

## 大腸癌における p53変異, p21<sup>(WAF1)</sup>発現と アポトーシス誘導の検討

東京医科大学八王子医療センター消化器外科, 東京医科大学外科\*

勝又 健次 壽美 哲生 山本啓一郎 片柳 創  
室橋 隆 長島 一浩 葦沢 龍人 小柳 泰久\*  
青木 達哉\* 加藤孝一郎\*

大腸癌92症例において p53の点突然変異, p21<sup>(WAF1)</sup>の発現を測定し, アポトーシスの出現を検討した. p53は PCR-SSCP 法にて点突然変異, p21は免疫染色法にて20%以上の癌細胞核が染色されるものを陽性とし, アポトーシスは DNA のラダーにて検索した. p53点突然変異の有無, p21の発現と病理学的因子の相関は認めなかった. p53と p21, DNA ラダーの出現との間には相関関係はなく, p21陽性例では DNA ラダーの出現率が低く, p21陰性例では DNA ラダーの出現率が高かった ( $p < 0.0115$ ). さらに, p53点突然変異を認めない群では p21陽性例で DNA ラダーの出現を認めず, 陰性例では DNA ラダーの出現率が高かった ( $p < 0.0015$ ). 以上より p21の存在により DNA が修復されアポトーシスは誘導されず, p53が機能している場合には p21によりさらに強い傾向があることが示された.

### はじめに

癌における p53癌抑制遺伝子は癌の発生, 進展に大きく関与するものと考えられている<sup>1)</sup>. さらに, DNA 損傷, ストレスなどで p21<sup>(WAF1)</sup> (以下, p21), MDM2の転写活性を促し, 細胞を G1期停止に導き, 損傷 DNA の修復機会を増加させる. 修復不能の場合には Bax を発現し, bcl 2を抑制し, 細胞にアポトーシスを引き起こすと考えられている<sup>2)</sup>. 以上より, p21は細胞周期抑制機能の重要な仲介役を果たしているものと思われる. 大腸癌では Vogelstein ら<sup>3)</sup>により adenoma-carcinoma sequence にもとづく遺伝子異常の研究により APC, K-ras, p53の異常が証明され, 最近癌細胞にもアポトーシスの存在が明らかになり<sup>4)</sup>, 誘導経路についての報告も多い. 今回, 著者らは大腸癌におけるアポトーシスとその関連経路を解明する目的で種々の機能を持ちアポトーシスの中心的機能を持つ p53と下流にあり G1期停止に誘導する p21を測定することにより p53, p21の機能を明らかにするために検討を行った.

### 対象と方法

対象症例は当院で経験した大腸癌92例である. 内訳

< 2000年 7月25日受理 > 別刷請求先: 勝又 健次  
〒193 0944 八王子館町1163 東京医科大学八王子医療センター

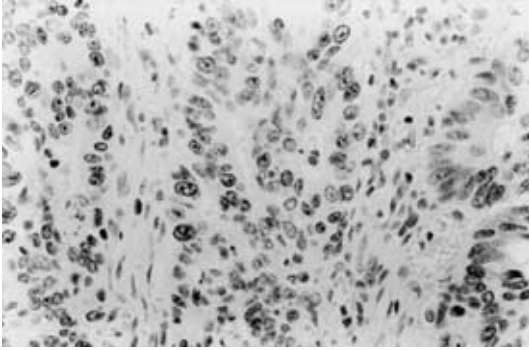
は男性56例, 女性36例で, 平均年齢  $63.3 \pm 9.8$  歳, 組織型が高分化腺癌60例, 中分化腺癌24例, その他の組織型8例, 進行度は Dukes A 24例, Dukes B 23例, Dukes C 26例, Dukes D 19例である (Table 1). p53, p21の各遺伝子は PCR-SSCP 法および免疫染色法にて測定し, アポトーシスをアガロースゲル電気泳動法にて DNA 断片からなるラダーを検出し, 3者の関連および臨床病理学的因子との関係も併せて検討した.

p53点突然変異は Sanger 法にて測定した<sup>5)</sup>. 直ちに -70 で凍結保存した0.5gの腫瘍片をはさみで細断

Table 1 Patients characteristics

n = 92		
Sex	male	56
	female	36
Age		63.3 ± 9.8
histological type		
	well	60
	mod.	24
	others	8
Dukes classification		
	A	24
	B	23
	C	26
	D	19

Fig. 1 Result of p21 immunohistochemical staining in colorectal cancers  
p21 immunoreactivity was found in the nuclei of carcinoma cells ( × 200 )



し, TEN ( 10mM Tris-HCl pH8.0, 100M NaCl, 10mM EDTA ) 2% SDS, 1mg Proteinase K を加えて 65 °C で 1 時間反応した。さらに, 37 °C で一晩反応後, フェノール・クロロホルム法にて DNA を抽出し, TE ( 10M Tris-HCl pH8.0, 1mMEDTA ) に溶解した。p53遺伝子

の解析は変異が集中しているエクソン5-8を対象とした。100ng の DNA をテンプレートとし, 蛍光色素 Cy5 ( Amsham Pharmacia Biotech ) を 5' 末端にラベルしたプライマーを用いて PCR にてエクソン5-8を増幅した。増幅した産物を 80 °C で 5 分間熱変性し 1 本鎖にした後, オートシーケンサー ALF express ( Amsham Pharmacia Biotech ) を用いて 20 °C の条件にて 5% グリセロール/5% アクリルアミドゲルで電気泳動した。正常コントロールとピークパターンを比較し異常の有無を確認した。SSCP 解析にて異常ピークが認められた検体においては, それぞれのエクソンを PCR にて増幅し, その増幅産物をプラスミドにクローニングした。クローニングしたプラスミドを大腸菌に形質転換後, アンピシリンを含む L 液体培地で約 12 時間培養し, プラスミド DNA を抽出した。プラスミド DNA をテンプレートにシーケンスプライマー, <sup>32</sup>P, T7 sequencing kit ( Amsham Pharmacia Biotech ) を用いてシーケンス反応した。80 °C で 5 分間熱変性し, 1 本鎖にした後尿素を含む 6% アクリルアミドゲルで電気泳動した。泳動パターンを正常コントロールと比較し, 詳細な変異を解析した。

Table 2 Relationship between p53 point mutation and pathology in colorectal cancer

	p53 point mutation negative ( n = 45 )	p53 point mutation positive ( n = 47 )
histological type		
well	29	31
mod.	11	13
others	5	3
depth of invasion		
mucosa ~ submucosa	10	5
muscular propia	5	5
subserous ~ serous coat	30	37
lymphatic invasion		
negative	20	20
positive	25	27
vessele invasion		
negative	35	30
positive	10	17
lymph node metastasis		
negative	28	23
positive	17	24
Dukes classification		
A	15	9
B	10	13
C	10	16
D	10	9

p21は、切除標本を20%ホルマリン液で固定し、パラフィンブロックは腫瘍中心部を通り、縦軸方向に2~3 μmの薄切を作製し、キシロールで脱パラフィン後、2%過酸化水にて室温で10分間内因性ペルオキシダーゼ除去を行い、抗原賦活のため0.01M クエン酸緩衝液漬・マイクロウェーブ照射を600W・5分間を5回行った。次に、DAKO社製マウス抗 p21モノクローナル抗体を加え、4~24時間にて反応させ、ビオチン化二次抗体反応を室温にて30分間行った。ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジン反応を室温で30分間行い、DAB 溶液で室温7分間処理し、ヘマトキシリンにて核染色後脱水、封入し検鏡した。腫瘍核染色率が20%以上のものを陽性例と判定した (Fig. 1)。

有意差検定は $\chi^2$ 検定、重回帰分析のSTEPWISE法を用い、 $p < 0.05$ をもって統計学的有意差ありと判定した。

### 成 績

1)92例の p53点突然変異出現の有無と臨床病理学的因子との関連を検討したが、組織型、壁深達度、脈管侵襲、リンパ節転移、進行度と有意な相関は認めなかつ

た (Table 2)。

2) p21の染色率を陰性、20%未満陽性、20%以上陽性に群別し、臨床病理学的因子との関連を検討した。組織型、壁深達度、脈管侵襲、リンパ節転移、進行度と有意な相関は認めなかつた (Table 3)。

3) DNA ラダーは66例に測定を行ったが、進行度などの病理学的因子との相関は認めなかつた。

4) p53, p21, アポトーシスの関連を検討した。p53点突然変異の出現の有無と p21, DNA ラダーの出現との間には有意な関連は認めなかつた。一方、p21と DNA ラダーとの間には p21陽性例にラダーの出現が少なく、p21陰性例においてはラダーが統計学的有意差をもって ( $p < 0.0115$ ) 多く出現する傾向を認めた (Table 4)。

5) p53, p21とアポトーシスの発生を検討した。p53点突然変異を認めた症例群には一定の傾向は認めなかつたが、点突然変異が出現していない症例群では p21陰性例において DNA ラダーが出現し、p21陽性例では DNA ラダーが出現しない傾向がさらに顕著であった ( $p < 0.0015$ ) (Table 5)。以上より、DNA ラダーに対

Table 3 Relationship between p21 immunohistochemical staining and pathology in colorectal cancer

	negative (n = 32)	under 20% staining (n = 41)	over 20% staining (n = 19)
histological type			
well	20	25	15
mod.	9	12	3
others	3	4	1
depth of invasion			
mucosa ~ submucosa	2	8	5
muscular propia	3	6	1
subserous ~ serous coat	27	27	13
lymphatic invasion			
negative	11	21	8
positive	21	20	11
vessele invasion			
negative	21	31	15
positive	11	10	4
lymph node metastasis			
negative	16	24	11
positive	16	17	8
Dukes classification			
A	5	13	6
B	10	10	3
C	12	9	5
D	5	9	5

Table 4 Mutual relation of p53, p21 and DNA ladder formation

p53 point mutation		p21 immunochemical staining	
positive	n = 35	positive	n = 28
		negative	n = 7
negative	n = 37	positive	n = 21
		negative	n = 10
p53 point mutation		DNA ladder formation	
positive	n = 35	positive	n = 13
		negative	n = 22
negative	n = 31	positive	n = 11
		negative	n = 20
p21 immunochemical staining		DNA ladder formation	
positive	n = 17	positive	n = 6
		negative	n = 11
negative	n = 49	positive	n = 36
		negative	n = 13

p = 0.0112

Table 5 Correlation of p53, p21 and DNA ladder formation

p53 point mutation		positive	n = 35
p21 positive	n = 7	ladder formation	positive n = 4 negative n = 3
p21 negative	n = 28	ladder formation	positive n = 18 negative n = 10
p53 point mutation		negative	n = 31
p21 positive	n = 10	ladder formation	positive n = 2 negative n = 8
p21 negative	n = 21	ladder formation	positive n = 18 negative n = 3

p = 0.0015

する影響度を重回帰分析 STEPWISE 法にて臨床病理学的因子, p53, p21に対して解析したところ p21のみが p<0.0334で有意差を認めた ( Table 6 ).

**考 察**

p53遺伝子変異は多くの癌に認められており<sup>6)-8)</sup>, その発現は各臓器によって異なることから, 臓器別悪性腫瘍の特異性と推測されている. 大腸癌においても強く関与しており, 点突然変異は腺腫 早期癌の段階から発生し, 癌全体としては約50~60%程度<sup>9)</sup>, loss of heterozygosity ( 以下, LOH ) は転移癌ではほぼ100%に出現すると報告されている<sup>10)</sup>. p53は特定の塩基配列に結合する転写因子としての多くの遺伝子群の発

Table 6 Stepwise procedure for dependent ladder formation in colorectal cancer

	ladder formation ( probably )
histological type	0.1756
depth of invasion	0.7118
lymphatic invasion	0.9154
vessele invasion	0.2896
lymph node metastasis	0.9081
Dukes classification	0.1035
p53 point mutation	0.9387
p21	0.0334

現抑制に関わっており、細胞周期調節、アポトーシスの誘導などの生理機構を持っている<sup>11)</sup>。さらに、thrombospondin 1の発現により vascular endothelial growth factor(以下、VEGF)のプロモーター活性を抑える作用も認められており<sup>12)13)</sup>、癌の発生のみならず進展、転移に大きく関与していることが推測される。それらの作用による臨床病理との関係はまだ一定の見解は得られていない<sup>14)15)</sup>。今回の検討でも臨床病理学的因子との相関は認められなかった。これは癌の発生過程に p53の点突然変異が大きく関与してもその後の増殖にはあまり関与せず、むしろ進行度とともに出現率の高くなる LOH によるところが大きいものと推測される。また、予後に関しては独立した予後因子として、p53遺伝子変異を認めた症例の予後が不良であるとの報告が多く<sup>16)</sup>、我々も再発との関連を報告しているが、現時点では生存との関係について結論はでない<sup>17)</sup>。これは p53が機能喪失により癌細胞が不死化したり、VEGFなどを介して悪性度を高めていくために臨床病理学的因子とは全く独立した再発、予後因子として存在していることを推測させる。

一方、p21は第6染色体短腕に存在し、p53の下流遺伝子で、細胞周期に促進的に働く Cyclin-Cdk 複合体の抑制蛋白を発現誘導し細胞周期の G1期の停止や DNA 複製の阻害に関与し、細胞周期抑制機能の重要な役割を果たし、癌細胞においても抑制的に働いているものと思われる<sup>18)</sup>。この遺伝子の臨床病理学的な検討の報告は少ないが、免疫染色法にて臨床病理学的因子・予後との関連の報告があり、また mRNA の測定にて腺腫の異型度や stage の進行に伴い減少する傾向があるという報告もある<sup>19)</sup>。今回、著者らは免疫染色法で検討したが明らかな傾向は認めなかった。p21の機能を考えると、悪性度と p21の発現の低下に関連性は推測できるが p53の下流遺伝子としての p21の機能は臨床病理学的因子を左右するほどの機能がないか、または全く独立した予後因子であることも考えられる。その発現は p53ノックアウトマウスにて p21の発現とアポトーシスを認め、p53遺伝子に完全に支配されているわけではなく、ストレスなどにより発現され、独立した活動機能も備えていることが推測されている<sup>20)</sup>。

アポトーシスは生理的な細胞死であり、正常組織ばかりでなく癌細胞でも環境状態の悪化時や抗癌剤投与時におけるアポトーシスが起るとされている<sup>21)</sup>。アポトーシスの判定には細胞の DNA を抽出し、アガロースゲル電気泳動法を用いてリンカー DNA の部位

がエンドヌクレアーゼによって切断され、ヌクレオソーム単位の断片化が起こり180塩基対の整数倍の分子量を持つ梯子状泳動像(ラダー)を検出する方法がもっとも確実に証明する方法である。しかし、個々のアポトーシス細胞の断片化が確認できないことや定量性がないことが欠点である<sup>22)</sup>。免疫染色法によるアポトーシスの検索は TUNEL 法による検討が一般的でアポトーシスインデックスを用いて定量的に測定する方法である<sup>23)</sup>。著者らは p53遺伝子変異を検索した DNA を用いた DNA ラダーにてアポトーシスを検索したため、同一癌組織内における遺伝子現象として評価している。

一般に野生型 p53を持つ細胞においては、存在する p53の量はごく微量であるが、癌細胞においては野生型 p53 変異型 p53が大量に発現しているとされる<sup>24)</sup>。同様に、正常細胞の DNA にダメージを与えるものを用いると、安定化されて量が増加してくる。そして転写活性化能をもつようになり、G1期停止かアポトーシスを誘導する。この選択がどのようにしてなされるかということは大変重要な問題である。DNA にダメージが生じたときに、p53のある部位がリン酸化され、それに応じた基本転写因子などが結合して、p21が発現し、CdK2 サイクリン E 複合体との結合を促進し、CdK2の Rb 蛋白のリン酸化阻害により転写因子 E2F と Rb 蛋白との解離が抑制され、G1期停止が起こる。しかし、DNA に別のタイプのダメージが生じたときには、p53の別の部位がリン酸化され、それに応じた基本転写因子などが結合してアポトーシス関連の遺伝子 Bax などが発現し、bcl 2の発現を抑制すると推測されている<sup>25)</sup>。臨床では転写活性因子としての p53のこのリン酸化は多彩で、p21・Bax・bcl 2の発現と抑制が複雑に関与しているものと思われる。

このような遺伝子の反応が癌細胞内で種々の遺伝子異常が発生している中でアポトーシスへの誘導についての報告は少なく著者らは検討を行った。アポトーシスは他に Fas とそのリガンドに誘導されるものもあるが、p53が中心的存在であると考えられている。またその際 Bax が促進的に働く遺伝子であることが明らかであるが bcl 2との相互関係が考慮され、複雑な機構が推測される。そのため今回 DNA 損傷が生じた際に細胞周期を停止し、DNA の修復を行う機能を有する p21を測定することによりアポトーシスの経路を解析した。その結果 p21発現による単独の作用機能を検討したところ、アポトーシスへの誘導は有意に少なく、

さらに p53点突然変異がない場合, p21の発現があればアポトーシスが認められず, p21の発現が少ない場合にはアポトーシスが認められることにより大腸癌細胞においても p53は細胞が DNA の障害を受けた際, p21を転写活性化した細胞周期停止による DNA の修復を行う経路が強いものと思われる。しかし p21の発現下でアポトーシスを認める症例は, p21を介した細胞周期停止による DNA の損傷が修復できないまたは他の要因により Bax が誘導されアポトーシスへ導かれるものと推測された。また, p21は p53非依存性にも誘導されることがあり p21遺伝子単独で細胞周期を調節している場合もあると考えられる。p53遺伝子変異のある症例にも p21遺伝子が発現し, アポトーシスが誘導されていない症例はその可能性を示唆しているが, p21の発現は p53点突然変異を認める場合より有意差はないが少なく, p53に支配されている比重が多いものと思われる。

また, Kagawa ら<sup>26)</sup>や Kornelia ら<sup>27)</sup>は p53欠損の cell line において p21を注入すると G1期停止を認めるが, p53を注入すると G1期停止の細胞はアポトーシスが誘導されることを報告している。p21の機能に関しては著者らと同様な結果であるが p53の機能が存在する場合に異なる結果となっている。これは遺伝子の機能が全く欠損した場合と野生型もしくは変異型 p53が存在する場合の細胞環境との違い, cell line の進化上の変化や, 野生型 p53を持つアデノウイルスを導入した際の遺伝子量の違い, 野生型 p53の発現によってアポトーシスの誘導と細胞周期抑制経路が同時に活性化される可能性があり<sup>28)</sup>, 種々の癌により遺伝子表現の違いに差があることによるものと思われる。今回, 著者らの検討では大腸癌においては p21の発現下では細胞周期抑制に誘導されることが多いものといえる。しかし, アポトーシスが Bax により誘導されたものであるかは今回の検討では明らかではない。

アポトーシスそのものによる臨床病理学的因子や予後に相関する結果は認められないが, 抗癌剤および放射線治療による腫瘍縮小効果はアポトーシスの誘導によるものと解明されており<sup>21, 29)</sup>, 今回の検討より大腸癌では野生型 p53の誘導により p21の発現下では細胞周期抑制に誘導されてしまうため, p21の発現を抑制する因子を併用すればアポトーシスを誘導でき, 治療効果を高めることが期待されるが, 現時点では明らかではなく今後の研究にて解明することが必要である。

## 文 献

- 1) 光富徹哉, 千葉逸朗: 腫瘍抑制遺伝子 p53とその臨床腫瘍学における意義。蛋・核・酵 37: 1491-1505, 1992
- 2) 宮下俊之: p53による bax の転写調節。実験医 13: 1873-1877, 1995
- 3) Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR et al: Genetic alterations during colorectal-tumor development. N Engl J Med 319: 525-532, 1988
- 4) 山田 武, 大平知佐, 大山ハルミ: 放射線誘発アポトーシスの研究 最近の進歩。日放線腫瘍会誌 9: 89-97, 1997
- 5) Sanger F, Nicklen S, Coulson AR: DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. Proc Natl Acad Sci USA 74: 5463-5467, 1977
- 6) Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B et al: P53 mutation in human cancers. Science 253: 49-53, 1991
- 7) 桜井健一, 秦 玲志, 天野定雄ほか: 食道扁平上皮癌における p27KIP1, p53, PCNA の免疫組織学的検討。癌と治療 25: 1269-1272, 1998
- 8) Tohdo H, Yokozaki H, Haruma K et al: P53 gene mutations in gastric adenomas. Virchows Arch 63: 191-195, 1993
- 9) Kato M, Ito Y, Kobayashi S et al: Detection of DCC and Ki-ras gene alterations in colorectal carcinoma tissues as prognostic markers for liver metastatic recurrence. Cancer 77: 1729-1735, 1996
- 10) Baker SJ, Preisinger AC, Jessup JM et al: P53 gene mutations occur in combination with 17p allelic deletions as late events in colorectal tumorigenesis. Cancer Res 50: 7717-7722, 1990
- 11) Lane DP: Cancer p53, guardian of the genome. Nature 358: 15-16, 1992
- 12) Dameron KM, Volpert OV, Tainsky MA et al: Control of angiogenesis in fibroblasts by p53 regulation of thrombospondin 1. Science 265: 1582-1584, 1994
- 13) Mukhopadhyay D, Tsiokas L, Sukhatme VP: Wild-type p53 and v-Src exert opposing influences on human vascular endothelial growth factor gene expression. Cancer Res 55: 6161-6165, 1995
- 14) Scott N, Sagar P, Stewart J et al: p53 in colorectal cancer: clinicopathological correlation and prognostic significance. Br J Cancer 63: 317-319, 1991
- 15) Purdie CA, O'Grady J, Piris J et al: P53 expression in colorectal tumors. Am J Pathol 138: 807-813, 1991
- 16) 山口明夫, 伏田幸夫, 黒阪慶幸ほか: 大腸腫瘍における癌抑制遺伝子 p53の発現と悪性度。日外会誌 93: 1312-1316, 1992

- 17) 勝又健次, 山本啓一郎, 大野正臣ほか: 大腸腫瘍・癌における DNA ploidy および p53 遺伝子異常と臨床病理学的因子との関連. 日臨外医学会誌 58 : 301-308, 1997
- 18) Yang ZY, Perkins ND, Ohno T et al : The p21 cyclin-dependent kinase inhibitor suppresses tumorigenicity in vivo. Nature Med 1 : 1052-1056, 1995
- 19) 小林 進, 松下一之, 磯野可一: 大腸癌における p21<sup>WAF1/CIP1</sup> 遺伝子の mRNA 発現. 日外会誌 99 : 457-462, 1998
- 20) 時野 隆: p53 の標的遺伝子 p21/Waf1 を中心として. 実験医 13 : 1656-1659, 1995
- 21) Lowe SW, Ruley HE, Jacks T et al : P53 dependent apoptosis modulates the cytotoxicity of anticancer agents. Cell 74 : 957-967, 1993
- 22) Wyllie AH : Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation. Nature 284 : 555-556, 1980
- 23) Garvieli Y, Sherman Y, Ben-Sasson SA : Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. J Cell Biol 119 : 493-501, 1992
- 24) Kastan MB, Onyerkwere O, Sidransky D et al : Participation of p53 protein in the Cellular response to DNA damage. Cancer Res 51 : 6304-6311, 1991
- 25) 小林英紀: 細胞周期と癌抑制遺伝子. 臨病理 44 : 3-11, 1996
- 26) Kagawa S, Fujiwara T, Hizuta A et al : p53 expression overcomes p21<sup>WAF1/CIP21</sup>-mediated G1 arrest and induced apoptosis in human cancer cells. Oncogene 15 : 1903-1909, 1997
- 27) Kornelia P, Todd W, Tong-Chuan H et al : Genetic determinants of p53 induced apoptosis and growth arrest. Genes Dev 10 : 1945-1952, 1996
- 28) McIlwrath AJ, Vasey PA, Ross GM et al : Cell cycle arrests and radiosensitivity of human tumor cell lines : dependence on wild-type p53 for radiosensitivity. Cancer Res 54 : 3718-3722, 1994
- 29) O'Connor PM, Jackman J, Bae I et al : Characterization of the p53 tumor suppression pathway in cell lines of the National Cancer Institute Anticancer Drug Screen and correlation with the growth-inhibitory potency of 123 anticancer agents. Cancer Res 57 : 4285-4300, 1997

#### Relationship between p53, p21 and Apoptosis in Colorectal Cancer

Kenji Katsumata, Tetsuo Sumi, Keiichiro Yamamoto, Sou Katayanagi,  
Takashi Murohashi, Kazuhiro Nagashima, Tatsuto Ashizawa,  
Yasuhisa Koyanagi\*, Tatsuya Aoki\* and Koichirou Katoh\*

Department of Gastroenterological Surgery Hachioji Medical Center, Tokyo Medical College

\*Department of Surgery Tokyo Medical College

In 92 colon cancer patients, point mutation of the p53 gene and expression of the p21 gene were determined to discuss about appearance of apoptosis. Point mutation of the p53 gene was determined by PCR-SSCP. p21 expression was determined positive upon immunostaining when more than 20% of the nucleus in cancer cells were stained. Apoptosis was detected by DNA ladder sequencing. No correlation was noted between the presence of p53 gene mutation, expression of p21 gene and pathological factors, nor was correlation noted between p53 gene mutation and p21 gene staining rate, by appearance of DNA ladder. However a certain trend was observed in those cells with p21 positive staining showing the least appearance of DNA ladder ( $p < 0.0115$ ). Among those without p53 gene mutation, DNA ladder did not appear when those p21 staining was positive, and it was noted much when p21 staining was negative ( $p < 0.0015$ ). From the above findings, it is known that in the presence of the p21 gene DNA is repaired and induces no apoptosis, and that when the p53 gene functions normally, such a trend is further accelerated by the p21 gene.

Key words : colon cancer, p53, p21, apoptosis, DNA ladder

[ Jpn J Gastroenterol Surg 33 : 1751-1757, 2000 ]

Reprint requests : Kenji Katsumata Department of Gastroenterological Surgery Hachioji Medical Center,  
Tokyo Medical College  
1163 Tatemachi, Hachioji, 193 0944 JAPAN