

İleri Evre Mide Kanseri Hastalarda mTOR Durumunun Sağkalım ve Tümör Karakteristikleri ile İlişkisi

Relation Between mTOR Status, Survival and Tumor Characteristics in Patients with Advanced Gastric Carcinoma

Kübra Aydın¹, Osman Gökhan Demir²

¹Dr. A. Y. Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Onkoloji Kliniği, Ankara, Türkiye

²Acıbadem Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Received: 08.07.2014 Accepted: 08.09.2014 DOI: 10.5505/aot.2014.25733

ÖZET

Amaç: mTOR ekspresyonu birçok solid tümörde klinik sonuçlarla ilişkilidir. Bununla birlikte mide kanserindeki klinik önemi henüz netleşmemiştir. Bu çalışma bu biyobelirteçin Türk toplumundaki klinik önemini belirlemek için tasarlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Otuz hastanın mide kanser dokusu içeren parafin kaplı doku blokları hazırlanmıştır. İmmünohistokimyasal olarak mTOR ekspresyonu incelenmiştir.

Bulgular: Bu biyobelirteçin mide kanserli hastalardaki klinikopatolojik özellikleri ve sağkalımları ile olan korelasyonu çalışılmıştır. mTOR pozitiflik durumu genel olarak %36.7 idi.

Sonuç: Sağkalım süresi ve mTOR ekspresyonu arasında ilişki bulunmamıştır.

Anahtar Kelimeler: Mide kanseri; mTOR ekspresyonu; Sağkalım.

ABSTRACT

Objective: Expression of mTOR have been linked to clinical outcomes in several solid tumors. However clinical significance of this biomarker in gastric cancer remain unclear. This study was designed to detect the clinical implications of this biomarker in Turkish population.

Methods: Paraffin -embedded tissue microarray blocks containing gastric cancer tissue obtained from 30 patients were constructed. Expression of mTOR, were detected by immunohistochemistry.

Results: The correlation of this biomarker to clinicopathologic features and survival of patients with gastric cancer was studied. The overall rate of positive mTOR, status were 36.7%.

Conclusion: There was no association was noted between the expression of mTOR and survival time.

Key Words: Gastric Cancer; mTOR expression; Survival.

Giriş

Mide kanseri dünyada yıllık 750000 yeni olgu ve 500000'den fazla ölümlle sonuçlanan en yaygın ikinci malignitedir. Japonya'da tüm kanser vakalarının yarısını oluşturan mide kanseri, Türkiye'de akciğer ve meme kanserlerinin ardından en sık tümör olarak yerini almaktadır (1,2). Mide kanserinde prognostik faktörlerin başında hastalığın evresi gelir. Erken evrelerde prognoz oldukça iyidir. Ancak olguların %60'ı tanı konulduğunda cerrahi şansını yitirmiştir. Genellikle evre I hastalarda 5 yıllık genel sağkalım (GS) %90-100 iken, evre IV hastalar için bu oran %10'un altındadır (3,4).

mTOR (Mammalian target of rapamycin) mTOR rapamisin'in memelilerdeki hedefi olan serin/treoninkinazdır ve memeli

hücrelerinde eksprese edilir (5). Uygun olmayan mTOR aktivasyonu birçok tümörün patogeneğinde rol oynamaktadır (6,7). PI3K/PTEN/AKT sinyal yolları kanserde sıklıkla deregüle olur. mTOR hücre içinde büyüme, çoğalma ve farklılaşma ile ilgili uyarı yolağında yer alır. Bu nedenle bu yolların içerikleri son dönemlerde kanser tedavisinde ilgi çekici hedefler olarak ortaya çıkmıştır. mTOR ekspresyonu birçok solid tümörde klinik sonuçlarla ilişkilidir. Bununla birlikte mide kanserindeki klinik önemi henüz netleşmemiştir. Bu çalışma bu biyobelirteçin Türk toplumundaki klinik önemini, mTOR ve tümör karakteristikleri belirlemek için tasarlanmıştır. mTOR ve Her-2 durum ilişkisi



ve Her-2 durumu ile metastaz ilişkisi de ikinci amaç olarak irdelendi.

Materyal ve Metod

Çalışma kapsamında histolojik olarak tanısı konulmuş mide adenokarsinomu tanısı alan hastalar dahil edildi. Hastaların mevcut mide dokusu bloklarında immünohistokimya (İHK) yöntemi kullanılarak saptanan mTOR ekspresyonu ile hastalık özellikleri, tedavi yanıtı ve prognoz arasındaki ilişki araştırıldı. Bu amaçla hastalara ait parafin mide dokusu bloklarından Hemotoksileneosin (HE) kesitler incelenerek uygun bloklardan hazırlanan kesitlere İHK uygulandı. İHK ve FISH (Fluorescence in situ hybridization) teknikleri literatürde belirtildiği gibi çalışıldı. Tüm HE ve İHK boyalı kesitler kör olarak incelendi. Tüm olgularda antikör invaziv tümör ve çevre mide dokusunda ayrı ayrı değerlendirildi. mTOR için sitoplazmik olarak boyanma elde edildi. Kontrol olarak mTOR için prostat dokusu kullanıldı. Boyanma yoğunlukları farklı olduğu için skorlama yapıldı. Semikantitatif olarak pozitif boyanan hücre yüzdesi ve boyanma yoğunluklarını çarpımı sonucu elde edilen sonuç immünreaktif skor (İRS) olarak kaydedildi. Boyanma yoğunlukları 0 (negatif), 1 (zayıf pozitif), 2 (orta yoğunlukta pozitif), 3 (kuvvetli pozitif); pozitif boyanma yüzdesi ise 0 (<%5), 1 (%5-25), 2 (%26-50), 3 (%51-75), 4 (>%75) olarak derecelendirildi. Elde edilen değerler temel alınarak İRS 0-3 arası 0, İRS 4-6 arası 1+, İRS 7-9 arası 2+, İRS 10-12 arası ise 3+ olarak kaydedildi. İRS sonucu 0 veya 1+ ise negatif, 2 veya 3+ ise mTOR pozitif olarak değerlendirildi. Hastaların Her-2 durumu FISH ile incelendi.

İstatiksel Analiz

GS kemoterapi başlangıcından ölüm ya da son değerlendirmeye kadar geçen süre olarak hesaplandı. Progresyonsuz sağkalım (PS); tedavi başlangıcından progresyona kadar geçen süre olarak hesaplandı. Hastaliksiz sağkalım (DFS) başlangıçta metastazı olmayan hastalar için hesaplandı ve mide kanserinin ilk tanı konduğu tarihten hastalığın metastatik olduğu tarihe kadar geçen süre olarak belirlendi. Sağkalım süreleri ve karşılaştırılmasında Kaplan-Meier sağkalım analizi ile yapıldı. Nitel değişkenlerin karşılaştırılmasında Ki-Kare analizi kullanıldı. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Eğer beklenen

değerin 5'ten az olduğu iki göz varsa; 'fisher's exact test' p değeri kullanıldı. İstatistiksel analizler için SPSS 18 programı kullanıldı.

Bulgular

Sunulan çalışma 40 mide adenokarsinomlu olguda retrospektif olarak yapılmıştır. Bu olgulardan bir tanesi çift primer tümörünün olması, dört tanesi takiplerinde nüks etmeyen Evre II hastalık olması, iki tanesi dosya verilerine ulaşılamaması ve üç tanesi de patoloji bloklarına ulaşılamaması nedeniyle çalışmadan çıkarılmıştır. Çalışmaya alınan tüm hastalar ya başlangıçta metastatik hastalığa sahiplerdi ya da takipleri sırasında metastatik olmuşlardı.

Yirmisi erkek (%67), 10'u kadın toplam 30 hastanın ortanca yaşı 58.5 (aralık; 34-85) Hasta özellikleri Tablo 1'de sunulmuştur. Analiz yapıldığında olguların %60'ı (n=18) eksitus olmuştur. Metastazlarından itibaren ortanca takip süresi 12.1 ay (aralık; 2-25.3 ay, %95 güven aralığı (GA) 10-17 ay) idi. Başvuru anındaki evreler incelendiğinde hastaların yarısının (n=15) başlangıçta metastatik olduğu görüldü. Çalışma hastalarımızda evre I hastalık yoktu. Evre durumu Tablo 1'de verilmiştir. Hastalarımızın %36.7'sinde (n=11) karaciğer metastazı mevcuttu. Hastaların %16.6'sında (n=5) karaciğer dışında başka metastaz yoktu. Akciğer metastazı hastaların %13.3'ünde (n=4), kemik metastazı %16.7'sinde (n=5), over metastazı %10'unda (n=3) mevcuttu. Sadece lokal nüks ile giden hasta oranı %6.6 (n=2) ve beyin metastazı yapan hasta oranı da %6.6 (n=2) olarak saptandı.

Hastaların %13.3'ü (n=4) sadece en iyi destek bakım alırken; %60'ı (n=18) bir basamak, %13.3 (n=4) iki basamak, %13.3'ü (n=4) iki basamak, %13.3 (n=4) üç basamak kemoterapi almıştı. Birinci basamakta sıklıkla DCF (Dose-taksel, sisplatin, 5-FU) %73.3 (n=23) tedavisi uygulanmıştı. Birinci basamakta uygulanan diğer tedaviler sıklık sırasına göre; ECF (Epirubisin, Sisplatin, 5-FU), CX (Sisplatin, Kapesitabin), DCX (Dose-taksel, Sisplatin, Kapesitabin), DC (Dose-taksel, Sisplatin), UFT (Tegafur/Urasil) idi. İkinci basamak tedavi alan hasta oranı %30 (n=9) iken, bunların %33.3'ünde (n=3) FOLFIRI (5-FU, İrinotekan, Lökoverin), %22.2'sinde (n=2) kapesitabin tek başına verilmişti. Diğer 2. basamak tedaviler;



kapasitabin, CF (Sisplatin, 5-FU), CX, DCF, XELIRI (Kapesitabin, İrinotekan) idi. Üçüncü basamak tedavi alan hasta oranı %13.3 iken bu tedaviler ECF ya da FOLFIRI olarak seçilmişti. Metastazlarından itibaren ortalama GS 12.7 ay (aralık; 2-25.3 ay, %95 GA 9.5-16.8 ay) olarak hesaplanmıştır. Hastalarımızın %10'unda (n=3) tümör özafagogastrik bileşkede lokalize iken, %13.3'ünde (n=4) kardiada, %23.3'ünde (n=7) antrumda, %23.3'ünde (n=7) korpusta ve %20'sinde (n=6) korpus ve antrum her ikisinde de saptanmıştı. Ancak %10'unda (n=3) lokalizasyon belirtilmemişti. Hastaların tümör patolojilerindeki parametrelerden tümör nekrozu, anjiyolenfatik invazyonu perinöral invazyon gibi parametrelerin oranları Tablo 1'de belirtilmiştir.

Her-2, mTOR Durumu

Hastaların Her-2 testi FISH analizi ile yapıldı. FISH pozitif olan hasta sayısı 7 (%23.3) idi. mTOR hiç boyanma olmayanlar negatif, boyanma saptananlar pozitif olarak kabul edildi (Tablo 2). Hastaların tümör dokusunda bakılan mTOR ve Her-2 durumuna göre yapılan analizlerde elde edilen istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

Her-2 pozitif hastaların metastaz durumları ile ilgili anlamlı veriler saptandı. Her-2 overekspresyonu olan hastalarda karaciğer metastazı anlamlı olarak daha sık olduğu görüldü (p=0.043). Tablo-3'de Her-2 overekspresyonu ile metastaz yeri arasındaki ilişki görülmektedir. Ayrıca yine Her-2 pozitif hastalarda seeding (ekme; over, periton, lokal, omentum) metastazların anlamlı olarak daha az olduğu görüldü (p=0.009) (Tablo 3).

Sağkalım Analizleri

Hastaların tanı anındaki evreleri ile metastatik hastalık olduktan sonraki GS'de fark görülmedi. Yani metastatik olmayan hastalarımızın nüks sonrası sağkalım süresinde, daha önce opere olmuş ya da olmamış ya da adjuvan tedavi almış ya da almamış metastatik olarak tanı konulanlara göre fark olmadığı görüldü. Ortalama metastazdan sonraki sağkalım süresi başlangıçta met olmayan hastalarda 18 ay iken (%95 GA, 12.7–23.2 ay), metastatik olarak tanı konulanlarda 15.1 ay (%95 GA, 2.8–27.4 ay), aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (log-rank p= 0.841) (Şekil 1).

mTOR pozitiflerde ortalama GS 7 ay iken (%95 GA, 0-15.6 ay); mTOR negatiflerde ortalama GS 9 ay (%95 GA, 6-11.9 ay), aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.97) (Şekil 2).

Her-2 pozitiflerde ortalama GS 7 ay (%95 GA, 4.4-9.56 ay) iken, Her-2 negatiflerde ortalama GS 9 ay (%95 GA, 6-11.9 ay) olarak saptandı. Aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0.97). Ancak Her-2 pozitif toplam 7 hastanın 5 tanesi trastuzumab tedavisi almıştı. Çalışmamızda mTOR durumuna göre ne patolojik parametrelerle (nekroz, grad gibi) ne de tedaviye yanıtla ilgili anlamlı sonuçlar saptanamadı (Tablo 4).

Kemoterapiye Yanıt Prediksiyonu

Genel olarak kemoterapiye yanıt (tam yanıt, kısmi yanıt ve stabil yanıt) ile mTOR durumu incelendiğinde anlamlı ilişki saptanmadı. Ayrıca taksanlara yanıt ve mTOR durumu ile; antrasikline yanıt ve mTOR durumu ile; kısacası herhangi bir kemoterapiye yanıt ve mTOR durumu arasında anlamlı ilişki saptanmadı.



Tablo 1: Tanı anındaki evre ve patolojik parametreler

Evre	n(%)		
IIA	2 (%6.7)		
IIB	2 (%6.7)		
IIIA	2 (%6.7)		
IIIB	4 (%13.2)		
IIIC	5 (%16.7)		
IV	15 (%50)		
Patolojik parametreler	Yok n(%)		Belirtilmeyen n(%)
Tümör nekrozu	6 (%20)	6 (%20)	18 (%60)
Kan damarı invazyonu	9 (%30)	8 (%26.7)	13 (%43.3)
Perinöral invazyon	13(%43.3)	4 (%13.3)	13 (%43.3)
Lenfatik invazyon	13(%43.3)	3 (%10)	14 (%46.6)

Tablo 2: Her-2 ve mTOR Durumu

	mTOR Negatif	mTOR Pozitif	TOPLAM
Her-2 negatif	13	10	23(%76.7)
Her-2 pozitif	6	1	7(%23.3)
TOPLAM	19(%63.3)	11(%39.7)	30

Tablo 3: Her-2 durumuna göre karaciğer ve ekme metastaz durumu

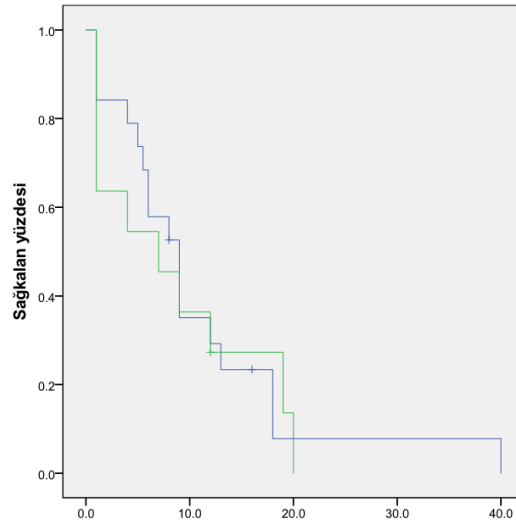
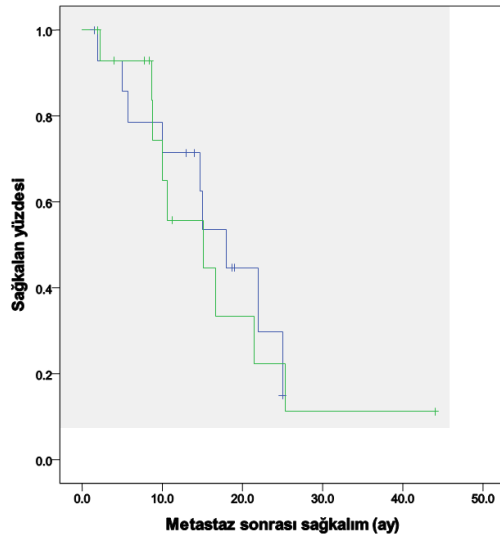
	Her-2		TOPLAM
	Negatif	Pozitif	
Karaciğer met var	17	2	19
Karaciğer met yok	6	5	11
TOPLAM	23	7	30
Ekme met var	6	6	12
Ekme met yok	17	1	18
TOPLAM	23	7	30



Tablo 4: mTOR durumuna göre patolojik parametreler ve kemoterapi ilişkisi

mTOR	Pozitif	Negatif	p
Patolojik Parametreler			
Tümör nekroz var	5	4	0.756
Tümör nekroz yok	5	3	
Belirtilmeyen	9	12	
Taşlı yüzük var	8	8	0.579
Taşlı yüzük yok	11	11	
Grad 1	0	0	0.666
Grad 2	3	4	
Grad 3	13	11	
Kemoterapi Yanıt			Toplam
Yanıt var	3	4	7
Yanıt yok	16	7	23
Toplam	19	11	30

Şekil 1: a) Kaplan- Meier; başlangıçta metastatik olma durumuna göre genel sağkalım, b) Kaplan- Meier; mTOR durumuna göre genel sağkalım



Tartışma

Meme ve böbrek kanserinde mTOR inhibisyonu tedavi seçenekleri arasındadır. Mide kanserindeki önemi henüz net değildir. Çalışmamızda mTOR ekspresyonu %36.7 (n=11) pozitif saptanmıştır. Tamamı sitoplazmik olarak boyanmıştır. Literatürde GuanzhenYu ve ark. tarafından mide kanseri tanısı almış Çinli hastalarda mTOR ekspresyon

durumu ve klinikopatolojik parametrelerle ilişkisi araştırılmıştır (8). Bu çalışmada toplam 1072 mide kanserli hastada hem mTOR hem de aktif formu p-mTOR (fosforilenmiş mTOR) durumu incelenmiştir. Hastaların %50.8'inde (n=545) mTOR, %46.5'inde (n=499) p-mTOR ekspresyonu sitoplazmik ve veya membranöz boyanma pozitif bulunmuştur. Bu çalışmada mTOR ekspresyonu ile p-mTOR ekspresyonun



korele olduğu gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda sadece mTOR durumu incelendi, p-mTOR durumu değerlendirilmedi. Bahsi geçen çalışmada pozitif mTOR ekspresyonunun kötü prognostik faktör olduğu gösterilmiştir. Hem mTOR hem de p-mTOR yüksek düzeyde eksprese edilmesi kısa sağkalım süreleri ile; ayrıca yaş (>60y), lenf nodu metastazı, evre III/IV hastalık p-mTOR durumu ile ilişkili bulunmuştur. Da-zhiXu ve ark. mide kanserli hastalarda mTOR durumunu ve prognostik önemini incelemiştir (9). Yüzseksenbir mide kanserli radikal rezeksiyon yapılan hastanın tümör piyeslerinde p-mTOR durumu İHK yöntemiyle araştırılmıştır. P-mTOR pozitif oranı %51.4 bulunmuştur. Ayrıca bu hastaların hem DFS hem de GS sürelerinin anlamlı olarak kısa olduğu tespit edilmiştir. Yine başka bir çalışmada 109 mide adeno kanserli hastada p-m TOR durumu İHK yöntemi ile incelenmiş, %63'ünde sitoplazmik boyanma, %30'unda nükleer boyanma gözlenmiştir. Sitoplazmik p-mTOR ekspresyonu ile tümör invazyon derinliği, lenf nodu tutulumu ilişkili olduğu ek olarak kötü prognostik faktör olduğu gösterilmiştir (10).

TOGA "Trastuzumab for Gastric Cancer" açık uçlu, uluslararası, faz III, randomize, 24 ülkeden 122 merkezin katıldığı ilerlemiş Her-2 pozitif gastrik veya gastroözafageal kanserde kemoterapiye kombine edilen trastuzumab tedavisinin araştırıldığı bir çalışmadır. Bu çalışma mide kanserli hastalarda hedefli bir tedavinin yararının gösterildiği ilk faz III çalışmadır ve bu çalışmadan sonra mide kanserli hastalarda Her-2 durumunun değerlendirilmesi daha da önem taşımaktadır ve rutin olarak önerilmektedir (11). Bizim çalışmamızda mTOR durumunun prognostik önemi ya da klinikopatolojik parametrelerle ilişkisi gösterilememiştir. Bu hasta sayısının az

olması, toplumsal genetik farklılıklar ya da teknik problemlerden kaynaklanabilir. Çalışmamızda Her-2 FISH testi ile değerlendirilmiştir. FISH pozitif hasta oranı %23.3 olarak saptandı. Bu oran TOGA çalışmasına benzerdir. Literatürde mide kanserli hastalarda Her-2 durumu %10 ile %23 aralığında pozitif olarak bildirilmiştir ve kötü prognozla ilişkili bulunmuştur (12-17). Biz de Her-2 pozitif hastalarda ortanca GS 7 ay iken, negatiflerde bu süre 9 ay olarak saptandı ve aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Fakat bu 7 Her-2 pozitif hastanın 5 tanesi trastuzumab tedavisi almıştı. Bu nedenle GS farkı saptanamamış olabilir. Çalışmamızda Her-2 pozitif hastalarda metastaz durumu incelendiğinde; bu hastalarda karaciğer metastazları anlamlı olarak daha sık olduğu görüldü. Orita ve ark.'nın çalışmasında da benzer sonuçlar saptanmıştı (18). Ayrıca yine Her-2 pozitif hastalarda anlamlı olarak "seeding" ekme metastazların negatiflere göre daha az oranda görüldüğü saptandı.

Hasta sayımızın az olması çalışmamızın gücünü azaltsa da, metastatik mide karsinomu gibi 5 yıllık GS oranlarının çok düşük olduğu bu hasta grubunda yeni tedavi stratejilerin, prognostik parametrelerin belirlenmesi büyük önem arz etmektedir. Bu hastalıkta hedefli moleküllerin de uygun hastalarda kullanılması sağkalım oranlarını arttıracaktır. Bu nedenlerle hastalığın gelişiminde, ilerlemesinde, metastaz yapmasında yer alan sinyal ileti yolları arasındaki ilişkilerin ortaya çıkarılması, bu hedeflere karşı kullanılabilecek yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesine sebep olabilecektir.

Etik Kurul Onayı: Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesinden alınmış etik kurul onayı mevcut.

Hasta bilgilendirilmiş onamı: Mevcut

Kaynaklar

1. Kubba AK, MacIntyre IM. Gastric cancer distal to the cardia--prevention or cure?SurgOncol 1997;6:111-24.
2. Viste A, Eide GE, Halvorsen K, The prognostic value of Lauren's histopathological classification system and ABO blood groups in patients with stomach carcinoma. Eur J SurgOncol 1986;12:135-41.
3. Akdoğan RA, Aslan M. MideTümörleri. Özden A, Sahin B, Yılmaz U (edi). Gastroenteroloji. TürkGastroenterolojiVakfı, Ankara 2002;107-12.
4. Sökücü N, Topuz E, Acunas B. MideKanserininTanısıveCerrahiTedavisi. TopuzE,Aykan

- NF (edi). Sindirim sistemi kanserleri. İstanbul Onkoloji Enstitüsü Yayınları, İstanbul 1998;217-29.

5. Shaw RJ, CantleyLC:Ras,PI(3)K,and mTOR signalling controls tumor cell growth. Nature 2006;441:424-30.
6. Bjornsti M-A, Houghton PJ: The TOR pathway: a target for cancer therapy. Nat Rev Cancer 2004;4:335-48.
7. Hay N, Sonenberg N: Upstream and downstream of mTOR. Genes Dev 2004;18:1926-45.



8. Guanzhen Yu, Jiejun Wang, Ying Chen, et al. Overexpression of phosphorylated mammalian target of rapamycin predicts lymph node metastasis and prognosis of Chinese patients with gastric cancer. *Clin Cancer* 2009;15:1821-29.
9. Da-zhi X, Qi-rong G, Ying T, et al. Activated mammalian target of rapamycin is a potential therapeutic target in gastric cancer. *BMC Cancer* 2010;10:536.
10. Murayama T, Inokuchi M, Takagi Y, et al. Relation between outcomes and localization of p-mTOR expression in gastric cancer. *Br J Cancer* 2009;100:782-8.
11. Bang YJ, Van Cutsem E, Fevrislova A, Chung HC, et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric-oesophageal junction cancer (TOGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2010;376:687-97.
12. Jain S, Filipe MI, Gullick WJ, et al. C-erbB-2 proto-oncogene expression and its relationship survival in gastric carcinoma: an immunohistochemical study on archival material. *Int J Cancer* 1991;48:669-71.
13. Gurel S, Dolar E, Yerci O, et al. The relationship between c-erbB-2 oncogene expression and clinicopathological factors in gastric cancer. *J Int Med Res* 1999;27:74-8.
14. Nakajima M, Sawada H, Yamada Y, et al. The prognostic significance of amplification and overexpression of c-met and c-erb B-2 in human gastric carcinomas. *Cancer* 1999;85:1894-902.
15. Yano T, Doi T, Ohtsu A, et al. Comparison of HER2 gene amplification assessed by fluorescence in situ hybridization and HER2 protein expression assessed by immunohistochemistry in gastric cancer. *Oncol Rep* 2006;15:65-71.
16. Zhang XL, Yang YS, Xu DP, et al. Comparative study on overexpression of Her2/neu and HER3 in gastric cancer. *World J Surg* 2009;33:2112-8.
17. Yonemura Y, Ninomiya I, Yamaguchi A, et al. Evaluation of immunoreactivity for erbB-2 protein as a marker of poor short term prognosis in gastric cancer. *Cancer Res* 1991;51:1034-8.
18. Orita H, Maehara Y, Emi Y, Kakeji Y, et al. C-erbB-2 expression is predictive for lymphatic spread of clinical gastric carcinoma. *Hepato-Gastroenterology*. 1997;44:294-98

