

## P53 A KARCINOM PROSTATY

## P53 AND PROSTATE CARCINOMA

LUKEŠ M.<sup>1</sup>, ZÁLESKÝ M.<sup>1</sup>, HERÁČEK J.<sup>1</sup>, ZACHOVAL R.<sup>1</sup>, KUNCOVÁ J.<sup>1</sup>, URBAN M.<sup>1</sup>, MANDYS V.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> UROLOGICKÁ KLINIKA 3. LF UK A FNKV, PRAHA

<sup>2</sup> ÚSTAV PATOLOGIE 3. LF UK A FNKV, PRAHA

<sup>3</sup> ÚSTAV EXPERIMENTÁLNÍ MEDICÍNY AV ČR PRAHA

**Souhrn:** Inaktivace tumor-supresorového genu TP53 znamená ztrátu kontrolního mechanismu umožňujícího buňce účinně kontrolovat integritu genomu a znemožnit v případě jeho poškození přechod do dalších fází buněčného cyklu. Tato inaktivace umožňuje vznik klonu buněk s alterovaným genomem, snadněji podléhajícím dalším změnám, které mohou vyústit až do maligního zvratu. Ztráta tumor supresorové funkce TP53 může být následkem řady dějů na molekulární úrovni. Bodové mutace TP53 vedoucí ke zvýšené expresi mutovaného proteinu p53, patří k nejčastějším molekulárním alteracím popisovaným u lidských solidních nádorů. Jednou z možností jak identifikovat patologii TP53 je přímý záchyt mutace sekvenováním DNA. Nejčastěji využívanou metodou je však imunohistochemická detekce overexprese proteinového produktu, tj. proteinu p53. U karcinomu prostaty nepochybně dochází k mutaci genu TP53, které hrají důležitou roli v progresi nádoru a účastní se zřejmě i přechodu v hormonálně interdependentní karcinom. Údaje o využití p53 jako biomarkery jsou však zatím rozporuplné.

**Klíčová slova:** karcinom prostaty, tumor-supresorový gen TP53, protein p53, marker

**Summary:** Inactivation of the tumor-suppressor gene TP53 represents loss of the control mechanism enabling the cell to effectively control the genome integrity and, in the case of its impairment, to inhibit transition into further phases of the cell cycle. This inactivation makes possible generation of a clone of cells with an altered genome, easily undergoing other changes potentially leading to malignant conversion. The loss of the tumor-suppressor function of TP53 may be a result of a series of events at the molecular level. Point mutations of TP53 leading to the overexpression of the mutated p53 protein represent one of the most frequent molecular alterations described in human solid tumors. One possibility to identify the TP53 pathology is direct detection of the mutation by DNA sequencing. The method of choice is, however, immunohistochemical detection of the overexpression of the protein product, i.e. p53 protein. In prostate carcinoma, mutations of the TP53 gene undoubtedly occur, playing an important role in the tumor progression and probably participating in its transition into hormonally independent carcinoma. The data on the utilization of p53 as a biomarker have been, however, so far controversial.

**Key words:** prostate carcinoma, tumor-suppressor gene TP53, p53 protein, marker

Karcinom prostaty (KP) patří mezi nejčastěji se vyskytující zhoubné nádory v urologii. V USA představuje karcinom prostaty druhou nejčastější příčinu úmrtí mužů na zhoubný nádor (1,2). Celosvětová incidence karcinomu prostaty roste ročně o 2-3%. V České republice roste rok od roku nejen počet nově diagnostikovaných KP ale i počet zemřelých na toto zhoubné onemocnění (graf 1) (3).

Většina karcinomů prostaty roste pomalu a metastazuje relativně pozdě. Maligní potenciál karcinomu prostaty se zvyšuje s jeho objemem. Karcinom prostaty dnes umíme úspěšně léčit, pokud byla diagnóza stanovena včas a onemocnění je ohraničeno na prostatu (4). V tom případě jsou výsledky léčby resp. doba přežití po radikální prostatektomii nebo po radikální radioterapii téměř shodné s kontrolní skupinou mužů bez karcinomu prostaty.

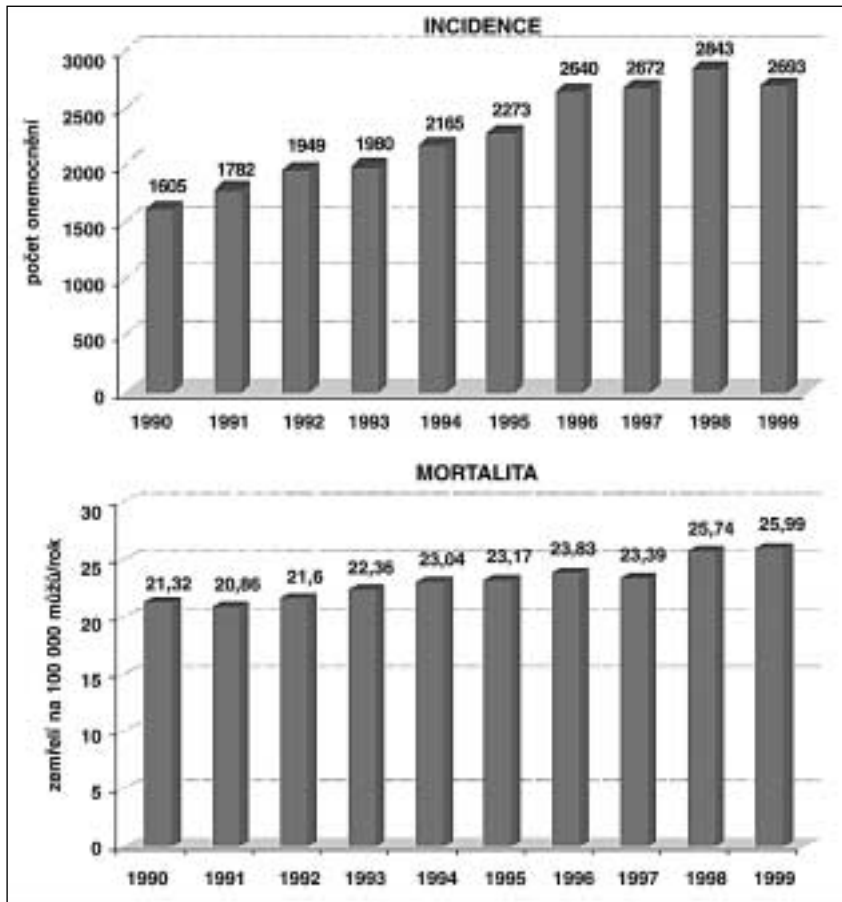
V současné době se jako nejlepší prostředek k diagnostikování pravděpodobného výskytu pokročilé nemoci nebo rizika relapsu ukázalo použití nomogramů, využívajících klinické parametry staging, grading a PSA (5,6). Partin a kol. (5) použili u radikální prostatektomie předoperační staging, Gleason skóre a PSA k sestavení tabulky pro určení pravděpodobného výskytu extrakapsulárního šíření nádoru, zasažení semenných váčků a lymfatických uzlin. Ačkoliv tyto informace jsou velmi užitečné při diskusi s pacientem o potenciálním kladném vlivu radikální prostatektomie, u mnoha pacientů neodpovídají tato předoperační kritéria stupni progresu nádoru (stagingu) v patomorfologickém hodnocení. Ukazuje se, že staging a grading nádoru hodnocené patologem, jsou jen pomocnými kritérii. Pacienti s nepříznivým patologickým nálezem mohou

být dlouhodobě vyléčeni radikální prostatektomií, zatímco u pacientů s nízkým gradingem a chorobou omezenou na orgán se mohou vyvinout metastázy. Vzhledem k těmto skutečnostem jsou v poslední době hledány další možnosti, jak zpřesnit určení biologického chování konkrétního nádoru a vytipování nemocných u kterých hrozí relaps nebo generalizace nádorového onemocnění. Pacienti s nízkým rizikem výskytu metastáz by mohli být ušetřeni potenciálních komplikací či vedlejších účinků agresivní léčby. Naopak, vysoce riziková pacientí by mohli být vybráni pro novou adjuvantní nebo neo-adjuvantní léčbu. Jako jedna z možností určení potenciálního agresivního chování nádoru se v současné době jeví detekce mutace genu TP53, nebo overexprese proteinu p53 v nádorových buňkách.

### Kontrolní bod mezi G1 a S fází buněčného cyklu

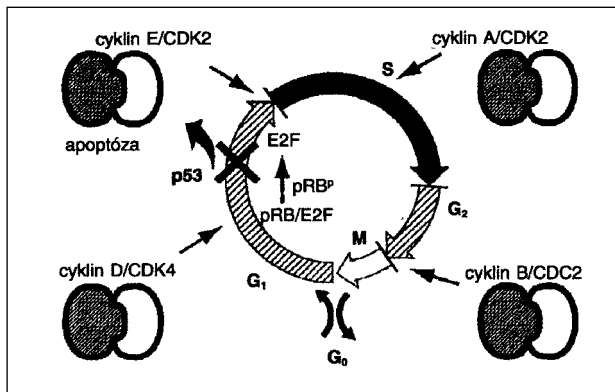
Buněčný cyklus je regulován sérií enzymatických reakcí umožňující buňce replikovat DNA a dělit se. Je to jednosměrný proces popsáný ve čtyřech krocích: v G<sub>1</sub> fázi se buňka připravuje k replikaci DNA; v S fázi buňka replikuje svou DNA; v G<sub>2</sub> fázi se buňka připravuje k dělení; a v M fázi se buňka dělí. Přechody mezi jednotlivými fázemi buněčného cyklu, vstup do další fáze a zakončení předchozí fáze jsou přísně regulovány a uskutečňují se podle určitého geneticky určeného programu. K zastavení buněčného dělení může dojít vlivem endogenních či exogenních podnětů, jakými jsou např. hypoxie, cytokiny, mezibuněčný kontakt nebo poškození DNA (7). Obvyklými kontrolními body jsou hranice mezi G<sub>1</sub> a S fází a G<sub>2</sub> a M fází (8).

Graf 1: Incidence a mortalita karcinomu prostaty 1990-1999.



G<sub>1</sub>/S je obzvlášt důležitý kontrolní bod, protože zde buňka může zastavit proces dělení aniž by při tom „vyplývala“ energii na replikaci DNA. V předcházející G<sub>1</sub> fázi je prováděna kontrola integrity genomu a popřípadě jsou opravovány poškozené úseky DNA (9). Tím je zamezeno replikaci případných chyb. Regulace těchto procesů je zprostředkována především p53 a jeho následnými efekty (6). p53 odpovídá na poško-

**Obr. 1: Průběh buněčného cyklu je kontrolován proteinovými komplexy skládajícími se z cyklinů a cyklin-dependentních kináz (CDK).** Jednotky cyklin A-CDK2 plní svou regulační funkci během fáze S a cyklin B-CDC2 kontroluje vstup do mitózy. Je vyznačen tzv. kontrolní bod p53 G<sub>1</sub>. Zvýšení hladiny buněčného p53 divokého typu je odpovědí na poškození DNA, které může vést buď k zastavení G<sub>1</sub> nebo k aktivaci apoptózy, v závislosti na typu buněk, v němž k poškození došlo. Je zde také znázorněna navržená funkce pRB, který tvoří v nízkofosforylovaném stavu komplexy s proteiny vázajícími DNA, např. s E2F. Po fosforylaci pRB uvolněný transkripční faktor E2F zřejmě stimuluje transkripci buněčných genů podílejících se na indukci fáze S.



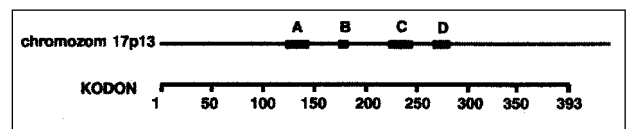
zení DNA zastavením buněčného cyklu pomocí p21<sup>cip1/waf1</sup> a aktivací transkripcie reparačních enzymů pro DNA jako např. GADD45. Pokud se cyklus nedá zastavit nebo opravu nelze uskutečnit, p53 vyvolá apoptózu buď přímo nebo pomocí bax (10). (obr. 1)

Některé abnormality či poruchy buněčného cyklu jsou spojeny se vznikem nádorového onemocnění. Neschopnost správně reagovat na signály k zastavení buněčného dělení, jako ztráta kontaktní inhibice, je charakteristickou vlastností maligních nádorových buněk. Změny regulace průběhu buněčného cyklu také mohou změnit schopnost buňky účinně reagovat na poškození DNA. V buňkách, u nichž došlo k mutacím regulátorů buněčného cyklu jako např. p53, se hromadí genetické defekty, které v důsledku toho podporují vznik agresivnějšího fenotypu. Změněné exprese nebo mutace proteinů buněčného cyklu tak mohou nejen umožnit nekontrolovaný nádorový růst, ale také přispět k progresi onemocnění a tvorbě metastáz (6).

**Protein p53 a TP53 supresorový gen** Gen TP53 (obr.1) lokalizovaný na 17p13.1, se skládá z 11 exonů a 10 intronů a kóduje nukleární fosfoprotein o hmotnosti 53 kDa, který je označován jako p53. Pro jednoznačné odlišení od patalogického proteinu je protein fyzi-

ologický v literatuře označován jako „wild type p53“ (wt p53). Protein je tvořen 393 aminokyselinami, které byly z funkčního hlediska rozděleny do 4 domén. Druhá doména, nacházející se mezi aminokyselinami 102 a 292, je zodpovědná za vazbu se specifickými DNA sekvencemi v regulačních oblastech genů ovlivňovaných cestou p53 (11,12). V oblasti kódující tuto doménu, v exonech 5-8, vzniká přes 90% mutací TP53 (13,14). (obr. 2)

**Obr. 2: Oblasti genu TP53 kritické pro maligní transformaci.** A – kodon 132 – 143; B – kodon 174 – 179; C – kodon 236 – 248; D – kodon 272 – 281.



Za normální situace je protein p53 udržován v buňce v nízké koncentraci díky krátkému poločasu (5-45 min.). K aktivaci TP53 jsou nezbytné signály, objevující se při některých stresových situacích, které mají za následek zvýšení transkripcie a translace p53, ale zřejmě i aktivaci a stabilizaci latentního p53 již v buňce přítomného. Takovými signály jsou všechny druhy poškození DNA. Dalším signálem k aktivaci TP53 je hypoxie (15). Mnoho nádorů se v době dosažení kritické velikosti nachází v relativní hypoxii na podkladě limitovaného cévního zásobení. p53 ovlivňuje také trombospondin, který působí jako antiangiogenní faktor a s jehož pomocí může p53 redukovat krevní zásobení nádorové tkáně. Pro regulaci aktivity p53 je významná vazba s řadou celulárních proteinů, například s mdm-2, p21 a dalšími.

## Vztah TP53 a nádorového onemocnění

Inaktivace TP53 znamená významnou poruchu kontrolního mechanismu, která umožňuje buňce s poškozeným genomem projít G1 fází a udržet se v buněčném cyklu. Postupně tak vzniká klon alterovaných buněk, mnohem snadněji podlehajících dalším změnám, které mohou vyústit až do maligní transformace.

Ztráta tumor supresorové funkce TP53 může být následkem řady dějů na molekulární úrovni. Předpokládají se čtyři možné situace, způsobující absenci fyziologického proteinu p53:

1. Ztráta heterozygoty (LOH – „lost of heterozygosity“), kdy se kombinuje bodová mutace v jedné alele s delecí celé alely druhé. V tomto případě neobsahuje buňka fyziologickou alelu.
2. Tvorba komplexů s celulárními a virovými onkoproteiny, které protein p53 inaktivují (virové proteiny, mdm-2 protein).
3. Negativně dominantní mutace, která v heterozygotním stavu dominantně ovlivňuje fenotyp prostřednictvím defektního proteinu brzdícího funkci proteinu kódovaného standardní alelou (16).
4. Nesprávná lokalizace proteinu p53 v buňce. U některých malignit byl protein p53 imunohistochemicky prokázán v cytoplazmě, tedy mimo oblast svého působení (17).

## TP53 a karcinom prostaty

Bodové mutace TP53, vedoucí k zvýšené expresi mutovaného proteinu p53, jsou nejčastější molekulární alterace popisované u lidských solidních nádorů (18). Jednou z možností zachytu patologie TP53 nebo jeho proteinového produktu je přímý zachyt mutace sekvenováním DNA. Avšak nejčastěji využívanou metodou je imunohistochemické vyšetření proteinu p53 (obr. 3,4). Monoklonální protilátka D07 proti p53 může být spolehlivě použita k detekci jak wt p53, tak mutovaného proteinu p53 (14,19-21). Zvýšená exprese proteinu p53 byla imunohistochemicky detegována u 8-64% prostatických karcinomů (13,14,19,20,22-24). Tak velké rozmezí ve výskytu p53 pozitivních prostatických karcinomů je způsobeno metodickým odlišením různých studií (různé tkáňové vzorky, nukleární a cytoplasmatické barvení, různé druhy protilátek) (23).

Existují přesvědčivé důkazy o tom, že mutace TP53 hrají u karcinomu prostaty důležitou roli. Isaacs a kol. (25) prokázali výskyt těchto mutací u tří buněčných linií a jednoho klinického vzorku. Opětovné vnesení divokého typu p53 do buněk potlačilo jejich tumorigenitu (25). Následné studie potvrdily, že mutace TP53 se vyskytují jak u primárních, tak u metastatických nádorů. Frekvence mutací TP53 se u primárního karcinomu prostaty pohybuje v rozmezí 1 - 42 % (26-28). LOH studie ukazují, že delece genu TP53 se objevuje přibližně u 16% primárních, nemetastazujících karcinomů prostaty (rozmězí 0-50%) (26,28,29). Imunohistochemicky je p53 detekován ve 2 - 22 % vzorků primárních karcinomů prostaty (26-28). Chi a kol. (30) identifikovali mutace u 15 (34%) ze 44 primárních nádorů a u 2 (50%) ze 4 metastáz. Další studie potvrdily výskyt mutací u 10-35% neléčených primárních nádorů a u 40-50% metastatických hormonálně refrakterních onemocnění (31). Apakama a kol. (20) pozorovali zvýšenou expresi p53 u 29 % primárních tumorů. U pacientů s hormonálně refrakterním onemocněním byla zvýšená exprese p53 přítomna u 2/3 tumorů. Zdá se, že existuje jasná tendence zvyšování výskytu mutací genu TP53 s pokročilejší chorobou.

Abnormální exprese p53 byla důkladně studována jako diagnostický příznak agresivního karcinomu. Zvýšená exprese p53 je u karcinomu prostaty spojována s androgen-independentním fenotypem (22,32). V některých studiích byla nalezena pozitivní korelace mezi zvýšenou expresí p53, gradingem, stagingem, progresí a rekurencí onemocnění (14,19,20,23). Navone a kol. (33) vyšetřili 45 primárních nádorů, 9 metastáz v lymfatických uzlinách a 48 kostních metastáz KP a zjistili, že existuje

tube zřejmý vztah mezi pozitivitou p53 a stagingem, gradingem a androgen-independentním KP. Stapleton a kol. (14) pozorovali, že p53 imunopozitivita a apoptotický index byly biologickými markery nádorové rekurence.

U hormonálně refrakterních prostatických karcinomů Koivisto a Rantala (21) pozorovali, že zvýšená exprese p53 koreluje s amplifikací genu androgenního receptoru. Jejich výsledky prokazují, že mutace TP53, způsobující genetickou nestabilitu, umožňuje podskupině prostatických karcinomů dosáhnout vlastností, které jim umožňují růst i přes nízké hodnoty androgenů, a tudíž způsobují další nádorovou progresi. Nupponen a kol. (34), prokázali u hormonálně refrakterních karcinomů abnormality nejen na chromozomu 17p, ale také na chromozomu 1p, 7, 8, 10q, 13q, 17q, 18q, 19, 22 a Xq. Obdobné výsledky byly pozorovány v buněčné kultuře (35) a tato genetická heterogenita může být rovněž důvodem špatné prognózy u hormonálně refrakterních karcinomů.

Meyers a kol. (36) udává, že mutace TP53 jsou spojeny se zvýšeným metastatickým potenciálem karcinomu prostaty. Řada studií se zaměřila na to, zda pozměněná exprese p53 u vzorků z radikálních prostatektomií předurčuje pacienty k neúspěšné léčbě. Studie provedená v nemocnici Henryho Forda prokázala souvislost mezi zvýšenou expresí p53 a kratší dobou přežití pacientů bez onemocnění. Tato studie je pozoruhodná vzhledem k vysokému počtu nádorů vykazujících pozitivitu p53 (20 ze 32, tj. 80%) (37). Bauer a kol. (38) prokázali pozitivitu exprese p53 u 114 ze 175 (tj. 65%) vzorků z radikálních prostatektomií. Pomocí multivariantní analýzy zjistili, že existuje silná korelace mezi intenzitou exprese a dobou přežití pacientů bez onemocnění. Teodororescu a kol. (39) také prokázali jasnou souvislost mezi zvýšenou expresí p53 u vzorků z radikálních prostatektomií a špatnými klinickými výsledky, a to jak pomocí Kaplan-Meierovy, tak i multivariantní analýzy. Brooks a kol. (40) prokázali, že abnormální exprese p53 se sice zvyšuje s postupující chorobou, nepodařilo se jim ale nalézt vztah mezi zvýšenou expresí a gradingem, stagingem či dobou přežití pacientů bez onemocnění. Některé další studie prokázaly, že lokálně rekurentní karcinomy prostaty po radikální prostatektomii nebo radioterapii (RT) mají signifikantně vyšší expresi p53 než mají tumory před léčbou (21,24).

Dalším důležitým zjištěním je to, že alterace TP53 genu mohou hrát roli v rozvoji radiací rezistence (41,42). V různých nádorech bylo identifikováno několik regulačních genů, včetně Bcl-2, TP53, C-myc a Ras, ovlivňujících „spuštění“ apoptózy. Spekuluje se o tom, že defekty v takovýchto regulačních genech mohou limitovat schopnost buňky indukovanou programovanou buněčnou smrt a výsledkem je rezistence k agens, které vyvolává cytotoxicitu cestou indukce apoptózy (např. RT) (41). Řada studií doložila, že letální efekt ionizujícího záření je v určitých buňkách nesoucích mutace TP53 genu zeslaben (28,42). Genetická alterace TP53 genu tak může být využívána jako marker předpovědi úspěchu či neúspěchu lokální terapie karcinomu prostaty ionizujícím zářením (41,43). Souhrnně lze říci, že mutace TP53, nepochybně prokazatelné u karcinomu prostaty, hrají významnou roli v progresi nádoru a v přechodu v hormonálně independentní karcinom. Údaje o využití p53 jako biomarkeru jsou zatím rozporuplné, většína studií však poukazuje na souvislost overexpres p53 s agresivitou choroby. Obtíže v interpretaci a porovnání výsledků těchto studií vyplývají především z okolností, že jednotlivé studie využívaly jiné techniky, protilátky a hraničních hodnot pro stanovení pozitivitu p53. I přes tyto nedostatky má p53 jako biomarker karcinomu prostaty nejbližší k rutinnímu využití, za předpokladu provedené dokonalejší standardizace jeho detekce a interpretace získaných výsledků.

**Práce byla zpracována za přispění grantu GAUK číslo 30/2001/3. LF.**

## Literatura

1. Dijkman, G. A., Debruyne, F. M. J.: Epidemiology of prostate cancer. *Eur. Urol.*, 30, 1996, 281.
2. Greenlee, R. T. et al.: Cancer statistic, 2001. *CA Cancer J. Clin.*, 51, 2001, 15-36.
3. Ústav zdravotnických informací a statistiky, Národní onkologický registr ČR, Praha 2001.
4. Sauvain J.-L., Palasac P., Zachoval R., Bourcheid D., Bloqueau P., Bremon J.-M., Jung L., Maniere P., Urban M.: Zobrazení vaskularizace prostaty power Dopplerem a jeho trojrozměrnou (3D) rekonstrukcí: stanovení vyhodnocovacích kritérií a význam vyšetření při určení diagnózy a stádia karcinomu prostaty. *Česká radiologie*, 54, 2000, ž. 6, s. 339-346.
5. Partin A. W., Kattan, M. W., Subong, E. N. et al.: Combination of prostate-specific antigen, clinical stage, and Gleason score to predict pathological stage of localized prostate cancer. A multi-institutional update. *JAMA*, 277, 1997, 1445-1451.
6. Kattan, M. W., Eastham, J. A., Stapleton, A. M. et al.: A preoperative nomogram for disease recurrence following radical prostatectomy for prostate cancer. *J. Natl. Cancer Inst.*, 90, 1998, 766-771.
7. Clurman, B. E., Porter, P.: New insights into the tumor suppression function of P27(kip1). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95, 1998, 15158-15160.
8. Nasmyth, K.: Viewpoint: putting the cell cycle in order. *Science*, 274, 1996, 1643-1645.
9. Sherr, C. J.: Cancer cell cycles. *Science*, 274, 1996, 1672-1677.
10. Levine, A. J.: p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell*, 88, 1997, 323-331.
11. Fields, S., Jang, S. K.: Presence of a potent transcription activating sequence in the p53 protein. *Science*, 249, 1990, 1046-1049.
12. Cho, Y., Gorina, S., Jeffrey, P. D., Pavletich, N. P.: Crystal structure of a p53 tumor suppressor-DNA complex: Understanding tumorigenic mutations. *Science*, 265, 1994, 346-355.
13. Salem, C. E., Tomasic, N. A., Elmajian, D. A. et al.: p53 protein and gene alterations in pathological stage C prostate carcinoma. *J. Urol.*, 158, 1997, 510-514.
14. Stapleton, A. M. F., Zbell, P., Kattan, M. W. et al.: Assessment of the biologic markers p53, Ki-67, and apoptotic index as predictive indicators of prostate carcinoma after surgery. *Cancer*, 82, 1998, 168-175.
15. Graeber, T. G., Osmanian, C., Jack, T. et al.: Hypoxia-mediated selection of cells with diminished apoptotic potential in solid tumors. *Nature*, 379, 1996, 88-91.
16. Rosypal, S.: Úvod do molekulární biologie. Díl 1-3. 2. rozšířené vydání, Brno, 1997, 839.
17. Levine, A. J.: p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell*, 88, 1998, 323-331.
18. Porter, P. L., Gown, A. M., Kramp, S. G., Coltrera, M. D.: Widespread p53 overexpression in human malignant tumours: an immunohistochemical study using methacarn-fixed, embedded tissue. *Am. J. Pathol.*, 140, 1992, 145-153.
19. Matsushima, H., Sasaki, T., Goto, T. et al.: Immunohistochemical study of p21<sup>WAF1</sup> and p53 proteins in prostatic cancer and their prognostic significance. *Hum. Pathol.*, 29, 1998, 778-783.
20. Apakama, I., Robinson, M. C., Walter, N. M. et al.: bcl-2 overexpression combined with p53 protein accumulation correlates with hormone-refractory prostate cancer. *Br. J. Cancer*, 74, 1996, 1285-1262.
21. Koivisto, P., Rantala, I.: Amplification of the androgen receptor gene is associated with p53 mutation in hormone-refractory recurrent prostate cancer. *J. Pathol.*, 187, 1999, 237-241.
22. Byrne, R. L., Wilson Horne, C. H., Robinson, M. C. et al.: The expression of waf-1, p53 and bcl-2 in prostatic adenocarcinoma. *Br. J. Urol.*, 79, 1997, 190-195.
23. Moul, J. W., Bauer, J. J., Sesterhenn, I. A. et al.: Re: p53 protein and gene alterations in pathological stage C prostate carcinoma. *J. Urol.*, 158, 1997, 1648.
24. Grossfeld, G. D., Olumi, A. F., Connolly, J. A. et al.: Locally recurrent prostate tumors following either radiation therapy or radical prostatectomy have changes in Ki-67 labeling index, p53 and bcl-2 immunoreactivity. *J. Urol.*, 159, 1998, 1437-1443.
25. Isaacs, W. B., Carter, B. S., Ewing, C. M.: Wild-type p53 suppresses growth of human prostate cancer cells containing mutant p53 alleles. *Cancer Res.*, 51, 1991, 4716-4720.
26. Brooks, J. D., Bova, G. S., Ewing, C. M. et al.: An uncertain role for p53 gene alterations in human prostate cancers. *Cancer Res.*, 56, 1996, 3814-3822.
27. Wertz, I. E., Deitch, A. D., Gumerlock, P. H. et al.: Correlation of genetic and immunodetection of TP53 mutations in malignant and benign prostate tissues. *Hum. Pathol.*, 27, 1996, 573-580.
28. Ruijter, E., van de Kaa, Ch., Miller, G. et al.: Molecular genetics and epidemiology of prostate carcinoma. *Endocr. Rev.*, 20, 1999, 22-45.
29. Ittmann, M. M.: Loss of heterozygosity on chromosomes 10 and 17 in clinically localized prostate carcinoma. *Prostate*, 28, 1996, 275-281.
30. Chi, S. G., de Vere White, R. W., Meyers, F. J. et al.: p53 in prostate cancer: frequent expressed transition mutations. *J. Natl. Cancer Inst.*, 86, 1994, 926-933.
31. Heidenberg, H. B., Bauer, J. J., McLeod, D. G. et al.: The role of the p53 tumor suppressor gene in prostate cancer: a possible biomarker? *Urology*, 48, 1996, 971-979.
32. Burchardt, M., Burchardt, T., Shabsigh, A. et al.: Reduction of wild type p53 function confers a hormone resistant phenotype on LNCaP prostate cancer cells. *Prostate*, 48, 2001, 225-230.
33. Navone, N. M., Troncoso, P., Pisters, L. L. et al.: p53 protein accumulation and gene mutation in the progression of human prostate carcinoma. *J. Natl. Cancer Inst.*, 85, 1993, 1657-1669.
34. Nupponen, N. N., Kakkola, L., Koivisto, P., Visakorpi, T.: Genetic alterations in hormone-refractory recurrent prostatic carcinomas. *Am. J. Pathol.*, 153, 1998, 141-148.
35. Yang, M., Loda, M., Szytkowski, A. J.: Identification of genes expressed differentially by LNCaP or PC-3 prostate cancer cell lines. *Cancer Res.*, 58, 1998, 3732-3735.
36. Meyers, F. J., Gumerlock, P. H., Chi, S. G. et al.: Very frequent p53 mutations in metastatic prostate carcinoma and in matched primary tumors. *Cancer*, 83, 1998, 2534-2539.
37. Stricker, H. J., Jay, J. K., Linden, M. D. et al.: Determining prognosis of clinically localized prostate cancer by immunohistochemical detection of mutant p53. *Urology*, 47, 1996, 366-369.
38. Bauer, J. J., Sesterhenn, I. A., Mostofi, F. K. et al.: Elevated levels of apoptosis regulator proteins p53 and bcl-2 are independent prognostic biomarkers in surgically treated clinically localized prostate cancer. *J. Urol.*, 156, 1996, 1511-1516.
39. Theodorescu, D., Broder, S. R., Boyd, J. C. et al.: p53, bcl-2 and retinoblastoma proteins as long-term prognostic markers in localized carcinoma of the prostate. *J. Urol.*, 158, 1997, 131-137.
40. Brooks, J. D., Bova, G. S., Ewing, C. M. et al.: An uncertain role for p53 gene alterations in human prostate cancers. *Cancer Res.*, 56, 1996, 3814-3822.
41. Prendergast, N. J., Atkins, M. R., Schatte, E. C. et al.: p53 immunohistochemical and genetic alterations are associated at high incidence with post-irradiated locally persistent prostate carcinoma. *J. Urol.*, 155, 1996, 1685-1692.
42. Lee, J. M., Bernstein, A.: p53 mutations increase resistance to ionizing radiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90, 1993, 5742-5746.
43. Huang, A., Gandour-Edwards, R., Rosenthal, S. A.: p53 and bcl-2 immunohistochemical alterations in prostate cancer treated with radiation therapy. *Urology*, 51, 1998, 346-351.