

Expressão dos protooncogenes *c-fos*, *c-myc* e *c-jun* em miométrio normal e mioma humanos

Expression of the protooncogenes *c-fos*, *c-myc* and *c-jun*
in human normal myometrium and leiomyoma

Ana Luiza Ferrari¹, Maria Flávia Marques Robeiro², Mateus Reche³,
Ilma S. Brum⁴, Maria Beatriz Kohek⁵, Helena von Eye Corleta⁶, Edison Capp⁶

RESUMO

Objetivo: Comparar a expressão gênica (mRNA) e protéica dos protooncogenes *c-fos*, *c-myc* e *c-jun* em miométrio normal e mioma humanos. **Métodos:** Foi realizado um estudo do tipo caso-controle. O material foi coletado de 12 pacientes submetidas a histerectomia no Hospital de Clínicas de Porto Alegre. A expressão do mRNA específico para *c-myc*, *c-fos*, *c-jun* e β -microglobulina foi avaliada pela técnica de RT-PCR, utilizando *primers* específicos para cada gene. A expressão protéica destes protooncogenes foi avaliada através de *Western blot* com anticorpos específicos. **Resultados:** Não houve diferença significativa para expressão gênica desses protooncogenes entre miométrio normal e mioma (*c-myc*: $0,87 \pm 0,08$ vs $0,87 \pm 0,08$, $p = 0,952$; *c-fos*: $1,10 \pm 0,17$ vs $1,01 \pm 0,11$, $p = 0,21$; *c-jun*: $1,03 \pm 0,12$ vs $0,96 \pm 0,09$, $p = 0,168$, respectivamente). Não houve diferença significativa para expressão protéica desses protooncogenes entre miométrio normal e mioma (*c-myc*: $1,36 \pm 0,48$ vs $1,53 \pm 0,29$, $p = 0,569$; *c-fos*: $8,85 \pm 5,5$ vs $6,56 \pm 4,22$, $p = 0,434$; e *c-jun*: $6,47 \pm 3,04$ vs $5,42 \pm 2,03$, $p = 0,266$, respectivamente). **Conclusão:** A expressão gênica (transcrição) e a expressão protéica (tradução) dos protooncogenes *c-myc*, *c-fos* e *c-jun* em mioma e miométrio normal são semelhantes.

PALAVRAS-CHAVE: Miométrio; Leiomioma; Mioma; Proto-oncogenes; Expressão gênica

ABSTRACT

Uterine myomas are common benign tumors of the female genital tract. The expression of growth factor signal transduction cascade components including the protooncogenes *c-myc*, *c-fos*, and *c-jun* seem to be involved in the development of myomas. **Purpose:** To compare the gene (mRNA) and protein expression of the protooncogenes *c-fos*, *c-myc*, and *c-jun* in human normal myometrium and leiomyoma. **Method:** A case-control study was performed. Samples were collected from 12 patients submitted to hysterectomy at the Hospital de Clínicas at Porto Alegre. The expression of the specific mRNA for *c-myc*, *c-fos*, *c-jun*, and β -microglobulin was assessed through the RT-PCR technique, using specific primers to each gene. The protein expression of these protooncogenes was evaluated through the Western blot technique with specific antibodies. **Results:** No statistically significant difference was observed in the gene expression for these protooncogenes between normal myometrium and leiomyoma (*c-myc*: $0,87 \pm 0,08$ vs $0,87 \pm 0,08$, $p = 0,952$; *c-fos*: $1,10 \pm 0,17$ vs $1,01 \pm 0,11$, $p = 0,21$; *c-jun*: $1,03 \pm 0,12$ vs $0,96 \pm 0,09$, $p = 0,168$, respectively). No statistically significant difference was observed for the protein expression of these protooncogenes between normal myometrium and leiomyoma (*c-myc*: $1,36 \pm 0,48$ vs $1,53 \pm 0,29$, $p = 0,569$; *c-fos*: $8,85 \pm 5,5$ vs $6,56 \pm 4,22$, $p = 0,434$; e *c-jun*: $6,47 \pm 3,04$ vs $5,42 \pm 2,03$, $p = 0,266$, respectively). **Conclusion:** No difference was observed in the gene expression (transcription) nor in the protein expression (translation) of the protooncogenes *c-myc*, *c-fos*, and *c-jun* between leiomyoma and myometrium.

KEYWORDS: Myometrium; Leiomyoma; Myoma; Growth factors; Proto-oncogenes; Genic expression

Apoio financeiro: Fundo de Incentivo à Pesquisa do Hospital de Clínica de Porto Alegre (RS), Brasil.

1 Mestranda, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS – Porto Alegre (RS), Brasil.

2 Mestranda do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Departamento de Fisiologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS – Porto Alegre (RS), Brasil.

3 Acadêmico da Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS – Porto Alegre (RS), Brasil; Bolsista de Iniciação Científica da Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul – FAPERGS – Porto Alegre (RS), Brasil.

4 Professor do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Departamento de Fisiologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS – Porto Alegre (RS), Brasil.

5 Professora da Disciplina de Fisiologia, Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas – FFFCMPA – Porto Alegre (RS), Brasil.

6 Professor do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS – Porto Alegre (RS), Brasil; Bolsista de produtividade em pesquisa do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq – Brasília (DF), Brasil.

Correspondência: Edison Capp

Rua Dr. Barros Cassal, 411/22 – 90035-003 – Porto Alegre – RS – e-mail: edcapp@ufrgs.br

Recebido em: 15/09/2006

Aceito com modificações em: 24/10/2006

Introdução

Miomas ou leiomiomas são os tumores mais comuns do trato genital feminino e acometem de 20 a 40% das mulheres em idade reprodutiva¹. Geralmente são benignos, mas podem causar distúrbio hemorrágico, dor pélvica e, não raro, abortamento recorrente e infertilidade^{2,3}. O fato de miomas aparecerem durante o tempo de vida reprodutiva, aumentarem durante a gestação e regredirem após a menopausa sugere que eles dependem dos hormônios ovarianos.^{4,5}

Há evidências crescentes de que insulina, fatores de crescimento (IGF-1, EGF, VEGF), seus receptores e cascatas de transdução do sinal estejam envolvidos na transformação tumoral de tecidos dependentes de hormônios peptídicos (mama e trato gastrintestinal) e de tecidos não dependentes de hormônio (cérebro, medula, rins)⁶⁻⁸. A cascata de transdução de sinal destes hormônios peptídicos envolve quinases (que fosforilam resíduos de tirosina, serina e treonina), fosfatases e protooncogenes⁹.

Protooncogenes são genes celulares normais, conhecidos como genes regulatórios precoces, cuja ativação ocorre dentro de alguns minutos até uma hora após o estímulo. Os protooncogenes têm papel importante na coordenação de eventos que levam a proliferação e diferenciação em células normais. Em resposta a fatores de crescimento e hormônios esteróides, a expressão de protooncogenes (como *fos*, *myc* e *jun*) é alterada rapidamente e de maneira coordenada¹⁰.

O objetivo deste trabalho foi identificar e comparar a expressão dos protooncogenes *c-fos*, *c-myc* e *c-jun* em miométrio normal e miomas humanos.

Métodos

Foi realizado um estudo do tipo caso-controle, no qual foram incluídas 12 mulheres em idade reprodutiva, as quais foram a histerectomia por indicação não relacionada com o protocolo desta pesquisa no Serviço de Ginecologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Foram excluídas as pacientes que utilizavam medicação hormonal ou que tinham diabetes melito. Leiomiomas com diâmetro < 1 cm ou > 5 cm não foram utilizados para evitar a contaminação por miométrio normal e minimizar a probabilidade de necrose e degeneração tecidual, respectivamente. As pacientes foram informadas e autorizaram a utilização de parte do material para estudo da expressão dos protooncogenes *c-fos*, *c-myc* e *c-jun*.

O material obtido foi imediatamente congelado em nitrogênio líquido e armazenado a -80 °C

até ser preparado por técnicas efetivas no estudo da atividade da expressão dos protooncogenes *c-fos*, *c-myc* e *c-jun*.

Este estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (03-208).

Extração do RNA e Síntese do cDNA

Para extração de RNA e a síntese de cDNA, a amostras de miométrio e mioma foram homogeneizadas em fenol-isotiocianato de guanidina (Trizol, Gibco BRL, Gaithersburg, MD, USA). O RNA total foi extraído com clorofórmio e precipitado com isopropanol por centrifugação a 12.000 g a 4° C. O *pellet* do RNA foi lavado duas vezes com etanol e ressuspendido em água tratada com dietilpirocarbonato e quantificado por espectrofotometria a 260 nm. O primeiro molde de cDNA foi sintetizado a partir de 2 µg do total de RNA, usando o Sistema de Pré-amplificação SuperScript (Gibco BRL, Gaithersburg).

Transcrição Reversa e Reação de Polimerase em Cadeia (RT-PCR)

RT-PCR foi realizada em um volume final de 50 µl. Dois µl da primeira reação de síntese da fita (com ca. 4 ng de cDNA) foram desnaturados (94° C, 1 min) em presença de Tris-HCl (20 mM), pH 8,4, KCl (50 mM) e MgCl₂ (1,5 mM). Depois do aquecimento inicial, adicionou-se Taq DNA polimerase (1,25 U) à mesma solução tampão Tris-HCl, MgCl₂ (1,5 mM), *primers* (0,4 µM) *sense* e *antisense* e dNTP *mix* (0,2 mM). Foram usadas seqüências de *primers* específicos para *c-myc* (*sense* 5'CAA-GAGGCGAACACACAACGTCT3', *antisense* 5'AACTGTTCTCGTCGTTTCCGCAA3', 218 pb), *c-fos* (*sense* 5'AGCTCTGCTTCACAGCGC3', *antisense* 5'GGCCTCCTGTCATGGTCTT3', 442 pb), *c-jun* (*sense* 5'GGAAACGACCTTCTATGACGATGCCCTCAA3', *antisense* 5'GAACCCCTCCTGCTCATCTGTACGTTCTT3', 315 pb) e β₂m (*sense* 5'ATCCAGCGTACTCCAAAGATTCAG3', *antisense* 5'AAATTGA-AAGTTAACTTATGCACGC3', 623 bp)^{11,12}. O número de ciclos foi ajustado para cada *primer* de acordo com estudos prévios^{11,12}. Todos os reagentes foram adquiridos da Gibco BRL (*SuperScript Preamplification System for First Strand cDNA Synthesis*). Uma amostra do PCR (15 µl) foi separada por eletroforese em gel com 1,5% de agarose, corado com brometo de etídio e visualizado sob luz ultravioleta. As bandas foram quantificadas por densitometria, utilizando um sistema para processamento de imagem (ImageMaster VDS, Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden).

Western blots

Aproximadamente 0,5 g de tecido foi homogeneizado individualmente em um ultra-turrax por 30 s em velocidade 3, a 4° C, em presença de uma solução tampão (500 µl) contendo HEPES (50 mM), pH 7,5, fluoreto de fenilmetilsulfonila (PMSF, 1 mM), fluoreto de sódio (NaF, 100 mM), pirofosfato decahidrato de sódio (Na₄P₂O₇; 10 mM) e vanadato de sódio (NaVO₄, 2 mM), Triton X-100 (0,1%). O material foi solubilizado por 16 h e depois foi centrifugado (30 min, 4° C, 12.000 g). Foi realizada dosagem de proteínas no sobrenadante através do método de Bradford¹³. Proteína total (50 µg) de cada amostra foi desnaturada em solução de Laemmli (glicerol (30%), SDS (10%); Tris

(62,5 mM), ditioneitol (750 mg) e azul de bromofenol (0,001%)) a 95° C por 10 min. As proteínas foram separadas em SDS-PAGE (12%).

Após a eletroforese, as proteínas foram transferidas para uma membrana de nitrocelulose. As membranas de nitrocelulose foram incubadas durante uma hora em solução bloqueadora contendo: NaCl (150 mM), EDTA (5 mM), Tris (50 mM), Triton X-100 (0,05%), pH 7,4 (NET), leite em pó desnatado (5%). Após bloqueio dos sítios inespecíficos, as membranas foram incubadas por 16 h, sob agitação constante a 4° C, com os anticorpos específicos anti-*fos*, anti-*myc* e anti-*jun* (Upstate Biotechnology) suspensos em NET. As membranas foram então lavadas com NET e leite desnatado (2%, 5 vezes, 10 min). Em seguida, as membranas foram incubadas

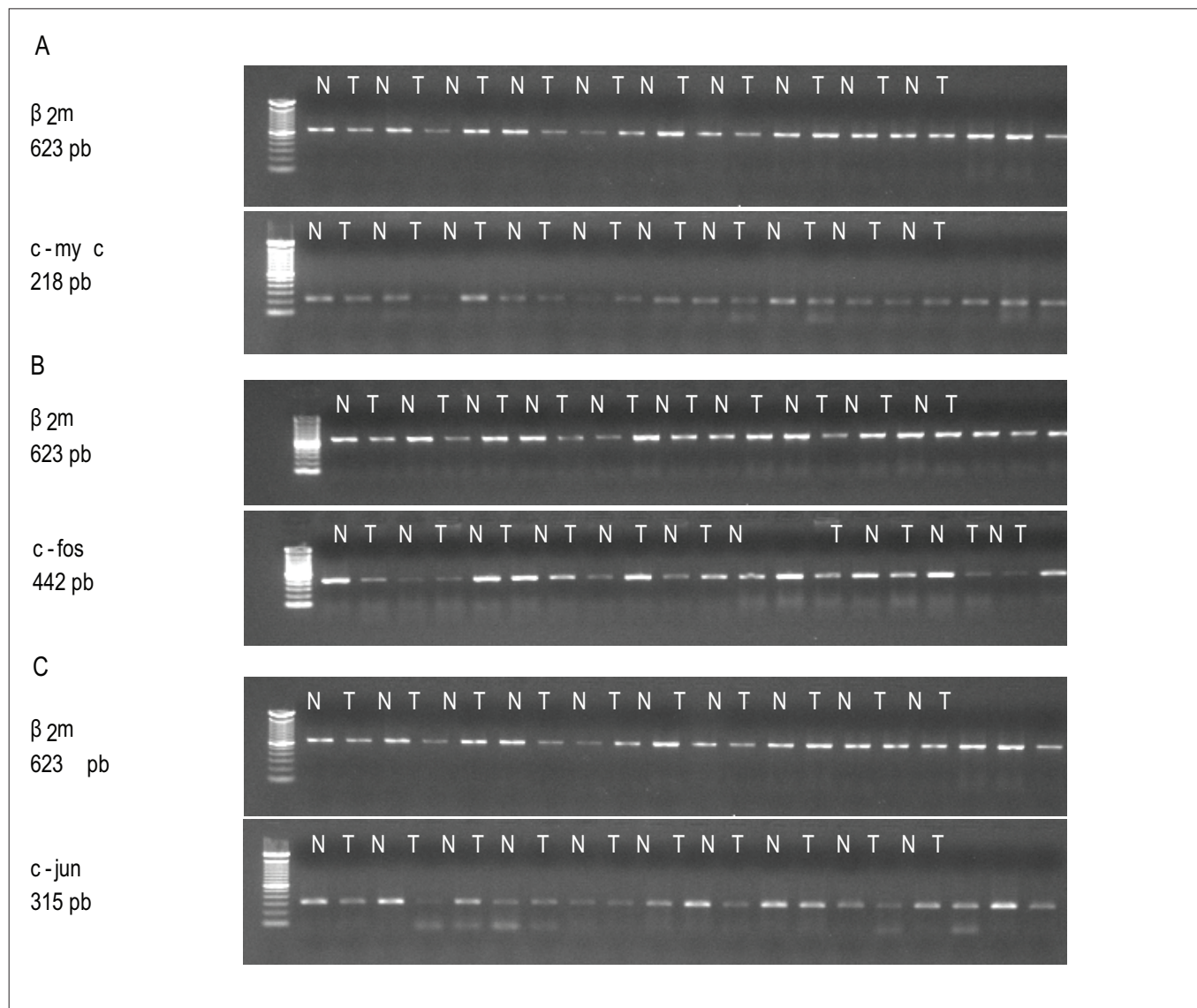


Figura 1 - Gel de agarose e densitometria das bandas representativas de 12 produtos de transcrição reversa. A: Fragmento com 218 pb correspondente ao protooncogene *c-myc* e fragmento com 623 pb correspondendo à β_2 -microglobulina; B: fragmento com 442 pb correspondendo ao protooncogene *c-fos* e fragmento com 623 pb correspondendo à β_2 -microglobulina. Miométrio normal (N) e mioma (T); C: fragmento com 315 pb correspondendo ao protooncogene *c-jun* e fragmento com 623 pb correspondendo à β_2 -microglobulina. Miométrio normal (N) e mioma (T).

com o 2º anticorpo (*c-fos* com *goat antimouse IgG conjugate*; *c-myc* e *c-jun* com *goat antirabbit IgG conjugate*, *Bio-Rad Laboratories*) por 1 h e lavadas novamente com NET e leite (5 vezes, 10 min). Após a incubação com solução para quimioluminescência, as membranas foram colocadas em contato com o filme fotográfico (*Kodak X-Omat*) por ca. 1 min. Depois da revelação seguiram-se a visualização e a análise dos resultados. Como normalizador para a quantificação utilizou-se a coloração de Ponceau. A densidade óptica das bandas obtidas foi medida através de um sistema para processamento de imagem (*Image-Master VDS Pharmacia Biotech*).

Análise estatística

Os resultados são apresentados em termos de média \pm desvio padrão. As expressões dos níveis de mRNA e de proteínas *c-myc*, *c-fos* e *c-jun* foram comparadas usando o teste *t* de Student. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes.

Resultados

As Figuras 1A, 1B e 1C apresentam a expressão gênica dos protooncogenes *c-myc*, *c-fos* e *c-jun*, respectivamente. Não houve diferença significativa quanto à expressão gênica destes protooncogenes entre miométrio normal e mioma. Na densitometria as bandas observadas em miométrio normal e mioma foram $0,80 \pm 0,08$ e $0,80 \pm 0,08$ para *c-myc* ($p = 0,95$); $1,1 \pm 0,17$ e $1,0 \pm 0,11$ para *c-fos* ($p = 0,2$); e $1,0 \pm 0,12$ e $0,9 \pm 0,09$ para *c-jun* ($p = 0,16$), respectivamente.

As Figuras 2A, 2B e 2C apresentam a expressão protéica (por *Western blot*) dos protooncogenes *c-myc*, *c-fos* e *c-jun*, respectivamente. Não houve diferença significativa na expressão protéica destes protooncogenes entre miométrio normal e mioma. Na densitometria as bandas observadas em miométrio normal e mioma foram $1,3 \pm 0,48$ e $1,5 \pm 0,29$ para *c-myc* ($p = 0,56$); $8,8 \pm 5,5$ e $6,5 \pm 4,2$ para *c-fos* ($p = 0,43$); e $3,82 \pm 3,21$ e $4,27 \pm 4,10$ para *c-jun* ($p = 0,77$), respectivamente.

Discussão

Os protooncogenes *c-fos*, *c-myc* e *c-jun* têm função importante na transdução do sinal de fatores de crescimento, bem como de hormônios esteróides, e eles representam uma interação/convergência destas duas vias de sinalização. Neste estudo, os níveis de mRNA e a expressão protéica dos protooncogenes *c-fos*, *c-myc* e *c-jun* em miomé-

trio normal e mioma humanos foram comparados, tendo se mostrado semelhantes.

A modulação no crescimento de miomas parece ocorrer através da interação entre hormônios esteróides sexuais e fatores de crescimento¹⁴. A expressão e atividade dos receptores de IGF-1 e insulina em miométrio e mioma humanos foi recentemente estudada^{9,15, 16}.

O estrogênio é considerado responsável pela proliferação destas células. Exerce seus efeitos fisiológicos nas células-alvo, através de ligação com receptores nucleares específicos¹⁷. A participação da progesterona também parece ser importante na formação deste tumor benigno através da estimulação de atividade mitótica e proliferação celular¹⁸. Recentemente foi observado que fármacos antagonistas da ação de progestágenos em seus receptores (mifepristona) diminuem o volume dos miomas¹⁹.

Níveis elevados de *c-myc* foram descritos em tumores de mama, cólon e pulmão, e estão associados a um mau prognóstico²⁰. Contudo, assim como foi observado em nossos resultados, a expressão de mRNA para *c-myc* em fibroadenomas de mama, e tumores benignos (como os miomas) é semelhante à expressão em tecido mamário normal²¹.

O gene *c-fos* não é necessário para promoção de tumor, mas parece ter um papel essencial na progressão de tumor benigno para maligno. É possível que os níveis de *c-fos*, semelhantes em mioma

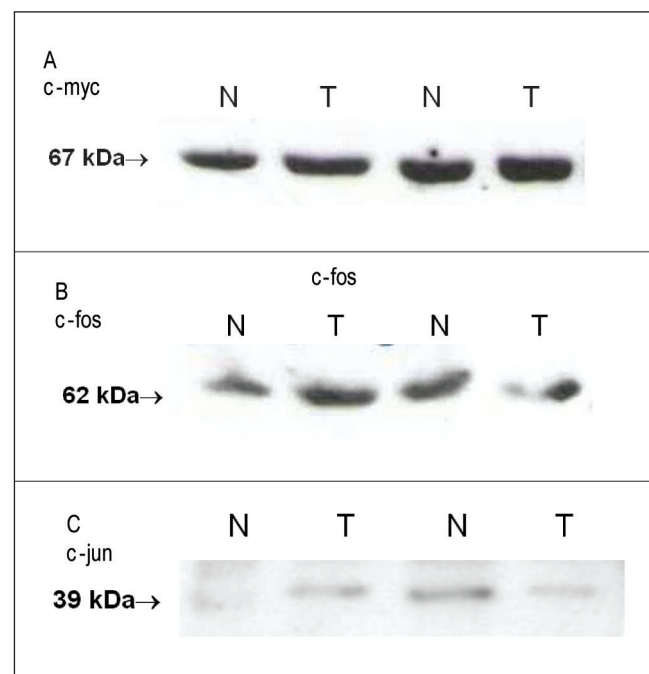


Figura 2 - Análise por *Western blot* de amostras isoladas de 12 pacientes. Foram utilizadas as mesmas quantidades de proteína (50 μ g) em cada poço. Após separação em gel de poliacrilamida, as proteínas foram transferidas para uma membrana de nitrocelulose e as bandas correspondentes aos protooncogenes *c-myc* (A), *c-fos* (B), e *c-jun* (C) foram identificadas com anticorpos específicos e auto-radiografia. Miométrio normal (N) e mioma (T).

e miométrio (como encontrado em nosso estudo) ou diminuídos nos miomas (em relação ao miométrio), possam explicar a baixa frequência de malignização neste tipo de tecido²². A transformação maligna de miomas é um evento raro e a baixa expressão de *c-fos* faz parte deste fenótipo benigno, que impediria a progressão para tumor maligno²³.

Não encontramos diferença na expressão de *c-jun* comparando mioma e miométrio. O miométrio normal pode apresentar uma elevação transitória em *c-jun* no início do trabalho de parto²⁴. *c-jun* e *c-fos* são os produtos que interagem formando o complexo AP-1 no núcleo e iniciam a cascata de eventos que leva ao crescimento e proliferação celular. Em outros tumores (adenomas de glândula salivar e adenocarcinoma de cólon) a expressão protéica destes protooncogenes também não está alterada²⁵.

A expressão gênica (transcrição) e a expressão protéica (tradução) dos protooncogenes *c-myc*, *c-fos* e *c-jun* não foram diferentes em mioma e miométrio normal. É possível que outros protooncogenes estejam envolvidos no surgimento e crescimento destes tumores (Ha-ras, erb-A e src). Outros estudos para identificar potenciais mediadores da proliferação e regulação do crescimento celular, bem como para esclarecer a interação entre hormônios esteróides, peptídicos e protooncogenes, deverão ser realizados.

Referências

1. Stewart EA. Uterine fibroids. *Lancet*. 2001;357(9252):293-8.
2. Giudice LC, Irwin JC, Dsupin BA, Pannier EM, Jin IH, Vu TH, et al. Insulin-like growth factor (IGF), IGF binding protein (IGFBP), and IGF receptor gene expression and IGFBP synthesis in human uterine leiomyomata. *Hum Reprod*. 1993;8(11):1796-806.
3. Lee BS, Margolin SB, Nowak RA. Pirfenidone: a novel pharmacological agent that inhibits leiomyoma cell proliferation and collagen production. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83(1):219-23.
4. De Leo V, la Marca A, Morgante G, Severi FM, Petraglia F. Administration of somatostatin analogue reduces uterine and myoma volume in women with uterine leiomyomata. *Fertil Steril*. 2001;75(3):632-3.
5. Schwartz SM. Epidemiology of uterine leiomyomata. *Clin Obstet Gynecol*. 2001;44(2):316-26.
6. Corleta HE, Capp E, Corleta OC. Insulin receptor tyrosine kinase activity in colon carcinoma. *Braz J Med Biol Res*. 1996;29(12):1593-7.
7. Kellerer M, von Eye Corleta H, Muhlhofer A, Capp E, Mosthaf L, Bock S, et al. Insulin- and insulin-like growth-factor-I receptor tyrosine-kinase activities in human renal carcinoma. *Int J Cancer*. 1995;62(5):501-7.
8. Wei JJ, Zhang XM, Chiriboga L, Yee H, Perle MA, Mittal K. Spatial differences in biologic activity of large uterine leiomyomata. *Fertil Steril*. 2006;85(1):179-87.
9. Orcy RB, Brum I, da Silva RS, Kucharski LC, Corleta HE, Capp E. Insulin receptor tyrosine kinase activity and substrate 1 (IRS-1) expression in human myometrium and leiomyoma. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2005;123(1):107-10.
10. Schuchard M, Landers JP, Sandhu NP, Spelsberg TC. Steroid hormone regulation of nuclear proto-oncogenes. *Endocr Rev*. 1993;14(6):659-69.
11. Silva IS, Morsch DM, Urnauer L, Spritzer PM. Androgen-induced cell growth and *c-myc* expression in human non-transformed epithelial prostatic cells in primary culture. *Endocr Res*. 2001;27(1-2):153-69.
12. Rossi D, Del Giacco L, Doneda L, Nicolini U, Acaia B, Brioschi D, et al. Expression pattern of *c-sis*, *c-fos* and *c-jun* in human placenta and embryofetal organs. *Gynecol Obstet Invest*. 1996;42(1):1-7.
13. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976;72:248-54.
14. Maruo T, Ohara N, Wang J, Matsuo H. Sex steroidal regulation of uterine leiomyoma growth and apoptosis. *Hum Reprod Update*. 2004;10(3):207-20.
15. Martin Chaves EB, Brum IS, Stoll J, Capp E, Corleta HE. Insulin-like growth factor 1 receptor mRNA expression and autophosphorylation in human myometrium and leiomyoma. *Gynecol Obstet Invest*. 2004;57(4):210-3.
16. Toscani GK, Chaves EM, Cervi FL, Tavares MB, Silva IS, von Eye Corleta H, et al. Gene expression and tyrosine kinase activity of insulin receptor in uterine leiomyoma and matched myometrium. *Arch Gynecol Obstet*. 2004;270(3):170-3.
17. Andersen J, Barbieri RL. Abnormal gene expression in uterine leiomyomas. *J Soc Gynecol Investig*. 1995;2(5):663-72.
18. Maruo T, Matsuo H, Samoto T, Shimomura Y, Kurachi O, Gao Z, et al. Effects of progesterone on uterine leiomyoma growth and apoptosis. *Steroids*. 2000;65(10-11):585-92.
19. Eisinger SH, Bonfiglio T, Fiscella K, Meldrum S, Guzick DS. Twelve-month safety and efficacy of low-dose mifepristone for uterine myomas. *J Minim Invasive Gynecol*. 2005;12(3):227-33.
20. Garte SJ. The *c-myc* oncogene in tumor progression. *Crit Rev Oncog*. 1993;4(4):435-49.
21. Cericatto R, Pozzobon A, Morsch DM, Menke CH, Brum IS, Spritzer PM. Estrogen receptor-alpha, bcl-2 and *c-myc* gene expression in fibroadenomas and adjacent normal breast: association with nodule size, hormonal and reproductive features. *Steroids*. 2005;70(3):153-60.

22. Swartz CD, Afshari CA, Yu L, Hall KE, Dixon D. Estrogen-induced changes in IGF-I, Myb family and MAP kinase pathway genes in human uterine leiomyoma and normal uterine smooth muscle cell lines. *Mol Hum Reprod.* 2005;11(6):441-50.
23. Lessl M, Klotzbuecher M, Schoen S, Reles A, Stockemann K, Fuhrmann U. Comparative messenger ribonucleic acid analysis of immediate early genes and sex steroid receptors in human leiomyoma and healthy myometrium. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82(8):2596-600.
24. Roh CR, Lee BL, Oh WJ, Whang JD, Choi DS, Yoon BK, et al. Induction of *c-jun* mRNA without changes of estrogen and progesterone receptor expression in myometrium during human labor. *J Korean Med Sci.* 1999;14(5):552-8.
25. Birek C, Lui E, Dardick I. *c-fos* oncogene underexpression in salivary gland tumors as measured by in situ hybridization. *Am J Pathol.* 1993;142(3):917-23.