

AKCİĞER KANSERİ HASTALARINDA C-erbB-2 ONKOGEN EKSPRESYONU

Banu SALEPCİ*
Nagehan ÖZDEMİR**
Sevda ÖZDOĞAN*
Nesrin KIRAL*
Taflan SALEPCİ***
Benan ÇAĞALAYAN*

ÖZET

Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göğüs Hastalıkları Kliniğinde 1996-99 yılları arasında doku biyopsi örnekleri ile akciğer kanseri tanısı konan 51 hastada c-erbB-2 ekspresyonu ve bunun tümörün histolojik tipi, grade'i ve evresi ile ilişkisini araştırmak amacıyla bu çalışma planlandı. Küçük hücreli dışı akciğer karsinomu olan 44 hastanın %56.8'inde c-erbB-2 ekspresyonu immünohistokimyasal yöntemle, dokuda pozitif saptanırken, 7 küçük hücreli akciğer kanseri hastasının hepsinde negatifti. Vakalarda c-erbB-2 ekspresyonu ile klinik evre arasında istatistiki anlamlı ilişki bulunamadı. Küçük hücreli dışı akciğer karsinomu olan 44 hastanın 41'inde grade tayini yapılabilirdi. C-erb-2 pozitifliği ile tümör grade'leri arasında da istatistiki anlamlı ilişki bulunamadı. Yine küçük hücreli dışı olup en büyük hasta grubunu oluşturan skuamoz hücreli karsinomlar operabl ve inoperabl evrede olan hastalar olarak iki gruba ayrıldı ve bunlar arasında da c-erb B-2 ekspresyonu açısından anlamlı farklılık yoktu. Bu bulguların ve konu ile ilgili daha önce yapılan çalışmaların ışığı altında akciğer karsinomlarında c-erbB-2 ekspresyonunun küçük hücreli dışı akciğer kanserinde daha yüksek oranlarda bulunduğu ve bunun tümör grade'i ve hastaların klinik evresiyle bir ilişkisinin bulunmadığı kanaatine varıldı.

-
- * Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Kliniği, İSTANBUL.
** Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Kliniği, İSTANBUL.
*** Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Medikal Onkoloji Kliniği, İSTANBUL.

Yazışma adresi:

Dr. Banu Salepçi. Altıntepe mah. Sırmakeş sok. Ataş Apt. No: 2/2 Küçükyalı- İSTANBUL.
Tel: 0-216-388 11 47

Anahtar Kelime: Akciğer kanseri, c-erbB-2, HER-2 / neu

SUMMARY

C-erbB-2 ONCOGENE PROTEIN EXPRESSION IN LUNG CANCER

We evaluated c-erbB-2 expression in 51 lung cancer patients who were examined in Kartal Educational and Research Hospital Chest Diseases Department in 1996-99. Pathologic diagnosis was based on tissue biopsy material. The aim of the study was also to evaluate the correlation of histologic type, grade and stage of the tumour with c-erbB-2 expression. 56.8% of 44 nonsmall cell cancer patients had c-erbB-2 overexpression detected by immunohistochemical staining in biopsy specimens. In 7 small cell lung cancer patients there were no positive results. There were no correlation with c-erbB-2 positivity and clinic staging. Grading was available in 41 out of 44 nonsmall cell lung cancer specimens and a correlation of the tumour grade with c-erbB-2 expression could not be detected. Squamous cell lung cancer group which was the largest population of the total patients was divided into two as; operable and inoperable stage. There were no significant difference in c-erbB-2 positivity between these two groups.

Our results confirm the previous reports on this topic that c-erbB-2 expression is more frequent in nonsmall cell group of the lung cancer patients and there is no correlation between c-erbB-2 positivity and clinical stage or the histologic grade of the tumour.

Key Words: Lung cancer, c-erbB-2, HER-2 / neu

GİRİŞ

Akciğer kanseri dünyada kadınlarda ve erkeklerde en sık görülen kanser türü olup başlıca mortalite sebeplerinden biridir. 1992 yılında Amerika'da 93000 erkek ve 53000 kadın bu hastalıktan ölmüştür (1). Son 25 yıldır bir çok kanser tipinin tedavisinde ilerlemeler olmasına rağmen akciğer kanserli hastalarda 5 yıllık sağkalım oranında önemli bir artış sağlanamamıştır (2). Bu şartlar altında akciğer kanseri tedavisinde gelişme sağlayabilmek için yeni stratejiler araştırılmış ve sitogenetik ve moleküler biyoloji alanındaki çalışmalara ağırlık verilmiştir. Akciğer kanserinde de diğer kanserlerde olduğu gibi bazı spesifik genlerde (protoonkogen, tümör süpresör gen) veya bunların

regülasyon bölgelerinde meydana gelen mutasyon, delesyon, kromozomal translokasyon, amplifikasyon veya viral genom entegrasyonu gibi değişiklikler normal hücrenin malign transformasyonuna neden olmaktadır (3,4,5,6). Bu genetik değişikliklerden birisi insanlarda 17 ve 21q kromozomunda bulunan protoonkogen c-erbB-2 de olmaktadır. Bu protoonkogen normalde 185000 dalton molekül ağırlığında tirozin kinaz aktivitesi gösteren bir transmembran glukoproteinini kodlar (3,4,7). Normal solunum yolu epitel hücrelerinden salgılanan HER-2 / neu olarak isimlendirilen bu protein normal akciğer epitelinin gelişimi ve diferansiyasyonunda rol oynar (3,4,8). C-erbB-2 onkogeninin aktivasyonu farelerde nokta mutasyonu, insanlarda ise gen amplifikasyonu yolu ile olur ve HER-2 / neu proteininin aşırı yapımı başlatır (4,8). Epidermal Growth Faktör Reseptörünün intrasitoplazmik kısmına yapısal benzerlik gösteren HER-2 / neu, tirozin kinaz aktivitesi ile hücre içine sinyal iletimini sağlar (3,4). Küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinde vakaların yaklaşık 1/3'ünde bu proteinin yapımının arttığı ve özellikle de adenokarsinomlarda c-erbB-2 gen amplifikasyonu ve artmış c-erbB-2 protein yapımı olup bunun kötü prognoz ile de bağımsız olarak ilişkili olduğu iddia edilmektedir (3,5,6,8). Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda küçük hücreli karsinomlarda c-erbB-2 ekspresyonu, ya çok minimal bulunmuş ya da hiç tespit edilememiştir (5).

Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda adenokarsinomların %26,6'sında serumda yüksek konsantrasyonda HER-2 / neu tespit edilmiş ve bunun artmış tümör yükü ile ilerlemiş hastalığın göstergesi olduğu düşünülmüştür (3,7). Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde c-erb B-2 ekspresyonunun tedaviye yanıtta da etkili olduğu ileri sürülmüştür (9). Nguyen ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinin %30'unda tespit edilen c-erbB-2 ekspresyonunun hastalarda kemoterapiye direnç oluşturduğu ve in vitro olarak HER-2 / neu proteininin ekstraselüler parçasının monoklonal antikor yöntemi ile bloke edilmesinin sisplatin sensitivitesini arttırdığı gösterilmiştir(9).

Kliniğimizde tanı konulan akciğer kanserli hastalarda c-erbB-2 ekspresyonunu ve bunun tümörün histolojik tipi, grade'i ve evresi ile ilişkisini araştırmak amacıyla bu çalışmayı planladık.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmaya kliniğimizde 1996-99 yılları arasında doku biyopsi örnekleri ile akciğer kanseri tanısı konan 100

hasta hücre tipi ayrımı yapılmaksızın alındı. Retrospektif olarak patolojik preparatlar, incelenerek immünohistokimyasal araştırmaya uygun olmayanlar çalışma dışı bırakıldı. Çalışmaya uygun bulunan 51 hastanın 47'si erkek, 4'ü kadın idi. Yaş ortalaması 56.12±10.05 idi. 1 kadın hasta dışında tüm hastalar sigara içici olup ortalama 43.03±22.36 paket-yıl sigara içimi mevcuttu. (Tablo I) Hastaların 38 (%74.5) 'ine bronkoskopik biyopsi, 12 (%23.5)' sine cerrahi eksizyon, 1 (%2)' ine de transtorasik akciğer biyopsisi ile tanı konulmuştu.

Hastaların akciğer kanseri hücre tiplerine göre dağılımında; 32 (%62.8) hasta skuamöz hücreli karsinom, 7 (%13.7) hasta küçük hücreli karsinom, 7 (%13.7) hasta adenokarsinom, 3 (%5.9) hasta küçük hücreli dışı karsinom, 2 (%3.9) hasta büyük hücreli karsinom idi. Hastaların klinik evrelerine göre dağılımında; 6 (%11.8) hasta evre I, 11 (%21.6) hasta evre II, 7 (%13.7) hasta evre IIIa, 14 (%27.5) hasta evre IIIb, 13 (%25.5) hasta evre IV idi. Skuamöz hücreli karsinom mevcut olan 32 hastanın 18 (%56.2)'i operabl evrede (Evre I-IIIa), 14 (%43.7)'ü ise inoperabl evrede (Evre IIIb-IV) idi. Küçük hücreli dışı karsinomlar, keratinizasyon miktarına göre iyi, orta ve az diferansiye karsinomlar olarak 3 gruba ayrıldı (10). Az diferansiye karsinom grade III, orta diferansiye karsinom grade II, iyi diferansiye karsinom grade I olarak değerlendirildi. 41 küçük hücreli dışı akciğer kanserinin 18 (%43.9)'i grade III, 20 (%48.7)'si grade II, 3 (%7.3)'ü grade I idi. 3 küçük hücreli dışı akciğer kanserinde grade tayini yapılamadı. Bu ayırım yapılırken baskın olan komponentin özellikleri baz olarak alındı.

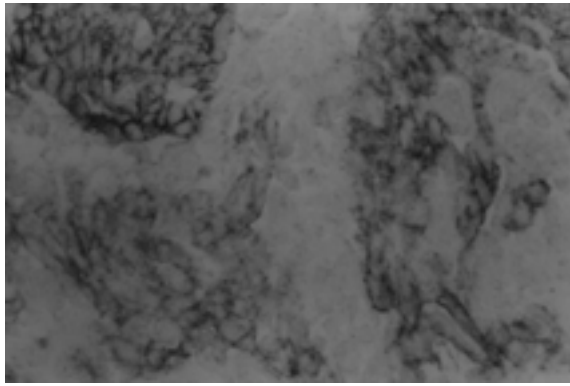
Doku örneklerinde immünohistokimyasal çalışma ile c-erbB-2 ekspresyonu araştırıldı. Poly-L-Lysin ile kaplanmış lamalara parafin bloklardan 5'luk kesitler alındı. Bir gece oda sıcaklığında bırakılan kesitler, 60°C sıcaklığındaki etüvde 75 dakika bekletildi. Deparafinizasyon amacıyla 3 kez 5'er dakikalık xylene' den ve iki kez 10'ar dakika %96'lık alkolden geçirildi. Rehidratasyon için 1 dakika distile suda bekletildi. 1/10 oranında distile su ile sulandırılan antijen retrieval solüsyonu önce 5 dakika mikrodalga fırında ısıtıldı. Daha sonra bu solüsyona alınan kesitler 3 kez 5'er dakika arayla mikrodalga fırında şoklandı ve 15 dakika soğumaya bırakıldı. Soğuma işleminin sonunda iki kez phosphate buffered saline (PBS)'den geçirilen kesitler nemli ortama alındı. Mouse Anti c-erbB-2 (HER-2/neu) onkoprotein monoklonal antikorunu uygulandı (Neomarkers USA). LSAB (Labeling strepto avidin-biotin) alkalen fosfataz yöntemi ile rutin boyama işlemi tamamlandı (10). C-erbB-2 boyanma yoğunluğuna göre:

- 1-) Membran boyanması göstermeyen (-)
 2-) Hafif membran boyanması olan (+)
 3-) Orta derecede membran boyanması olan (++)
 4-) Yoğun membran boyanması olan (+++)

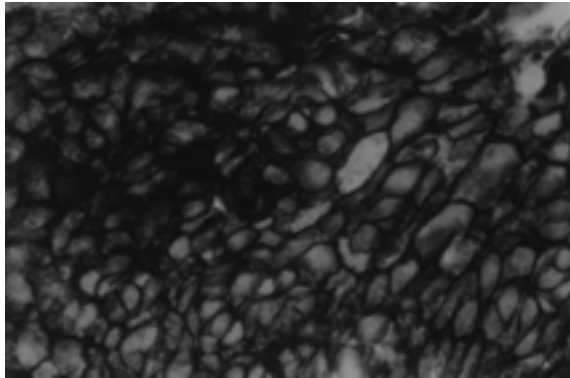
(Resim 1)

olmak üzere 4 gruba ayrıldı (11).

İstatistiki incelemede akciğer kanserinin histolojik tipi, klinik evresi ve grade'i ile c-erbB-2 ekspresyonu ilişkisi korelasyon analizi ile, ayrıca skuamöz hücreli karsinomlu operabl ve inoperabl evrede olan hastalar arasında c-erbB-2 pozitifliği açısından anlamlı farklılık olup olmadığı da dört gözlü ki kare testi ile araştırıldı.



Resim 1: Kuvvetli membran boyanması gösteren doku örneği (x200)



Resim 2: Kuvvetli membran boyanması gösteren doku örneği.

BULGULAR

Çalışmaya alınan 51 akciğer kanseri hastasının doku örneklerinin parafin bloklarında yapılan immünohistokimyasal inceleme sonucu hücre tipine göre saptanan c-erbB-2 pozitifliği Tablo I'de gösterilmiştir.

Tablo I: Hücre tipine göre c-erbB-2 pozitifliği

| Histolojik Tip | Hasta Sayısı | c-erb B-2 Ekspresyonu | | | | Toplam Pozitiflik Yüzdesi |
|------------------------------|--------------|-----------------------|-----|------|-------|---------------------------|
| | | (-) | (+) | (++) | (+++) | |
| Skuamoz hücreli karsinom | 32 (%61.5) | 14 | 5 | 9 | 4 | 18 (%56.2) |
| Adenokarsinom | 7 (%13.4) | 3 | 3 | 1 | - | 4 (%57.1) |
| Küçük hücreli dışı karsinom* | 3 (%5.7) | 1 | 1 | 1 | - | 2 (%66.6) |
| Büyük hücreli karsinom | 2 (%3.8) | 1 | 1 | - | - | 1 (%50.0) |
| Küçük hücreli karsinom | 8 (%15.3) | 7 | 1 | - | - | 1 (%12.0) |

(-): Negatif, (+): Zayıf Pozitif, (++): Orta Pozitif, (+++): Kuvvetli Pozitif

*Patolojik olarak skuamoz ile adenokarsinom arasında kesin ayırım yapılamayan grup

Küçük hücreli dışı akciğer kanseri hastaları ayrı olarak değerlendirildiğinde toplam 44 hastanın 27 (%61.3)'ünde c-erbB-2, pozitif bulundu. Tablo II'de küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinde c-erbB-2 pozitifliğinin şiddetine göre dağılımı görülmektedir.

Tablo II: Küçük hücreli dışı akciğer kanseri vakalarında c-erbB-2 pozitifliği

| Pozitiflik Şiddeti | Hasta Sayısı | Yüzde (%) |
|--------------------|--------------|-----------|
| (-) | 18 | 41.3 |
| (+) | 11 | 25 |
| (++) | 11 | 25 |
| (+++) | 5 | 11.3 |
| Toplam | 44 | 102.6 |

(-): Negatif, (+): Zayıf Pozitif, (++): Orta Pozitif, (+++): Kuvvetli Pozitif

Tüm hastaların klinik evrelerine göre c-erbB-2 pozitifliği Tablo III'de görülmektedir.

Tablo III: Akciğer kanseri vakalarında klinik evreye göre c-erbB-2 pozitifliği.

| Evre | Hasta Sayısı n/(%) | C-erb B-2 | | | | Toplam Pozitiflik n/(%) |
|------------|-----------------------|-----------|-----|------|-------|----------------------------|
| | | (-) | (+) | (++) | (+++) | |
| I | 6 (11.50) | 4 | 1 | - | 1 | 2 (33.3) |
| IIa ve IIb | 12 (23.07) | 5 | 4 | 2 | 1 | 7 (58.3) |
| IIIa | 7 (13.40) | 4 | 1 | 2 | - | 3 (42.8) |
| IIIb | 14 (26.80) | 6 | 3 | 5 | - | 8 (57.1) |
| IV | 13 (25.00) | 6 | 3 | 2 | 2 | 7 (53.8) |

C-erbB-2 pozitifliği ile klinik evre arasında istatistiksel

olarak anlamlı ilişki saptanmadı ($r = 0.073$; $p > 0.05$). Küçük hücreli dışı akciğer kanseri olan 44 hastanın 41'inde histolojik olarak grade belirlendi. Bu hastalarda c-erbB-2 pozitifliği ile tümör grade'i arasında ilişki araştırıldı ancak istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı ($r = 0.019$; $p > 0.05$).

Tablo IV: Tümör grade'ine göre c-erbB-2 pozitifliği

| Grade | Hasta Sayısı n/(%) | C-erb B-2 | | | | Toplam Pozitiflik n/(%) |
|-------|-----------------------|-----------|-----|------|-------|----------------------------|
| | | (-) | (+) | (++) | (+++) | |
| I | 3 (7.3) | 3 | - | - | - | - |
| II | 20 (48.7) | 8 | 4 | 7 | 1 | 12 (60.0) |
| III | 18 (43.9) | 7 | 5 | 4 | 2 | 11 (61.1) |

Skuamöz hücreli akciğer kanseri olanlar, en büyük hasta grubunu oluşturduğundan bu grup, operabl evrede (Evre I, II ve III a) olanlar ve inoperabl evrede (Evre III b ve IV) olanlar olmak üzere ikiye ayrıldı ve bu iki grup arasında c-erbB-2 pozitifliği açısından farklılık araştırıldı. (Tablo V).

Tablo V: Skuamöz hücreli akciğer kanserinde evresine göre c-erbB-2 pozitifliği

| Evre | C-erb B-2 | | | | Toplam | |
|-----------|-----------|------|---------|------|--------|------|
| | (+) (+) | | (-) (-) | | | |
| | n | % | n | % | n | % |
| Operabl | 8 | 44.4 | 10 | 55.6 | 18 | 56.2 |
| inoperabl | 10 | 71.4 | 4 | 28.6 | 14 | 43.7 |
| Toplam | 18 | 56.2 | 14 | 43.7 | 32 | 61.5 |

Skuamöz hücreli akciğer kanseri olanlarda operabl ve inoperabl evrede olanlar arasında da c-erbB-2 pozitifliği açısından istatistiksel anlamlı bir farklılık bulunamadı ($p > 0.05$).

TARTIŞMA

Akciğer kanserinde de diğer kanser türleri gibi çeşitli onkogen aktivasyonlarının karsinogenezde rol oynadığı bilinmektedir. Bunların arasında c-erbB-2 onkogeninin aktivasyonu ve bunun protein ürünü olan HER-2 / neu' nun ekspresyonu da yer almaktadır (5,6). C-erbB-2'nin protein ürünü solunum yolu epitelinde salgılanıp bu hücrelerin gelişimi ve diferansiyasyonunda rol oynar. Küçük hücreli dışı akciğer kanserinin yaklaşık 1/3'ünde bu proteinin

fazla miktarda üretiminin olduğu ve bu durumun özellikle adenokarsinomlu hastalarda sağkalım süresi ile bağımsız olarak ilişkili olduğu öne sürülmektedir (3,5,6,8). Küçük hücreli akciğer kanserinde ise c-erbB-2 pozitifliği çok düşük oranlarda veya hiç tespit edilememiştir. (5) Bizim çalışmamızda da küçük hücreli akciğer kanseri olan 7 hastanın hepsinde c-erbB-2 (-) olarak saptandı.

Küçük hücreli dışı akciğer kanseri grubumuzda ise c-erbB-2 pozitiflik yüzdesi %56.8 olarak bulundu. Shi ve arkadaşları 114 küçük hücreli dışı akciğer kanseri hastasında yaptıkları çalışmada % 58.7 oranında c-erbB-2 pozitifliği saptamışlardır (12). Ancak yapılan pek çok araştırmada tüm küçük hücreli dışı akciğer kanseri vakaları dikkate alındığında saptanan c-erbB-2 pozitifliği %12.7-%30 gibi daha düşük oranlarda bulunmuştur (9,13). C-erbB-2 ekspresyonunun özellikle adenokarsinomlu hastalar dikkate alındığında daha yüksek oranlarda bulunduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (7,14,15). Kern ve arkadaşları (13,14) adenokarsinomlu hastalarda tümör dokusunda %34 oranında c-erbB-2 ekspresyonu tespit etmişlerdir. Bizim adenokarsinom grubumuzda bu oran %57.1 olarak tespit edildi ancak hasta grubumuz az sayıda hastadan oluştuğu için bu rakamın beklenenden daha yüksek saptanmış olabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca yapılan çalışmalarda adenokarsinomda c-erbB-2 pozitifliğinin hastalarda bağımsız bir kötü prognoz göstergesi olabileceği kanaatine ulaşılmış fakat tümör evresi veya grade'i ile arasında bir ilişki tespit edilememiştir (7,15). Pastorino ve arkadaşları ise sadece evre I olan 515 küçük hücreli dışı akciğer kanseri vakasını incelemişler ve diğer araştırmalara göre çok daha düşük oranlarda c-erbB-2 pozitifliği tespit etmişlerdir (Tüm küçük hücreli dışı akciğer kanserlerinde %4, adenokarsinomlarda %6) (2). Bu pozitifliğin hastaların sağkalım süresi ile ilişkisini gösterememişlerdir.

Bizim çalışmamızda da hastalardaki c-erbB-2 pozitifliği ile klinik evre ve tümör grade'i arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Bu sonuç diğer araştırmacıların sonuçları ile uyumludur. Ancak biz retrospektif bir çalışma yaptığımızdan hastaların sağkalım süreleri hakkında sağlıklı bir bilgi alınamadı ve tedavileri yönünden standardizasyon yapılamadı. Bu nedenle çalışmamızda sağkalım süresi ile c-erbB-2 pozitifliği arasındaki ilişkiye bakılamadı. Çalışmada küçük hücreli dışı akciğer kanseri hastaları arasında en büyük grubu 32 hasta ile skuamöz hücreli karsinomlar oluşturmaktaydı ve bu grupta %56.2 oranında c-erbB-2 pozitifliği saptandı. Bu hastalar arasında operabl evrede olanlarla inoperabl olanlar

ayrılıp bunlar arasında c-erbB-2 pozitifliği açısından farklılık araştırıldı. 18 operabl evredeki hastanın %44.4'ünde c-erbB-2 pozitif bulunurken 14 inoperabl evredeki hastanın %71.4'ünde pozitiflik saptandı. Bu yüzdeler arasında rakamsal farklılık olmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Bu sonuç ta hastanın evresi ile c-erbB-2 arasında ilişki olmadığını bir kez daha desteklemektedir.

Sonuç olarak c-erbB-2 küçük hücreli dışı akciğer kanserinde küçük hücreli akciğer kanserine göre daha yüksek ekspresyonu saptanan bir onkogendir. Bu onkogenin hastalığın evresi ve grade'i ile bir ilişkisi saptanamamıştır, ancak hastaların prognozu ile ilişkisi açısından değerlendirilebilmesi için daha fazla sayıda hasta üzerinde prospektif çalışmalar yapılmasına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Boring. C.C., Squires T.S., Tong T. Cancer Statistics 1993. CA Cancer J.clin. 43:7-26.
2. Pastorino U, Andreola S, Tagliabue E et al. Immunocytochemical markers in stage I lung cancer: relevance to prognosis. J Clinical Oncology 1997; 15 (8): 2858-2865.
3. Kern J.A, Mc Lennan G. Genetic and molecular changes in human lung cancer. In: Fishman A.P ed. Fishman's Pulmonary Diseases and Disorders. 3rd ed. New York, McGraw-Hill 1997; Vol 2, ch 107: 1695-1705.
4. Fishman A.P, Kern J.A. Dominant oncogenes and tumor suppressor genes in human lung cancer. In: Fishman A.P ed. Update: Pulmonary Diseases and Disorders., New York, McGraw-Hill 1992; ch 30: 433-451.
5. Carbone D.P, Minna J.D. The molecular genetics of lung cancer. Advances in Internal Medicine 1992; 37: 153-167.
6. Makela T.P, Mattson K, Alitalo K. Tumor markers and oncogenes in lung cancer. Eur J Cancer 1991; 27 (10): 1323-1327.
7. Osaki T, Mitsudomi T, Oyama T et al. Serum level and tissue expression of c-erbB-2 protein in lung adenocarcinoma. Chest 1995; 108: 157-162.
8. Mountain C.F. New prognostic factors in lung cancer. Chest 1995; 108: 246-254.
9. Nguyen D, Kuang J.Q, Duong M.N. Induction of chemosensitivity to cisplatin in nonsmall cell lung cancer by 9-cis retinoic acid: modulation by the specific erbB-2/P185 tyrosine kinase inhibitor cp 127, 374. Chest 1998; Abstracts of original investigations 268s.
10. Rosai J. Lung and plevra. In: Rosai J.StL ed. Ackuman's Surgical Pathology. 5th ed. St Louis, Mosby 1996; 338-434.
11. Tervahauta A, Eskelinen M, Syrjanen S et al. Immunohistochemical demonstration of c-erb B-2 oncoprotein expression in female breast cancer and its prognostic significance. Anti Cancer Research 1991; 11: 1677-1682.
12. Shi D, He G, Cao S et al. Overexpression of the c-erbB-2/neu encoded p185 protein in primary lung cancer. Mol Carcinog 1992; 5: 213-218.
13. Kern J.A, Schwartz D.A, Nordberg J.E. P185 neu expression in human lung adenocarcinomas predicts shortened survival. Cancer Res 1990; 50: 5184-5191.
14. Kern J.A, Silebos R.J.C, Top B. Et al . C-erbB-2 expression and codon 12 K-ras mutations both predict shortened survival for patients with pulmonary adenocarcinomas. J. Clin. Invest 1994; 93:516-520.
15. Tateishi M, Ishida T, Kohdono S. Prognostic influence of the co-expression of epidermal growth factor receptor and c-erbB-2 protein in human lung adenocarcinoma. Surgical Oncology 1994; 3: 109-113.