

폐암조직에서 생물학적 지표들의 예후인자로서의 비교검토

충남대학교 의과대학 내과학교실

김선영 · 조해정 · 서지원 · 김남재 · 김주욱

= Abstract =

Expression of Several Biologic Markers as Prognostic Markers in Non-Small Cell Lung Cancers

Sun Young Kim, M.D., Hai Jeong Cho, M.D., Ji Won Suh, M.D.
Nam Jae Kim, M.D. and Ju Ock Kim, M.D.

Department of Internal Medicine, Chungnam National University School of Medicine, Taejon, Korea

Background: Despite modern diagnostic, staging, and therapeutic advances, esp. with molecular biologic techniques, the 5-year survival rate of all cases of lung cancer does not exceed 15%. Also, the incidence of lung cancer of both sex in Korea is increasing year by year and the lung cancer is one of the leading causes of cancer death. Therefore, it is strongly needed to develop the new combination of treatment modalities including neoadjuvant chemotherapy and to identify tumor specific characteristics with staging or prognostic markers. Here we present the clinical significance of several biologic tumor markers to use as a prognostic markers in patients with non-small cell lung cancers.

Method: The survival has correlated with the expressibility of proliferative cell nuclear antigen (PCNA), epidermal growth factor receptor(EGFR), p53 and/or blood group antigen A(BGAA) using immunohistochemistry in 46 patients with non-small cell lung cancers.

Results:

- 1) The expression rates of PCNA, EGFR, p53 and BGAA were 80.6%, 61.3%, 45.9% and 64.3%, respectively and those were not correlated to cell types or clinical stges.
- 2) The expression of BGAA was correlated with better survival in median survival and in 2-year survival rate and that of PCNA was correlated with worse survival in median survival and 2-year survival rate.
- 3) The expression of EGFR or p53 was not valuable to predict prognosis in non-small cell lung cancers.
- 4) With simultaneous applications of PCNA, EGFR and p53 immunostain, the patients with 2 or

본 연구는 1994년도 충남대학교병원 임상연구비의 일부 보조를 받았음.

more negative expressions showed better prognosis than the patients with 2 or more positive expressions.

Conclusion: It is suggested that the expression of blood group antigen may be a positive prognostic factor and that of PCNA may be a negative prognostic factor. Also, the combination of expressions of PCNA, EGFR and p53 may be used as a negative prognostic factor.

Key Words: Prognosis, PCNA, EGFR, BGAA, Lung Cancer

서 론

지난 20~30 년간의 제반 암연구 분야의 눈부신 발전에도 불구하고, 고형암 특히 폐암의 5년 생존율은 크게 달라진 것이 없다. 뿐만아니라, 구미 제국에서는 남자에서의 폐암 발생은 어느 정도 정체 현상을 나타내나, 우리나라에서는 최근에와서 남, 녀 공히 폐암 발생이 급격히 증가하고 있으며¹⁾, 앞으로 더욱 증가할 것으로 추정되어 이의 해결을 위한 많은 연구 및 새로운 치료형태의 시도들이 요구되는 바이다. 그러한 시도중의 하나로서, 폐암에 대한 치료법으로 지금까지 알려진 가장 좋은 치료법인 수술에의 가능성을 높힐 뿐만아니라 완전한 절제율의 향상을 위하여 수술전 유도화학요법을 시도한 연구들이 많이 발표되고 있으며, 최근에는 그 결과들이 생존율 향상에도 영향을 미칠 수 있는 것으로 나타나 고무적이라 할 수 있겠다^{2~4)}. 또한 암세포의 생물학적 성상에 관한 여러 표지자들을 사용하여 개개 암 환자에서의 암세포 특성을 파악하여 기존의 제반 치료 방법들을 적절히 사용하고자 하는 노력과 함께 이들 생물학적 표지자들의 예후인자로서의 가능성을 점검하고자 하는 많은 연구들이 발표되고 있다. 이러한 표지자들에는 최근에 가장 각광받는 암억제유전자의 하나인 p53을 비롯하여, Ras, Neu, PCNA, EGFR, Blood Group Antigen 등이 있다^{5~10)}. 이에 저자들은 우리나라에서 중요한 암종의 하나인 폐암조직에서 동시에 여러가지 표지자들의 발현을 시도하여, 그 결과들을 분석하고 폐암의 예후인자로서의 유용성을 검증하고자 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

대상은 충남대학교 병원에서 비소세포폐암으로 진단 받은 환자 46명으로부터 얻은 조직에서 단클론항체를 사용하여 면역조직화학 염색법으로 PCNA, p53, EGFR, Blood Group Antigen A에 대한 발현 여부를 조사하였다. 대상 환자의 세포형에따른 구분은 편평상피암 26예(60.5%), 선암 12예(27.9%), 대세포암 4예(9.3%), 미분류암 1예(2.3%)이었고, 병기에 따른 구분으로는 I기가 11예(25.6%), II기가 11예(25.6%), IIIa기가 10예(23.2%), IIIb기가 6예(14.4%), IV기가 5예(11.6%) 이었다. 이중 31예에서는 PCNA, EGFR, p53 발현 여부를 동시에 조사하였고, 14예에서는 p53과 Blood Group Antigen A의 발현 여부를 동시에 조사하였으며, p53발현 여부는 전예에서 조사하였다.

2. 방 법

사용한 단클론 항체들은 p53(Novocastra, DO7), EGFR(ICN, Lisle, IL), PCNA(Dako Carpenteria, CA), Blood Group Antigen A(Biomedica, Foster city, CA)들을 구입하여 사용하였는데, 앞의 두가지는 통상적인 조직면역화학 염색법으로 시행하였고, 뒤의 두가지는 MicroProbe System(Biomedica, Foster city, CA)으로 시행하였다. 이를 간단히 설명하면, 파라핀에 봉입된 조직을 4um의 두께로 절편을 만들어 특수처리된 슬라이드에 붙인 다음, Xylene과 Histoclear가 1:3으로 혼합된 용액에 60℃, 1분간 3번 씻은 후 실온에서 1분간 더 씻고 실온에서 순수 에탄올로 4번 씻는다. 내재성 peroxidase를 억제하기 위하여 40℃에서 2분간

endo/blocker에 담긴 다음 automation buffer에 씻고, 일차항체를 부치하여 40℃에서 9분간 데운 후 실온에서 2번 씻고, 이차항체를 부치시켜 40℃에서 4분간 데우고 실온에서 2번 씻는다. Avidin이 부착된 peroxidase reagent를 40℃에서 4분간 부치시킨 후 3-amino-9-ethylcarbazole(AEC)로 발색시키기 위한 Kit로 40℃에서 10분씩 2번 데운 다음 증류수로 실온에서 씻고, hematoxyline으로 세포핵을 대비염색한다.

3. 양성률 판정

매 슬라이드마다 400개 이상의 세포 또는 핵의 염색 여부를 광학 현미경으로 검증하되, 음성, 25%, 50%, 75%까지와 그 이상으로 구분하여 양성률을 0, +, ++, +++, ++++로 표시하였다.

4. 통계 분석 방법

생존기간은 중앙치로 산출하였고, 병기, 세포형, 생존 기간과 발현 여부와의 비교 및 생존율은 Chi-square 법 또는 Fisher exact법으로 검증하였다.

결 과

1. 세포형에 따른 발현률

21예의 편평상피암에서 PCNA의 발현은 16예(76.2%)에서 양성하였고, EGFR은 13예(61.9%)에서 양성하였으며, p53은 27예 중 15예(55.6%)에서 양성이었다. 각각에서 양성률의 정도는 의미있는 차이를 보

지 않았다.

9예의 선암에서 PCNA의 발현은 8예(88.9%)에서 양성하였고, EGFR은 5예(55.6%)에서 양성하였으며, p53은 15예 중 5예(33.3%)에서 양성이었다.

대세포암 1예는 PCNA 및 EGFR은 양성이었으나, p53은 음성이었다.

혈액항원 A에 대한 항체 발현 여부는 편평상피암은 7예 중 6예(85.7%), 선암 및 대세포암은 각각 3예 중 1예(33.3%)에서만 양성하였고 미분화암 1예는 양성으로 나타났으나 세포형에 따른 통계적 차이는 없었다 (Table 1).

2. 병기에 따른 발현률

I기암에서의 PCNA 및 EGFR의 발현은 각각 9예 중 4예(44.4%)에서 양성하였고, p53의 발현은 13예 중 6예(46.2%)이었다. II기암에서의 PCNA 및 EGFR의 발현은 각각 8예 중 7예(87.5%), 8예 중 4예(50%)이었고, p53의 발현은 12예 중 6예(50%)이었다. IIIa기암에서의 PCNA, EGFR, p53의 발현은 각각 9예 중 9예(100%), 9예 중 7예(77.8%), 10예 중 4예(40%)이었고, IIIb기암에서의 발현은 각각 3예 중 3예(100%), 3예 중 3예(100%), 7예 중 4예(57.1%)이었다. IV기암에서의 PCNA, EGFR, p53의 발현은 각각 2예 중 1예, 2예 중 1예, 4예 중 1예에서 양성이었다. 혈액항원 A에 대한 항체 발현여부는 I기암 4예 중 3예, II기암 3예 중 2예, IIIa기암 2예 중 2예, IIIb기암 3예 중 2예에서 양성 있었고, IV기암 1예는 음성이었다(Table 2).

Table 1. Expression by Cell Type

Cell Type		Squamous	Adenocancer	Large cell	Undifferentiated	Total
PCNA	+	16	8	1	0	25
	-	5	1	0	0	6
EGFR	+	13	5	1	0	19
	-	8	4	0	0	12
p53	+	15	5	0	1	21
	-	12	9	4	0	25
BGAA	+	6	1	1	1	9
	-	1	2	2	0	5

3. 생존율과 발현 여부와의 관계

PCNA의 발현에 따른 중앙생존기간은 6예의 음성에서는 30개월 이었고 25예의 양성에서는 11개월 이었다. 그리고 1년 생존율 및 2년 생존율은 음성은 각각 100%씩이었으나, 양성은 각각 48%, 36% 이었다. EGFR의 경우에는 음성 및 양성의 중앙생존기간은 30개월 및 10개월 이었고, 1년 및 2년 생존율은 음성에서는 75% 및 66.7% 이었고 양성에서는 47.4% 및 36.8% 이었다. p53의 경우는 음성 및 양성의 중앙생존기간은 15개월 및 19개월 이었고, 1년 및 2년 생존율은 음성에서 68% 및 40%이었고 양성에서는 52.4% 및 47.6% 이었다. 혈액항원 A의 발현에 따른 중앙생존기간은 음성 및 양성에서 5개월 및 24개월 이었고, 1년 및 2년 생존율은 음성에서는 40% 및 0% 이었고 양성에서는 88.9% 및 55.6% 이었다(Table 3).

또한 3가지를 동시에 시행한 31예에서 3가지 전부 음성인 3예는 중앙생존기간이 33개월 이었고 2년 생존율은 100%이었고, 2가지는 음성이고 1가지만 양성인 6

예는 중앙생존기간이 32.5 개월이고 2년 생존율은 66.7%이었고, 1가지가 음성 2가지가 양성인 12예는 중앙생존기간이 10.5 개월이며 2년 생존율은 33.3% 이었으며, 3가지가 다 양성인 10예는 중앙생존기간이 9개월이고 2년 생존율은 40% 이었다(Table 4).

고 찰

산업화된 나라일수록 폐암은 남녀 모두에서 중요한 사인으로 대두되고 있는데, 암의 진단, 병기판정 및 치료방법의 꾸준한 진전에도 불구하고 5년 생존율은 15 퍼센트를 넘지 못하고 있는 실정으로 심각한 문제가 아닐 수 없다¹¹⁾. 또한 TNM방법에 의한 병기판정, 림프절 침습지도, 세포형 및 환자의 활동도¹²⁾ 등이 예후를 결정짓거나 치료방침을 정하는데 있어서 중요한 인자들로 알려져 있지만, 실제로는 환자의 경과나 치료반응도가 상이한 결과를 나타내는 경우도 종종있어¹³⁾, 이러한 예후인자들에 대한 재검토 및 보완의 필요성이 대두되게 되었다¹⁴⁾. 이러한 시도들 중의 하나로서 세포동태 (cell kinetics) 특히 세포주기나 세포증식에 관한 정보를 flow cytometry를 이용하여 DNA의 배수성이나 증식세포 비율을 검증하여 예후인자로서의 가능성을 제

Table 2. Expression by Stages

Markers	Stage	I	II	IIIa	IIIb	IV	Total
		+	4	7	9	3	2
PCNA	-	5	1	0	0	0	6
	+	4	4	7	3	1	19
EGFR	-	5	4	2	0	1	12
	+	6	6	4	4	1	21
p53	-	7	6	6	3	3	25
	+	3	2	2	2	0	9
BGAA	-	1	1	0	1	2	5

Table 3. Expression and Survival (I)

Markers	PCNA*	EGFR	p53	BGAA**	
Median Survival (month)	+	11	10	19	24
	-	30	30	15	5
2-Year Survival Rate	+	36	36.8	40	55.6
	-	100	66.7	47.6	0

*PCNA : P<0.05 **BGAA : P<0.01

Table 4. Expression and Survival (II)

	I	II	I or II*	III	IV	III or IV*
Median Survival(Mo)	33	32.5	33	10.5	9	9.5
2-Year Survival Rate	100	66.7	77.8	33.3	40	36.4

I: All 3 markers negative, II: 2 of 3 markers negative, III: 2 of 3 markers positive, * I or II VS III or IV: P<0.05

시하고 있다¹⁵⁾. 그러나 이 방법은 고가의 장비가 필요하다는 점에서, 단클론항체를 사용하는 면역조직화학염색법에 의한 간단한 방법으로의 유용성에 대한 고려가 뒤따르고 있다¹⁶⁾.

다른 한편으로 각종 암유전자, 암억제유전자 및 성장인자 등의 발현 여부를 조사하여 임상적 또는 생물학적인 의의를 규명하여 예후판정과 치료에 이용하려는 시도가 있으며, 폐암에서도 이런 시도가 보고되고 있는바, c-myc, k-ras, c-erbB-1, c-erbB-2, p53, bombesin, EGFR 등이 이에 속한다¹⁴⁾.

일반적으로 PCNA의 발현은 flow cytometry를 이용한 DNA의 배수성 검사보다 더 자세한 정보를 알려줄 수 있으며⁷⁾, 또 발현율과 세포분열지수와의 비슷한 양상을 나타내므로 이를 이용한 예후인자로서의 가능성이 있으며¹⁶⁾, 세포형 별로는 편평상피암에서 선암보다 높게 발현된다고 알려져 있다. 본 연구에서도 31예의 폐암 중 6예만 음성이고 25예에선 양성으로 나타났으며, 특히 편평상피암에서 강양성을 띠는 경우가 많았다. 병기의 진행도와 관해서는 음성은 1기에서만 나타났으며 2기 이상에선 전부 양성이고 진행할수록 강양성의 경향을 보이나 통계적 의미는 없었다. 중앙 생존기간은 음성과 양성에서 각각 11개월과 30개월로 음성에서 월등히 길며, 1년 또는 2년 생존율이 월등히 높은 경향을 보이나 통계적으로는 의미있는 차이가 없는 것으로 나타나 향후 더 많은 예수에서의 추사가 필요하리라 사료된다.

EGFR의 경우엔 아직 많은 보고가 있지는 않으나 미분화암이나 악성의 성향을 띠는 암에서 잘 표현되나¹⁷⁾, 병기, 생존율 등과는 연관성이 없다는 보고도 있지만¹⁸⁾, 항암제(cisplatin)에 대한 감수성이 높은 군에서 PCNA와 EGFR의 발현이 낮다는 보고도 있어⁹⁾, 이에 대한 연구가 더욱 필요하리라 하겠다. 본 연구에서 EGFR의 발현이 병기에 따라 달리 나타나지는 않았으나 음성군의 중앙 생존기간이나 2년 생존율이 30개월과 66.7%로서 양성군의 10개월 및 36.8%보다 월등히 길고 높게 나타났으나 통계적 유의성은 크지 않으므로 이 역시 더 많은 예수에서의 추사가 필요하리라 하겠다.

p53의 경우는 가장 활발히 연구되고 있는 분야인데 암억제 유전자로서의 암 발생기전과의 연관성 뿐 아니

라 예후인자로서의 효용성에 관해서도 많은 연구가 있어왔다. 대개의 경우 p53의 발현은 나쁜 예후 인자로서 보고하기도 하나^{19,20)}, 다른 보고에 의하면 발현이 없거나 또는 지극히 높게 발현될 때는 오히려 예후가 좋으며⁵⁾ Lee 등²¹⁾에 의하면 50% 이상의 양성도를 나타낼 때는 예후가 좋으며, 양성도가 낮을 경우엔 병기가 낮을수록 예후가 좋다고 보고하여 이 역시 일치된 견해가 아직 없는 상태이다. 본 연구의 경우에는 46명 중 25명이 음성이고 이들의 중앙생존기간은 15개월이고 2년 생존율은 40%이나 21명의 양성군의 경우엔 19개월과 47.6%로서 양성도의 경우가 더 낫은 것으로 나타나나 통계적 의미는 없었다. 50% 이상의 양성도를 나타내는 경우엔 57%의 2년생존율을 나타내나 이 역시 통계적 의미는 없는 것으로 사료된다.

혈액항원들에 대한 연구는 그렇게 많은 것은 아니나 폐암의 경우에는 이들의 표현이 좋은 예후와 관계된다고 일치된 견해를 보이고 있어^{10,22)}, 이에 대한 관심이 제고되는 바이다. 본 연구에 있어서도 소수의 비소세포 폐암을 대상하였지만 양성도의 경우 중앙생존기간이 24개월이고 2년 생존율이 55.6%이나, 음성의 경우 5개월 및 0%로서 월등한 차이를 나타내고 있어($p < 0.01$), 중요한 예후인자로서의 의미를 가지므로 더 많은 예수에서의 추시 확인이 필요하리라 하겠다.

3가지 지표를 동시에 검색한 31예에서 3가지가 다 음성이거나 1가지만 양성이고 2가지가 음성인 9예에서 중앙생존기간 및 2년 생존율은 33개월과 77.8%로서, 3가지가 다 양성이거나 2가지이상 양성인 경우 22예의 9.5개월과 36.4%보다 월등히 좋은 것으로 나타나므로($p < 0.05$), 개개의 표지자는 의미가 없을 경우이라도 여러가지를 동시에 적용하므로 유용성을 높일 수 있음을 알 수 있다.

요 약

연구배경: 최근의 제반 분자생물학적 기법의 발전이나 새로운 치료법 등에 관한 활발한 연구에도 불구하고 폐암의 5년생존율이 크게 나아지지 못하고 있으며, 또한 우리나라에서의 폐암의 발생 및 이로 인한 사망이 점차 증가하는 현실이다. 그러므로 치료효과 또는 생존

율을 높일 수 있는 새로운 치료법의 개발과 아울러 제반 생물학적 성상을 이용한 예후판정 또는 치료경과의 예측을 위한 지표개발이 필요하다 하겠다. 이에 저자들은 몇가지 생물학적 표지자들이 폐암에서 예후인자로서 어떤 의미를 가지는지 알아보기 위하여 본 연구를 시작하였다.

방법: 비소세포폐암 환자 46명으로부터 얻은 조직을 대상으로 단클론항체를 이용하여 PCNA, EGFR, p53, 혈액항원 A 등의 발현 여부를 비교적 간단한 면역조직화학법으로 검색하였다.

결과:

1) PCNA, EGFR, p53, 혈액항원 A 등의 발현은 각각 80.6%, 61.3%, 45.9%, 64.3%의 양성율을 나타냈으며, 세포형이나 병기에 따라서는 유의한 차이가 없었다.

2) 개개지표들의 예후인자로서의 유의성 검증에서 혈액항원 A의 발현은 중앙생존기간(24개월과 5개월) 및 2년 생존율(55.6%와 0%)에서 월등하게 좋은 예후를 나타내었으며, PCNA의 발현은 중앙생존기간(11개월과 30개월) 및 2년 생존율(36%와 100%)에서 매우 나쁜 예후를 나타내었다.

3) EGFR의 발현은 중앙생존기간(10개월과 30개월) 및 2년 생존율(36.8%와 66.7%)에서 나쁜 예후의 경향을 보이나 통계적 유의성은 없었고, p53의 발현은 양군에서 별차이가 없어 예후인자로서의 유의성은 없었다.

4) PCNA, EGFR, p53의 발현을 동시에 시행한 경우의 유의성 검증에서는 3가지 중 2가지 이상의 음성을 나타낸 군의 중앙생존기간(33개월) 및 2년 생존율(77.8%)이 2가지 이상의 양성을 나타낸 군의 중앙생존기간(9.5개월) 및 2년 생존율(36.4%)보다 유의하게 높았다.

결론: 이상의 결과로 비소세포폐암에서 PCNA의 발현은 나쁜 예후인자로서, 혈액항원 A의 발현은 좋은 예후인자로서의 의미를 가지며, PCNA, EGFR, p53을 동시에 시행하여 2가지 이상의 양성발현 또한 나쁜 예후인자로 사료되므로 이들을 이용한 예후판정의 가능성이 제시된다 하겠다.

참 고 문 헌

- 1) 사망원인 통계원보: 인구동태 신고에 의한 집계. 통계청 1993
- 2) Darwish S, Minotti V, Crino L, Rossetti R, Maranzano E, Checcaglini F, Fiaschini P, Mercati U, Penza O, Vitali R, Davis S, Latini P, Tonato M: Neoadjuvant cisplatin and etoposide for stage IIIa(clinical N2) non-small cell lung cancer. *Am J Clin Oncol* 17:64, 1994
- 3) Elias AD, Skarin AT, Gonin R, Oliynyk P, Stomper PC, O'Hara C, Socinski MA, Sheldon T, Maggs P, Frei E III: Neoadjuvant treatment of stage IIIa non-small cell lung cancer-longterm results. *Am J Clin Oncol* 17:26, 1994
- 4) Roth J, Fossella F, Komaki R, Ryan M, Putnam J, Lee J, Dhingra H, DeCaro L, Chassen M, McGavran M, Atkinson E, Hong W: A randomized trial comparing perioperative chemotherapy and surgery with surgery alone in resectable stage III non-small cell lung cancer. *Proc ASCO* 13:334(#1106), 1994
- 5) Morkve O, Halvorsen OJ, Skjaerven R, Stangeland L, Gulsvik A, Laerum OD: Prognostic significance of p53 protein expression and DNA ploidy in surgically treated non-small cell lung carcinomas. *Anticancer Res* 3:571, 1993
- 6) Kern JA, Schwarz DA, Nordberg JE: p185Neu expression in human lung adenocarcinomas predicts shortened survival. *Cancer Res* 50:5184, 1990
- 7) Carey FA, Fabbioni GF, Lamb D: Expression of proliferating cell nuclear antigen in lung cancer: A systematic study and correlation with DNA ploidy. *Histopathology* 20:499, 1992
- 8) Miyamoto H, Harada M, Isobe H: Prognostic value of nuclear DNA content and expression of the ras oncogene product in lung cancer. *Cancer*

- Res 51:6346, 1991
- 9) Ogawa J, Iwazaki M, Inoue H, Koide S, Shohtsu A: Immunohistochemical study of glutathione-related enzymes and proliferative antigens in lung cancer-Relation to cisplatin sensitivity. *Cancer* 71:2204, 1993
 - 10) Lee JS, Ro JY, Sahin AA, Hong WK, Brown BW, Moutain CF, Hittelman WN: Expression of blood-group antigen A - a favorable prognostic factor in non-small cell lung cancer. *N Engl J Med* 324:16, 1991
 - 11) Boring CC, Squires TS, Tong T: Cancer statistics, *CA* 42:19, 1992
 - 12) Minna JD, Pass H, Glatstein E, Ihde DC: Cancer of the lung. In Devita VT, Hellman S, Rosenberg SA(eds):*Cancer, Principles and Practice of Oncology*, ed.3 Philadelphia, JB Lippincott, 1989, p591
 - 13) Moutain CF: A new international staging system for lung cancer. *Chest* 89(Suppl):225S, 1986
 - 14) Kern JA, Filderman AE: Oncogenes and growth factors in human lung cancer. *Clin Chest Med* 14:31, 1993
 - 15) Andrew EF, Gerad AS, Constantine G, Daniel JL, Julie H, Stuart DF: Prognostic significance of tumor proliferative fraction and DNA content in stage I non-small cell lung cancer. *Am Rev Respir Dis* 146:707, 1992
 - 16) Theunissen PHM, Leers MGG, Bollen ECM: Proliferating cell nuclear antigen expression in formalin-fixed tissue of non-small cell lung carcinoma. *Histopathology* 20:251, 1992
 - 17) Gorgoulis V, Aninos D, Mikou P, Kanavaros P, Karameris A, Joardanoglou J, Rasidakis A, Veslemes M, Ozane B, Spandidos DA: Expression of EGF, TGF α and EGFR in squamous cell lung cancers. *Anticancer Res* 12:1183, 1992
 - 18) Dittadi R, Gion M, Pagan V, Brazzale A, Del Mashio O, Bargossi A, Busetto A, Brusca G: EGFR in lung malignancies. Comparison between cancer and normal tissue. *Br J Cancer* 67: 741, 1991
 - 19) Harris AL: Mutant p53- The commonest genetic abnormality in human cancer? *J Pathol* 162:5, 1990
 - 20) Maechetti A, Buttitta F, Merlo G, Diella F, Pellegrini S, Pepe S, Macchiarini P, Chella A, Angeletti CA, Callahan R, Bisticchi M, Squartini F: p53 alterations in non-small cell lung cancers correlate with metastatic involvement of hilar and mediastinal lymph nodes. *Cancer Res* 53:2846, 1993
 - 21) Lee JS, Yoon A, Kalapurakal S, Ro JY, Lee JJ, Hittelman WN, Hong WK: Expression of p53 oncoprotein in nonsmall cell lung cancer: a favorable prognostic factor? *Proc AACR* 35:237 (#1413), 1994
 - 22) Davidson I, Ni NY: Loss of isoantigen A, B, and H in carcinoma of the lung. *Am J Pathol* 57:307, 1969