

위암조직에서 p53 유전자의 돌연변이

경북대학교병원 외과, ¹병리과

구기범 · 박성훈 · 정호영 · 유완식 · 이명훈¹

목적: 종양 억제, 세포 주기 조절 및 세포 고사의 기능과 연관 있는 유전자인 p53은 인간 종양에서 가장 흔히 발견되는 돌연변이 유전자로 알려져 있다. 위암에 있어서 p53의 돌연변이 정도와 생존율 등을 비교하여 각각의 상관관계와 예후 인자로서의 유용성에 대해 알아보고자 하였다.

방법: 1999년 3월부터 2001년 4월까지 경북대학교병원에서 위암으로 수술한 331명 환자의 조직을 이용하여, polymerase chain reaction single-strand conformation polymorphism 방법으로 p53 돌연변이를 확인하고, 환자의 임상 병리학적 인자와의 관계를 비교하였고, 환자의 생존율을 비교하였다.

결과: 전체 331명의 환자들의 조직 중 66예(19.9%)의 조직에서 p53 돌연변이가 관찰되었다. 이들 66예 중에서 exon 5에서 23예, exon 6에서 8예, exon 7에서 21예, exon 8에서 17예의 돌연변이를 보였는데, 이중 3예에서 2개의 exon에 돌연변이(exon 5와 exon 6, exon 6과 exon 7, exon 6과 exon 8)를 보였다. p53 돌연변이는 나이와 성별, 육안형, 병리학적 병기, 조직학적 분류, 종양의 위치에 따라서 차이는 없었으나, 장형 156예 중 36예(23.1%), 미만형 145예 중 19예(13.1%)로 유의한 차이가 있었고(P=0.007), p53 돌연변이에 따른 생존기간은 유의한 차이가 없었다(P=0.632). Exon 5는 장형(9.7%)에서 미만형(2.8%)보다 p53 돌연변이 빈도가 높았고(P=0.024), 림프절 전이가 있는 군에서 림프절 전이가 없는 군보다 p53 돌연변이의 빈도가 유의하게 높았다(25.0% vs 15.6%, P=0.034). 나머지 항목에서는 통계학적으로 유의한 차이가 없었다. 근치적 절제술을 시행한 예에서의 p53 돌연변이에 따른 생존율은 유의한 차이를 보이지 않았다(P=0.704).

결론: p53 돌연변이는 위암 환자의 예후인자로서 가치가 충분하지 않다.

중심 단어: 위암, p53 돌연변이, Polymerase chain reaction single-strand conformation polymorphism, 예후인자

책임저자: 유완식, 대구광역시 중구 삼덕동 2가 50
경북대학교병원 외과, 700-712
Tel: 053-420-5616, Fax: 053-421-0510
E-mail: wyu@knu.ac.kr

접수일: 2006년 7월 3일, 게재승인일: 2006년 9월 21일
2005년 대한 외과학회 추계종합학술대회 포스터 전시되었음.

서 론

p53은 guardian of the genome으로 인식되어 있는 17p13에 위치하고 있는 20 kb 크기의 유전자로 11개의 exon을 포함하고, 53 kD의 인산단백질을 생산하며 종양 억제, 세포 주기 조절 및 세포 고사의 기능에 관여하는 유전자로 사람의 종양에서 가장 흔히 발견되는 돌연변이 유전자로 알려져 있다.(1,2) 야생형의 p53 단백질은 DNA 손상에 반응하여 세포주기의 G1/S기에서 성장 중지를 유발시킴으로써 비정상 유전자를 가진 세포의 증식을 방지한다. p53의 기능 소실은 돌연변이, bi-allelic gene deletion으로 인한 p53 단백질의 소실, genetic polymorphism으로 인해 다른 종류의 단백질 합성되어 유발되며, 손상 받은 DNA를 가진 세포가 계속 증식하고 이로 인해 종양이 진행된다.(1)

p53 돌연 변이는 다수 사람의 종양에서 발견되는데, 대장암, 유방암, 담낭암, 담도암, 식도암, 위암 등에서 발견된다.(2) 대장암에서는 p53 단백질 양성은 종양 발생 위치와 직장에서의 종양 발생 및 케양 형성 종양과 관련이 있다고 하며,(3) 대장암에서는 p53 돌연변이가 발생된 경우는 5년 생존율이 낮다.(4) 유방암에서는 pT2 이상, pN1 이상, ER/PR 음성, erbB-2 유전자 증폭이 있는 경우, 관침윤성 조직형 등에서 많이 발견되고,(5,6) 유방암에서는 산발성 유방암보다 가족성 유방암에서 돌연변이가 많으며, 예후도 좋지 않다고 한다.(7,8) 폐암에서는 낮은 5년 생존율을 보이며,(9) 담낭암에서는 p53 돌연변이가 없으면 수술 후 항암화학요법에 좋은 반응을 보여 생존율을 증가시키며,(10) 일차성 경화성 담도염에서 발생하는 담도암에서는 p53 돌연변이가 있는 경우는 담도염에서 담도암으로의 진행기간이 짧으며 생존 역시 단축된다.(11) 식도암에서 p53 유전자 돌연변이는 좀더 젊은 환자와 진행된 종양에서 나타나며 역시 나쁜 예후를 보인다고 한다.(12)

위암에서는 단변량 분석에서는 양성인 경우의 생존율이 유의하게 낮았으나 다변량 분석에서는 독립적인 예후인자가 아니었다는 보고도 있으나,(13,14) 진행위암의 경우,(15) 림프절 전이가 없는 경우,(16) 장형 위암(17)에서는 독립적 예후인자라는 보고도 있어서 일치된 견해를 보이지 않고

Table 1. The oligonucleotide primers used to amplify the exons 5~8 of p53 gene

Exon		Size (bp)	Sequence	Amplification range (GeneBank No. AY838896)
Exon5	Forward	196	CTCTTCTACAGTACTCC	14332~14527
	Reverse		CATCGCTATCTGAGCAGCGC	
Exon6	Forward	181	GCCTCTGATTCTCACTGAT	14580~14760
	Reverse		TTAACCCCTCTCCAGAGA	
Exon7	Forward	177	AGGCGCACTGGCCTCATCTT	15250~15426
	Reverse		TGTGCAGGGTGGCAAGTGGC	
Exon8	Forward	87	TGGTAATCTACTGGGACGGA	15743~15829
	Reverse		CGGAGATTCTTCTCTGT	

있다. 이에 위암조직에서 p53의 exon 5~8까지의 돌연변이를 polymerase chain reaction-single strand conformational polymorphism (PCR-SSCP) 방법으로 검색하고 이 유전자의 돌연변이와 임상 병리학적 지표 및 예후와의 관계를 밝히고자 하였다.

재료 및 방법

1) 환자

1999년 3월부터 2001년 4월까지 경북대학교병원 외과에서 위암으로 수술 받은 331명의 환자를 대상으로 하였다. 전체 환자는 남자 212명, 여자 119명이며, 연령은 중앙 연령 60세(평균 57.7세)로 26세에서 87세까지의 분포를 보였다. 병기별로는 IA기 105명, IB기 70명, II기 81명, IIIA기 33명, IIIB기 15명, IV기 27명이었으며, 중앙 추적 기간은 4.05년이었다. 추적 기간 중 사망환자는 73명이었으며, 그중 위암으로 인한 사망은 57명(78.1%)이었다. 전체 환자 중 315명이 근치적 절제술을 시행 받았다. 근치적 절제술은 원격전이 없는 환자에서 종양에 대한 R0 절제를 포함한 D2 이상의 림프절 광청술을 포함한 수술을 시행 받은 경우로 정의하였다.

2) 유전체 DNA의 추출

위암 조직 파라핀 블록을 7 μ m의 두께로 잘라서 슬라이드에 부착시키고, 탈파라핀 과정을 거쳤다. 마이크로톰을 사용하기 전에 75% 알코올로 철저히 닦고, 일회용 박절용 칼날을 매 시료마다 바꿔가면서 사용함으로써 오염에 주의하였다. 헤마톡실린 에오진 염색을 한 위암조직 슬라이드를 현미경하에서 11번 날을 부착한 수술용 메스를 이용하여 종양세포가 아닌 것은 미세 절제술로 제거하였고, 15번 날로써 위암조직만 긁어내어서 DNA 추출 buffer (10 mM Tris-HCl, pH 8.0, 5 mM EDTA, 0.5% SDS, 500 μ g/ml proteinase K) 25 μ l에 넣고 55°C에서 48시간 동안 항온 반응시

켜 충분히 조직을 용해시켰다. 대조군으로는 절제면의 점막 부위를 선택하였다. 반응이 끝난 다음 100°C에 5분간 두어 proteinase K를 불활성화하고, 6,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 얻어진 상층액을 새 tube로 옮겼다.

3) PCR Analysis

돌연변이는 주로 exon 5, exon 6, exon 7, exon 8에서 발견되며 나머지 exon의 돌연변이는 드문 것으로 알려져 있으므로, (18) 본 연구에서는 exon 5 (codon 126~186), exon 6 (codon 187~224), exon 7 (codon 225~261), exon 8 (codon 262~306)로 나누어 증폭하도록 Table 1과 같이 primer의 염기서열을 고안하였다. 유전체 DNA 추출액을 template로 p53의 exon 5, 6, 7, 8의 증폭과정에 이용하였다. Perkin-Elmer 9600 (Perkin-Elmer, USA)을 이용하여 exon 5는 95°C에서 10분간 초기 변성과정을 거친 다음, 94°C 30초, 57°C 30초, 72°C 30초의 과정을 40회 반복하고, 72°C에서 10분간 post-elongation 과정을 거쳤다. Exon 6은 62°C, exon 7과 8은 63°C에서 불림 과정을 수행한다는 점 외에는 동일한 조건을 사용하였다. 증합효소 연쇄반응을 위해 Taq polymerase, dNTP, PCR 반응액 등이 미리 첨가되어 있는 premix (Bio-ner, USA)를 사용하였으며, 10 pmol의 primer와 DNA 시료 및 증류수를 각각 첨가하여 총 반응부피를 20 μ l로 맞추었다.

4) SSCP

증합효소 연쇄반응을 통해 얻어진 산물 3 μ l와 loading buffer (95% formamide, 20 mM EDTA, 0.05% xylene cyanol, 0.05% bromophenol blue) 6 μ l를 섞은 다음 끓는 물에 5분간 두어 변성을 유도하였다. 변성과정이 끝나면 즉시 얼음에 두어 single-stranded DNA의 형성이 유지될 수 있도록 하였다. Exon 5, 7과 8은 15% polyacrylamide gel에서 exon 6은 10% polyacrylamide gel에서 각각 전기영동을 하였으며, 냉각순환장치로 10°C의 온도를 유지하여 DNA의 입체형태가

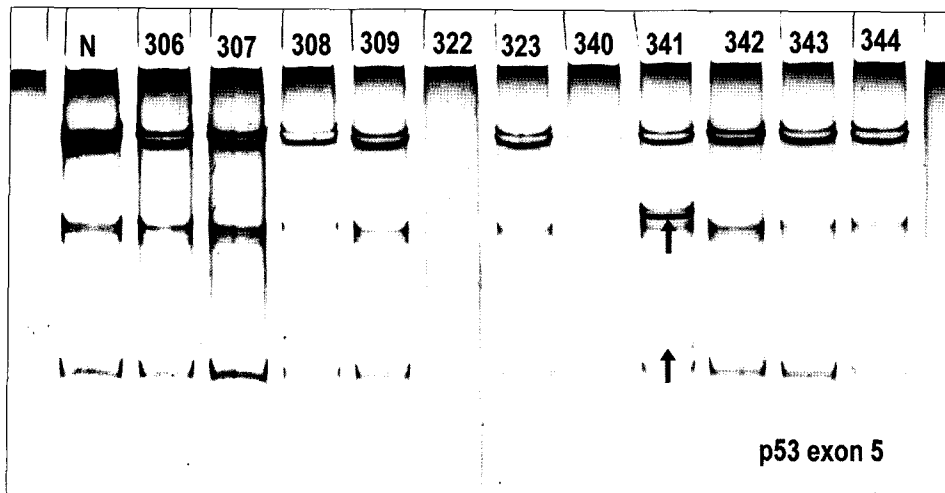


Fig. 1. Electroporesis shows abnormal band as a result of *p53* gene mutation at the exon 5 of No. 341 specimen.

유지되도록 하였다. 전기영동이 끝난 gel을 10% acetic acid에 넣고 30분간 흔들면서 고정시킨 다음 삼차 증류수로 3회 씻었다. 0.5% silver nitrate 용액에서 30분간 염색한 다음 삼차 증류수로 간단히 씻은 후 3% sodium carbonate 용액에 넣어 발색을 유도하였으며 적절히 발색되었을 때 10% acetic acid를 넣어 발색을 중단시켰다. 각 환자의 정상 조직을 야생형의 대조군으로 사용하였을 때 만들어진 band와 서로 비교하여 비정상적인 band가 있을 때를 *p53*의 해당 exon에 변이가 있는 것으로 하고 양성으로 판정하였다.

5) 비교항목

*p53*의 돌연변이 여부와 환자의 나이, 성별, 침윤깊이, 림프절 전이 정도, 원격전이 유무, 병기, 종양의 위치, 육안형, Lauren 분류, 조직학적 분화도와와의 관계를 비교하였고, 환자의 생존율을 비교하였다.

6) 통계학적 분석

임상 및 병리학적인 인자에 따른 양성률의 비교는 chi-square test 혹은 Fisher's exact test를 이용하였다. 수술 후의 생존율은 Kaplan-Meier 방법으로 계산하여 log-rank 방법으로 비교하였다. *p*값이 0.05 이하를 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

Exon 5는 23예, exon 6은 8예, exon 7은 21예, exon 8은 17예에서 돌연변이를 보였으며, 이중 3예는 2개의 exon (exon 5와 exon 6, exon 6과 exon 7, exon 6과 exon 8)에서 돌연변이를 보여, 331예 중 66예(19.9%)에서 돌연변이를 확인하였다(Fig. 1).

Table 2에서는 *p53* 돌연변이의 임상 및 병리학적인 요소들에 따른 차이를 보여주고 있다. *p53* 돌연변이 빈도는 Lauren 조직형 중 미만형이나 혼합형보다 장형에서 유의하게 높았

으며($P=0.007$), 림프절 전이가 있는 군에서 림프절 전이가 없는 군보다 *p53* 돌연변이의 빈도가 유의하게 높았다(25.0% vs 15.6%, $P=0.034$). 나이, 성별, 종양의 위치, 침윤깊이, 림프절 전이 정도, 원격전이 유무, 분화도에 따른 빈도는 유의한 차이를 보이지 않았다.

Exon 5, 6, 7, 8 돌연변이와 각 항목 간의 상관관계는 exon 5에서 장형(9.7%)에서 미만형(2.8%)보다 *p53* 돌연변이 빈도가 높았고($P=0.024$), 나머지 항목에서는 통계학적으로 유의한 차이가 없었다. 근치적 절제술을 시행한 예에서의 *p53* 돌연변이는 나이, 성별, 종양의 위치, TNM category, 분화도와는 유의한 차이를 보이지 않았으며, Lauren 조직형 중 장형에서 유의한 차이를 보이면서 많이 발견되었다 ($P=0.022$).

전체 331명 환자의 5년 생존율은 76.2%였으며, *p53* 돌연변이가 있는 군과 없는 군에서의 5년 생존율 비교는 *p53* 돌연변이 없는 군에서 75.8% vs 있는 군 81.4%로 통계학적으로 유의한 차이는 아니었으며($P=0.272$), exon 5 (75.7% vs 82.6%, $P=0.562$), exon 6 (76.2% vs 75.0%, $P=0.757$), exon 7 (75.9% vs 78.7%, $P=0.817$), exon 8 (75.8% vs 78.6%, $P=0.298$) 역시 5년 생존율에 있어서는 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.

근치적 절제술을 받은 315명의 5년 생존율은 79.2%였다. 315명의 근치적 절제술을 시행 받은 환자들 중 *p53* 돌연변이가 없는 환자군의 5년 생존율은 78.8%였으며, 돌연변이가 있는 환자군의 5년 생존율은 81.0%로 통계적으로 유의한 차이는 아니었다($P=0.704$; Fig. 2). 근치적 절제술을 시행 받은 315명의 환자를 각각 Lauren 조직형의 각 유형(장형, 혼합형, 미만형)별로 *p53* 돌연변이 유무에 따른 5년 생존율의 비교에서 장형 (90.1% vs. 87.5%; $P=0.719$), 혼합형 (78.2% vs. 58.3%; $P=0.461$), 미만형 (68.1% vs. 78.3%; $P=0.476$)으로 통계학적으로 유의한 차이는 없었다.

Table 2. Correlation between p53 mutation and clinico-pathologic factors

	p53 (-) (%)	p53 (+) (%)	P-value
Age			0.604
<65	190 (71.7)	45 (68.2)	
≥ 65	75 (28.3)	21 (31.8)	
Sex			0.595
Male	167 (63.1)	44 (66.7)	
Female	98 (36.9)	22 (33.3)	
Location (n=313)			0.067
Lower 1/3	134 (53.4)	31 (50.0)	
Middle 1/3	70 (27.8)	26 (41.9)	
Upper 1/3	44 (17.5)	4 (6.5)	
Whole	3 (1.3)	1 (1.6)	
Depth of invasion (n=327)			0.706
pT1	103 (39.3)	21 (32.3)	
pT2	108 (41.2)	29 (44.6)	
pT3	49 (18.7)	15 (23.1)	
pT4	2 (0.8)	0 (0.0)	
Lymph node metastasis (n=330)			0.053
pN0	151 (57.2)	28 (42.4)	
pN1	69 (26.1)	29 (43.9)	
pN2	28 (10.6)	6 (9.1)	
pN3	16 (6.1)	3 (4.6)	
Distant metastasis (n=331)			0.182
M0	258 (97.4)	66 (100.0)	
M1	7 (2.6)	0 (0.0)	
Stage			0.266
Ia	87 (32.8)	18 (27.3)	
Ib	59 (22.3)	11 (16.7)	
II	61 (23.0)	20 (30.3)	
IIIa	22 (8.3)	11 (16.7)	
IIIb	12 (9.1)	3 (4.5)	
IV	24 (9.1)	3 (4.5)	
Differentiation (n=312)			0.106
Differentiated	120 (48.0)	37 (59.7)	
Undifferentiated	130 (52.0)	25 (40.3)	
Lauren Type			0.007
Intestinal	120 (45.3)	36 (54.5)	
Mixed	19 (7.2)	11 (16.7)	
Diffuse	126 (47.5)	19 (28.8)	

고 찰

p53의 돌연변이의 비율은 DNA sequencing을 시행하지 않은 PCR-SSCP를 단독으로 시행할 경우 8~36% 정도의 빈도를 나타내는 것으로 알려져 있고, (1) 본 연구에서도 19.9%의 빈도를 보였다. 하지만 면역조직화학적 염색법에서는

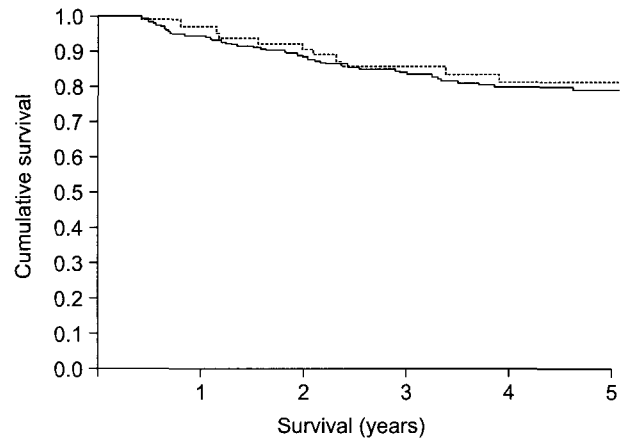


Fig. 2. Survival distributions of patients according to p53 mutational status: solid line, patients without p53 mutation; broken line, patients with p53 mutation; P=0.704.

17~60% 정도로 PCR-SSCP보다 높은 변이빈도를 보인다고 하였다.(1) 위암에서 나이와 위치에 대한 p53 돌연변이에 관해서는 Rugge 등은 위암에서 발견되는 p53 돌연변이는 원위부 위암에서 주로 나타나며, 암의 표현형은 주로 장형이라고 하고, 반면 40세 이하의 저연령군에서는 p53 돌연변이의 발생 빈도가 낮으며, 이런 환자군에서 종양의 위치가 분문부인 상부에 호발하는 경향이 있지만 장형과 미만형의 차이는 없다고 하였다.(19) p53 단백질의 발현은 위암의 분화도에 따라 발현하는 시점의 차이를 보이며 진행위암에서는 미만형과 장형의 차이가 없지만, 조기의 위암에서는 미만형 보다 장형에서 더 많은 발현을 보인다고 하며, p53 단백질의 발현은 조기의 미만형 위암에서는 드물지만, 종양이 진행할수록 점점 발현이 증가한다고 한다.(20) 그러나 Monig 등의 발표에서는 p53 단백질의 발현이 Lauren 조직형과는 통계학적 차이가 없다고 하며 종양의 위치에 있어서 상부에 호발하는 경향을 보인다고 한다.(21)

p53 단백질의 과발현이 종양의 발생과 진행에 있어서 두 조직형 간에서 다른 역할을 할 것 이라는 보고도 있으며, 이는 장형보다 미만형의 위암에서 더 나쁜 예후를 나타내는 예후 인자라고 한다.(20) p53 단백질의 과발현이 있는 경우에 종양은 미분화암의 경우가 많으며, 침윤형의 성장 양상을 보이고, 림프절 전이도 빈번하다고 한다.(22) 단변량 및 다변량 분석에서 위암에 있어서 p53 단백질의 과발현이 있는 경우 원격전이와 림프절 전이의 위험이 증가하였으며, p53 단백질의 발현이 없는 군에서 유의한 차이를 보이며 R0 절제가 가능하다고 하여, 이로 인해 p53 단백질의 과발현이 있는 위암에서 생존율이 매우 저조하다고 하였다.(21)

p53 단백질 표현의 다양한 결과와 p53 돌연변이를 사용한 논문의 차이를 보이는 것은 돌연변이 p53 유전형에서 야생형의 세포를 구분해내기 위한 기술적인 문제와 확정 범

위의 정의를 결정하는 문제, SSCP 시료채취와 분석 또는 해석에서 착오, 분석된 exon 5~8 이외의 다른 부분에서 돌연변이가 발생한 경우, 그리고 구조적 변성이 있는 야생형 단백질의 비정상적 축적 등의 경우도 고려해야 할 것이다.(23,24)

본 연구에서는 장형과 미만형 간의 차이는 장형에서 p53 돌연변이의 출현 빈도가 유의한 차이를 보였으며, 이는 이전의 논문에서와 같이 위암에 있어서 비교적 이른 병기라고 할 수 있는 IA기, IB기, II기에 해당하는 조직이 331예 중 251예를 차지하였기 때문으로 생각되며, N category는 유의한 차이를 보이지 않았지만, 림프절 전이가 있는 군과 없는 군의 비교에서는 통계적으로 유의한 차이를 보이며 낮았다. 이외에 T, M category와 5년 생존율을 포함한 다른 항목에서는 통계학적으로 유의한 차이를 보이지 않았다. PCR-SSCP에 비해 PCR-SSCP 와 DNA sequencing 방법, 면역조직화학적 염색법 등이 더 높은 빈도의 돌연변이를 보이고 있었으며, 이로 인해 다른 인자들과의 비교에 있어서 이전의 다른 발표들과의 결과 차이를 보이는 원인이 될 수도 있었을 것으로 생각되었다. 그러므로 p53 돌연변이는 단일 예후 인자보다는 다른 종양 표지자 등과 같이 상관관계를 비교하면 예후를 예측할 수 있는 인자로 유용성을 찾아볼 수 있을 것으로 생각된다.

결 론

PCR-SSCP로 확인한 p53의 돌연변이는 Lauren type에 따른 장형에서 빈도가 높았으나, 단독으로는 위암 환자의 예후인자로써 사용되기는 어렵다.

REFERENCES

- Fenoglio-Preiser CM, Wang J, Stemmermann GN, Noffsinger A. TP53 and gastric carcinoma. *Human Mutat* 2003;21:258-270.
- Steele RJ, Thompson AM, Hall PA, Lane DP. The p53 tumour suppressor gene. *Br J Surg* 1998;85:1460-1467.
- Starzynska T, Bromley M, Ghosh A, Stern PL. Prognostic significance of p53 overexpression in gastric and colorectal carcinoma. *Br J Cancer* 1992;66:558-562.
- Zhao DP, Ding XW, Peng JP, Zheng YX, Zhang SE. Prognostic significance of bcl-2 and p53 expression in colorectal carcinoma. *J Zhejiang Univ Sci B* 2005;6:1163-1169.
- Andersen TI, Holm R, Nesland JM, Heimdal KR, Ottestad L, Borresen AL. Prognostic significance of TP53 alterations in breast carcinoma. *Br J Cancer* 1993;68:540-548.
- Faille A, De Cremoux P, Extra JM, Linares G, Espie M, Bourstyn E, De Rocquancourt A, Giacchetti S, Marty M, Calvo F. p53 mutations and overexpression in locally advanced breast cancers. *Br J Cancer* 1994;69:1145-1150.
- O'Hanlon DM, Kiely M, MacConmara M, Al-Azzawi R, Connolly Y, Jeffers M, Keane FB. An immunohistochemical study of p21 and p53 expression in primary node-positive breast carcinoma. *Eur J Sur Oncol* 2002;28:103-107.
- Thor AD, Moore DH, Edgerton SM, Kawasaki ES, Reihnsaus E, Lynch HT, Marcus JN, Schwartz L, Chen LC, Mayall BH, et al. Accumulation of p53 tumor suppressor gene protein: an independent marker of prognosis in breast cancers. *J Natl Cancer Inst* 1992;84:845-855.
- Ishida H, Irie K, Itoh T, Furukawa T, Tokunaga O. The prognostic significance of p53 and bcl-2 expression in lung adenocarcinoma and its correlation with Ki-67 growth fraction. *Cancer* 1997;80:1034-1045.
- Puhalla H, Kandioler D, Ludwig C, Filipits M, Wrba F, Laengle F, Jakesz R, Gruenberger T. p53 analysis in gallbladder cancer: comparison of gene analysis versus immunohistochemistry. *Anticancer Res* 2004;24:1201-1206.
- Ahrendt SA, Rashid A, Chow JT, Eisenberger CF, Pitt HA, Sidransky D. p53 overexpression and K-ras gene mutations in primary sclerosing cholangitis-associated biliary tract cancer. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2000;7:426-431.
- Ireland AP, Shibata DK, Chandrasoma P, Lord RV, Peters JH, DeMeester TR. Clinical significance of p53 mutations in adenocarcinoma of the esophagus and cardia. *Ann Surg* 2000;231:179-187.
- Lee WJ, Shun CT, Hong RL, Wu MS, Chang KJ, Chen KM. Overexpression of p53 predicts shorter survival in diffuse type gastric cancer. *Br J Surg* 1998;85:1138-1142.
- Victorzon M, Nordling S, Haglund C, Lundin J, Roberts PJ. Expression of p53 protein as a prognostic factor in patients with gastric cancer. *Eur J Cancer* 1996;32:215-220.
- Ichiyoshi Y, Oiwa H, Tomisaki S, Sakaguchi Y, Ohno S, Maehara Y, Sugimachi K. Overexpression of p53 is associated with growth pattern and prognosis in advanced gastric cancer. *Hepatogastroenterology* 1997;44:546-553.
- Sgambato A, Migaldi M, Leocata P, Ventura L, Criscuolo M, Di Giacomo C, Capelli G, Cittadini A, De Gaetani C. Loss of p27Kip1 expression is a strong independent prognostic factor of reduced survival in N0 gastric carcinomas. *Cancer* 2000;89:2247-2257.
- Roviello F, Marrelli D, Vindigni C, De Stefano A, Spina D, Pinto E. P53 accumulation is a prognostic factor in intestinal-type gastric carcinoma but not in the diffuse type. *Ann Surg Oncol* 1999;6:739-745.
- Gamielien W, Victor TC, Mugwanya D, Stepien A, Gelderblom WA, Marasas WF, Geiger DH, van Helden PD. p53 and p16/CDKN2 gene mutations in esophageal tumors from a high-incidence area in South Africa. *Int J Cancer* 1998;78:544-549.
- Rugge M, Shiao YH, Busatto G, Cassaro M, Strobbe C, Russo VM, Leo G, Parenti AR, Scapinello A, Arslan P, et al. The

- p53 gene in patients under the age of 40 with gastric cancer: mutation rates are low but are associated with a cardiac carcinoma location. *Mol Pathol* 2000;53:207-210.
20. Liu XP, Tsushimi K, Tsushimi M, Oga A, Kawauchi S, Furuya T, Sasaki K. Expression of p53 protein as a prognostic indicator of reduced survival time in diffuse-type gastric carcinoma. *Pathol Int* 2001;51:440-444.
 21. Monig SP, Eidt S, Zirbes TK, Stippel D, Baldus SE, Pichlmaier H. p53 expression in gastric cancer: clinicopathological correlation and prognostic significance. *Dig Dis Sci* 1997;42:2463-2467.
 22. Sumiyoshi Y, Kakeji Y, Egashira A, Mizokami K, Orita H, Maehara Y. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1A and p53 is a marker for an unfavorable prognosis in gastric cancer. *Clin Cancer Res* 2006;12:5112-5117.
 23. Danesi DT, Spano M, Fabiano A, Altavista P, Pasqualetti P, Toscano MG, Antonini F, Catalano P, Mecozzi A, Picconi A, et al. Flow cytometric DNA ploidy, p53, PCNA, and c-erbB-2 protein expressions as predictors of survival in surgically resected gastric cancer patients. *Cytometry* 2000;42:27-34.
 24. Visscher DW, Sarkar FH, Shimoyama RK, Crissman JD. Correlation between p53 immunostaining patterns and gene sequence mutations in breast carcinoma. *Diagn Mol Pathol* 1996;5:187-193.

= Abstract =

***p53* Gene Mutation in Gastric Cancer Tissue**

Ki-Beom Ku, M.D., Seong-Hoon Park, M.D., Ho Young Cheong, M.D., Wansik Yu, M.D. and Myung-Hoon Lee, Ph.D.¹

Departments of Surgery and ¹Pathology, Kyungpook National University Hospital, Daegu, Korea

Purpose: *p53* is one of the most commonly mutated genes in human tumors. The aim of this study was to analyze *p53* mutation in gastric cancer and its correlations with the clinicopathologic variables to clarify the usefulness of *p53* mutation as a prognostic factor.

Materials and Methods: Specimens from 331 patients with gastric cancer who underwent a gastrectomy between March 1999 and April 2001 at the Kyungpook National University Hospital were used. *p53* gene mutations were assessed by using a polymerase chain- reaction single-strand conformation polymorphism (PCR-SSCP) analysis. The correlations between *p53* gene mutation and clinicopathologic parameters were analyzed.

Results: *p53* mutations were found in 66 (19.9%) tumors. Among those 66 cases, mutations were seen in 23 tumors at exon 5, in 8 at exon 6, in 21 at exon 7, and in 17 at exon 8. Two mutations were shown in 3 tumors. Thirty-six (23.1%) of 156 intestinal-type tumors and 19 (13.1%) of 145 diffuse-type tumors showed *p53* gene mutation (P=0.007). The frequency of *p53* gene mutation didn't show any significant differences according to age, sex, stage, location, or gross type. Exon 5 mutations showed more frequently in intestinal-type tumors than in diffuse-type tumors (9.7% vs. 2.8%, P=0.024), and *p53* mutation were more frequent in lymph nodes metastasis group than lymph nodes non-metastasis group with statistical significance (25.0% vs 15.6%, P=0.034). The five-year survival rate showed no statistically significant difference with *p53* mutation (P=0.704).

Conclusion: *p53* mutations assessed by PCR-SSCP had little value as a prognostic factor after gastrectomy in patients with gastric cancer. (**J Korean Gastric Cancer Assoc 2006;6:214-220**)

Key Words: Gastric cancer, *p53* mutations, Polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism, Prognostic factor