patients	nm23 positive	P*
		No. (%)	
Borrmann classification			n.s
Early cancer	18	6 (33.3)	
I	-	-	
II	24	12 (50.0)	
III	29	19 (65.5)	
IV	5	4 (80.0)	
Histologic types			n.s
Tubular well diff	13	8 (61.5)	
mod. diff	12	8 (66.7)	
poor diff.	44	24 (54.5)	
Mucinous	4	1 (25.0)	
Signet ring cell	3	0 (0)	
Lymphatic invasion			0.007
No	25	8 (32.0)	
Yes	51	33 (64.7)	
Perineural invasion			n.s
No	41	20 (48.8)	
Yes	35	21 (60.0)	

*: p<0.05. n.s.: p>0.05.

Table 3. Comparison between cancer recurrence and TNM status and gross findings of primary tumor in resected gastric cancer patients (n=76).

Variables	No. of patients	nm23 positive	P*
		No. (%)	
Primary tumor(T)			0.00004
T ₁	18	- (0)	
T ₂	12	2 (16.7)	
T ₃	41	18 (43.9)	
T ₄	5	5 (100)	
Lymphnode metastasis(N)			0.0006
N ₀	27	4 (14.8)	
N ₁	20	4 (20.0)	
N ₂	29	17 (58.6)	
Distant metastasis(M)			0.00001
M ₀	66	15 (22.7)	
M ₁	10	10 (100)	
Borrmann classification			0.0003
Early cancer	18	1 (5.6)	
I	-	- (0)	
II	24	5 (20.8)	
III	29	15 (51.7)	
IV	5	4 (80.0)	
Tumor size(cm)			0.01
< 1.0	10	- (0)	
1.1 - 3.0	23	5 (21.7)	
3.1 - 6.0	21	8 (38.1)	
> 6.1	22	12 (54.5)	

*: p<0.05.

Table 4. Comparison between cancer recurrence and the histopathologic criteria of primary tumor and operative procedures in resected gastric cancer patients (n=76).

Variables	No. of patients	nm23 positive	P*
		No. (%)	
nm23 protein			n.s.
negative	35	12 (34.3)	
positive	41	13 (31.7)	
Histologic types			0.03
tubular well diff.	13	2 (15.4)	
mod. diff.	12	(0)	
Poor. diff.	44	20 (45.5)	
mucinous	4	3 (75.0)	
signet ring cell	3	(0)	
No. of metastatic lymph node			0.00005
0	27	4 (14.8)	
1-6	25	5 (20.0)	
> 7	24	16 (66.7)	
Lymphatic invasion			0.01
No	25	4 (16.0)	
Yes	51	21 (41.2)	
Perineural invasion			0.00001
No	41	4 (9.8)	
Yes	35	21 (60.0)	
Curability			0.00001
curative resection	66	15 (22.7)	
palliative resection	10	10 (100)	
Lymph node dissection			n.s.
D ₂	12	4 (33.3)	
D ₂ +a	53	15 (28.3)	
D ₃	11	6 (54.5)	
Type of operation			n.s.
total gastrectomy	24	12 (50.0)	
subtotal gastrectomy	52	13 (25.0)	

*: p<0.05, n.s.: p>0.05.

Table 5. Survival assessed by univariate analysis in resected gastric cancer patients (n=76).

Variables	Category	P*
Primary tumor(T)	T ₁ , T ₂ , T ₃ , T ₄	0.0000
Lymph node(N)	N ₀ , N ₁ , N ₂	0.0001
Distant metastasis(M)	M ₀ , M ₁	0.0000
No. of metastatic lymph nodes	0, 1-6, >7	0.0001
Borrmann type	EGC, II, III, IV	0.0000
Lymph node dissection	D ₂ , D ₂ +a, D ₃	n.s.
Lymphatic invasion	No, Yes	0.0049
Perineural invasion	No, Yes	0.0000
Tumor size	0, 1, 2, 3	0.0003
Age	2, 3, 4, 5, 6, 7	n.s.
Curability	Curative, Palliative	0.0000
Histologic type	w, m, p, mu, sig	0.0122
Type of operation	Total, Subtotal	0.0032
nm23 protein	-, +	n.s.

*: p<0.05, n.s.: not significant.

류상 Borrmann II형에서 50.0% (12/24), Borrmann III형에서 65.5% (19/29), Borrmann IV형에서 80% (4/5)의 nm23 단백질 양성발현율이 나타났으나 유의한 차이가 없었다. 위암 조직의 분화도에 따라서 고분화 암에서 61.5% (8/13), 중분화 암에서 66.7% (8/12), 저분화 암에서 54.5% (24/44), 점액암에서 25.0% (1/4)의 양성발현율을 보였고, 인형성 세포암에서는 양성발현 레가 없었으며 유의한 차이가 없었다. 암세포의 림프관 침습 유무에 따른 nm23 단백질의 양성발현율은 림프관 침습이 없었던 경우 32.0% (8/25), 림프관 침습이 있었던 경우 64.7% (33/51)였으며 유의한 차이가 있었다 ($p < 0.05$).

암세포의 신경주위 침습 유무에 따른 nm23 단백질의 양성발현율은 침습이 없었던 경우 48.8% (20/41), 침습이 있었던 경우 60.0% (21/35)였으나 유의한 차이가 없었다 (표 2).

3. nm23 단백질 양성발현 유무에 따른 암재발 및 생존율

대상 환자들의 수술 후 암재발율은 32.9% (25/76)였으며, 암재발은 암의 위벽 침윤도, 림프절 전이, 전이 림프절의 수, 암의 육안적 형태, 암의 크기, 림프관 및 신경주위 침습 등과 유의한 관련성이 있었다 (표 3, 4).

nm23 단백질의 경우 양성발현이 없었던 35례중 12례 (34.2%), 양성발현이 있었던 41례중 13례 (31.7%)에서 암재발을 보여 비슷한 재발율을 보였다.

전체 대상환자 76명의 수술 후 평균 5년 생존율은

61.8%였고, 병기별로는 Stage Ia 100.0%, Ib 80.0%, II 72.7%, IIIa 53.9%, IIIb 52.9% 및 Stage IV 9.1%로 병기가 높을수록 생존율이 낮았으며 유의한 차이가 있었다 ($P < 0.0000$).

생존율은 암의 위벽 침윤도, 림프절 전이, 원격전이, 전이 림프절의 수, 육안형태, 림프관 및 신경주위 침습, 암의 크기, 수술근치도, 조직형태 및 위절제 형태와 유의한 상관관계가 있었다 (표 5).

그러나 nm23 단백질의 발현유무와 생존율의 비교에서 nm23 음성 발현군의 5년 생존율은 60.0%, nm23 양성 발현군의 5년 생존율은 63.4%로 유의한 차이는 없었다 (그림 2, 표 5).

고 찰

종양의 전이는 여러가지 서로 다른 기전에 의해서 조절되는 매우 선택적인 과정으로 원발성 종양은 여러가지 정도의 전이 특성을 갖는 세포들의 집단으로 면역, 림프계 및 혈류를 포함하여 숙주의 여러 인자들과 종양세포의 상호작용에 의해서 종합적으로 결정된다 (Frdler, 1990). nm23 (nonmetastatic clone #23) 은 Steeg 등 (1988)에 의해 기술된 유전자로 암조직에서 표출유무가 종양의 전이 가능성과 관련된다고 알려져 있다. 즉 전이가능성이 적은 종양세포가 전이성이 높은 종양세포에 비해 nm23 mRNA치가 유의있게 증가하고, 종양세포자체의 악성도와도 관련이 있다고 하였다. Barnes 등 (1991)은 nm23 단백질의 면역조직화학적 염색에서 정상조직이 암조직보다 진하게 염색되며 주로 세포질이나 핵주위에 염색된다고 하였다. 이들은 39례의 침습성 유방암조직중 59-64%는 세포질에 약하게 염색되고 나머지는 강하게 염색된다고 하였으며 염색정도가 약할수록 림프절 전이가 잘 일어난다고 보고하였다. 그러나 Parker 등 (1992)은 B-15 murine melanoma cell에서 nm23 단백질이 종양내에 많을수록 전이능력이 높다고 보고하였고, Morris 등 (1993)도 murine D₂ hyperplastic alveolar nodule mammary tumor cell line에서 Parker 등과 같은 내용을 보고 하였다. 또한 Haut 등 (1991)은 폐암이나 대장암의 경우 암조직보다 정상상피세포에서 nm23 단백질이 낮게

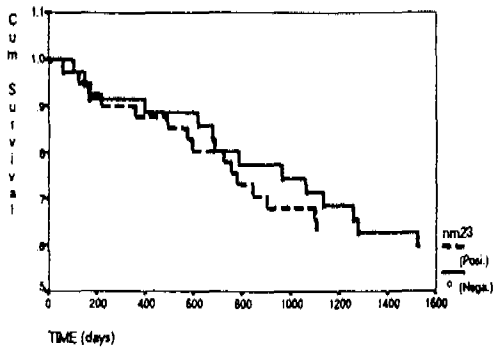


Fig. 2. Kaplan-Meier survival curves in patients with gastric cancer respect to presence of nm23 protein expression ($P > 0.05$).

측정됨을 보고하였고 Hailat 등 (1991)도 neuroblastoma의 경우 악성일수록 nm23 단백질이 증가되어 나타난다고 보고하였다. 이러한 nm23 단백질의 작용에 대한 상반된 견해에 대해 Leone 등 (1993)은 neuroblastoma의 악성도가 강할수록 nm23 gene이 감소되는 것이 아니고 변형되는 것이 아님이라고 설명하였다. 위암의 nm23 단백질에 관한 Kodera 등 (1994)의 보고에서 nm23 mRNA치는 종양의 위벽침윤이 깊은 경우, 림프절 전이가 있는 경우, 간이나 폐 등의 원격전이가 있는 경우 세포의 분화도가 나쁠수록 감소되어 나타난다고 보고하였다. 본 연구의 경우 이와는 반대로 조기암보다는 진행암에서 림프절 전이가 있는 경우, 암세포의 림프관 침습 및 신경주위 침습이 있는 경우 nm23 단백질이 높게 발현되었다. 그러나 종양의 침윤 깊이나 병기, 원격전이 유무와 nm23 단백질의 발현과는 무관하였다. 또한 Kodera 등 (1994)은 nm23 단백질과 생존의 비교검토에서 nm23 단백질 발현이 낮은 경우 생존기간이 짧은 것을 보고하였으나 본 연구의 경우 nm23 단백질 발현유무와 생존과는 관계가 없었다. 본 연구에서 nm23 단백질 발현과 재발의 관계를 알기위해 실시한 분석에서도 유의한 결과를 얻지못해 관련이 없는 것으로 나타났다.

nm23 단백질도 보고자에 따라서 그리고 암의 종류에 따라 전이 억제능력에 대한 견해가 상이함으로 정확한 작용기전에 대해서는 앞으로 더욱 많은 대상을 이용한 연구분석이 필요할 것으로 사료된다.

요 약

위암환자에서 nm23 단백질이 예후인자로서의 영향을 규명하기 위해 위절제술로 얻어진 76명의 원발암 조직에 대해서 nm23 단백질의 단세포군 항체를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시한 결과 nm23 단백질의 양성발현율은 53.9% (23/76)였다. 병리조직학적 소견들과의 비교에서 nm23 단백질의 양성발현율은 조기암보다 진행암에서, 림프절 전이 양성군에서, 그리고 암세포의 림프관 침습이 있을 때 높게 나타났으며 유의한 차이가 있었다. nm23 단백질의 발현유무가 재발과 관련이 있는지에 대한 분

석 결과 재발율에서 차이가 없었다. nm23 단백질 발현 유무가 생존기간에 영향을 끼치는가에 대한 단변량 분석결과 생존과 관련이 없는 것으로 나타났다. 이상의 결과로 nm23 단백질의 양성발현 여부를 예후인자로 사용하기는 어려울 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- Aznavoorian S, Murphy AN, Stetlerstevenson WG, Liotta LA: Molecular aspects of tumor cell invasion and metastasis. *Cancer* 71: 1368-1383, 1993.
- Barnes R, Masood S, Barker E, Rosengard AM, Coggin DL, Crowell T, King CR, et al.: Low nm23 protein expression in infiltrating ductal breast carcinomas correlates with reduced patient survival. *Am J Pathol* 139: 245-250, 1991.
- Bevilacqua G, Sobel ME, Liotta LA, Steeg PS: Association of low nm23 RNA levels in human primary infiltrating ductal breast carcinomas with lymph node involvement and other histopathological indicators of high metastatic potential. *Cancer Res* 49: 5185-5190, 1989.
- Fidler IJ: Critical factors in the biology of human cancer metastasis. *Cancer Res* 50: 6130-6138, 1990.
- Florenes VA, Aamdal S, Myklebost O, Maelandsmo GM, Bruland OS, Fodstad O: Levels of nm23 messenger RNA in metastatic malignant melanomas: inverse correlation to disease progression. *Cancer Res* 52: 6088-6091, 1992.
- Hailat N, Keim DR, Melhem RF, Zhu XX, Eckerskorn C, Brodeur GM, Reynolds CP, et al.: High levels of p19/nm23 protein in neuroblastoma are associated with advanced disease and N-myc gene amplification. *J Clin Invest* 88: 341-345, 1991.
- Haut M, Steeg PS, Wilson JK, Markowitz SD: Induction of nm23 gene expression in human colonic neoplasms and equal expression in

- colon tumors of high and low metastatic potential. *J Natl Cancer Inst* 83: 712-716, 1991.
- Hennessey C, Henry JA, May FE, Westley BR, Angus B, Lennard TW: Expression of the antimetastatic gene nm23 in human breast cancer: an association with good prognosis. *J Natl Cancer Inst* 83: 281-285, 1991.
- Kodera Y, Isobe K, Yamauchi M, Kondo K, Kimura N, Akiyama S, Itoh K, et al.: Expression of nm23 H-1 RNA levels in human gastric cancer tissues. A negative correlation with nodal metastasis. *Cancer* 73: 259-265, 1994.
- Leone A, Seeger RC, Hong CM, Hu YY, Arboleda M, Brodeur G, Stram D, et al.: Evidence for nm23 RNA over expression, DNA amplification and mutation in aggressive childhood neuroblastomas. *Oncogene* 8: 855-865, 1993.
- Morris VL, Tuck AB, Wilson SM, Percy D, Chambers AF: Tumor progression and metastasis in murine D2 hyperplastic alveolar nodule mammary tumor cell lines. *Clin Exp Metastasis* 11: 103-112, 1993.
- Nakayama H, Yasui W, Yokoxaki H, Tahara E: Reduced expression of nm23 is associated with metastasis of human gastric carcinomas. *Jpn J Cancer Res* 84: 184-190, 1993.
- Nakayama T, Ohtsuru A, Nakao K, Shima M, Nakata K, Watanabe K, Ishii N, et al.: Expression in human hepatocellular carcinoma of nucleoside diphosphate kinase, a homologue of the nm23 gene product. *J Natl Cancer Inst* 84: 1349-1354, 1992.
- Nishi M, Ichikawa H, Nakajima T, Maruyama K, Tahara E(Eds): *Gastric cancer*. Springer-Verlag, Tokyo, 1993, pp 196-217.
- Parker C, Whittar PA, Weeks RJ: Modulators of intracellular Ca²⁺ and the calmodulin inhibitor W-7 alter the expression of metastasis-associated genes MTS1 and nm23 in metastatic variants of the B16 murine melanoma. *Melanoma-Res* 2(5-6): 337-343, 1992.
- Stahl JA, Leone A, Rosengard AM, Porter L, King, R, Steeg PS: Identification of a second human nm23 gene, nm23-H2. *Cancer Res* 51: 445-449, 1991.
- Steeg PS, Bevilacqua G, Kopper L, Thorgerirsson UP, Talmadge JE, Liotta LA, Sobel ME: Evidence of a novel gene associated with low tumor metastatic potential. *J Natl Cancer Inst* 80: 200-204, 1988.
- Stephenson TJ, Royds JA, Bleeher SS, Silcocks PB, Rees RC: Anti-metastatic nm23 gene product expression in keratoacanthoma and squamous cell carcinoma. *Dermatology* 187: 95-99, 1993.
- Varesco L, Caligon MA, Simi P, Black DM, Nardini V, Casarino L, Rocchi M, et al.: The NM23 gene maps to human chromosome band 17q22 and shows a restriction fragment length polymorphism with Bgl II. *Genes Chromosomes Cancer* 4: 84-88, 1992.