

## Expresión inmunohistoquímica del complejo E-caderina-catenina en cáncer gástrico. Relación con variables clínico-morfológicas y sobrevida de pacientes

Pablo Guzmán G<sup>1</sup>, Juan Araya O<sup>1</sup>, Miguel Villaseca H<sup>1</sup>, Iván Roa E<sup>1</sup>, Angélica Melo A<sup>1a</sup>, Sergio Muñoz N<sup>2b</sup>, Juan Roa S<sup>1</sup>.

### *Immunohistochemical expression of the E-cadherin-catenin complex in gastric cancer*

**Background:** The E-cadherin/catenin complex plays an essential role in the control of epithelial differentiation. Abnormal expression in tumors correlates with histological grade, advanced stage and poor prognosis. **Aim:** To evaluate the expression pattern of E-cadherin/catenin complex in gastric carcinoma and analyze their association with tumor clinicopathological features and patient survival. **Material and Methods:** Immunohistochemical staining of E-cadherin,  $\alpha$  and  $\beta$ -catenin was performed from paraffin specimens of 65 gastric carcinomas. **Results:** Abnormal expression of E-cadherin,  $\alpha$  and  $\beta$ -catenin was demonstrated in 82%, 85% and 88% of gastric carcinomas, respectively. There was a significant correlation between abnormal expression and Lauren pathological classification and depth of infiltration, but not with tumor stage, positive lymph node metastases and survival. **Conclusion:** Abnormal expression of E-cadherin,  $\alpha$  and  $\beta$ -catenin occurs frequently in gastric carcinoma and correlates with histological grade (Rev Méd Chile 2006; 134: 1002-9).

**(Key words:** Alpha catenin; Beta catenin; E-cadherin; Stomach neoplasms)

Recibido el 16 de agosto, 2005. Aceptado el 26 de enero, 2006.

Trabajo financiado por Proyecto DIUFRO 110205, de la Dirección de Investigación y Desarrollo de la Universidad de La Frontera.

<sup>1</sup>Departamento de Anatomía Patológica, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera.

<sup>2</sup>Departamento de Epidemiología, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera.

Temuco, Chile.

<sup>a</sup>Tecnólogo Médico

<sup>b</sup>Bioestadístico

Correspondencia a: Pablo Guzmán G. Departamento de Anatomía Patológica, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera. Fono fax: 045-296591. E mail: pguzman@ufro.cl

El cáncer gástrico es la segunda neoplasia más frecuente a nivel mundial, después del cáncer pulmonar. Las mayores incidencias se registran en China, Japón, Europa del Este y Sudamérica. Esta neoplasia ocupa el segundo lugar a nivel mundial en mortalidad, con mejor sobrevida sólo en Japón, Australia y Nueva Zelanda, debido principalmente al diagnóstico precoz<sup>1</sup>. En Chile, el cáncer gástrico es la principal causa de muerte por cáncer. Se ha observado una tendencia al descenso en las últimas décadas, sin una clara explicación de este fenómeno<sup>2,3</sup>.

En el cáncer gástrico, el proceso de invasión local y metástasis a distancia está controlado por factores relacionados con la capacidad de las células neoplásicas de invadir el espacio extracelular y estructuras vasculares sanguíneas y linfáticas. En el tejido normal, la adhesión celular es regulada por varias moléculas de adhesión y sus receptores, pero en el tejido neoplásico, la expresión de estas moléculas o su función están frecuentemente alteradas<sup>4,5</sup>.

Las caderinas son una familia de moléculas de adhesión celular esenciales para la preservación de la integridad tisular, morfogénesis y reconocimiento célula-célula. Los miembros de esta familia se denominan de acuerdo al tejido de origen, ej: E-caderina en células epiteliales, N-caderina en células nerviosas y P-caderina en tejido placentario. La típica caderina de los mamíferos es una glicoproteína de transmembrana de aproximadamente 120 kDa, que es codificada por un gen situado en el cromosoma 16q22, posee un segmento extracelular que contiene un sitio calcio dependiente y dos sitios para ligandos específicos. Una secuencia hidrofóbica une la caderina a la membrana celular, mientras que un componente citoplasmático interactúa con elementos del citoesqueleto, vía proteínas mediadoras, llamadas cateninas. El complejo catenina está compuesto por  $\alpha$ -catenina (102 kDa, cromosoma 5q),  $\beta$ -catenina (92 kDa, cromosoma 3p) y  $\gamma$ -catenina (83 kDa, cromosoma 17q)<sup>6</sup>. Existe evidencia que la E-caderina se une a  $\beta$ -catenina o  $\gamma$ -catenina. La  $\alpha$ -catenina se une a  $\beta$ -catenina o  $\gamma$ -catenina lo que da por resultado los complejos E-caderina/ $\beta$ -catenina/ $\alpha$ -catenina y E-caderina/ $\gamma$ -catenina/ $\alpha$ -catenina<sup>7</sup>. Finalmente estos complejos de transmembrana se unen, mediante el  $\alpha$ -catenina, a filamentos de actina del citoesqueleto, para constituir estructuras fundamentales de la unión célula-célula<sup>8</sup>.

La pérdida de la expresión del complejo E-caderina/catenina, se describe en diferentes tipos de neoplasias humanas<sup>8,9</sup>. Esta observación se ha correlacionado con pérdida del fenotipo celular y pobre pronóstico para el paciente. Los cánceres agresivos y de gran potencial metastásico poseen una expresión disminuida o ausente de estas moléculas<sup>10,11</sup>.

Desde hace más de una década, estas moléculas han aparecido en muchos estudios, disponiéndose de abundante literatura, obtenida en diferentes tipos de neoplasias de población asiática y caucásica, por lo que consideramos que un estudio realizado en Chile, más específicamente, en la IX región, la cual posee una alta prevalencia de cáncer gástrico y características particulares de tipo racial y de exposición geográfica a carcinógenos ambientales, puede aportar importante información local de esta neoplasia. Tomando en cuenta estas consideraciones, es que nos hemos planteado como objetivo evaluar la expresión inmunohistoquímica de las moléculas de adhesión celular E-caderina,  $\alpha$  y  $\beta$ -catenina, en cáncer gástrico y analizar la relación de esta expresión con variables clínicas patológicas y la sobrevida de los pacientes.

## MATERIAL Y MÉTODO

*Pacientes y muestras de tejido.* Se seleccionaron 65 casos consecutivos de cáncer gástrico, obtenidos de piezas de gastrectomía, del archivo de Anatomía Patológica del Hospital de Temuco, 21 casos eran incipientes y 44 avanzados. En 5 casos, además, se realizó quimioterapia, estos pacientes fueron excluidos del análisis de sobrevida. Se escogió un área representativa del tumor en la cual había evidencia de infiltración tumoral máxima. Como controles se utilizó 10 piezas de gastrectomía obtenidas por patología no tumoral. Las variables clínico-patológicas consignadas fueron sexo, número de apellidos mapuches, edad, características tumorales como tamaño, localización, variedad macroscópica, tipo histológico según Lauren<sup>12</sup>, grado de diferenciación tumoral, presencia de metástasis ganglionares linfáticas y estado tumoral según TNM al momento de la cirugía.

*Técnica de inmunohistoquímica.* Se realizó mediante técnica de avidina-biotina-peroxidasa para tejidos

fijados en formalina e incluidos en parafina. Los cortes fueron desparafinados e hidratados. La recuperación de antígenos se realizó mediante exposición a microondas en *buffer* citrato pH 6,0 y lavados en PBS pH 7,4. Los anticuerpos primarios policlonales utilizados, E-Caderina,  $\alpha$ -catenina y  $\beta$ -catenina (Santa Cruz Biotechnology Inc. USA), en dilución 1/100 e incubados durante 16 h, a temperatura ambiente la E-Caderina, y a 4°C la  $\alpha$  y  $\beta$ -catenina. Posteriormente, se agregó el anticuerpo secundario anti-cabra biotinilado (Vectastain ABC kit USA) en una dilución 1:200 y se incubó 30 min a temperatura ambiente. Luego se agregó el complejo de avidina-peroxidasa biotinilada (Vectastain ABC reagent) y se incubaron las placas por 30 min. Finalmente, la reacción fue revelada con diaminobencidina (Sigma USA) y contrastada con hematoxilina. Como control negativo se omitió el anticuerpo primario y como control positivo se utilizó epitelio escamoso proveniente de mucosa faríngea.

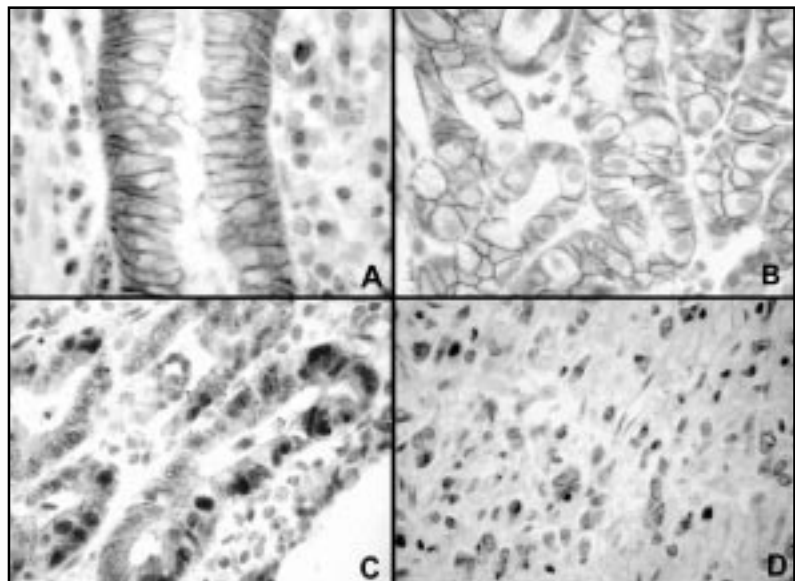
**Medición de positividad.** La tinción inmunohistoquímica se observó como una coloración pardusca de patrón lineal o granular, localizada predominantemente en relación a la membrana de las células epiteliales. Los controles de mucosa gástrica utilizados mostraron intensa positividad homogénea de membrana en todas las células epiteliales (Figura 1A). Esta tinción fue utilizada como valor de referencia cuantitativo y cualitativo en la expresión

de estas moléculas de adhesión. El sistema de graduación de positividad se estableció modificando algunos usados por otros autores<sup>10,13</sup>. Para la medición de la tinción inmunohistoquímica, se determinó: a) intensidad de la positividad (-: negativo, +: positividad débil, ++: positividad intensa), b) cantidad de células positivas (0: células tumorales negativas, positividad en células no tumorales, 1: células tumorales positivas en menos de 75%, con tinción débil; o positividad intensa en menos de 25% de células tumorales y 2: células tumorales positivas en más de 75%, con tinción débil o intensa; o positividad intensa sobre 25% y menos de 75%) y c) el patrón de tinción (i: negativo, tinción nuclear o heterogénea, ii: tinción de membrana). Se consideró la expresión inmunohistoquímica como anormal, cuando la intensidad fue (-), o (+); el porcentaje de positividad: (0) ó (1), y/o el patrón de tinción: (i).

Los casos fueron evaluados por dos observadores de manera independiente y las diferencias de estimación (<10%) fueron resueltas mediante consenso. Respecto a las variaciones en los casos, se comparó entre la intensidad de la tinción de la mucosa no tumoral vecina al tumor y el tumor. Para considerar un caso como negativo, se exigió positividad de la mucosa vecina al tumor (control interno). Los casos con positividad focal e intensa o difusa y leve, se procesaron nuevamente, siendo interpretados en forma conjunta y asignados a una de las categorías.

Figura 1. Expresión inmunohistoquímica de E-caderina,  $\alpha$  y  $\beta$ -cateninas en mucosa gástrica (40x).

(A) Expresión lineal, homogénea, conservada de E-caderina en mucosa no-tumoral. (B) Expresión lineal, homogénea, conservada de  $\alpha$ -catenina en mucosa tumoral. (C) Expresión heterogénea, aberrante con pérdida de la polaridad y tinción nuclear de  $\beta$ -catenina en mucosa tumoral. (D) Ausencia de tinción de E-caderina en mucosa tumoral.



*Análisis estadístico.* Se realizó mediante el programa Stata 8.0. Las tablas de contingencia entre la expresión inmunohistoquímica de E-Caderina,  $\alpha$ -catenina y  $\beta$ -catenina y el resto de las variables clínico patológicas fueron analizadas utilizando test exacto de Fisher y de Chi cuadrado. Las curvas de supervivencia se construyeron con el método de Kaplan-Meier y para las diferencias entre grupos de pacientes se utilizó el test log-rank. Se consideró como significativo a un valor de p menor a 0,05.

RESULTADOS

*Características clínico patológicas.* Las características generales de los 65 pacientes con cáncer gástrico estudiados, se resumen en la Tabla 1.

*Expresión inmunohistoquímica en cáncer gástrico.* En la Tabla 2, se resumen los hallazgos inmunohistoquímicos para las tres moléculas de adhesión y grado de infiltración de la pared (cánceres incipientes y avanzados). Para las tres moléculas de adhesión estudiadas, se observó una expresión anormal en más de 70% de los casos (Figura 1B, 1C y 1D), la cual fue más frecuentemente observada en los tumores avanzados, sin embargo, estas diferencias no fueron significativas. Al evaluar la expresión anormal como complejo (E-caderina/ $\alpha$ -catenina, E-caderina/ $\beta$ -catenina y E-caderina/ $\alpha$ -catenina/ $\beta$ -catenina), se encontró diferencias significativas entre cánceres gástricos incipientes y avanzados y la expresión anormal de E-caderina/ $\alpha$ -catenina y E-caderina/ $\alpha$ -catenina/ $\beta$ -catenina (p=0,03 y 0,02, respectivamente).

En la evaluación del grado de diferenciación expresado en la clasificación de Lauren (Tabla 3),

**Tabla 1. Comparación de características clínico patológicas entre cánceres gástricos incipientes y avanzados**

Características	Cáncer gástrico		Valor p
	Incipientes (n=21) (%)	Avanzados (n=44) (%)	
Sexo (H:M)	15:6	33:11	0,7
Edad (años promedio)	60	58	0,5
Apellidos mapuches			
Ninguno	15 (71)	39 (89)	0,2
Uno	4 (19)	3 (6)	
Dos	2 (10)	2 (5)	
Tamaño tumoral (cm promedio)	3,3	5,5	<0,01
	rango: 0,4-8	rango: 1-10	
Localización tumoral en estómago			
Tercio superior	7 (33)	13 (30)	0,9
Tercio medio	5 (24)	11 (25)	
Tercio inferior	9 (43)	20 (45)	
Clasificación macroscópica	I: 1 (5)	Borrmann I: 2 (5)	
	II: 14 (65)	Borrmann II: 16 (36)	
	III: 1 (5)	Borrmann III: 22 (50)	
	I+II: 3 (15)	Borrmann IV: 4 (9)	
	II+III: 2 (10)		
Metástasis linfática			
Positiva	2 (9,5)	36 (82)	<0,01
Negativa	19 (90,5)	8 (18)	
Clasificación Lauren			
Difuso	6 (29)	27 (61)	0,01
Intestinal	15 (71)	17 (39)	

**Tabla 2. Expresión inmunohistoquímica de E-caderina,  $\alpha$ -catenina y  $\beta$ -catenina en cáncer gástrico incipiente y avanzado**

	Cáncer gástrico incipiente		Cáncer gástrico avanzado		valor p
	normal n (%)	anormal n (%)	normal n (%)	anormal n (%)	
E-caderina	6 (29)	15 (71)	6 (13)	38 (86)	0,18
$\alpha$ -catenina	6 (29)	15 (71)	4 (9)	40 (91)	0,06
$\beta$ -catenina	3 (14)	18 (86)	5 (11)	39 (89)	0,7
E-caderina y $\alpha$ -catenina	9 (43)	12 (57)	8 (18)	36 (82)	0,03
E-caderina y $\beta$ -catenina	7 (33)	14 (67)	7 (16)	37 (84)	0,1
E-caderina, $\alpha$ y $\beta$ -catenina	10 (48)	11 (52)	9 (20)	35 (80)	0,02

**Tabla 3. Expresión inmunohistoquímica de E-caderina,  $\alpha$  y  $\beta$ -catenina en cáncer gástrico, según clasificación de Lauren**

	Clasificación de Lauren				Valor p
	Cáncer gástrico tipo intestinal		Cáncer gástrico tipo difuso		
	normal n (%)	anormal n (%)	normal n (%)	anormal n (%)	
E-caderina	9 (28)	23 (72)	3 (9)	30 (91)	0,06
$\alpha$ -catenina	8 (25)	24 (75)	2 (6)	31 (94)	0,04
$\beta$ -catenina	6 (19)	26 (81)	2 (6)	31 (94)	0,1
E-caderina y $\alpha$ -catenina	13 (41)	19 (59)	4 (12)	29 (88)	0,01
E-caderina y $\beta$ -catenina	10 (31)	22 (69)	4 (12)	29 (88)	0,07
E-caderina, $\alpha$ y $\beta$ -catenina	14 (44)	18 (56)	5 (15)	28 (85)	0,01

los cánceres gástricos de tipo intestinal mostraron expresión alterada de estas moléculas en menor proporción que aquellos tumores de tipo difuso, especialmente en la expresión de E-caderina y  $\alpha$ -catenina, 72% vs 91% ( $p=0,06$ ) y 75% vs 94% ( $p=0,04$ ), respectivamente. La expresión anormal del complejo E-caderina/ $\alpha$ -catenina y E-caderina/ $\alpha$ -catenina/ $\beta$ -catenina también se observó con mayor frecuencia en tumores de tipo difuso ( $p=0,01$ ). Se encontró expresión nuclear aberrante para la E-caderina en 13% de los casos, no así en las otras moléculas, en que estos porcentajes

fueron inferiores a 5%. No se observó diferencias en la expresión inmunohistoquímica de ninguna de las moléculas de adhesión celular aisladas o como complejo, en relación a diferentes patrones de tinción (membranosa vs citoplasmática/nuclear) y el resto de características clínicas y morfológicas analizadas.

*Análisis de supervivencia.* El seguimiento de los pacientes se efectuó hasta la ocurrencia del fallecimiento o hasta el término del estudio. Se obtuvo seguimiento de la totalidad del grupo, por

un período que varió desde 1 mes hasta 93 meses. Se realizó análisis comparativo de sobrevida de pacientes con cáncer gástrico incipiente y pacientes con cáncer gástrico avanzado. La sobrevida a 3 años fue de 79% para los pacientes con cáncer gástrico incipiente y de 56% para los pacientes con cáncer gástrico avanzado. La comparación de las curvas de sobrevida usando la prueba log-rank, evidenció diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,03$ ). En la Figura 2, se comparan las curvas de sobrevida, según expresión conservada y anómala de las moléculas de adhesión, en forma aislada o como complejo, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre ellas. Sin embargo, se observó una tendencia de menor sobrevida en el grupo de expresión anómala de estas moléculas, esto podría ser verificado en un estudio con mayor poder estadístico.

Se obtuvo diferencias estadísticamente significativas entre sobrevida y los factores pronósticos convencionales como nivel de infiltración parietal ( $p=0,03$ ), presencia de metástasis ganglionar linfática ( $p=0,01$ ) y estadio tumoral ( $p=0,03$ ).

## DISCUSIÓN

La expresión alterada de las moléculas de adhesión celular con pérdida de la localización membranosa, está descrita en varios cánceres humanos, publicándose cifras que van de 30% a 98% de los tumores<sup>14-19</sup>. En nuestro estudio, se encontró 82%, 85% y 88% de expresión anormal para E-caderina,  $\alpha$ -catenina y  $\beta$ -catenina, respectivamente. Pudimos demostrar una relación entre expresión anormal del complejo E-caderina/catenina con el grado de infiltración parietal y el tipo histológico de Lauren, más específicamente al evaluar la expresión anormal de E-caderina y cateninas como un complejo. El hecho de observar asociación entre expresión anormal del complejo en carcinomas avanzados, más que en incipientes, podría evidenciar que en lesiones avanzadas, de mayor tiempo de evolución, se acumulan muchas más alteraciones adicionales a nivel molecular que en las incipientes, en las que se expresarían sólo las modificaciones más tempranas.

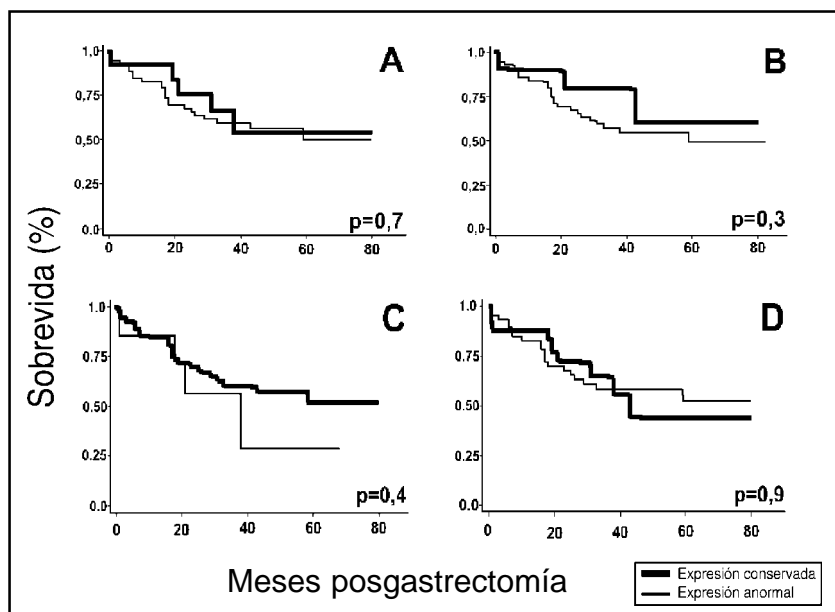


Figura 2. Curvas de sobrevida de Kaplan-Meier donde se observa menor sobrevida de los pacientes con cáncer gástrico con expresión anormal (línea fina) de E-caderina (A),  $\alpha$ -catenina (B),  $\beta$ -catenina (C) y E-caderina/ $\alpha$ -catenina/ $\beta$ -catenina (D) versus expresión conservada (línea gruesa). Las diferencias no mostraron significación estadística.

La asociación entre expresión anormal del complejo y el tipo histológico de Lauren, más precisamente tumores difusos o poco diferenciados<sup>9,20,21</sup>, es un hecho ya publicado y sugiere la importante función que cumple el complejo E-caderina/catenina en la diferenciación tumoral. La expresión conservada de este complejo se observa en carcinomas bien diferenciados, que mantienen su adhesividad célula-célula y son menos agresivos, pero la expresión anormal, vista en tumores indiferenciados que han perdido su adhesión intercelular, les otorga una gran tendencia a la invasión<sup>22,23</sup>.

La expresión alterada del complejo E-caderina/catenina se ha asociado con disminución de la sobrevida<sup>10,18</sup>. En el presente estudio se pudo observar que los pacientes con tumores con expresión anormal tenían, en general, una sobrevida levemente menor, pero no se encontró evidencia significativa para esta asociación. Esta falta de significancia estadística podría ser consecuencia del tamaño muestral o de las características étnicas de la muestra analizada. En varios trabajos publicados, esta asociación tampoco ha podido ser demostrada<sup>13,15,20,24</sup>. Según Blok y cols<sup>24</sup>, las alteraciones de expresión se relacionarían más con la morfología que con la progresión tumoral, pudiendo plantearse que la expresión alterada del complejo E-caderina/catenina tendría una importancia menor comparada con los factores pronósticos convencionales, como estado tumoral y grado de diferenciación, relación que sí pudo establecerse en nuestro estudio. Esto podría sugerir que la capacidad invasora y potencial

metastático del cáncer gástrico no depende solamente de factores de adhesión celular y que muchos otros factores, como la respuesta del huésped, pudieran estar involucrados en estos procesos. Debe considerarse, además, que la inmunorreactividad no aporta información de manera directa sobre la función de una proteína y la integridad de un gen.

En cáncer gástrico, como en otras neoplasias, evaluar y comparar la expresión inmunohistoquímica del complejo E-caderina/catenina posee cierto grado de dificultad, debido a los diferentes sistemas de evaluación, anticuerpos empleados y limitaciones inherentes a la técnica. La mayor parte de la literatura emplea sólo una o dos características a evaluar. El sistema de medición empleado considera tres características de la tinción inmunohistoquímica, para definir normal/anormal: localización, intensidad y cantidad de células. Si bien la evaluación de estos tres elementos puede resultar complicado, es mucho más ventajoso, ya que permite una mejor caracterización de las moléculas y podría ser más independiente al momento de requerir confirmación de los hallazgos inmunohistoquímicos por técnicas moleculares complementarias<sup>25-27</sup>.

En conclusión, nuestros resultados muestran que la expresión anormal del complejo E-caderina/catenina ocurre en una alta proporción de cánceres gástricos, incipientes como avanzados y se correlaciona con el grado de diferenciación tumoral e infiltración de la pared. No encontramos diferencias significativas entre la expresión alterada de estas moléculas y la sobrevida de los pacientes.

#### REFERENCIAS

1. PARKIN DM, PISANI P, FERLAY J. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 1999; 49: 33-64, 1.
2. MEDINA E, KAEMPFER AM. Mortalidad del adulto en Chile. *Rev Méd Chile* 2000; 128: 1144-9.
3. MEDINA E, KAEMPFER AM. Mortalidad por cáncer en Chile: consideraciones epidemiológicas. *Rev Méd Chile* 2001; 129: 1195-202.
4. KOUKOULIS GK, PATRIARCA C, GOULD VE. Adhesion molecules and tumor metastasis. *Hum Pathol* 1998; 29: 889-92.
5. STREIT M, SCHMIDT R, HILGENFELD RU, THIEL E, KREUSER ED. Adhesion receptors in malignant transformation and dissemination of gastrointestinal tumors. *J Mol Med* 1996; 74: 253-68.
6. HARRINGTON KJ, SYRIGOS KN. The role of E-cadherin-catenin complex: more than an intercellular glue? *Ann Surg Oncol* 2000; 7: 783-8.
7. JOU TS, STEWART DB, STAPPERT J, NELSON WJ, MARRS JA. Genetic and biochemical dissection of protein linkages in the cadherin-catenin complex. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 5067-71.

8. SMITH ME, PIGNATELLI M. The molecular histology of neoplasia: the role of the cadherin/catenin complex. *Histopathology* 1997; 31: 107-11.
9. PIGNATELLI M. E-cadherin: a biological marker of tumour differentiation. *J Pathol* 1993; 171: 81-2.
10. JAWHARI A, JORDAN S, POOLE S, BROWNE P, PIGNATELLI M, FARTHING MJ. Abnormal immunoreactivity of the E-cadherin-catenin complex in gastric carcinoma: relationship with patient survival. *Gastroenterology* 1997; 112: 46-54.
11. RAMESH S, NASH J, McCULLOCH PG. Reduction in membranous expression of beta-catenin and increased cytoplasmic E-cadherin expression predict poor survival in gastric cancer. *Br J Cancer* 1999; 81: 1392-7.
12. LAUREN P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. An attempt at a histo-clinical classification. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1965; 64: 31-49.
13. GRABSCH H, TAKENO S, NOGUCHI T, HOMMEL G, GABBERT HE, MUELLER W. Different patterns of beta-catenin expression in gastric carcinomas: relationship with clinicopathological parameters and prognostic outcome. *Histopathology* 2001; 39: 141-9.
14. KARAYIANNAKIS AJ, SYRIGOS KN, CHATZIGIANNI E, PAPANIKOLAOU S, KARATZAS G. E-cadherin expression as a differentiation marker in gastric cancer. *Hepato-gastroenterology* 1998; 45: 2437-42.
15. KOZUKI T, YAO T, NAKAMURA S, MATSUMOTO T, TSUNEYOSHI M. Differences in p53 and cadherin-catenin complex expression between histological subtypes in diffusely infiltrating gastric carcinoma. *Histopathology* 2002; 41: 56-64.
16. LIU J, IKEGUCHI M, NAKAMURA S, KAIBARA N. Re-expression of the cadherin-catenin complex in lymph nodes with metastasis in advanced gastric cancer: the relationship with patient survival. *J Exp Clin Cancer Res* 2002; 21: 65-71.
17. MAYER B, JOHNSON JP, LEITL F, JAUCH KW, HEISS MM, SCHILDBERG FW ET AL. E-cadherin expression in primary and metastatic gastric cancer: down-regulation correlates with cellular dedifferentiation and glandular disintegration. *Cancer Res* 1993; 53: 1690-5.
18. SHINO Y, WATANABE A, YAMADA Y, TANASE M, YAMADA T, MATSUDA M ET AL. Clinicopathologic evaluation of immunohistochemical E-cadherin expression in human gastric carcinomas. *Cancer* 1995; 76: 2193-201.
19. SHUN CT, WU MS, LIN JT, WANG HP, HOUNG RL, LEE WJ ET AL. An immunohistochemical study of E-cadherin expression with correlations to clinicopathological features in gastric cancer. *Hepatogastroenterology* 1998; 45: 944-9.
20. JOO M, LEE HK, KANG YK. Expression of E-cadherin, beta-catenin, CD44s and CD44v6 in gastric adenocarcinoma: relationship with lymph node metastasis. *Anticancer Res* 2003; 23(2B): 1581-8.
21. JOO YE, PARK CS, KIM HS, CHOI SK, REW JS, KIM SJ. Prognostic significance of E-cadherin/catenin complex expression in gastric cancer. *J Korean Med Sci* 2000; 15: 655-66.
22. MATSUURA K, KAWANISHI J, FUJII S, IMAMURA M, HIRANO S, TAKEICHI M ET AL. Altered expression of E-cadherin in gastric cancer tissues and carcinomaous fluid. *Br J Cancer* 1992; 66: 1122-30.
23. OKA H, SHIOZAKI H, KOBAYASHI K, TAHARA H, TAMURA S, MIYATA M ET AL. Immunohistochemical evaluation of E-cadherin adhesion molecule expression in human gastric cancer. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 1992; 421: 149-56.
24. BLOK P, CRAANEN ME, DEKKER W, TYTGAT GN. Loss of E-cadherin expression in early gastric cancer. *Histopathology* 1999; 34: 410-5.
25. BECKER KF, ATKINSON MJ, REICH U, HUANG HH, NEKARDA H, SIEWERT JR ET AL. Exon skipping in the E-cadherin gene transcript in metastatic human gastric carcinomas. *Hum Mol Genet* 1993; 2: 803-4.
26. BECKER KF, ATKINSON MJ, REICH U, BECKER I, NEKARDA H, SIEWERT JR ET AL. E-cadherin gene mutations provide clues to diffuse type gastric carcinomas. *Cancer Res* 1994; 54: 3845-52.
27. EBERT MP, YU J, HOFFMANN J, ROCCO A, ROCKEN C, KAHMANN S ET AL. Loss of beta-catenin expression in metastatic gastric cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21: 1708-14.