

# LARENKSİN SQUAMOUS HÜCRELİ KARSİNOMLARINDA "PROLİFERATING CELL NUCLEAR ANTİGEN" İN PROGNOSTİK ÖNEMİ (+)

PROGNOSTIC VALUE OF "PROLIFERATING CELL NUCLEAR ANTİGEN" IN  
LARYNGEAL SQUAMOZ CELL CARCİNOMA<sup>(+)</sup>

Dr. Tarık ŞAPÇI (\*), Dr. Füsün FİLİZEL (\*\*), Dr. Sibel ŞENSU (\*\*\*),  
Dr. Ahmet KARAVUŞ (\*), Dr. Melda KARAVUŞ (\*\*\*\*), Dr. Semahat ERTEK (\*\*)  
Dr. Uğur G. AKBULUT (\*)

**ÖZET** : Hücre siklusünde geç G<sub>1</sub> ve S fazlarında sentezlenen ve DNA replikasyon proteini olan Proliferating Cell Nuclear antigen (PCNA), anti-PCNA monoklonal antikorların varlığı ile tümör hücrelerinin proliferasyon hızını göstermede kullanılmaya başlanmıştır.

Bu çalışmada, squamous hücreli larenks karsinomu tanısı konulmuş 20 olguda, immunohistokimyasal olarak PCNA değerleri araştırıldı. Olgular düşük PCNA (median'ın altındaki değerler) ve yüksek PCNA (median'ın üstündeki değerler) pozitifliğine sahip olanlar olarak 2 gruba ayrıldı. PCNA değerleri yüksek olan gruptaki olgularda, yüksek oranda lenf metastazı tespit edildi. Sürvi analizi yapıldığında 2 grup arasında anlamlı bir fark bulunurken, histolojik differansiasyon ve PCNA arasında çok anlamlı bir ilişki tespit edilmedi (ancak sonuç anlamlılık sınırında kabul edildi).

Tüm bu sonuçlar, PCNA'nın squamous hücreli larenks karsinomlarında, prognozu belirlemede faydalı bir biomarker olduğunu göstermiştir.

**Anahtar Sözcükler** : Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA). Squamous hücreli larenks karsinomu.

**SUMMARY**: Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) is a DNA replication protein, maximally elevated in late G<sub>1</sub> and S phases of the cell cycle. By using monoclonal antibodies, the expression of PCNA can be quantified and the rate of tumor cell proliferation estimated.

In this study, PCNA expression was investigated immunohistochemically in 20 squamous cell carcinomas of the larynx. By dividing the patients into groups of low PCNA positivity (less than the median) and high PCNA positivity (greater than the median), it was found that there was a strong trend towards a higher degree of nodal involvement with increasing PCNA positivity. A survival analysis was also performed. Significant differences could be found between the two groups. But there was no significant differences was found to histological differentiation.

These results indicate that PCNA could be a useful biomarker as a prognostic factor in patients with squamous cell carcinoma of larynx.

**Key Words** : Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA). Squamous cell carcinoma of larynx.

## GİRİŞ

Baş-boyun bölgesinden kaynaklanan malignitelerin pek çok histopatolojik tipi vardır. Bun-

lar içerisinde %90'lık oran ile squamous hücreli karsinom'lar (SSC) en yaygın olandır (19). Bu tümör (tm)'lerin tedavisinde, hastalığın lokal, bölgesel ve uzak yayılımının araştırılıp, uygun olan cerrahi tedavinin veya radyoterapi, kemoterapi yada kombine tedavilerin uygulanması gerçekten çok önemlidir. Son yıllarda tedavideki

(\*) PTT Hastanesi KBB Kliniği  
(\*\*) PTT Hastanesi Patoloji Bölümü  
(\*\*\*) Kartal Devlet Hastanesi Patoloji Bölümü  
(\*\*\*\*) Marmara Üniversitesi Halk Sağlığı ABD. - İSTANBUL  
(+) 23. Ulusal ORL ve BBC Kongresinde tebliğ edilmiştir.  
Ekim 95 -Antalya

ilerlemeler özellikle fonksiyonel ve kozmetik amaçlı olmuştur. Maalesef hastaların survilerine ait çok fazla olumlu gelişme olmamıştır.

Tm'ün yerini, boyutunu ve metastatik tutulumunun derecesini standartize eden bir klasifikasyon şekli olan TNM sistemi prognoz hakkında da bize anlamlı bilgi vermektedir. (20). Boyunda LAP varlığı da diğer bulgular ile birleştirildiğinde, prognoz tayininde çok önemli bir faktördür (6). Ancak bu sistem sadece klinik bilgilerin sınıflandırılmasında önem taşımaktadır. Patolojik bulguların sınıflandırılmasında kullanılmamaktadır (10).

Prognoz tayininde eldeki metodların yetersizliği, son yıllarda immünohistokimya yöntemleriyle ünlerin agresiv davranışlarının belirlenmesine yönelik araştırmaları hızlandırmıştır. Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) 'de bu amaçla kullanılmaya başlanmış, tm. grade ve evresi ile anlamlı ilişkileri gösterilmiş, sürvi ile korelasyonu kurulmuş bir faktördür.

PCNA, DNA polimeraz deltanın kofaktörü olarak fonksiyon gören, 36 kilodalton molekül ağırlığında, hücre proliferasyonu ile ilişkili, nükleer nonhiston bir proteindir (2, 4, 15, 17). İlk defa 1978'de Miyachi tarafından, sistemik lupus eritematozlu hastaların serumunda proliferen hücre antijenleriyle reaksiyon veren, otoantikorların varlığı gösterilmiştir (22). Aynı yıllarda Çeliş (4), proliferen hücrelerin, çift boyutlu jel elektroforezinde, hücre siklusuyla ilişkili bir protein olan siklini tanımladı. Mathews (9) bu iki proteinin aynı olduğunu göstermiş ve daha sonrada PCN/siklin'in DNA replikasyonundan sorumlu olan polimeraz deltanın kofaktörü olduğu kanıtlanmıştır (3, 24). Ayrıca PCNA'in, polimeraz deltadan bağımsız olarak DNA tamir sentezinde görev aldığı da gösterilmiştir (21, 22, 26). In situ hibridizasyonla, PCNA geninin 20'inci kromozomun kısa kolunda (20p12) lokalize olduğu gösterilmiştir (17, 30)

Bu çalışmada, PCNA ile SCC 'lu larenks olguları arasında tm'ün, grade'i metastası ve survisi açısından olan ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

## YÖNTEM GEREÇ

Çalışmamızın kapanımı PTT Hastanesi Kli-

niğinde biopsi veya biopsi + cerrahi sonucunda squamous hücreli larenks karsinomu tanısı konulmuş olan 20 olgu oluşturmaktadır, olguların 19'una cerrahi girişim uygulanırken, 1'ine biopsi, ardından radyoterapi uygulandı.

PCNA değerlendirmeleri için olguların tümü 2 patolog tarafından değerlendirildi. 19 olgunun cerrahi sonucu çıkarılan spesmenleri ile 1 olgunun biopsisininin, %10'luk formalinde tespitli parafine gömülü bloklarından elde edilen 5 mikronluk kesitler, poly-L-lysine (Sigma, P8920) ile kaplı lamalar üzerine alındı. Kesitler 37°C'de 1 gece, 60°C de 1 saat etüvde bekletilerek deparafinizasyon ve hidrasyon aşamalarından geçirildikten sonra %3 hidrojen peroksidadda oda ısısında 10 dakika bekletilip, antijen açığa çıkarıcı solüsyon (antigen retrieval Citra HKO 86-5K Biogenex) içinde 90°C da 10 dakika benmaride bırakıldı. Lamlar distile su ve fosfat tamponlu serum fizyolojik (PBS) ile yıkayıp nemli bir ortama yerleştirildi. Her kesite 50 mikrolitre PCNA antikor (PCNA, AM 206-5M, Biogenex) damlatıldı ve 2 saat bekletildi. Daha sonra 20 dakika bağlayıcı antikor (link antibody), 5 dakika PBS, 20 dakika Label, 5 dakika PBS, 30 dakika kromojen substrat (alkalen fosfataz bağlı streptavidin) uygulandı. Kontrast boya olarak Mayer hematoksi-len kullanıldı ve (glycerol gelatin, GG1 Sigma) mounting media ile kapatıldı. Pozitif kontrol olarak tonsil dokusu kullanıldı.

PCNA ile çekirdeği koyu ve açık boyanan tümör hücreleri pozitif (+), sadece sitoplazması boyanan ve hiç boya almayanlar negatif (-) kabul edildi. Her olguda tm hücreleri ve bu alanadaki (+) hücreler en az 1000 hücre olacak şekilde sayıldı. Bunların ortalaması alınarak pCNA değerleri % olarak bildirildi. Olgular PCNA değerlerine göre, düşük ve yüksek olacak şekilde 2 alt gruba ayrıldı. 2 ayrı gözlemcinin saptadığı PCNA değerlerinin bu alt gruplara göre dağılımı tüm olgularda uyumlu idi. 10 olgu, bir süre sonra gözlemcilerden biri tarafından değerlendirildi. Saptanan PCNA değerleri eskileri ile uyumlu idi.

## SONUÇLAR

Olguların tamamı erkek olup, yaş sınırı 30-73, median yaş ise 52 olarak tespit edilmiştir. Olguların tamamı primer larenks tm'üydü ve ta-

mamının tanısı squamous hücreli karsinom olarak tespit edildi (Tablo I). 20 olgunun 6'sında (%30) lenf düğümü metastazı gözlemlendi. Histopatolojik grade'leme Broder'in önerdiği şekilde yapıldı (7). Buna göre 14 olgu (%70) grade-II (Orta derecede differansiye). 4 olgu (%20) grade-I (İyi derece differansiye), 2 olgu (%10) grade - III (Az differansiye) olarak değerlendirildi. Olguların takipleri sonucunda 8 olguda (%40) nüks gözlenirken, nüks olgulardan biri primer tm'e bağlı ex oldu. Ancak 1 olgunun başka bir nedenle ex olduğu tespit edildi.

Tablo I : Hasta bilgilerinin özeti

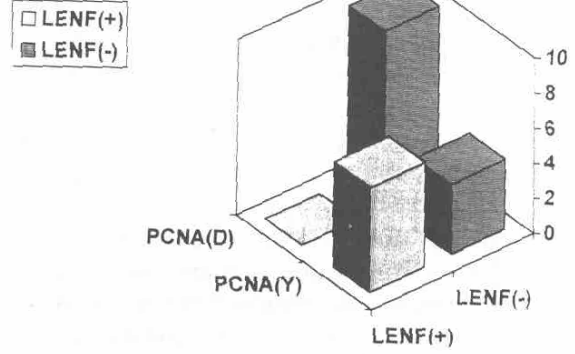
Ad-Soyad	C/Y	Klinik Stage	Patolojik Grade	PCNA
İK	E 47	T2 NOMO	II	38.06
HO	E 73	T1 aNOMO	II	44.07
RZ	E 30	T2 N1MO	II	60.08
ZK	E 53	T1 aNOMO	I	33.00
ET	E 54	T2 N1MO	II	71.59
RE	E 42	T1 aNOMO	II	36.06
GÇ	E 52	T1 aNOMO	II	16.58
NI	E 63	T1 aNOMO	I	40.36
FA	E 61	T3 N1MO	II	69.89
İE	E 67	T1 aNOMO	I	18.36
MÖ	E 45	T2 NOMO	II	43.75
ET	E 50	T3 NOMO	II	40.57
FS	E 42	T1 aNOMO	II	29.12
FD	E 53	T4 aN1MO	III	81.57
BT	E 38	T1 aNOMO	II	33.56
ŞÖ	E 51	T3 NOMO	III	55.17
YK	E 44	T2 NOMO	II	57.96
EK	E 48	T3 N1MO	II	62.22
SÖ	E 70	T3 NOMO	I	35.36
RŞ	E 62	T2 N1MO	II	29.25

PCNA değerleri 16.58 ile 81.57 arasında değişmekte olup, median değeri 40.47 idi. PCNA değeri 16.58-40.36 arasında olanlar düşük, 40.37-81.57 arasında olanlar ise yüksek olarak kabul edildi.

İstatistiksel olarak, Fisher'in kesin ki-kare testi ile lenf metastazı ve PCNA arasında anlamlı ilişki bulundu ( $P < 0.01$ ), (Tablo - II). Nüks ve sağkalım ile PCNA arasında da anlamlı ilişki bulunurken ( $P < 0.001$ ), (Tablo - III); Kruskal-Wallis testi ile tm. grade'i ve PCNA arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı, ancak sonuç anlamlılık sınırında kabul edildi. ( $P > 0.05$ ), ( $P = 0.0916$ ) (Tablo - IV)

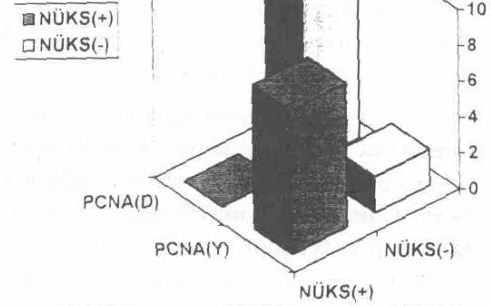
Tablo II : Lenf düğümü metastazı ve PCNA değerlerinin karşılaştırılması

Lenf Düğümü Mesatazi	PCNA (Düşük)	PCNA (Yüksek)	Toplam
+	0	6	6
-	10	4	14
TOPLAM	10	10	20

(Fisher'in kesin ki-kare testi :  $P < 0.01$ )

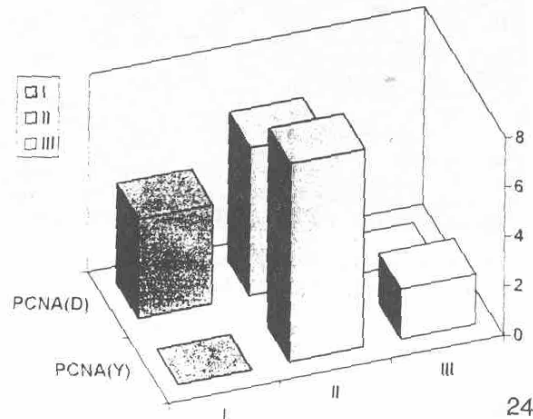
Tablo - III : Survî ve PCNA değerlerinin karşılaştırılması

SURVİ	PCNA (Düşük)	PCNA (Yüksek)	Toplam
Nüks (+)	0	8	8
Nüks (-)	10	2	12
TOPLAM	10	10	20

(Fisher'in kesin ki-kare testi :  $P < 0.01$ )

Tablo - IV : Histolojik Grade ve PCNA değerlerinin karşılaştırılması

Histolojik Grade	PCNA (Düşük)	PCNA (Yüksek)	Toplam
I	4	0	4
II	6	8	14
III	0	2	2
TOPLAM	10	10	20

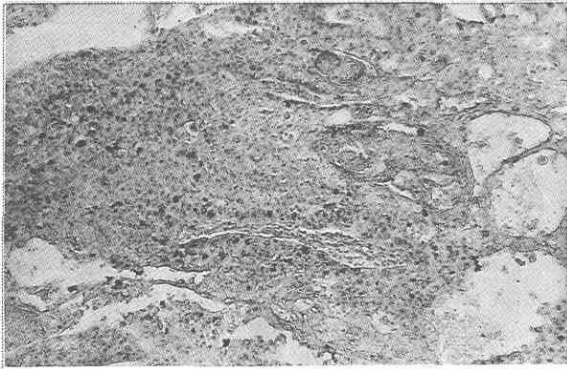
(Kruskal-Wallis testi :  $P > 0.05$ , " $P = 0.0916$ ")

## TARTIŞMA

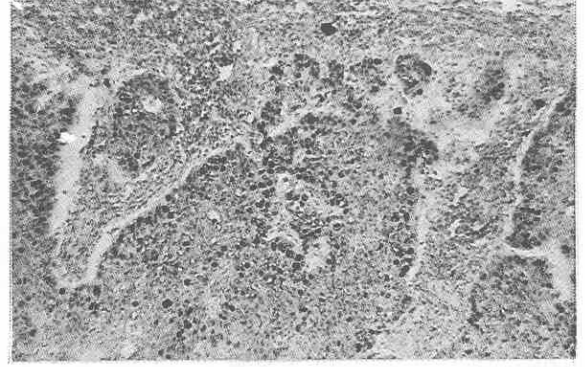
Tümör hücrelerinin proliferasyon aktivitesini gösteren PCNA, hücre siklusunda, geç G<sub>1</sub> ve S fazlarında sentezlenir (13). PCNA'nın farklı epitoplarna bağlanan 11 tane monoklonal antikor üretilmiştir (29). İlk önceleri frozen ve alkol fikse dokularda PCNA çalışılabilmesine karşın, son yıllarda özel bir alet gerekmez, formol fikse parafinde gömülü dokularda uygulanabilen anti-PCNA antikorlarının üretilmesiyle birlikte, PCNA'nın çeşitli organ tümörlerinde proliferasyon indeksi olarak kullanımı yaygınlaşmıştır (9).

Yapılan bir çok çalışmada formaldehitte tespit süresi uzadıkça, PCNA immunoreaktivitesinin zorlaştığı ve bunu önlemek için antijen açığa çıkaran solüsyonların kullanılması gerektiği bildirilmiştir (27). Ancak elde edebildiğimiz literatürlerde bu uygulama microwave fırın kullanılarak yapılmıştır. Bu çalışmada microwave fırın yerine 90°C'de benmaride 10 dk. antijen açığa çıkaran solüsyon uygulandı ve böylece microwave olmayan merkezlerde de bu yöntemin uygulanabileceği gösterildi.

PCNA değerlendirmesinde bütün pozitif hücrelerin mi, yoksa sadece kuvvetli pozitif hücrelerin mi sayılacağı, literatüre bakıldığında hala tartışma konusudur (5). Bizim çalışmamızda boyanma kuvvetinin ayırt edilmesinde yeterince objektif olunamayacağı düşünerek tüm pozitif hücreler sayıldı. Bazı çalışmalarda bulunmuş olan düşük PCNA değerleri açıkça belirtilmekle birlikte, sadece kuvvetli hücrelerin sayılmasına bağlı olabilir (5, 14).



Resim 1 : PCNA kuvvetli pozitif hücreler (HEEx100)



Resim 1 : PCNA zayıf pozitif hücreler (HEEx100)

Çalışmamızda dikkatimizi çeken bir diğer nokta da aynı kesitte değişik differansiyona sahip alanların bir arada bulunmasının tespiti ve bu alanların farklı boyama özelliği taşımasıydı. İyi differansiye alanlarda ve özellikle tm. adalarının ortasındaki keratinize alanlarda PCNA pozitifliği çok düşük olarak saptanırken aynı adaların periferindeki hücrelerde ve az differansiye alanlarda PCNA pozitifliği daha yoğun olarak bulundu. Gerçekten bu sonuç Shin ve ark.'ların (25) sonuçları ile tamamen uyum göstermektedir. Çalışmamızda bu tür olgularda mümkün olduğunca çok sayıda ve farklı özellikteki alanlar sayılarak objektif olunmaya çalışıldı.

PCNA'nın kolay, güvenilir bir yöntem olması ve retrospektif çalışmalara olanak sağlaması, bu yöntemin proliferasyon indeksi olarak yaygın kullanımına yol açmıştır (15). Bu amaçla yapılan değişik çalışmalarda, Waldman (28) mesane tm.'lerinde PCNA değerlerinin tm. grade ve evresi ile olan anlamlı ilişkisini, Kawai ve ark. (13) akciğer karsinomlarında PCNA'nın klinik stage ile olan ilişkisini, Fontanini ve ark. (8) ise küçük hücreli ca. dışındaki akciğer ca.'larda PCNA'nın diğer prognostik parametrelerden bağımsız olarak, yaşam süresini etkilediğini gösterirken, diğer bazı araştırmacılar santral sinir sistemi, gastrik ve kolonik ca. pankreasın endokrin tm.leri ve malign lenfomalarda PCNA'nın sürvi ile korelasyonu gösterildi (1, 11, 12, 23, 31). Tüm bu çalışmalar baş-boyun tm.'lerinde de PCNA araştırılmasına ışık tuttu ve bu amaç ile Lampe (25), 1993 yılında baş ve boyun squamous hücreli karsinomlarında PCNA ile prognoz arasındaki ilişkiyi araştırdı ve N<sub>0</sub> boyunlarda PCNA oran-

larına düşük, N<sub>1</sub> ve N<sub>2</sub> boyunlarda ise yüksek olduğunu gösterdi. Ayrıca PCNA'nın tm.'ün biolojik agresivliğinin gösterilmesinde deki rolünü, yani dolayısıyla metastatik potansiyeli ile olan ilişkisini gösterdi. Ayrıca 1994 yılında, Lorz ve ark.'da (16) baş-boyun tm.'lerinde histolojik diferansiyasyon ile PCNA arasındaki güçlü ilişkiyi kanıtladılar.

Bizde yaptığımız çalışmada, PCNA ile tm. grade'i, lenf düğümü metastazı ve olguların sürveleri arasındaki ilişkiyi araştırdık. Lenf düğümü metastazı ile PCNA değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu. Tm. grade'i ile PCNA arasında ise istatistiksel olarak anlamlı ilişki yoktu, ancak (P = 0,0916) sonuç anlamlılık sınırında kabul edildi. Düşük grade'li tm.'lerde PCNA değerlerinin düşük, yüksek grade'lerde ise yüksek olmasına rağmen istatistiksel anlamlılığın çıkmaması, çalışmadaki olgu sayısının az olması ile açıklanabilir. Ayrıca min. 3 yıl. max. 5 yıl takip ettiğimiz olguların nükslerine ve sağ kalımlarına göre, sürvi ile PCNA değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu. Nitekim bu sonuçlar literatür ile tamamen uyumludur.

Gerek literatür, gerekse bizim sonuçlarımız, bağımsız ve kolay uygulanabilir, gözlemciler arası ve gözlemci içi uyumu yüksek olan, klinisyenler tarafından kolayca değerlendirilebilen bir parametre olan PCNA'nın, larenksin veya baş ve boyunun squamous hücreli karsinomalarında prognostik bir faktör olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Ancak daha çok sayıda olgu içeren ve yaşam süreleri belli olan çalışmaların artmasıyla, bunun tam olarak kanıtlanacağı ve o zamanda PCNA'nın rutin kullanıma girebileceği düşüncesindeyiz.

**Yazışma Adresi :** Dr. Tarık ŞAPÇI  
İnönü Cad. Aydın Sok. Koza Apt.  
No: 9/27 81090 Erenköy/İSTANBUL

## KAYNAKLAR

1. ALLEGRANA A., GRLAND S., ARRIGONI GL., et al. : Proliferating Cell Nuclear Antigen Expression in central nervous system neoplasms. Virchows Archiv A Pathol Anat 419 : 417-413. 1993
2. BASERGA R. : Growth Regulation of the PCNA Gene. J Cell Science 98 : 433 - 436, 1991
3. BRAVO R., FRANK R., BLUNDELL PA., et al. ; Cyclin/PCNA is the Auxillary Protein of DNA Polymerase - 6. Nature 326 : 515- 517, 1987
4. CELIS JF., BRAVO R., LARSEN MS., FEY SJ. ; Cyclin ; a Nuclear Protein whose Level Correlates Directly with the Proliferative State of Normal as Well as Transformed Cell, Leukemia Res 8 : 143 - 157. 1984
5. DERVAN PA., PATH FRC. MAGEE, HM., et al. : Proliferating Cell Nuclear Antigen Counts in Formalin-Fixed Paraffin - Embedded Tissue Correlate with Ki-67 in Fresh Tissue. Am J Clin Pathol 97 (Suppl) : 521 - 528, 1992
6. Di TROIINA, JF. ; Nodal Metastases and Prognosis in Carcinoma of Oral Cavity. Otolaryngol Clin North Am. 5 : 333 - 342. 1972
7. FREDMANN, I. : Neoplasm of the larenx. in symmers, WST. (ed) : Nose throat and ear. Churchill Living Stone, Edinburg. First Pub, 210-249, 1986
8. FONTANINI G., MACCHIARINI P., PEPE S. et al. ; Proliferating Cell Nuclear Antigen Paraffin Sections of Peripheral, Node-negative Non-small Cell lung Cancer. Cancer 70:1520-1527, 1992
9. HALL PA., LEVTSOON DA, WOODS AL., et al. ; Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) Immunolocalization in Paraffin Sections : An Index of Cell Proliferation with Evidence of Deregulated Expression in Some Neoplasms. J Pathol 162 : 285 - 294, 1990
10. HIBBERT J., MARKS NJ., WINTER PJ., et al : Prognostic Factors in Oral Squamous Carcinoma and Their Relation to Clinical Staging. Clin Otolaryngol 8 : 197 - 203. 1983
11. JAIN, S., FILIPE, MI., HALL, PA. et al. : Prognostic Value of Proliferating Cell Nuclear Antigen in Gastric Carcinoma. J Clin Pathol 44 : 655 - 659. 1991
12. KAMEL. OW., LEBRUN. DP., DAVIS, RE., et al. : Growth Fraction Estimation of Malignant Lymphomas in Formalin - Fixed Paraffin - Embedded Tissue Using Anti-PCNA / Cyclin 19A2 : Correlation with Ki , 67 labeling. Am J Pathol 138 : 1471 - 1477. 1991
13. KAWAI. T., SUZUKI M., KONU. S, et al. : Proliferating Cell Nuclear Antigen and Ki-67 in Lung Carcinoma. Cancer 74 : 2468-2474, 1994
14. LAMPE, HB. : DNA Analysis of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma by Flow Cytometry, Laryngoscope 103 : 637-644, 1993
15. LINDEN. MD., TORRES, FX., KUBUS J., et al. : Clinical Application of Morphological and Immunocytochemical Assessments of Cell Proliferation. Am J Clin Pathol 97 (suppl 1) : S4-S13, 1992
16. LORZ, M., MEYER BE., BETTINGER R. : Proliferating Cell Nuclear Antigen Counts as Markers of Cell Proliferation in Head and Neck Cancer. 251 (2) : 91 - 94. 1994 (Abstr.)
17. MATSUMOTO, K., MORIUCHI, T., NAKANE, PK. : Molecular Cloning of cDNA Coding for Rat Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) / cyclin. EMBOJ6 : 637-642. 1987
18. MATTHEWS. JL., GLYNN. M., PARKINS, A., et al. : Alteration in Colonic Epithelial Cell DNA Associated with Intestinal Neoplasia : Selection of High Risk Patient. Br J Surg 74 : 23-25. 1987
19. McGUIRT. WF. : Cancer of the Upper Aerodigestive Tract. Basic Principles and Concepts. Postgrad Med, 80 : 77 - 96, 1986
20. MOORE C., FLYNN, MB. and GREENBERG. RA. : Evaluation of Size in Prognosis of Oral Cancer, 58 : 158 - 162, 1986
21. NISHIDA, C., REINHARD P., LINN S. : DNA Synthesis in Human Fibroblasts requires DNA Polymyrase-5 J Biol Chem 263 : 501 -510. 1988
22. OGATA K., OGATA Y., TAKASAKI Y., TAN, EM. : Epitopes on Proliferating Cell Nuclear Antigen Recognized by Human Lupus Autoantibody and Murine Monoclonal Antibody. J Immunol 39 : 2942 - 2946. 1987
23. PELOSI, G., ZAMBONI, G., DOGLIONI. C., et al. : Immunodetection of Proliferating Cell Nuclear Antigen Assesses the Growth Fraction and Predicts Malignancy in Endocrine Tumors of the Pancreas. Am J Surg Patho 16 (12) : 1215 - 1225. 1992

24. PKELICH, G., TAN, CK., KOTSURA, M., et al. : Functional Identity of Proliferating Cell Nuclear antigen and a DNA Polymerase-5 Auxiliary Protein Nature 326 : 517 - 520, 1987
25. SHIN, DM., VORAVUD N., RO, JY., et al. : Sequential Increases in Proliferating Cell Nuclear Antigen Expression in Head and Neck Tumorigenesis : A Potential Biomarker J Natl Cancer Inst. 85 (12) : 971 - 978, 1993 (Abstr.)
26. SHIVJI, MKK., KENNY, MK., WOOD, RD. : Proliferating Cell Nuclear antigen is Required for DNA Excision Repair. Cell 69 : 367 -374, 1992
27. TAHAN, SR., NEUBERG D., DIEFFENBACH., A., et al. : Prediction of Early Relapse and Shortened Survival in Patient with Breast Cancer by Proliferating Cell Nuclear Antigen Score. Cancer 71 : 3552 - 3559, 1993
28. WALDMAN, FM., CARROLL, PR, COHEN, MB. et al. : % Bromodeoxyuridine Incorporation and PCNA Expression as Measures of Cell Proliferation in Transitional Cell Carcinoma of the Urinary Bladder. Mod Pathol 6 : 20 - 24, 1992
29. WASEEM, NH., LANE, DP. : Monoclonal Antibody Analysis of the Proliferating Cell Nuclear antigen (PCNA) : Structural Conservation and Detection of a Nucleolar Form. J Cell Sel 96 : 121 - 129, 1990
30. WEBB, G., PARSONS, P., CMENEVK - TRENCH, G. : Localization of the Gene for Human Proliferating Cell Nuclear Antigen/Cyclin by in situ hybridization. Hum Genet 86 : 84 - 86, 1990
31. YU, CCW., HALL, PA., FLETCHER, CDM. et al. : Hemangiopericytomas : The Prognostic Value of Immunohistochemical Staining with a Monoclonal Antibody to Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA). Histopathology 19 : 29 - 33, 1991