

합치성 낭종 및 법랑아세포종에 있어서 Apoptosis 관련 단백질 발현에 관한 면역조직화학적 연구

최진영

서울대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

Abstract

IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY ON EXPRESSION OF APOPTOSIS RELATED PROTEINS IN DENTIGEROUS CYST AND AMELOBLASTOMA

Jin-Young Choi

Department of Oral and Maxillofacial Surgery, College of Dentistry, Seoul National University

Ameloblastoma is slowly growing, locally invasive neoplasm with a potentially destructive behavior. The epithelium of ameloblastoma is thought to have an intrinsic growth potential and has been shown to present a higher rate of proliferation as compared to odontogenic cysts with low local recurrence rate.

The molecular mechanisms that regulate the cell growth and invasion of ameloblastoma cells are unknown.

Bcl-2 protein, which prevent apoptosis, is expressed in immortalized ameloblastoma cell line(AM-1) (Harada et al 1998). Expression of bcl-2 protein occurs in tooth germs, whose epithelial component may act as the histogenic precursor of ameloblastoma.

Bax is considered as a main effector of apoptosis. Bax forms homodimers and also heterodimers with bcl-2. p53 tumor suppressor gene participates not only in cell proliferation control but also in induction of apoptosis.

The objective of the present study was to evaluate the apoptosis related protein expression in odontogenic cyst and ameloblastoma. A total of 10 dentigerous cysts and 16 ameloblastomas were used in the present study. Dentigerous cyst showed negative or slight positive for p53 and bcl-2 but strongly positive for bax, ameloblastoma, on the other hand, strongly positive for p53 and bcl-2 but weakly positive for bax. Bcl-2 was expressed for ameloblastoma mainly in outer layer or whole layer of epithelium and for dentigerous cyst mainly in basal layer.

The difference in expression of apoptosis related proteins in dentigerous cyst and ameloblastoma might explain the peculiar aggressive growth pattern of ameloblastoma.

Key words: Dentigerous cyst and ameloblastoma, Apoptosis, Local invasion,

I. 서론

apoptosis는 유전적으로 결정된 세포사망으로 그 기전은 태생기의 발육, 세포의 분화, 성장세포의 호르몬 의존성 퇴행 등과 같은 많은 생리학적 상황과 연관되어있다. 또한 조절되지않은 apoptosis는 암종에서 흔히 발견되고 특히 중앙

의 진행정도는 apoptosis나 세포의 증식에 의해 영향을 받는것으로 알려져있다⁴⁾.

bcl-2는 apoptosis를 조절하는 유전자중 하나로 anti-apoptosis활성을 가지는, 세포내 막에 위치한 단백을 code하는것으로 알려져있으며^{3,5)}, Bax(bcl-2 associated x protein)는 apoptosis 유도체로서 bcl-2나 혹은 bcl-xL단백과

반응하는 단백질로 bcl-2 혹은 bcl-xL과 반응후에 형성되는 분자의 수준이 세포의 apoptosis를 결정하는것으로 밝혀지고있다^{6,7)}. 종양억제인자인 p53은 세포증식조절에 관여할 뿐만 아니라 apoptosis의 유도에도 관여하는 인자로서 DNA손상에 대한 세포반응의 결정적인 매개인자로 작용하여 DNA 손상후에는 상향조절되어 DNA의 수선을 위하여 세포주기의 정체가 일어나거나 DNA의 손상이 광범위한 경우에는 apoptosis를 중재한다⁸⁾. p53에 의해 조절되어지는 경로(p53 regulated pathway)에 의한 apoptosis의 유도는 bcl-2 유전자의 발현의 감소와 bax 발현의 상승과 연관이 있는것으로 생각되어진다⁹⁾.

지금까지 염증성 질환, 자가면역성질환, 암종 등 다양한 조직 및 질환에서 apoptosis 관련 단백질의 발현여부 혹은 발현양상 등이 연구되었는데 예를 들면 Maor-Kendler 등(1999)¹⁰⁾의 연구에 의하면 자가면역성 혹은 H-pylori에 의한 위축성위염에서 bcl-2가 과발현됨을 보고하였고. Boni 등(1999)¹⁰⁾은 Cellular apoptosis susceptibility의 발현정도가 흑색종의 stage와 상관관계가 있음을 밝히고 apoptosis 관련 단백질에 대한 면역화학적 검사를 피부의 melanocytic lesion에 대한 예후인자로 사용가능성을 시사하였다. 이외에도 폐암, 대장암, 간세포암 그리고 생식세포종양등의 경우에도 apoptosis기전의 비정상적 조절에 의한 질병의 진행 및 예후에 관한 평가가 이루어지고 있다¹¹⁻¹⁵⁾. 한편 구강내에서는 주로 편평상피세포암에 대하여 apoptosis에 관한 연구가 행해졌는데 Schoelch ML 등(1999)¹⁶⁾은 구강내의 전암병소와 구강암병소에 있어서 apoptosis 관련 단백질의 발현에 관한 연구에서, apoptosis 관련 단백질은 전암 혹은 구강 상피병소에 있어서 다양한 양상으로 변화가 일어난다고 하였으며 p53과 Bak, bcl-x는 비교적 초기에 발현되고 bax는 대개 발현되지 않았다고 보고하였다.

법랑아 세포종은 잠재적 파괴성향을 가진, 국소적으로 침윤하는 종양으로서 이의 세포성장이나 침윤을 조절하는 기전에 대하여는 알려진 바가 거의없다. 그러나 최근에 이르러 Harada 등(1998)¹⁷⁾에 의해 법랑아세포종의 세포주에서 apoptosis를 방해하는 bcl-2 단백질의 발현이 보고되었고 법랑아세포종의 조직학적 전구체로 알려진 치배(tooth germ)의 상피성분에서 bcl-2 단백질이 발현되기도 하였다¹⁸⁾. 또한 Mitsuyasu 등(1997)¹⁹⁾은 법랑아세포종에서 bcl-2 단백질을 면역조직화학적으로 증명하기도 하였다. 한편 Piattelli 등(1998)²⁰⁾은 치성 각화성 낭종에서의 bcl-2의 강한 양성반응을 치성 각화성 낭종에서의 국소성 재발률과 관련지어 설명하였다. 이에 저자는 국소적 재발률에 있어서 큰 차이를 보이는 두 치성 종양 즉 합치성 낭종과 법랑아세포종에서 bcl-2를 포함한 apoptosis 관련 단백질의 발현양상과 국소적 재발성과의 상관관계의 유의성 여부를 살펴보고자 대표적 apoptosis 관련 단백질인 p53, bcl-2 그리고 bax

단백에 대한 면역조직화학적 연구를 실시하였다.

II. 실험재료및 방법

1. 조직 표본

서울대학교 치과대학 구강악안면외과에서 합치성 낭종 및 법랑아세포종으로 진단받고 수술한 환자중 합치성 낭종 10례 법랑아세포종 16례를 택하여 외과적 표본을 다음과 같이 처리하였다. 표본을 10% buffered neutral formalin 으로 고정하고 탈수후 paraffin embedding을 하였다. 4mm의 두께로 section한 다음 1장은 hamatoxylin and eosin 염색을 하고 다른 section은 silane-coated slide에 mount 하여 bcl-2, p53, bax protein의 면역조직화학적 검사를 위하여 사용하였다.

2. 면역조직화학적 염색

Paraffin section을 xylene에서 deparaffin을 하고 grade alcohol 로 흡수하였다. 수세후 전처리과정으로 p53과 bcl-2에 대하여는 10mM citrate buffer pH6.0, Autoclave로 처리하였고 bax에 대하여는 전처리를 하지않았다. Endogenous peroxidase를 비활성화 하기 위하여 10분간 3% hydrogen oxide in methanol로 blocking하고 수세하였다. LSAB kit(DAKO사)의 blocking serum(normal swine serum)으로 30분간 처리하였다. Primary antibody의 incubation을 위하여 다음과 같이 처리하였다.

- monoclonal mouse anti-human bcl-2 oncoprotein (DAKO사)- 1 : 1000, 4℃, overnight
- monoclonal mouse anti-human p53(DO-7)(NOVO 사)-1 : 200, 실온 1hr. polyclonal rabbit anti-human bax(pharmingen)- 1 : 1000, 실온 1hr.

biotinylated anti-mouse and anti-rabbit Ig(DAKO 사)-LSAB kit로 30분간 incubation하고 Streptavidin conjugated to horse radish peroxidase(DAKO사)-LSAB kit로 30분 incubation하였다.

이때 peroxidase activity는 3,3'-diaminobenzidine hydrochloride(DAKO사)에 노출시킴으로서 생גיע 되어 갈색의 반응생성물을 나타내게된다.

hematoxylin으로 counterstaining하고 cover-slipped 하였다. Control은 mouse IgG 1(DAKO, Glostrup, Denmark)로 하였고 tissue lymphocytes는 internal positive control로 사용하였다.

III. 결 과

1. p53의 발현

p-53의 발현정도는 200배의 확대하에서 사진촬영을 한 후 정상상피세포와 p53에 염색된 세포와의 비율을 계산하여 임의로 0에서 25% 까지를 +, 25~50% 까지를 ++, 50~75% 까지를 +++, 75~100%를 ++++로 나누어 분류하였다. 함치성낭종의 경우에는 3 증례에서는 전혀 p53을 관찰할 수 없었고 나머지의 경우에도 전부 + 이하로 아주 약하게 염색되는 것을 확인할 수 있었다. 한편 법랑아세포종의 경우에는 2 증례(unicystic type, plexiform)에서는 p53의 염색을 확인 할 수 없었지만 나머지 대부분의 경우에는 ++, 혹은 +++로 강하게 염색됨을 확인할 수 있었다(Table 1).

법랑아세포종의 조직학적 분류에 따른 p53의 염색사이에는 어떠한 유의있는 차이를 관찰할 수 없었다(Table 2). 특

히 함치성 낭종에서 p53은 거의 기저층에서 염색이 일어남을 확인하였다(Fig. 1A and B).

2. bcl-2 단백질의 발현

bcl-2 단백질은 세포의 세포질에서 발현되었는데 함치성 낭종의 경우 2증례에서는 전혀 발현이 되지않았고 4증례에서는 기저층에서 발현되었고 나머지 4증례에서는 전층에서 발현되었다. 한편 법랑아세포종의 경우에는 모든 경우에 비교적 강하게 염색되었는데 2증례에서는 발현이 되지 않았고 4증례에 있어서는 중앙실질조직중 바깥층에서 나머지 10증례에서는 전층(inner and outer layer)에서 발현되었다. 주로 중앙실질조직중 입방형 또는 주상형 세포층에 집중되어 염색됨이 확인되었다(Fig. 2A and B).

Table 1. Expression of p53 in dentigerous cyst and ameloblastoma

	-	+	++	+++	++++	Sum
dentigerous cyst	3	7	0	0	0	10
ameloblastoma	2	2	9	3	0	16

(+: 0~25%, ++: 25~50%, +++: 50~75%, ++++: 75~100%)

Table 2. p53 expression according to histologic type in ameloblastoma

	-	+	++	+++	++++	Sum
Unicystic A	1	0	4	1	0	6
Plexiform A	1	2	2	1	0	6
Follicular A	0	0	3	1	0	4

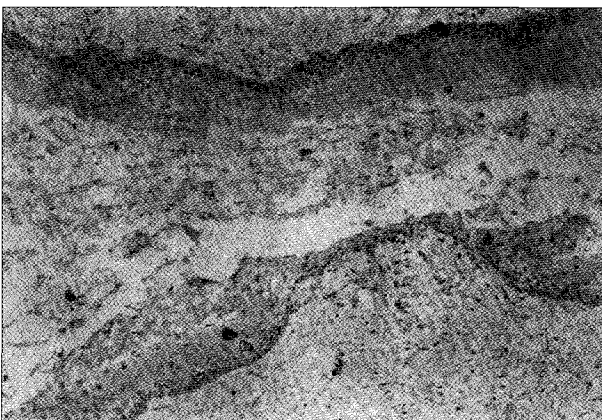


Fig. 1A. (x100) p53 immunostaining in dentigerous cyst. In a dentigerous cyst, p53-positive cells are seen in basal layer.

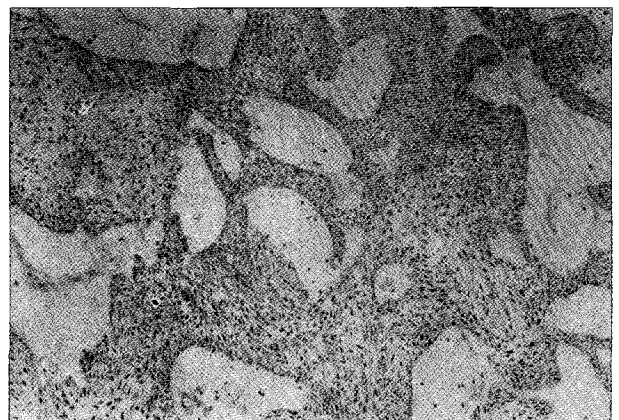


Fig. 1B. (x100) p53 immunostaining in ameloblastoma. In an ameloblastoma, p53-positive cells are seen in peripheral cuboidal as well as central stellate reticulum-like cells.

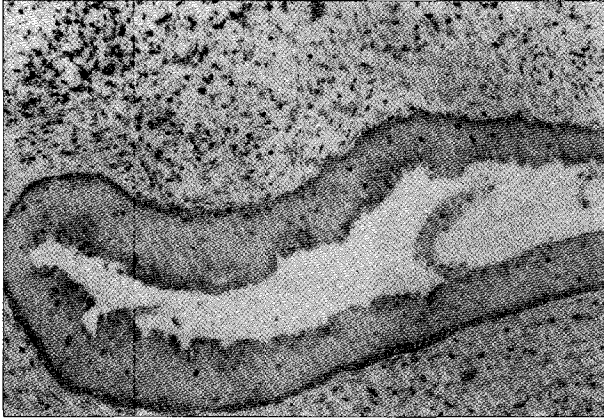


Fig. 2A. (x100) bcl-2 immunostaining in dentigerous cyst. In a dentigerous cyst, bcl-2 positive cells are seen in basal layer.

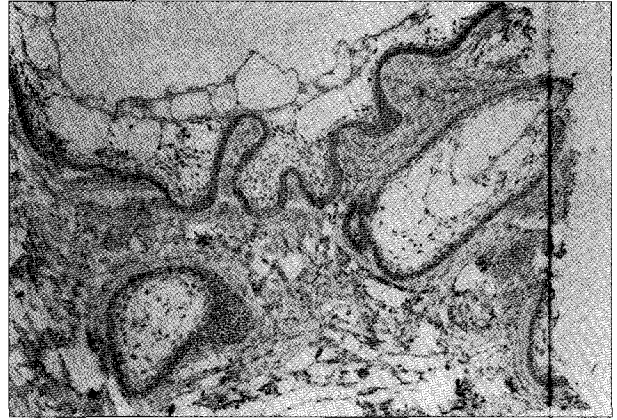


Fig. 2B. (x100) bcl-2 immunostaining in ameloblastoma. In an ameloblastoma, bcl-2 positive cells are seen in peripheral columnar as well as central stellate reticular-like cells.

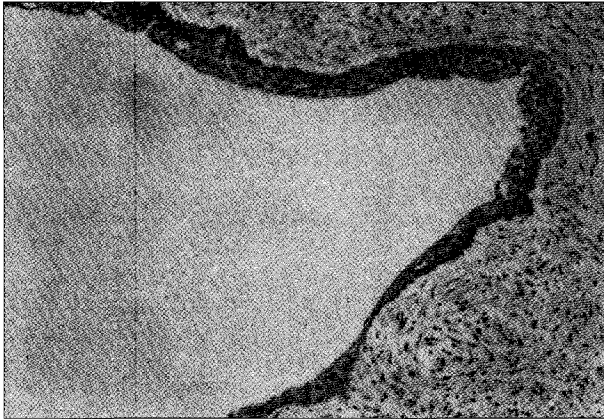


Fig. 3A. (x100) bax immunostaining in dentigerous cyst. In a dentigerous cyst, bax-positive cells are seen in epithelial whole layer.

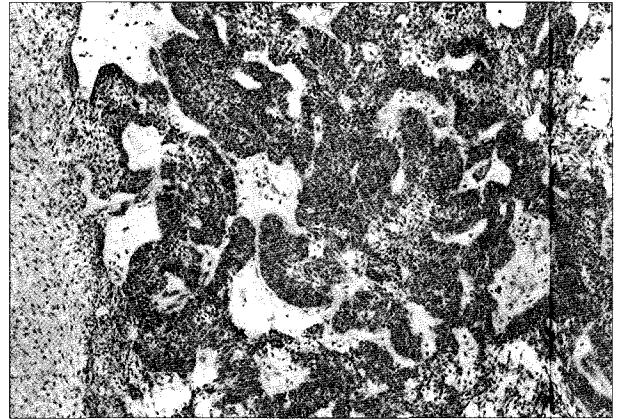


Fig. 3B. (x100) bax immunostaining in ameloblastoma. In an ameloblastoma, bax positive cells are seen in peripheral cuboidal or columnar layer and focally seen in central stellate reticulum-like cells.

Table 3. Distribution of bcl-2 and bax expression in dentigerous cyst

	-	Basal layer	Suprabasal layer	Full epithelial layer	Sum
Bcl-2	2	4	0	4	10
Bax	0	0	1	9	10

Table 4. Distribution of bcl-2 and bax expression in ameloblastoma

	-	Inner layer	Outer layer	Inner and outer	Sum
Bcl-2	2	0	4	10	16
Bax	4	0	2	10	16

3. Bax 단백질의 발현

Bax 단백질의 발현은 p53 이나 bcl-2 단백질의 경우와는 달

리 법랑아세포종보다 합치성낭종의 경우에 강양성의 반응을 보였으며 법랑아세포종에서 조직학적 분류에 따른 차이는 관찰되지 않았다(Table 3, 4) (Fig. 3A and B).

Ⅳ. 고 찰

Apoptosis는 세포사망의 특수한 형태로서 유전적으로 결정된 단백질에 의하여 중재되는 다양한 세포내 기전에 의하여 조절된다. 이러한 유전자 생성물이 세포생존에 있어서 억제적으로 혹은 촉진적으로 작용하기도 한다^{3,21}.

본 연구에서는 대표적 치성 종양인 합치성 낭종과 법랑아세포종에 있어서 apoptosis의 가능한 역할을 밝히고자 주요 apoptosis 관련 단백질인 p53, bcl-2, bax에 대하여 면역조직화학적 연구를 실시하였다.

p53 단백질의 발현연구에서 합치성 낭종의 경우에는 거의 발현되지 않거나 아주 약하게 발현됨이 관찰되었고 법랑아세포종의 경우에는 발현되지 않는 경우도 있었지만 대부분의 경우에는 ++, 혹은 +++로 강하게 염색됨을 확인할 수 있었다. Ogden²²은 polyclonal antibody를 사용한 연구에서 치성 각화성 낭종의 일부에서 p53에 대하여 양성 반응을 보였지만 치근단 낭종과 합치성 낭종에서는 음성으로 나타났다고 하였으며 Sloomweg은 p53이 법랑아세포종, 치성 각화성 낭종 그리고 악성종양에서 많이 발현되었다고 하였다²³. 한편 Kumamoto (1997)의 연구에 의하면 p53은 정상 치성 상피에서는 발현되지 않고 단지 종양성 상피에서만 발현된다고 보고하였다²⁴. 그러나 Li 등의 연구^(cited from 23)에서는 치성 각화성 낭종, 치근단 낭종, 합치성 낭종 모두에서 p53이 발현되었고 단지 치성 각화성 낭종과 합치성 낭종에서 진하게 염색이 되었다고 하였다. 세포 증식이라는 측면에서 p53 양성 의미는 밝히는 것은 쉬운 일이 아니다. 증가된 세포 증식력이 p53 유전자의 돌연변이에 의한 것인지면 면역조직화학적 연구만으로는 결정되어지지 않는다. 왜냐하면 p53의 안정화는 유전자의 돌연변이없이 p53 단백질의 생산이 증가되었거나 p53 단백질의 파괴가 다른 세포내 혹은 바이러스 단백질에 의해 보호될 수 있기 때문이다^{25, 27}. 그렇다고 해서 p53 양성이라는 것이 증가된 세포 증식력에 있어서 중요치 않다는 것을 의미하지는 않는다. 아마도 p53의 면역조직화학적 양성은 p53 단백질의 증가된 생산이나 감소된 파괴를 의미하고 결국 이것은 성장조절의 혼란을 초래할 것이기 때문이다. 본 연구의 p53에 대한 연구결과는 p53 단백질의 돌연변이건 wild type 단백질의 turn over의 차이에 의한 것이건 변화된 p53 대사가 법랑아세포종에서 일어나고 있으며 이는 세포의 증식과 관련성을 시사한다.

Bcl-2 유전자는 apoptosis 억제인자 단백질의 합성에 관여하는 proto-oncogene으로 chromosome 18q 21에 위치하고 follicular B cell leukemia 와 follicular lymphoma 에서 t(14: 18) translocation 과 관련된 oncogene 으로 밝혀졌다^{28,29}. 여기에 속하는 것으로는 bax, bcl-xL, bcl-xL, bcl-xS, mcl-1, bad and bak 등이 있다^{1,30}. 이러한 단백질들이 서로 homodimers나 heterodimer를 형성하여 작용을

하게 되는데 예를 들면 bax는 bcl-2와 heterodimer를 형성하여 bcl-2의 apoptosis-inhibiting function을 억제하게 된다. 암세포에서 apoptosis program은 정상적으로 활성화되는데 예를들면 c-myc과 같은 oncogene의 경우에는 apoptosis 뿐만 아니라 mitogenesis를 동시에 촉진시킬 수 있다. 그래서 bcl-2의 동시 발현을 통해 암 성장을 유도하게 된다³⁰.

본 연구에서의 bcl-2 단백질의 발현양상은 전체적으로는 합치성 낭종보다는 법랑아세포종에서 강하게 염색되었으며 합치성 낭종의 경우에는 약하지만 상피층의 기저부에 집중되어 발현되었고 법랑아세포종의 경우에는 상피층의 바깥층 혹은 전층에 걸쳐 발현되었다. 이는 Mitsuyasu 등¹⁹이 25개의 법랑아세포종에서 행한 연구에서 bcl-2 단백질은 주로 tumor nest의 outer cell layer에서 주로 발현되었고 basal cell type 에서는 outer layer cell과 inner layer cell 사이에 어떤 형태학적 특성을 확인 할 수 없었다고 한 보고와 일치한다. 즉 outer layer cell 의 형태학적 특성은 법랑아세포종의 성장활동성을 반영하고 outer layer cell 은 증식능 뿐만 아니라 세포사망의 억제력을 보여준다. 또한 Gao 등 (1995)³¹은 bcl-2의 발현여부를 면역조직화학적 검사를 통하여 법랑아세포종 40층에서 36층에서(90%) bcl-2에 양성반응을 보여 bcl-2의 과발현이 법랑아세포종의 발생과 연관이 있음을 시사하였다.

본 연구의 경우에는 합치성 낭종에서도 비록 약하지만 상피층의 기저부에 집중되는 bcl-2 단백질의 발현을 관찰할 수 있었는데 이점에 관해서는 학자간에 이견을 보이고 있는데 Piattelli 등²⁰의 연구에서는 합치성 낭종 및 치근단 낭종등과 같은 국소적 재발률이 낮은 치성종양의 경우 거의 음성을 보이고 비교적 국소성 재발률이 높은 치성 각화성 낭종의 경우에는 기저층에서 강하게 양성을 보였다고 보고하였다. 한편 Kumamoto (1997)²⁴의 면역조직화학적 및 in situ DNA nick end-labelling 방법에 의한 연구에 의하면 bcl-2 단백질은 정상 및 종양성 치성 상피에 모두 발현되었다고 하였다. 이러한 차이는 bcl-2에 대한 면역 염색 정도 혹은 비특이성 염색에 의한 차이로 생각되어진다.

bcl-2 단백질의 발현은 발육중에 많은 부위에서 나타나기도 하는데^{32,33} 특히, Sloomweg과 De Weger³⁴는 인간의 치배(tooth germ)와 dental lamina의 상피성분(epithelial component)에서 bud stage와 bell stage로 넘어가는 시기에 bcl-2 단백질의 발현을 보고하였다. Inner enamel epithelium이 ameloblast로 분화될 때 bcl-2 단백질의 발현이 소실된다. 이에 근거하여 그들은 inner and outer enamel epithelium과 stratum intermedium이 reduced enamel epithelium으로 될 때까지 apoptosis inhibitor로 작용한다고 제안하기도 하였다.

Lo Muzio 등(1999)³⁵은 치성 각화성 낭종에서 상피의

기저층에서 bcl-2에 양성반응을 보고한 바 있고 Piattelli 등(1998)³⁰⁾은 합치성 낭종, 치근단 낭종, 치성 각화성 낭종에 대한 bcl-2의 존재여부를 비교하여 본 바 합치성 낭종과 치근단 낭종에서는 bcl-2에 대하여 음성반응을 보였으나 치성 각화성 낭종의 경우에는 기저 세포층에서 강한 양성반응을 보여 치성 각화성 낭종의 기저층에서의 bcl-2의 양성반응이 세포주기의 비정상적 조절을 시사한다고 하였다. 이처럼 bcl-2 단백질의 과발현은 상피세포의 생존의 증가를 초래하고 이 증가된 생존의 결과 치성 각화성 낭종이나 법랑아세포종과 같은 국소적 재발률이 비교적 높은 낭종을 포함한 양성 종양에서 높은 국소적 재발률과 관계가 있는 것으로 사료된다.

Bax는 apoptosis의 주요 작용인자로서 bax와 homodimer를 형성하거나 bcl-2와 heterodimer를 형성하여 기능을 나타내게 되는데 bax-bax dimer의 기능은 bax-bcl-2 heterodimer에 의해 억제된다³⁶⁾. 즉 bcl-2와 bax의 비율을 통하여 apoptotic cell death를 조절하게 된다. 본 연구에서는 법랑아세포종과 비교하여 합치성 낭종에서 bax 단백질에 대하여 보다 강한 양성을 보였다. Jordan 등(1996)³⁷⁾은 구강내의 편평 상피 세포암에 있어서 bax 면역반응은 잘 분화된 암종에서 강하게 반응한다고 하였으며 침윤성 종양에 인접한 dysplastic 상피세포에서 약하게 나타난다고 하였다. 본 연구의 결과와 Jordan 등(1996)³⁷⁾의 결과를 참고하여볼 때 bax 단백질은 치성종양에 있어서 세포증식을 억제하는 방향으로 다시 말해 국소성 재발을 억제하는 역할과 관련이 있지않나 생각되어진다. 한편 4-nitroquinoline 1-oxide에 의해 유도된 종양에서의 bcl-2와 bax의 발현의 변화에 관한 연구³⁶⁾에서 종양의 진행정도에 따라 bcl-2와 bax에 양성반응을 보인 세포의 수가 증가함을 보고하였다. 또한 이 결과를 근거하여 bcl-2와 bax가 종양의 진행에 관련되어 있음을 시사하였다. 암종 혹은 종양의 진행에 있어서 bcl-2와 bax의 역할이나 상호관계등은 추후 연구가 이루어져야 할 부분으로 생각된다.

이상을 종합해볼 때 치성 각화성 낭종, 법랑아세포종, 구강내의 편평 상피 세포암의 국소침윤성 혹은 재발성향은 apoptosis 관련 단백질의 발현과 관련이 있는것으로 생각되며 향후 치성 종양에 있어서의 세포증식과 관련하여 apoptosis 관련 단백질의 가능한 역할을 규명하는 작업이 이루어져야 하리라 생각된다.

V. 요약

저자는 국소적 재발률에 있어서 큰 차이를 보이는 두 치성 종양중 대표적인 합치성 낭종과 법랑아세포종에 있어서 apoptosis 관련 단백질(p53, bcl-2, bax)의 발현 양상을 관찰하기 위하여 10례의 합치성 낭종과 16례의 법랑아세포종에

대하여 면역조직화학적 연구를 실시하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. p53은 합치성 낭종보다 법랑아세포종에서 강하게 발현되었고 법랑아세포종의 조직학적 분류에 따른 p53 발현의 차이를 관찰할 수 없었으며 합치성 낭종의 경우에는 p53이 거의 basal layer에서 발현되었다.
2. Bcl-2는 합치성 낭종의 경우 주로 기저층 혹은 전층에서 발현되었고 법랑아세포종에서는 바깥층 혹은 전층에서 발현되었는데 특히 종양 실질조직중 입방형 또는 주상형 세포층에 집중되어 염색되었다.
3. Bax는 합치성 낭종의 경우 법랑아세포종에 비하여 보다 강하게 발현되었고 합치성 낭종과 법랑아세포종간에 발현양상의 차이는 관찰할 수 없었다.

합치성 낭종 및 법랑아세포종에 있어서 apoptosis 관련 단백질의 발현양상에 관한 이러한 차이가 법랑아세포종의 독특한 공격적 성장양상과 연관이 있으리라 사료된다.

참고 문헌

1. Hockenbery DM: bcl-2 in cancer, development and apoptosis. *J Cell Sci* 18: 51-55, 1994.
2. Kerr JFR, Winterford CM, Jarmon BV: Apoptosis its significance in cancer and cancer therapy. *Cancer* 73:2013-2026, 1994.
3. Reed JC: bcl-2 and the regulation of programmed cell death. *J Cell Biol* 124: 1-6, 1994.
4. White E: Life, death and the pursuit of apoptosis. A review. *Genes Dev* 19: 1-15, 1996.
5. Krajewski S, Tanaka S, Takayama S et al: Investigation of the subcellular distribution of the bcl-2 oncoprotein: residence in the nuclear envelope, endoplasmic reticulum and outer mitochondrial membranes. *Cancer Res* 53: 4701-4714, 1993.
6. Oltvai ZN, Millman CL, Korsmeyer SJ: bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, bax, that accelerates programmed cell death. *Cell* 74: 225-232, 1993.
7. Krajewski S, Krajewska M, Shabaik A et al: Immunohistochemical determination of in vivo distribution of bax, a dominant inhibitor of bcl-2. *Am J Pathol* 145: 1323-1336, 1994.
8. Kastan MB, Onyekwere O, Sidransky D et al(1991): Participation of p-53 protein in the cellular response to DNA damage. *Cancer Res* 51: 6304-6311, 1991.
9. Maor-Kendler Y, Gabay G, Bernheim J, Naftali T, Lesin I, Leichtman G, Pomeranz I, Novis B: Expression of bcl-2 in autoimmune and Helicobacter pylori-associated atrophic gastritis. *Dig Dis Sci* Apr;44(4): 680-685, 1999.
10. Boni R, Wellmann A, Man YG, Hofbauer G, Brinkmann U: Apoptosis-associated CAS protein in benign and malignant cutaneous melanocytic lesions. *J Dermatopathol* Apr. 21: 125-128, 1999.
11. Baretton GB, Diebold J, Christoforis G et al: Apoptosis and immunohistochemical bcl-2 expression in colorectal adenomas and carcinomas. Aspects of carcinogenesis and

- prognostic significance *Cancer* 77: 255-264, 1996.
12. Eerola A-K, Toermaenen U, Rainio P et al: Apoptosis in operated small cell lung carcinoma is inversely related to tumor necrosis and p53 immunoreactivity. *J Pathol* 181: 172-177, 1997.
 13. Soini Y, Paeaekko P: Extent of apoptosis in relation to p53 and bcl-2 expression in germ cell tumors. *Human Pathol* 27: 1221-1226, 1996.
 14. Soini Y, Virkajaervi N, Lehto VP, Paeaekko P: Hepatocellular carcinomas with a high proliferation index and a low degree of apoptosis and necrosis are associated with a shorted survival. *Br J Cancer* 73: 1025-1030, 1996.
 15. Toermaenen U, Eerola A-K, Rainio P et al: Enhanced apoptosis predicts shorted survival in non-small cell lung carcinoma. *Cancer Res* 55: 5595-5602, 1995.
 16. Schoelch ML, Le QT, Silverman S Jr, McMillan A, Dekker NP, Fu KK, Ziober BL, Regezi JA: Apoptosis-associated proteins and the development of oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol Jan* 35(1): 77-85, 1990.
 17. Harada H, Mitsuyasu T, Nakamura N, Higuchi Y, Toyoshima K, Taniguchi A, Yasumoto S: Establishment of ameloblastoma cell line, AM-1. *J Oral Pathol Med* May 27(5): 207-212, 1998.
 18. Slootweg PJ, De Weger RA: Immunohistochemical demonstration of bcl-2 protein in human tooth germs. *Arch Oral Biol* 39: 545-550, 1994.
 19. Mitsuyasu T, Harada H, Higuchi Y, Kimura K, Nakaura N, Katsuki T, Kubota E, Toyoshima K, Ohishi M: Immunohistochemical demonstration of bcl-2 protein in ameloblastoma. *J oral Pathol Med* 26: 345-348, 1997.
 20. Piattelli A, Fioroni M, Rubini C: Differentiation of odontogenic keratocysts from other odontogenic cysts by the expression of bcl-2 immunoreactivity *Oral Oncology* 34: 404-407, 1998.
 21. Norris DA : Differential control of cell death in the skin. *Arch Dermatol* 131: 945-948, 1995.
 22. Ogden GR, Chisholm DM, Kiddie RA, Lane DP: p53 protein in odontogenic cysts: increased expression in some odontogenic keratocysts. *J Clin Pathol* 45: 1007-1010, 1992.
 23. Slootweg PJ: p53 protein and Ki-67 reactivity in epithelial odontogenic lesions. An immunohistochemical study. *J Oral Pathol Med* 24: 393-397, 1995.
 24. Kumamoto H: Detection of apoptosis related factors and apoptotic cells in ameloblastoma : analysis by immunohistochemistry and an in situ DNA nick end -labelling method. *J Oral Patho Med* 26(9): 419-425, 1997.
 25. Wynford Thomas D: p53 in tumour pathology: can we trust immunohistochemistry? *J Pathol* 166: 329-330, 1992.
 26. Battifora H: p53 immunohistochemistry: a word of caution. *Human Pathol* 25:435-436, 1994.
 27. Hall PA, Lane DP: p53 in tumour pathology: can we trust immunohistochemistry? -revised. *J Pathol* 172:1-4, 1994.
 28. Bakhshi A, Jensen JP, Goldman P et al: Cloning the chromosomal breakpoint of t(14:18) human lymphomas: clustering around JH on chromosome 14 and near a transcriptional unit on 18. *Cell* 41: 899-906, 1985.
 29. Cleary ML, Smith SD, Sklar J: Cloning and structural analysis of c DNAs for bcl-2 and hybrid bcl-2/immunoglobulin transcript resulting from the t(14:18) translocation. *Cell* 47:19-28, 1986.
 30. Strasser A, Harris AW, Bath ML Cory S: Novel primitive lymphoid tumors induced in transgenic mice by cooperation between myc and bcl-2 nature 348: 331-333, 1990.
 31. Gao Y, Yang L, Zhu X : Detection of the apoptosis-suppressing oncoprotein bcl-2 in ameloblastomas. *Chung Hua Ping Li Hsueh Tsa Chih* apr:24(2): 78-79, 1995.
 32. Lebrun DP, Warnke RA, Cleary ML: Expression of bcl-2 in fetal tissues suggests a role in morphogenesis. *Am J Pathol* 142: 743-753, 1993.
 33. Lu QL, Poulosom R, Wong L, Hanby AM: Bcl-2 expression in adult and embryonic non haematopoietic tissues. *J Pathol* 169: 431-437, 1993.
 34. Slootweg PJ, De Weger RA: Immunohistochemical demonstration of bcl-2 protein in human tooth germs. *Arch Oral Biol* 39: 545-550, 1994.
 35. Lo Muzio L, Staibano S, Pannone G, Bucci P, Nocini PF, Bucci E, De Rosa G: Expression of cell cycle and apoptosis-related proteins in sporadic odontogenic keratocysts and odontogenic keratocysts associated with the nevoid basal cell carcinoma syndrome. *J Dent Res* Jul, 78(7): 1345-53, 1999.
 36. Nishimura A : Change in Bcl-2 and Bax expression in rat tongue during 4-nitroquinoline 1-oxide- induced carcinogenesis. *J Dent Res* Jun, 78(6): 1264-1269, 1999.
 37. Jordan RC, Catzavelos GC, Barrett AW, Speight PM: Differential expression of bcl-2 and bax in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Eur J Cancer Oral Oncol* 32B(6): 394-400, 1996.

저자연락처

우편번호 110-744
 서울특별시 종로구 연건동 28번지
 서울대학교 치과대학 구강악안면외과학교실
 최진영

원고 접수일 1999년 10월 6일
 게재 확정일 1999년 11월 8일

Reprint requests

Jin-Young Choi
 Dept. of OMFS, College of Dentistry, Seoul National Univ.
 #28, Yongon-Dong, Chongno-Gu, Seoul, 110-744, Korea
 Tel. 82-2-760-3992 Fax. 82-2-766-4984

Paper received 6 October 1999
 Paper accepted 8 November 1999