

Kronik Gastrit ve Tümör Çevresindeki İntestinal Metaplaziler ile Mide Kanserlerinde CDX2 Boyanma Oranlarının Karşılaştırılması

A Comparison of Intestinal Metaplasias Occurring Around Chronic Gastritis and Tumour with CDX2 Staining Rates in Stomach Cancer

Selvinaz ÖZKARA,^a
Şenay TOSUN,^a
Meryem DOĞAN,^a
Mesut SEZİKLİ,^b
Züleyha AKKAN ÇETİNKAYA,^b
Fügen VARDAR AKER,^a
Emire BOR^c

^aPatoloji Laboratuvarı,
Haydarpaşa Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
^cEMPIAR İstatistiksel Danışmanlık,
İstanbul

^bGastroenterohepatoloji Bölümü,
Derince Eğitim Araştırma Hastanesi,
Kocaeli

Geliş Tarihi/Received: 02.11.2011
Kabul Tarihi/Accepted: 27.08.2012

Yazışma Adresi/Correspondence:
Selvinaz ÖZKARA
Haydarpaşa Eğitim ve Araştırma Hastanesi,
Patoloji Laboratuvarı, İstanbul,
TÜRKİYE/TURKEY
selvinazo@gmail.com

ÖZET Amaç: Çalışmamızda endoskopik biyopsilerdeki kronik gastrit ve rezeksiyon piyeslerindeki mide kanserlerine eşlik eden intestinal metaplazilerde (İM), immunohistokimyasal olarak CDX2 ekspresyonu araştırılmıştır. Amacımız gruplar arası CDX2 boyanma farklılıklarını değerlendirmek, CDX2'nin kanser riskini belirlemedeki rolünü saptamaktır. **Gereç ve Yöntemler:** Laboratuvarımızda kayıtlı kronik gastrit tanılı 70 mide endoskopik biyopsi ve adenokarsinom tanılı 54 mide rezeksiyonu incelendi. **Bulgular:** Rezeksiyon grubundaki tümörlerin CDX2 skor ortalamaları endoskopik biyopsi grubundaki komplet ve inkomplet alt gruplarından istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,001$). Komplet alt grubunun CDX2 skor ortalamaları inkomplet alt grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). **Sonuç:** CDX2 skor ortalaması endoskopik biyopsideki İM'lerde rezeksiyon grubundaki İM ve tümöre göre anlamlı derecede yüksektir. Rezeksiyon grubunda CDX2 skor ortalamaları komplet İM'de, inkomplet İM ve tümöre oranla anlamlı derecede yüksektir. İnkomples İM ve tümörün skor ortalamaları birbirine yakın rakamlardır. Bu durum CDX2'nin antikarsinojenik etkisinin inkomplet İM ve tümörde azaldığını, parakanseröz alandaki inkomplet İM'nin stabil olmayan ara durumda olup kansere ilerlediğini gösterebilir.

Anahtar Kelimeler: CDX2; mide tümörleri; metaplazi

ABSTRACT Objective: In this study, an immunohistochemical investigation was carried out into CDX2 expression in intestinal metaplasia (IM) that accompanies chronic gastritis in endoscopic biopsies and gastric cancers in resection materials. We aimed to assess differences in the intensity of CDX2 staining between groups and identify the role of CDX2 in determining the risk of cancer. **Material and Methods:** The endoscopic biopsies taken from 70 stomachs diagnosed with chronic gastritis and materials resected from 54 stomachs diagnosed with adenocarcinoma have been examined in our laboratory. **Results:** The mean CDX2 score for the tumors in the resection group was found to be statistically significantly lower compared to that for the complete and incomplete subgroups in the endoscopic biopsy group ($p<0.001$). The mean CDX2 score for the complete subgroup was statistically significantly lower compared to that for the incomplete subgroup ($p<0.05$). **Conclusion:** The mean CDX2 score for IM in endoscopic biopsies is significantly higher compared to that in IM and tumors in the resection group. Mean CDX2 score for complete IM in the resection group is significantly higher than that for incomplete IM and tumor. Mean CDX2 score for incomplete IM and tumor exhibit similar values, which may suggest that the anticarcinogenic effect of CDX2 tends to decrease in incomplete IM and tumor and incomplete IM in a paracancerous region is in an unstable intermediary position where it is progressing to cancer.

Key Words: CDX2; stomach neoplasms; metaplasia

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2012;32(6):1630-40

doi: 10.5336/medsci.2011-27214

Copyright © 2012 by Türkiye Klinikleri

Mide kanseri dünyada akciğer kanserinden sonra ikinci sıklıkta görülen ve ölüme yol açan kanserdir.^{1,2} Bugün birçok araştırmacı tarafından kabul edilen Correa'nın mide karsinogenez kaskadı,

H. pylori enfeksiyonu ile başlayarak yüzeysel gastrit, kronik atrofik gastrit, intestinal metaplazi (İM), displazi ve son olarak mide kanserine giden bir yol izler.³ Bu yolda İM ara basamağı oluşturur ve özellikle intestinal tip mide adenokarsinomuna yüksek oranda eşlik eder. Ayrıca İM'nin mide kanserine yüksek oranda eşlik etmesi, İM ve alt tiplerinin kanser gelişiminde etkisini de önemli kılmıştır. Özellikle inkomplet (tip III) İM'nin mide kanseriyle birlikteliği sık olarak saptanmıştır. Ancak sadece alt tipten bu yönde yeterli olmadığı, metaplazinin yaygınlığı ve lokalizasyonun da mide kanseri için yüksek riski belirlemede etkili olduğu bildirilmektedir.

Gastritin erken dönemlerinde gastrit, korpus-antrum bileşkesinde multipl küçük odaklar olarak başlar. Her odak giderek genişler ve komşu odaklarla birleşerek antrum ve fundusun daha geniş alanlarını kaplar. Bu durum özellikle küçük kurturuları etkiler. Eğer gastrit devam ederse atrofi ve devamında İM gelişir. Bu durum neoplaziye kadar giden zinciri başlatır.⁴ Atrofik gastrit ve İM muhtemelen tek başlarına premalign durumlar değildir ancak gerçek premalign durum olan displaziye giden yolu aralarlar.⁴ Her iki durumda da karsinom gelişimi hem çevresel faktörlere [diyet, aspirin ve nonsteroid anti-inflamatuar ilaç (NSAİİ) tedavisi, sosyoekonomik durum, sigara kullanımı, *H. Pylori* zinciri, vb] hem de kişiye ait faktörlere bağlıdır.^{5,6} İM midede en sık görülen metaplazidir. Correa'nın mide karsinogenez kaskadında ara basamaktır ve premalign durum kabul edilerek yaygın olarak çalışılmıştır.^{3,7-9} İM değişik formlarda olabilir ve farklı yazarlarca da değişik tanımlamalar ve sınıflamalar yapılmıştır. Morfoloji ve klasik müsin boyaları olan "Periodic Acid-Schiff" (PAS), "alcian blue" (AB), "high iron diamine" (HID) kullanarak yapılan, Jass ve Filipe'nin 1979'da önerdiği ve bugün sıklıkla kullanılan alt tiplere şöyledir:^{7,10-12}

Tip I (komplet): Belirgin fırçamsı kenara sahip matür absorptif hücreler ve goblet hücreleri vardır, goblet hücreleri siyalomüsin salgırlarlar. Paneth hücrelerinin varlığı karakteristiktir ancak her zaman bulunmaz. Mide mukozası ince barsağa benzer.

Tip II (inkomplet): Absorptif hücre azdır veya yoktur, değişik evrelerde diferansiyasyon gösteren, nötral müsin ve asid siyalomüsin salgırlayan kolumnar "intermediate" hücreler ve siyalomüsin ve/veya nadiren sülfomüsin salgırlayan goblet hücreleri vardır.

Tip III (inkomplet): Hücre dediferansiyasyonu tip II'ye göre daha belirgindir, "intermediate" hücreler baskın olarak sülfomüsin salgırlar, goblet hücreleri siyalo- ve/veya sülfomüsin salgırlar. Bu tipte epitel hiperplastik görünür ve metaplastik glandlarda belirgin glandüler distorsiyon ve dallanma vardır. Sülfomüsinler, siyalomüsinlerden HID/AB boyası kullanılarak ayırt edilir.⁹

CDX2 (caudal-type homeobox 2) 'homeobox' (hox) gen grubuna aittir ve *Drosophila melanogaster* isimli meyve sineğinde eksprese edilen homeobox 'caudal' geni ile hem yapısal hem de fonksiyonel benzerlikler içerir. *Drosophila*'da bu gen vücudun ön-arka eksen boyunca morfolojik yönelimini belirler.¹³⁻¹⁶ Farelerde ve insanlarda 3 tane 'caudal' homoloğu vardır. Bunlar CDX1, CDX2 ve CDX4'tür. Her üçü de erken embriyogenezde eksprese edilir ve posterior yapıların tanımlanmasında görev alır. Sadece 2'si CDX1 ve CDX2, intestinal hücre gelişiminde görev alır.¹⁵ İntestinal epitele farklılaşma farelerde postkoital 14-15. günlerde olurken, insanlarda 8-10. haftalar arasında meydana gelir.¹⁷ Farklılaşma sonrası goblet, enteroendokrin, enterosit/kolonosit ve Paneth hücresi olmak üzere dört hücre tipi gelişir. Erişkinde intestinal epitel matürleşir ve sürekli bir yenilenme durumunda kalır. Bu yenilenme, kök hücrelerinin düzenli proliferasyonuna ve geçerken farklılaşmasına dayanır.¹⁵

İntestinal dokuların embriyogenezi sırasında CDX2 aynı zamanda proliferasyon ve farklılaşma sürecine katılır, intestinal fenotipin devam ettirilmesini sağlar, bu bağlamda barsağa özgü genlerin başlangıç bölgelerine bağlanarak bunların transkripsiyonunu düzenler. İnce barsakta MUC2, sukraz-izomaltaz, laktaz/phlorizin hidrolaz, fosfolipaz A/lipofosfolipaz, villin, Tff3 ve kalın barsakta karbonik anhidraz genleri CDX2'nin hedef genleridir.^{13-15,18} CDX2 aynı zamanda WAF1-siklin (p21

ve CIP1 olarak da bilinir) bağımlı kinaz inhibitörü-ekspresyonunu arttırarak hücre siklusunu durdurur.¹⁹ Böylece CDX2 bu yolla, intestinal diferansiasyonun yanında proliferasyonun inhibisyonu fonksiyonu da görür.^{18,19}

Erişkin ince barsak ve kolonda CDX1 ve CDX2 proteinleri birbirinden farklı fakat üst üste binen paternlerde eksprese edilir.^{14,15} CDX2, duodenumdan distal ince barsağa kadar ilerleyerek artan oranda, proksimal kolonik epitelde ise en yüksek oranda eksprese olur. Tersine CDX1 ekspresyonu anterior-posterior ekseninde artar ve distal kolonda en yüksek oranda eksprese edilir.^{18,20} Kript- villus ekseninde ise CDX1 kript epitel hücrelerinde daha yüksek oranda eksprese edilirken, CDX2'de ise kript-villüs ekseninde böyle bir fark yoktur.¹⁵ Normal midede ise eksprese edilmezler.^{16,18}

Birçok çalışmada gastrik İM lerin neredeyse %100'ünde CDX1 ve CDX2 ekspresyonu saptanmıştır.^{13,21-23} İM'de, CDX2 ekspresyonu İM'nin gelişmesi sırasında CDX1, sukraz-izomaltaz, diğer barsağa özgü genler (human defensin 5, alkalın fosfataz) ve MUC2'den önce eksprese edilir. Bu bulgular CDX2'nin midede sonuç değil, İM gelişiminde tetikleyici ve başlatıcı olduğunu gösterebilir.²³ CDX2 transgenik farelerin takiplerinde, tüm fareler 100 hafta sonunda polip geliştirmişler ve bu poliplerde histopatolojik olarak p53 ve APC gen mutasyonları içeren invaziv adenokarsinom saptanmıştır. Bu da bize uzun süreli İM'nin invaziv mide kansinomu gelişimine neden olduğunu gösterebilir.

CDX2'nin aşırı ekspresyonu, HT-29 kolon kanseri hücrelerinde p21 mRNA ekspresyonunu arttırmış, bu yolla kolon kanserinde tümör baskılayıcı görevi olduğu gösterilmiştir.¹⁹ Mide kanserinde, CDX2 pozitif tümörlerin negatif olanlara göre prognozunun daha iyi olduğu gösterilmiştir. Bu da bize CDX2'nin kanser hücrelerinin invazyonunu baskıladığını düşündürebilir.²⁴ Kim ve ark.nın yaptığı bir çalışma da bu bulguları destekler niteliktedir.²⁵ CDX2'nin mide tümöründe artmış ekspresyonu, daha az lenf düğümü metastazı ile ilişkilidir. Ek olarak, bu çalışmaların çoğunda CDX1 ve CDX2 ekspresyonunun intestinal tip mide adenokarsi-

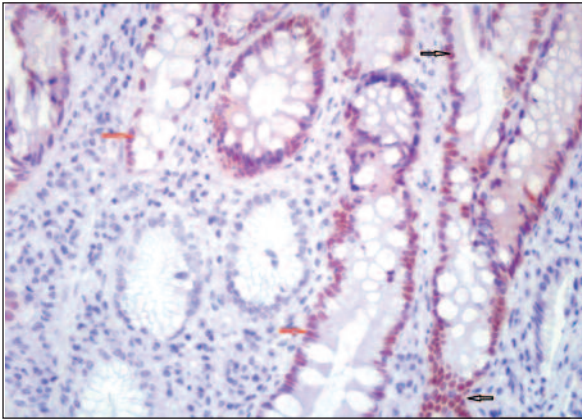
nomlarında azaldığı belirtilmiştir.^{20,22,26,27} Özetleyecek olursak; CDX homologları hedef gen ekspresyonlarını ayarlayarak proliferasyon, apoptozis, hücre adezyonu ve kolumnar morfolojinin kazanılması gibi kompleks oluşumları düzenler ve bağırsağa özgü genlerin ekspresyonu için gereklidir.^{15,18}

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Patoloji Laboratuvarında 2006-2009 yılları arasında korpus ve antrum bölgelerinden alınan mide endoskopik biyopsileri ve korpus ve antrumda tümörü olup adenokarsinom tanısı almış mide rezeksiyonları incelendi. Endoskopik biyopsilerde komplet veya inkomplet İM'si olan 70 vaka, mide rezeksiyonlarında tümör çevresinde eşlik eden komplet veya inkomplet İM'si olan 54 vaka çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya alınan endoskopik biyopsilerin hematoxilin-eozin, PAS-AB ve Giemsa preparatları güncel Sydney sınıflamasına göre yeniden değerlendirildi. Mide rezeksiyonlarında tümöre eşlik eden intestinal metaplazi alanları yine güncel Sydney sınıflamasına göre değerlendirildi.²⁸ Bu sınıflamaya göre bütün parametreler (inflamasyon, aktivite, metaplazi, atrofi ve *H. pylori*) hafif, orta ve şiddetli olarak gruplandırıldı.

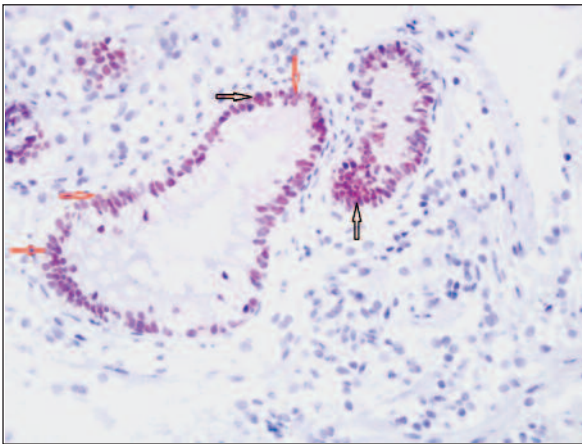
Çalışmamızda endoskopik biyopsilerde metaplazi alanlarını içeren uygun parafin blok ve mide rezeksiyon vakalarında İM ve tümör alanları içeren en uygun 1 ya da 2 parafin blok seçilerek anti-CDX2 (Novocastra, monoclonal, clone AMT 28, 1:50 dilüsyon) antikoru ile immunhistokimyasal uygulama yapıldı. Pozitif kontrol olarak kolon epitelindeki nükleer boyanma kullanıldı. Aynı bloklardan kesitler alınarak HID ile histokimyasal inceleme yapıldı.

CDX2 ile boyanma paternlerinin skorlanmasında Lord ve ark.nın yaptığı çalışmadan yararlandı.²⁹ Buna göre boyama yoğunluğu 0 (yoğunluk zemin boyanmasından yüksek değil), 1+ (zayıf boyanma, zemin boyanmasından daha yüksek), 2+ (orta derecede uniform boyanma), 3+ (güçlü uniform boyanma) şeklinde derecelendirildi (Resim 1-4). İmmunohistokimyasal boyanma skoru ise boyanan her bir alan yüzdesinin boyanma yoğun-



RESİM 1: Komplet tipte intestinal metaplazide CDX2 ile 3 + (siyah ok ile işaretli) ve 2 + (kırmızı ok ile işaretli) yoğunlukta nükleer boyanmalar (immunohistokimya, x200).

(Renkli hali için Bkz. <http://tipbilimleri.turkiyeklinikleri.com/>)



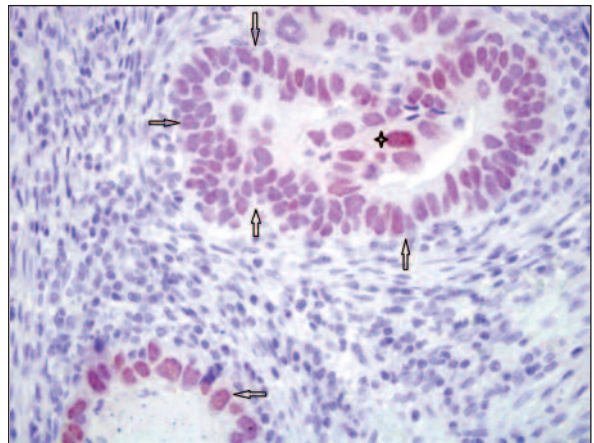
RESİM 2: İnkomplet tipte intestinal metaplazide CDX2 ile 2 + (siyah ok ile işaretli) ve 1 + (kırmızı ok ile işaretli) yoğunlukta nükleer boyanmalar (immunohistokimya, x400).

(Renkli hali için Bkz. <http://tipbilimleri.turkiyeklinikleri.com/>)

luğuyla (0-3) çarpımıyla elde edildi. Örneğin bir alanın %100'ü 3+ boyanma gösteriyorsa skor 3, eğer %50'si 2+ ve %40'ı 1+ ise skor $[(0,5 \times 2) + (0,4 \times 1)]$, eşittir 1,4 olarak hesaplandı. Eğer skor 0,1'den büyük ve eşitse immunoreaktivite var olarak kabul edildi. Sitoplazmik boyanma ise var ya da yok olarak değerlendirildi. Aynı bloklara HID ve PAS-AB ile yapılan histokimyasal inceleme ile boyanma paternlerine göre intestinal metaplazilerde Tip I, II ve III olarak alt tiplendirme yapıldı (Resim 5-7).

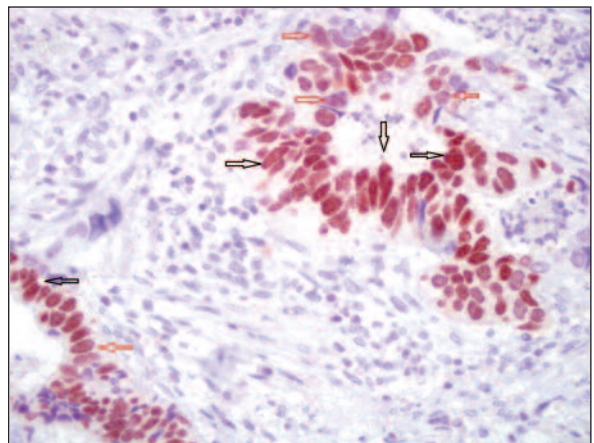
Bu çalışmada istatistiksel analizler GraphPad Prisma V.3 paket programı ile yapıldı. Verilerin de-

ğerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistiksel metotların (ortalama, standart sapma) yanı sıra normal dağılım gösteren parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarda tek yönlü varyans analizi alt grup karşılaştırmalarında Tukey çoklu karşılaştırma testi, ikili grupların karşılaştırmasında bağımsız t-testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen parametrelerin karşılaştırılmasında Kruskal Wallis ve Mann Whitney-U testleri kullanıldı. Nitel verilerin karşılaştırmalarında Ki-kare testi kullanıldı. Sonuçlar, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.



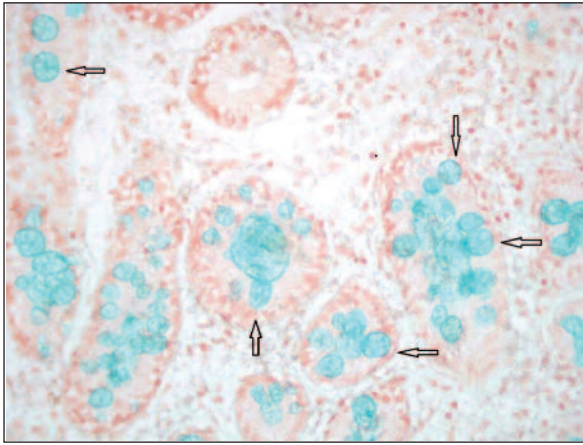
RESİM 3: Orta derece diferansiye adenokarsinom tanılı olguda CDX2 ile 2 + (siyah yıldız ile işaretli) ve 1 + (siyah ok ile işaretli) yoğunlukta pozitif nükleer boyanmalar (immunohistokimya, x400).

(Renkli hali için Bkz. <http://tipbilimleri.turkiyeklinikleri.com/>)



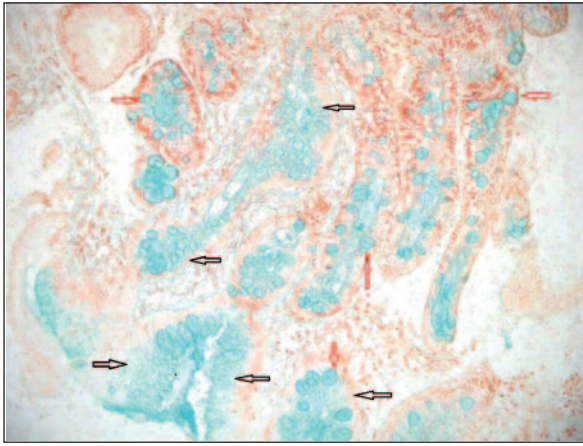
RESİM 4: Az diferansiye adenokarsinom tanılı olguda 3 + (siyah ok ile işaretli) ve 2 + (kırmızı ok ile işaretli) yoğunlukta pozitif nükleer boyanmalar (immunohistokimya, x400).

(Renkli hali için Bkz. <http://tipbilimleri.turkiyeklinikleri.com/>)



RESİM 5: Tip I komplet intestinal metaplazi alanı. Matür absorptif hücreler ve sialomüsün salgılayan (siyah ok ile işaretli) goblet hücreleri (HID boyası x400).

(Renkli hali için Bkz. <http://tipbilimleri.turkiyeklinikleri.com/>)



RESİM 6: Tip II inkomplet intestinal metaplazi alanı. Değişik evrelerde diferansiyasyon gösteren, nötral müsün ve asid sialomüsün salgılayan (siyah ok ile işaretli) kolumnar hücreler ve sialomüsün salgılayan (kırmızı ok ile işaretli) goblet hücreleri (HID boyası x200).

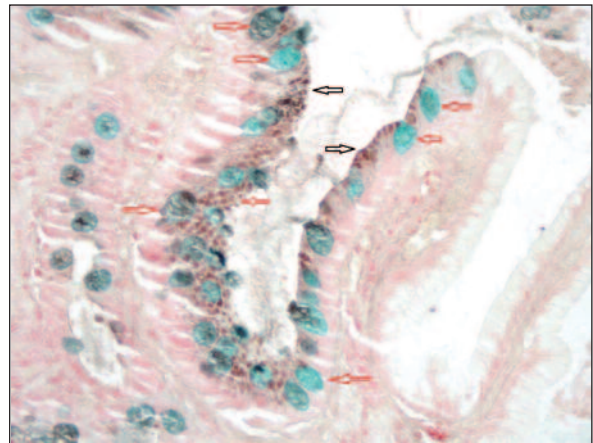
(Renkli hali için Bkz. <http://tipbilimleri.turkiyeklinikleri.com/>)

BULGULAR

Çalışmamız 70 endoskopik biyopsi materyali ve 54 mide rezeksiyon materyali bulunan iki gruptan oluşmaktaydı. Endoskopik biyopsi materyalleri kronik aktif/inaktif gastrit tanılı iken, rezeksiyon piyesleri adenokarsinom tanılı vakalardan oluşmaktaydı. Her iki grupta da komplet veya inkomplet intestinal metaplazi alanları eşlik etmekteydi. Her iki gruptaki intestinal metaplazi alanları CDX2 ve HID ile ayrıca rezeksiyon grubundaki tümör

alanları CDX2 immunhistokimyasal marker'ı ile çalışıldı. Olguların demografik ve morfolojik özelliklerinin sayısal dağılımı Tablo 1'dedir. Endoskopik biyopsi ve rezeksiyon gruplarının cinsiyet dağılımları ($p=0,679$), lokalizasyon dağılımları ($p=0,06$) ve yaş ortalamaları ($p=0,365$) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi.

Tüm vakalar güncel Sydney sınıflamasına göre yeniden değerlendirilmiştir.²⁸ Buna göre biyopsi grubunda tüm vakalarda inflamasyon, 36 (%51,4) vakada aktivite, 30 (%42,9) vakada komplet intestinal metaplazi, 40 (%57,1) vakada inkomplet intestinal metaplazi, 34 (%48,6) vakada atrofi, 20 (%28,6) vakada *H. pylori* varlığı saptanmıştır. Rezeksiyon grubunda ise tüm vakalarda inflamasyon, 18 vakada (%33,3) aktivite, 36 vakada (%66,7) komplet intestinal metaplazi, 18 vakada (%33,3) inkomplet metaplazi, 54 vakanın tümünde (%100) atrofi tespit edilmiş ve 3 vakada (%5,8) *H. pylori* saptanmıştır. Buna göre komplet tip metaplazi, rezeksiyon grubunda (%66,7) endoskopik biyopsi (%42,9) grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,014$). Endoskopik biyopsi ve rezeksiyon gruplarının aktivite dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p=0,066$). Atrofi, rezeksiyon grubunda (%100) endoskopik biyopsi grubundan (%48,6) istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0,0001$). *H. pylori*, rezeksiyon



RESİM 7: Tip III inkomplet intestinal metaplazi alanı. Sülfomüsün salgılayan (siyah ok ile işaretli) "intermediate" hücreler ile sialomüsün ve sülfomüsün salgılayan (kırmızı ok ile işaretli) goblet hücreleri (HID boyası x400).

(Renkli hali için Bkz. <http://tipbilimleri.turkiyeklinikleri.com/>)

TABLO 1: Olguların endoskopik biyopsi materyalleri ve rezeksiyon piyeslerinde demografik ve morfolojik özelliklerinin sayısal dağılımı.

		Endoskopik biyopsi	Rezeksiyon	p
Yaş Ortalaması		60,8±1,70 (31-87)	62,8±1,38 (43-84)	0,365
Cinsiyet	Erkek	43 (%61,4)	36 (%66,7)	0,679
	Kadın	27 (%38,6)	18 (%33,3)	
Lokalizasyon	Korpus	12 (%17,1)	18 (%33,3)	0,06
	Antrum	58 (%82,9)	36 (%66,7)	
Metaplazi Tipi	Komplet	30 (%42,9)	36 (%66,7)	0,014
	İnkomplet	40 (%57,1)	18 (%33,3)	
Aktivite Durumu	Var	36 (%51,4)	18 (%33,3)	0,066
	Yok	34 (%48,6)	36 (%66,7)	
Atrofi Durumu	Var	34 (%48,6)	54 (%100)	0,0001
	Yok	36 (%51,4)	0 (%0)	
<i>H. pylori</i> Durumu	Var	20 (%28,6)	3 (%5,8)	0,002
	Yok	50 (%71,4)	51 (%94,2)	

grubunda (%5,8) endoskopik biyopsi (%28,6) grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur (p=0,002) (Tablo 1).

Endoskopik biyopsi grubunda CDX2 pozitivitesi açısından cinsiyetler (p=0,992), yaş grupları (p=0,616), lokalizasyonlar (p=0,158), metaplazi tipleri (p=0,964), aktivite durumu dağılımları (p=0,846), atrofi durumu (p=0,228), atrofi dereceleri (p=0,435), *H. pylori* varlığı (p=0,592), aktivite şiddetleri (p=0,771), inflamasyon dereceleri (p=0,778) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Ayrıca endoskopik biyopsi grubunda CDX2 sitoplazmik boyanması açısından *H. pylori* varlığı dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p=0,812).

Rezeksiyon grubunda CDX2 pozitivitesi açısından cinsiyetler (p=0,138), yaş grupları (p=0,974), lokalizasyonlar (p=0,999), metaplazi tipleri (p=0,374), aktivite durumu (p=0,138), inflamasyon

dereceleri (p=0,118) ile tümör diferansiyasyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir (p=0,983).

İM-endoskopik biyopsi, İM-rezeksiyon ve tümör gruplarının CDX2 skor ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir (p=0,0001). Endoskopik biyopsi grubunun CDX2 skor ortalamaları İM-rezeksiyon ve tümör gruplarından istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuş (p=0,0001), diğer gruplar arasında farklılık gözlenmemiştir (p=0,098) (Tablo 2).

Endoskopik biyopsi grubunda komplet, inkomplet intestinal metaplazi ve rezeksiyon grubundaki tümörlerin CDX2 skor ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir (p=0,0001). Rezeksiyon grubunda tümörlerin CDX2 skor ortalamaları endoskopik biyopsi grubundaki komplet ve inkomplet alt gruplarından istatistiksel olarak anlamlı derecede

TABLO 2: Endoskopik biyopsi ve rezeksiyon gruplarındaki intestinal metaplazilerde CDX2 skor ortalamalarının karşılaştırılması.

	CDX2 skor ortalaması	p	Tukey's çoklu karşılaştırma testi
İM-endoskopik biyopsi	0,83±0,08	0,0001	Biyopsi>rezeksiyon; p=0,0001
İM-rezeksiyon	0,34±0,064		Biyopsi >tümör; p=0,0001
Tümör	0,17±0,33		Rezeksiyon-tümör p=0,098

Tek yönlü ANOVA testi; p: anlamlılık düzeyi, İM: İntestinal metaplazi.

TABLO 3: Endoskopik biyopsi grubu komplet/inkomplet ve tümörde CDX-2 skor ortalamalarının karşılaştırılması.

	CDX2 skor ortalaması	p	Tukey's çoklu karşılaştırma testi
İM-endoskopik biyopsi - Komplet	0,87±0,70	0,0001	Komplet >tümör; p=0,0001
İM-endoskopik biyopsi -İnkomplet	0,8±0,66		Inkomplet >tümör; p=0,0001
Tümör	0,17±0,33		Komplet-inkomplet p=0,849

Tek yönlü ANOVA testi; p: anlamlılık düzeyi, İM: İntestinal metaplazi.

düşük bulunmuş ($p=0,0001$), komplet ve inkomplet alt grupları arasında farklılık gözlenmemiştir ($p=0,849$) (Tablo 3).

Rezeksiyon grubunda komplet, inkomplet metaplazi ve rezeksiyon grubundaki tümörlerin CDX2 skor ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir ($p=0,005$). Tümörlerin CDX2 skor ortalamaları komplet alt grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuş ($p=0,0001$), komplet alt grubunun CDX2 skor ortalamaları inkomplet alt grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuş ($p=0,012$), inkomplet alt grubu ile tümör grubu arasında farklılık gözlenmemiştir ($p=0,462$) (Tablo 4).

İntestinal metaplazi alt tiplendirmelerine göre ise skorlar arasında anlamlı farklılık vardır ($p<0,01$); anlamlılığın hangi gruptan kaynaklandığını saptamak için yapılan Post Hoc Tukey HSD testinde ise; Tip 2'nin skorları da Tip 3'den anlamlı düzeyde yüksek olarak bulunmuştur ($p=0,001$). Tip 1'in skorları da Tip 3'ten anlamlı düzeyde yüksek olarak saptanmıştır ($p=0,015$). Tip 1 skor ölçümleri ise Tip 2 skorlarından anlamlı düzeyde düşük olarak saptanmıştır ($p=0,008$) (Tablo 5).

TARTIŞMA

Biz bu çalışmada komplet veya inkomplet İM'nin eşlik ettiği kronik gastrit tanılı 70 olguda ve kom-

TABLO 4: Rezeksiyon grubu komplet/inkomplet ve tümörde CDX-2 skor ortalamalarının karşılaştırılması.

	CDX2 skor ortalaması	p	Tukey's çoklu karşılaştırma testi
İM-rezeksiyon- Komplet	0,44±0,52	0,005	Komplet>inkomplet; p=0,012
İM-rezeksiyon-İnkomplet	0,15±0,27		Komplet >tümör; p=0,0001;
Tümör	0,17±0,33		İnkomplet-tümör p=0,462

Oneway Anova test; p: anlamlılık düzeyi.

TABLO 5: İM alt tiplerine göre CDX2 skor ortalamalarının karşılaştırılması.

	İM	Skor		*p	Mann Whitney-U Testi; p
		Medyan	Min-Maks		
Endoskopik	Tip 1 (n=30)	0,75	0- 2,70	0,037	Tip 3<Tip 2; p=0,015
	Tip 2 (n=19)	0,90	0,20 - 3		Tip 1-Tip 2; p:0,165
	Tip 3 (n=21)	0,10	0-1,70		Tip 1-Tip 3; p:0,107
Rezeksiyon	Tip 1 (n=36)	0,20	0-1,60	0,011	Tip 3<Tip 1; p=0,013
	Tip 2 (n=4)	0,30	0,20-1,10		Tip 3<Tip 2; p=0,001
	Tip 3 (n=14)	0,0	0-0,20		Tip 1-Tip 2; p=0,450
Toplam	Tip 1 (n=66)	0,50	0-2,70	0,001	Tip 1<Tip 2; p=0,008
	Tip 2 (n=23)	0,80	0,20-3		Tip 3<Tip 1; p=0,015
	Tip 3 (n=35)	0,10	0-1,70		Tip 3<Tip 2; p=0,001

*Kruskal Wallis testi, İM: İntestinal metaplazi, Min: Minimum, Maks: Maksimum.

plet veya inkomplet İM'nin eşlik ettiği adenokarsinom tanılı 54 olguda İM'lerde ve tümörlerde CDX2 ekspresyonunu immunhistokimyasal yöntemle göstermeye çalıştık. Hedefimiz; 1. Kronik gastritli ve karsinomlu vakalara eşlik eden İM'lerde ek parametrelerin CDX2 ekspresyonunu değiştirip değiştirmediğini ortaya koymak, 2. Her iki grupta İM'lerde boyanma farklılıklarını saptamak, ve 3. Ayrıca bu oranları tümördeki boyanma oranlarıyla karşılaştırmaktır.

Çalışmamızda endoskopik biyopsi grubu ve rezeksiyon grupları arasında yaş, cinsiyet, lokalizasyon ve aktivite durumları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu. Ancak metaplazi tiplerine baktığımızda rezeksiyon grubunda inkomplet metaplazinin sayısal olarak az olması, atrofi göstermeyen vakanın olmaması ve *H. pylori* pozitifliğinin oldukça az saptanması istatistiksel sonuçlarımızı etkilemiş olabilir. Çalışmamızda endoskopik biyopsi grubu ile rezeksiyon grubu birbirinden bağımsız vakalardan oluşmaktaydı. Bu nedenle serimizde hem endoskopik biyopsisi hem de rezeksiyonu bulunan hasta grubu yoktu. Ayrıca retrospektif bir çalışma olduğu için rezeksiyon grubunda, laboratuvarımızdaki standart örnekleme dışında tümör çevresinin haritalanarak geniş örnekleme yapılamadı.

İM'de CDX2 pozitifliğini endoskopik biyopsi grubunda 54 (%87,4) vakada rezeksiyon grubunda ise 33 (%61,2) vakada saptadık. Literatürde Satoh ve ark. *H. pylori* ile enfekte mukozada endoskopik biyopsi örneklerinde vakaların %100'ünde pozitive saptamışlardır.²¹ Eda ve ark. ise endoskopik biyopsi örneklerinde, mRNA analizleriyle CDX2 ekspresyonunu *H. pylori* ile enfekte mukozadaki İM'de %100, İM olmayan mukozada ise %90 oranında saptamışlardır.²³ Bu çalışmalara göre bizim çalışmamızda bu oran düşüktür. Bu durum bizim vakalarımızda *H. pylori*'nin endoskopik biyopsi grubunda 20 vakada, rezeksiyon grubunda ise 3 vakada eşlik etmesinden kaynaklanabilir. Rezeksiyon grubu CDX2 pozitifliğine baktığımızda ise, çalışmalar daha çok parakanseröz alandaki İM'lerde yapılmıştır, Almeida ve ark. %94,4 vakada, Kim ve ark. %89,7 vakada, Bai ve ark. %85 vakada, Roessler ve ark. %84,5 vakada, Liu ve ark. ise %53,13 va-

kada CDX2 pozitifliği saptamışlardır.^{13,20,22,25,27} Bu çalışmalardan sadece Liu ve ark.'nın çalışmalarında bizimki ile benzer oranda boyanma görüldü, pozitive oranlarımız diğer çalışmalardan düşüktü.²⁷ Liu ve ark. bu farkın değişik immunhistokimyasal boyama prosedürlerinden (antikor konsantrasyonun yüksek oluşu, primer antikör ile uzun süreli inkubasyon ve 'antigen retrieval' aşamasının artırılması) kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir.²⁶

Bizim çalışmamızda her iki grupta yaş, cinsiyet, lokalizasyon, aktivite varlığı, aktivite şiddetleri, inflamasyon dereceleri, atrofi varlığı, atrofi şiddeti, *H. pylori* varlığı, metaplazi tipleri arasında CDX2 pozitifliği açısından istatistiksel olarak anlamlı farklar izlenmemiştir. Yaş ve cinsiyetler arası CDX2 pozitiflikleri literatürde de anlamlı bulunmamaktadır.^{13,20} Shiotoni ve ark. da atrofi ile CDX2 pozitivitesini korele bulmuşlardır.³⁰ Atrofi özellikle korpus küçük kurvaturda ise skor anlamlı olarak yüksektir. Bu durum atrofik gastritteki hipoasiditeye bağlanmıştır. Çünkü hipoasidite CDX2'nin artışına ve İM gelişimine neden olabilir denmiştir. Liu ve ark. ise İM ve mide karsinomlarında CDX2 ekspresyonunu araştırdıkları çalışmada atrofik gastritlere eşlik eden İM'lerde CDX2 pozitifliğini %69,5 vakada saptamışlardır.²⁷ Bizim çalışmamızda atrofik gastritlere eşlik eden İM'lerde %85,3 vakada pozitiflik saptanmış olup, oranımız biraz daha yüksektir.

Çalışmamızda rezeksiyon grubunda *H. pylori* varlığı ile CDX2 pozitivitesi arasında, *H. pylori* pozitif vaka sayısının azlığı nedeni ile istatistiksel değerlendirme yapılamamıştır. Endoskopik biyopsi grubunda ise *H. pylori* varlığı ile CDX2 pozitivitesi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir. *H. pylori* ile sitoplazmik boyanma arasındaki ilişkiye baktığımızda, bizim çalışmamızda %10 vakada sitoplazmik pozitiflik saptanmış olup istatistiksel olarak da anlamlı bulunmamıştır.

Satoh ve ark. İM'nin reversibilitesini göstermek için yaptıkları çalışmada *H. pylori* ile enfekte mukozada İM'de vakaların hepsinde CDX2 ile kuvvetli nükleer boyanma, İM olmayan mukozada ise %50 vakada ince granüler sitoplazmik boyanma saptamışlardır.²¹ Sonuç olarak Satoh ve ark. CDX2

ekspresyonunun İM gelişmeden önce olduğunu, *H. pylori* ile ilişkili inflamasyonun mide epitel hücrelerinde CDX2 ekspresyonuna neden olabileceğini savunmuşlardır.²¹ Yine bu çalışmada mide epitel hücrelerinin İM'e transdiferansiyonu için transkripsiyon faktörü CDX2'nin sitoplazmadan nükleusa geçişi için diğer bazı faktörlerin gerekli olabileceğini belirtmişlerdir.

Tümörde CDX2 pozitifliğini literatürde %42,5-91 arasında değişen oranlarda bildirilmektedir.^{13,22,26,27} Bizim çalışmamızda tümörlerde CDX2 pozitifliği 18 (%34,6) vakada saptandı. Bu oran literatürle karşılaştırıldığında en yakın oran Liu ve ark.nın çalışmasına yakın gibi gözükmeyle birlikte, diğer çalışmalardan düşüktür.²⁷ Mizoshita ve ark. gastrik kanserlerde, histolojik tipten (diferansiyasyondan) bağımsız olarak CDX2 ekspresyonunu intestinal fenotipik hücrelerde saptamışlardır.²⁴ Bizim çalışmamızda CDX2 pozitifitesinin düşük bulunması gastrik fenotipin baskın olduğunu gösterebilir. Çalışmamızda tümörde CDX2 ekspresyonunun diferansiyasyonla ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu bulgu önceki çalışmalarla uyumludur.^{13,26}

Çalışmamızda rezeksiyon grubu İM'lerde CDX2 pozitifliği 33 (%61,2) vakada, tümörde ise 18 (%34,6) vakada saptanmıştır. Tümörde bu oran düşüktür. Bai ve ark.nın yaptığı CDX2'nin ektopik ekspresyonunu araştıran çalışmada, CDX2 pozitifliği İM'de %85, tümörde %55 vakada bildirilmiştir.²⁰ Tümörde bu oran bizim çalışmamızdaki gibi düşüktür. Bu durum CDX2'nin İM'den karsinoma geçişte azaldığını ve mide karsinogenez kaskadı için moleküler bir delil olduğunu düşündürmüştür. Roessler ve ark. prognostik parametreler ile CDX2 ekspresyonu araştırdıkları çalışmada, CDX2 pozitifliğini İM'de %84,5, tümörde %57 vakada bildirmiştir.¹³ Tümörde CDX2 ekspresyonunun kaybı kontrolsüz proliferasyona neden olmuş olabilir. Liu ve ark.nın yaptığı çalışma da bunu desteklemektedir.²⁶ Bu çalışmada komplet, inkomplet İM, displazi ve karsinomda CDX2 ekspresyonu giderek düşmektedir. Bu durum CDX2'nin tümör baskılayıcı rolünün giderek azalmasına bağlanmıştır.

Çalışmamızda CDX2 skor ortalamalarını endoskopik biyopsi grubu, rezeksiyon grubu İM'ler

ve tümörlerde karşılaştırdığımızda, biyopsi grubu İM'de $0,83\pm 0,08$, rezeksiyon grubu İM'de $0,34\pm 0,064$, ve tümörde $0,17\pm 0,33$ olarak bulunmuştur. Bu oran endoskopik biyopsi grubunda en yüksek iken, rezeksiyonda nontümöral mukozadaki İM'de düşmüş, tümörde ise en düşük oranda saptanmıştır. Endoskopik biyopsi grubu İM'de CDX2 skor ortalaması diğer iki gruptan anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Endoskopik biyopsi grubunda komplet ve inkomplet metaplazi ile tümör skor ortalamaları karşılaştırıldığında, komplet İM'de $0,87\pm 0,70$, inkomplet İM'de $0,8\pm 0,66$, tümör grubunda ise $0,17\pm 0,33$ bulunmuştur. Bu değerlere bakıldığında her iki metaplazi tipinde boyanma skoru, tümörün skoruna oranla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Literatürde bu karşılaştırmalar daha çok parakanseröz alandaki İM skoru ile tümörün skoru arasında yapılmıştır. Bu yüzden endoskopik biyopsi grubu, rezeksiyon grubu İM ve tümördeki skor ortalamalarını literatürle karşılaştırma imkanımız olmamıştır. Ancak endoskopik biyopsi grubu İM'de CDX2 skor ortalamalarımızın anlamlı derecede yüksek oluşu dikkat çekicidir.

Rezeksiyon grubunda komplet ve inkomplet metaplazide CDX2 boyanma skoru ile tümörün boyanma skorları karşılaştırıldığında, komplet İM'de $0,44\pm 0,52$, inkomplet İM'de $0,15\pm 0,27$, tümörde ise $0,17\pm 0,33$ bulunmuştur. Bu değerlere bakıldığında komplet tip İM boyanma skoru diğer iki gruptan anlamlı derecede yüksektir ve inkomplet ve tümör arasında anlamlı bir fark yoktur. İM alt tipleri göz önüne alındığında Tip 3'ün skor ortalamaları Tip 1 ve Tip 2'den anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur. Liu ve ark. komplet İM, inkomplet İM, displazi ve karsinomlarda CDX2 skorlarına baktıklarında, bu lezyonlarda skorun komplet İM'den itibaren azalarak tümörde en az oranda eksprese edildiğini saptamışlardır.²⁶ İnkomplet İM'nin komplet İM'ye oranla kanserle daha yüksek olan ilişkisi göz önüne alındığında inkomplet İM'de skorun düşük olması gastrik karsinogenezde önemli olabilir. Skorun displazi ve karsinoma doğru da düşmesi CDX2'nin İM'de tümör baskılayıcı etkisi olduğunu gösterebilir. Correa'nın kaskadı boyunca skorda öncelikle bir artış olmakta (normal mide→metaplastik mide) ve ardından ilerleyici bir şekilde skor düşmektedir

(metaplastik mide→displazi→kanser). Normal mide mukozasında değişik faktörler (*H. pylori* enfeksiyonu, safra reflüsü gibi) ektopik olarak CDX2 ekspresyonunu başlatabilir. Bu intestinalizasyona yol açar. Eğer CDX2 yeterince güçlü ise komplet tipte İM gelişir; bu durumda hücreler yeterince diferansiye olur ve malignitelerini kaybeder. Diğer taraftan CDX2 ekspresyonu yeterince güçlü değilse inkomplet İM gelişir. İnkomplet metaplazi stabil olmayan ara bir basamakta olabilir. Buradaki hücreler gastrik veya intestinal yönde diferansiye olamaz. Bu stabil olmayan hücreler gastrik kanser açısından yüksek riske sahiptir çünkü CDX2'nin rölatif olarak düşük ekspresyonu, yetersiz antikarsinojenik fonksiyona yol açar. CDX2'nin antikarsinojenik fonksiyonu onun yeterince diferansiye olma yeteneğiyle ilişkili olabilir.²⁶ Mide kanserinde CDX2'nin daha iyi diferansiyonla ilişkisi bazı çalışmalarda da gösterilmiştir.^{13,24} İnkomplet İM'de CDX2'nin daha düşük ekspresyonu onu daha az diferansiye ve daha az kararlı duruma sokar. Liu ve ark.nın bu senaryosu inkomplet metaplaziden kansere doğru skorun düşmesini açıklayabilir.²⁶ Ancak bu mekanizmayı açıklayacak yeterince delil yoktur ve ileri araştırmalar gerekmektedir. İnkomplet İM tek başına mide kanseri riskini belirlemede yetersiz kalmaktadır. Ancak CDX2'nin miktarı bu konuda yardımcı olabilir. Bizim çalışmamızda da İM skor ortalamaları endoskopik biyopsi grubunda en yüksekken, rezeksiyon grubu İM'de daha düşük ve tümörde en düşük orandadır. İnkomplet İM'de CDX2 skoru biyopsi grubunda yüksekken, rezeksiyon grubunda düşüktür. Hatta rezeksiyon grubunda inkomplet İM skoru tümörünki ile neredeyse aynıdır. Bu durumu Liu ve ark.nın senaryosu açıklayabilir.²⁶ Sonuç olarak rezeksiyon grubunda inkomplet İM ve tümörde skorların düşük olması CDX2'nin antikarsinojenik etkisinin kaybı ile açıklanabilir. Düşük skorlu İM kanser riskini belirlemede yararlı bir marker olabilir.

SONUÇ

Bu çalışmada İM'nin eşlik ettiği 70 gastrit tanılı endoskopik biyopsi ile 54 adenokarsinom tanılı re-

zeksiyon grubunda çeşitli parametrelerle CDX2 ekspresyonunun değişip değişmediği ve boyanma skorları karşılaştırıldı:

1- İM'lerdeki CDX2 boyanma oranları ile yaş, cinsiyet, aktivite durumu, aktivite şiddeti, inflamasyon şiddeti, atrofi durumu, atrofi şiddeti, metaplazi tipleri ve *H. pylori* pozitifliği arasında anlamlı farklılıklar saptanmadı. İM alt tipleri göz önüne alındığında Tip 3'ün skor ortalamaları Tip 1 ve Tip 2'den anlamlı düzeyde düşük bulundu.

2- CDX2 skor ortalaması endoskopik biyopsi grubu İM'lerde, rezeksiyon grubu İM ve tümörlerin skor ortalamalarından anlamlı derecede yüksek bulundu. Bu durum CDX2'nin antikarsinojenik etkisi ile İM'nin, endoskopik biyopsi grubunda yeterince diferansiye, kararlı bir durum olduğunu düşündürebilir. Ancak çalışma grubundaki endoskopi olguları ile rezeksiyon olguları aynı hasta gruplarından oluşmadığı için doku farklılıklarından kaynaklanabilecek fiksasyon sorunları ve immünohistokimyasal antikorların ekspresyonlarındaki heterojenite göz önünde bulundurulmalıdır.

3- Rezeksiyon grubunda CDX2 skor ortalamaları komplet İM'de inkomplet İM ve tümöre oranla anlamlı derecede yüksek bulundu. İnkomplet İM ve tümörün skor ortalamaları birbirine yakın rakamlardı. Bu durum CDX2'nin antikarsinojenik etkisinin inkomplet İM ve tümörde azaldığını, parakanseröz alandaki inkomplet İM'nin stabil olmayan ara durumda olup kansere ilerlediğini gösterebilir.

4- İnkomplet İM'de CDX2 skor ortalamaları endoskopik biyopsi grubunda yüksekken, rezeksiyon grubunda düşüktür. Bu sonuç inkomplet İM'nin tek başına prekanseröz bir durum olarak kabul edilmeyip, düşük skorlu İM'nin kanser riskini belirlemede yardımcı olabileceği sorusunu akla getirmektedir. Ancak bu görüş serimizde aynı hasta grubunun ardışık (endoskopik biyopsi ve rezeksiyon piyesi aynı olan olgular) materyallerinde gerçekleştirilemediği için, prospektif olgu serilerinden oluşan çalışmalar ile desteklenmelidir.

KAYNAKLAR

1. Kelley JR, Duggan JM. Commentary, gastric cancer epidemiology and risk factors. *J Clin Epidemiol* 2003;56(1):1-9.
2. Ito M, Tanaka S, Kamada T, Haruma K, Chayama K. Causal role of *Helicobacter pylori* infection and eradication therapy in gastric carcinogenesis. *World J Gastroenterol* 2006; 12(1):10-6.
3. Correa P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process--First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. *Cancer Res* 1992;52(24):6735-40.
4. Kapadia CR. Gastric atrophy, metaplasia, and dysplasia: a clinical perspective. *J Clin Gastroenterol* 2003;36(5 Suppl):S29-36; discussion S61-2.
5. Boran C, Balaban YH, Yılmaz F. Do gene expressions differ between gastritis with and without *Helicobacter pylori*? *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2010;30(6):1806-13.
6. Ton O, Başaran S, Kabukcuoğlu F. [The correlation of C-ErbB-2 (Her-2/Neu) and p53 expressions with prognostic parameters in patients with gastric carcinoma]. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2011;31(3):575-82.
7. Rothery GA, Day DW. Intestinal metaplasia in endoscopic biopsy specimens of gastric mucosa. *J Clin Pathol* 1985;38(6):613-21.
8. Tsukamoto T, Inada K, Tanaka H, Mizoshita T, Mihara M, Ushijima T, et al. Down-regulation of a gastric transcription factor, Sox2, and ectopic expression of intestinal homeobox genes, Cdx1 and Cdx2: inverse correlation during progression from gastric/intestinal-mixed to complete intestinal metaplasia. *J Cancer Res Clin Oncol* 2004;130(3):135-45.
9. Leung WK, Sung JJ. Review article: intestinal metaplasia and gastric carcinogenesis. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;16(7):1209-16.
10. Filipe MI, Potet F, Bogomoletz WV, Dawson PA, Fabiani B, Chauveinc P, et al. Incomplete sulphomucin-secreting intestinal metaplasia for gastric cancer. Preliminary data from a prospective study from three centres. *Gut* 1985;26(12):1319-26.
11. Tsukamoto T, Mizoshita T, Tatematsu M. Gastric-and-intestinal mixed-type intestinal metaplasia: aberrant expression of transcription factors and stem cell intestinalization. *Gastric Cancer* 2006;9(3):156-66.
12. Jass JR, Filipe MI. A variant of intestinal metaplasia associated with gastric carcinoma: a histochemical study. *Histopathology* 1979; 3(3):191-9.
13. Roessler K, Mönig SP, Schneider PM, Hanisch FG, Landsberg S, Thiele J, et al. Co-expression of CDX2 and MUC2 in gastric carcinomas: correlations with clinico-pathological parameters and prognosis. *World J Gastroenterol* 2005;11(21):3182-8.
14. Silberg DG, Swain GP, Suh ER, Traber PG. Cdx1 and cdx2 expression during intestinal development. *Gastroenterology* 2000;119(4): 961-71.
15. Guo RJ, Suh ER, Lynch JP. The role of Cdx proteins in intestinal development and cancer. *Cancer Biol Ther* 2004;3(7):593-601.
16. Suh E, Chen L, Taylor J, Traber PG. A homeodomain protein related to caudal regulates intestine-specific gene transcription. *Mol Cell Biol* 1994;14(11):7340-51.
17. Meyer BI, Gruss P. Mouse Cdx-1 expression during gastrulation. *Development* 1993; 117(1):191-203.
18. Yuasa Y. Control of gut differentiation and intestinal-type gastric carcinogenesis. *Nat Rev Cancer* 2003;3(8):592-600.
19. Bai YQ, Miyake S, Iwai T, Yuasa Y. CDX2, a homeobox transcription factor, upregulates transcription of the p21/WAF1/CIP1 gene. *Oncogene* 2003;22(39):7942-9.
20. Bai YQ, Yamamoto H, Akiyama Y, Tanaka H, Takizawa T, Koike M, et al. Ectopic expression of homeodomain protein CDX2 in intestinal metaplasia and carcinomas of the stomach. *Cancer Lett* 2002 ;176(1):47-55.
21. Satoh K, Mutoh H, Eda A, Yanaka I, Osawa H, Honda S, et al. Aberrant expression of CDX2 in the gastric mucosa with and without intestinal metaplasia: effect of eradication of *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 2002;7(3): 192-8.
22. Almeida R, Silva E, Santos-Silva F, Silberg DG, Wang J, De Bolós C, et al. Expression of intestine-specific transcription factors, CDX1 and CDX2, in intestinal metaplasia and gastric carcinomas. *J Pathol* 2003;199(1):36-40.
23. Eda A, Osawa H, Yanaka I, Satoh K, Mutoh H, Kihira K, et al. Expression of homeobox gene CDX2 precedes that of CDX1 during the progression of intestinal metaplasia. *J Gastroenterol* 2002;37(2):94-100.
24. Mizoshita T, Tsukamoto T, Nakanishi H, Inada K, Ogasawara N, Joh T, et al. Expression of Cdx2 and the phenotype of advanced gastric cancers: relationship with prognosis. *J Cancer Res Clin Oncol* 2003;129(12):727-34.
25. Ha Kim G, Am Song G, Youn Park D, Han Lee S, Hyun Lee D, Oh Kim T, et al. CDX2 expression is increased in gastric cancers with less invasiveness and intestinal mucin phenotype. *Scand J Gastroenterol* 2006;41(8): 880-6.
26. Liu Q, Teh M, Ito K, Shah N, Ito Y, Yeoh KG. CDX2 expression is progressively decreased in human gastric intestinal metaplasia, dysplasia and cancer. *Mod Pathol* 2007;20(12): 1286-97.
27. Liu GS, Gong J, Cheng P, Zhang J, Chang Y, Qiang L. [Expression of intestine-specific transcription factor CDX2 in different subtypes of intestinal metaplasia and gastric carcinoma]. *Ai Zheng* 2006;25(2):185-9.
28. Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. *Am J Surg Pathol* 1996;20(10):1161-81.
29. Lord RV, Brabender J, Wickramasinghe K, DeMeester SR, Holscher A, Schneider PM, et al. Increased CDX2 and decreased PITX1 homeobox gene expression in Barrett's esophagus and Barrett's-associated adenocarcinoma. *Surgery* 2005;138(5):924-31.
30. Shiotani A, Iishi H, Uedo N, Ishihara R, Ishiguro S, Tatsuta M, et al. *Helicobacter pylori*-induced atrophic gastritis progressing to gastric cancer exhibits sonic hedgehog loss and aberrant CDX2 expression. *Aliment Pharmacol Ther* 2006;24(Suppl 4):71-80.