

법랑아세포종에서 p21 및 p53 발현에 관한 면역조직화학적 연구

신동준 · 명 훈 · 황경균 · 김명진

서울대학교 치과대학 구강악안면외과학 교실

Abstract (J. Kor. Oral Maxillofac. Surg. 2003;29:199-205)

IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY OF P21 AND P53 EXPRESSION IN AMELOBLASTOMA

Dong-Joon Shin, Hoon Myoung, Kyeng-Kyun Hwang, Myung-Jin Kim

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

The p53 protein was discovered in 1979 as cellular 53-kD nuclear phosphoprotein bound to the large transforming antigen of SV40 virus. P21^{WAF1/CIP1}, which has been described as the critical downstream mediator of p53, is known to suppress DNA replication and arrest the G1 cell cycle by quaternary complex with cyclin D, cyclin-dependent kinase(CDK) and proliferating cell nuclear antigen(PCNA). In these days, some studies shows that the p21 can be induced by independent pathways. There are various reports about the expression of p21 (67%.82.4%) in oral squamous cell carcinoma. But these studies are mostly done in malignant tumor not in benign tumor. So we decided to study the expression of p21 in ameloblastoma and the relationship between p53 and p21 as a downstream mediator of p53 in ameloblastoma.

We investigated the expression of p21 and p53 with the method of immunohistochemistry. We selected 30 cases of ameloblastoma tissue blocks (acanthomatous type: 5 cases, follicular type: 8 cases, plexiform type: 17 cases) imbedded in paraffin. We used 30 cases of normal gingival tissues and 30 cases of squamous cell carcinoma tissues (SCC) respectively and compared their results with those of ameloblastoma. We made slides with the streptavidin-biotin methods and used monoclonal antibody DO-7 (Novocastra, Newcastle, United Kingdom) as p53 antibody and monoclonal antibody M7202 (DAKO, California, U.S.A.) as p21 antibody. We used Pearson's correlation coefficient to analyse the relationship.

The results were as follows:

1. p21 was expressed in ameloblastoma about 30% and this is lower than that of normal gingiva and SCC.
2. In normal gingiva and ameloblastoma, p21 expression was correlated with p53 expression.
3. In SCC, p21 were expressed about 83.3% and this is more than that of p53. But there was no correlation between p21 and p53 expression.

We confirmed p21 expression and relation with p53 in ameloblastoma. But, to confirm the function of p21, more studies about p21 expression in malignant ameloblastoma and ameloblastic carcinoma are needed.

Key words : Ameloblastoma, p21, p53, Immunohistochemistry

I. 서 론

암종은 조절되지 않는 세포의 성장을 특징으로 한다. Proto-

oncogene의 활성화와 tumor suppressor gene의 불활성화는 암종으로의 전환에 연관된 중요한 현상으로 알려져 있다. 이 중 p53 tumor suppressor gene은 가장 잘 알려진 일례이며, 인간 조직에 발생하는 절반 이상의 암종에서 변형되어 나타나는 것으로 밝혀졌다¹⁾. p53 단백질은 1979년 SV40 바이러스의 transforming antigen에 붙어있는 53-kD의 nuclear phosphoprotein의 형태로 발견되었다¹⁾. p53의 유전자는 17번 염색체의 short arm에 위치하며, cell cycle arrest와 apoptosis에 관여하는 것으로 유명하다^{2,3)}. 이 p53에 의한 성장 조절 과정 중, p21은 p53의 중요한 하위 매개체로 알려져 있다^{4,6)}.

김 명 진

서울시 종로구 연건동 28번지

서울대학교 치과대학 구강악안면외과학 교실

Myung-Jin Kim

Dept. of OMFS, College of dentistry, Seoul National University

28-2, Yun-Gun dong, Chong-No gu, Seoul, South Korea

Tel. 82-2-760-2632 Fax. 82-2-766-4948

E-mail: myungkim@plaza.snu.ac.kr

* 이 논문은 2002년도 한국학술진흥재단의 지원에 의하여 연구 되었음. (KRF-2002-041-E00224).

p21^{WAF1/CIP1}의 유전자는 6번 염색체의 short arm에 위치하고 있으며, 21-kD의 단백질을 형성하도록 한다^{7,8}. 정상 세포에서 p21 단백질은 cyclin, cyclindependent protein kinase(CDK) 그리고 proliferating cell nuclear antigen(PCNA)과 사중 결합을 이루어 CDK를 방해함으로써 세포주기가 G1에서 S 단계로 넘어가는 것을 조절한다^{1,3,9}. 정상 세포와 변형된 세포에서 세포의 분화를 유도하며, 악성 종양에서는 세포의 성장을 억제하는 작용을 한다⁹. p53의 유전자 돌연변이와는 달리 p21의 유전자 돌연변이는 인간에게서 매우 드문 것으로 알려져 있다^{7,10}.

근래에는 p21이 종양에 따라 p53의 발현과는 무관하게 발현된다고 보고되고 있으며, 이 독립적인 메카니즘에 의해 세포의 분화와 노화, apoptosis에 관여한다고 한다⁹. Michieli 등¹¹과 Datto 등¹²은 1995년 그들의 논문에서 okadaic acid, cycloheximide와 같은 genotoxic drug들과 platelet-derived growth factor, fibroblast growth factor, epidermal growth factor, transforming growth factor들과 같은 여러 성장요소들에 의해 p53에 관계없이 p21이 발현될 수 있다고 하였다. 이 후 여러 논문에서 악성 종양에서의 p21의 발현에 관한 연구들이 이루어지고 있으며, 구강내 편평세포암종에서는 발현율 67%에서부터 82.4%에 이르기까지 다양한 연구결과들이 발표되고 있다^{4,6,10}.

하지만 이러한 연구들은 대부분 악성종양을 다루고 있으며, 양성종양에 관한 연구는 드물다. 양성 종양에서의 p21의 발현여부와 그 정도를 알아보고 이를 악성 종양과 비교, 연구한 문헌이 매우 적은 현실이다. 이에 저자는 본 연구를 통하여, 병리학적으로는 양성이지만 임상적으로는 악성도를 보이는 범랑아세포종에서의 p21 발현 여부와, 발현되어 진다면 p53과 연관되어 발현되는 것인지를 면역조직화학적 연구를 통해 살펴보고, 범랑아세포종이나 구강내 편평세포암종의 진단에 있어, p21의 가치를 평가하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1997년에서부터 2001년까지 서울대학병원에서 범랑아세포종으로 진단된 30증례를 대상으로 하였다. 이 조직은 적출 후 모두 10% 중성 포르말린 용액에 고정하였다가 통법의 탈수과정을 거쳐 파라핀에 포매하여 보관하였다. 이 중 acanthomatous type이 5증례, follicular type이 8증례, plexiform type이 17증례였으며, 남자가 21명, 여자가 9명이었다. 연령은 5세에서 61세로 평균 34.85세였으며, 상악에서 발생한 증례가 3증례, 하악이 27증례였다. 대조군으로는 정상치는 30증례와 편평세포암종(well differentiated type) 30증례를 이용하였다. 이 조직들도 모두 위에서처럼 파라핀에 포매시켜 보관하였다가 사용하였다.

면역조직화학 염색과 슬라이드 제작을 위하여 streptavidin-biotin법을 이용하였다. 먼저 박절편을 xylene으로 탈파라핀하고 각 단계의 알코올을 거쳐 함수시켰다. 증류수로 3회 세척한 후 전처치로 0.01M sodium citrate buffer(pH 6.0) 용액에 담근 상태에서 microwave로 5분씩 2회 처리하였다. 내인성 peroxidase의 활성을 억제시키기 위하여 3% 과산화수소수 용액으로 10분간 처리

한 후 증류수와 PBS로 세척하였다. DAKO LSAB kit(DAKO, California,U.S.A.)의 blocking 시약으로 20분간 부란시켜 비특이적 IgG 결합을 방지하였다. 그리고 상온에서 각각 p53과 p21의 일차 항체로 1시간 이상 부란한 뒤 PBS로 3회 세척하였다. p53에 대한 일차 항체로는 monoclonal antibody DO-7(Novocastra, Newcastle,United Kingdom)을 이용하였으며, p21에 대한 일차 항체로는 monoclonal antibody M7202(DAKO,California, U.S.A.)를 각각 50 : 1로 희석하여 사용하였다. 이 후 biotin이 표지된 이차 항체로 15분간 부란한 후 PBS로 3회 세척하였다. Peroxidase가 표지된 streptavidin으로 15분간 부란시키고 PBS로 충분히 세척하였다. 3,3'-diaminobenzidine(DAB)으로 5분간 발색시킨 후 증류수로 충분히 세척하였고 Meyer's hematoxylin으로 대조염색한 후 per-mount로 봉입하였다. 각 슬라이드에서 무작위로 3군데의 대표부위를 선정, 광학현미경으로 400배로 관찰하여, 전체 세포수중 염색된 세포수의 백분율을 구하였다. 핵이 염색된 세포만을 양성으로 판정하였으며, p53과 p21 모두에서 10%이상 발현된 것을 양성으로 판정하였다^{2,9,13,14}. p53과 p21의 면역반응도는 발현율에 따라 다음과 같이 4가지 범주로 분류하였다.

<10%: negative(-), 10~20%: +1, 20~50%: +2, >50%: +3.

p53과 p21 발현의 연관성 여부는 Pearson's correlation coefficient를 이용하여 분석하였다.

III. 결 과

p53과 p21이 발현된 정도는 범랑아세포종에서 p53이 19증례(63.33%)에서 발현되었으나 (Fig. 1A, 1B), 이와 대조적으로 p21은 9증례(30%)에서만 발현이 나타났다 (Fig. 2A, 2B). 각 type별로 보면, p53은 plexiform type 17증례 중 12증례(70.59%), follicular type 8증례 중 2증례(25%), acanthomatous type 5증례 중 4증례(80%)에서 발현이 나타났다. p21은 plexiform type에서 6증례(35.29%), follicular type에서 2증례(25%), acanthomatous type에서 1증례(20%)에서 발현이 나타났다. 정상 치은조직에서는 p53이 19증례(63.33%)에서 발현되었으며 p21은 22증례(73.33%)에서 발현되었다 (Table 1). 발현되는 양상을 각각 살펴보면, p53은 epithelium의 basal layer를 따라서 발현되었다 (Fig. 3A, 3B). 이에 비하여 p21은 basal layer의 상방부위에서만 발현이 일어났으며 basal layer 자체에는 발현이 일어나지 않았다(Fig. 4A, 4B). 편평세포암종에서의 결과를 보면, p53과 p21이 모두 종양조직에서 강하게 발현되는 것을 볼 수 있었다 (Fig. 5A, 5B, Fig. 6A, 6B).

Table 1. The results of p53 and p21 expression in normal gingiva, ameloblastoma and squamous cell carcinoma.

	p53	p21
Ameloblastoma	19/30(63.33%)	9/30(30%)
Normal gingiva	19/30(63.33%)	22/30(73.33%)
Squamous cell carcinoma	20/30(66.67%)	25/30(83.33%)

Table 2. Grading of immunoreactivities of p53 and p21

Case No.	Ameloblastoma		Normal gingiva		Squamous cell carcinoma	
	p53	p21	p53	p21	p53	p21
1	+2	-	+1	+2	+3	+2
2	-	-	+1	-	+3	+2
3	-	-	+2	-	+3	-
4	+2	+1	-	+1	+3	+2
5	+2	-	-	-	+3	+2
6	+2	+2	+3	+3	+3	
7	+2	-	+1	+1	+3	+2
8	+2	-	-	-	+2	+3
9	+1	-	-	-	+2	+2
10	+1	+1	-	+2	-	+3
11	-	-	-	+2	+2	+2
12	-	+2	-	+1	-	+1
13	+2	+1	+1	-	+3	-
14	+3	+2	+2	+1	+3	-
15	-	-	+2	+2	+3	+1
16	-	+1	+2	+2	+3	+3
17	-	-	+1	+3	-	+2
18	+1	-	+1	+2	+2	+1
19	+1	-	+3	+2	-	+2
20	-	-	+2	-	+3	+2
21	-	-	+1	+3	-	+2
22	+1	-	+1	+1	-	+2
23	-	-	+1	+2	-	+2
24	+1	+2	+2	+2	+2	-
25	-	+1	-	+1	+2	
26	+2	-	+1	+1	-	+2
27	+1	+1	-	+1	-	-
28	+2	-	-	+2	+3	+2
29	+2	+1	-	+1	+3	+1
30	+2	-	-	+1	-	+3

Grading: <10%: negative(-), 10~20%: +1, 20~50%: +2, >50%: +3

Table 3. Statistical analysis of relationship between p53 and p21 expression in ameloblastoma with Pearson correlation coefficient.

		p53	p21
p53	Pearson correlation	1.000	.386
	Sig. (2-tailed)	.	.035
	N	30	30
p21	Pearson Correlation	.386	1.000
	Sig. (2-tailed)	.035	
	N	30	30

p53은 20증례(66.67%)에서 발현되었으며, p21은 25증례(83.33%)에서 발현되어 p53보다 높은 발현도를 보였다. 발현정도를 보면 법랑아세포종에서 p53은 negative: 11증례, +1: 7증례, +2: 11증례, +3: 1증례였고 p21은 negative: 21증례, +1: 6증례, +2: 3증례였으며 +3은 없었다. 정상치은 조직에서는 p53이 negative: 11증례, +1: 11증례, +2: 7증례, +3: 1증례였고 p21은 negative: 8증례, +1: 9증례, +2: 10증례, +3: 3증례였다. 편평세포암종에서 p53은 negative: 10증례, +1: 1증례, +2: 5증례, +3: 14증례였고 p21은 negative: 5증례, +1: 4증례, +2: 16증례, +3: 5증례였다(Table 2).

p53과 p21의 연관관계를 알아본 통계분석의 결과, 법랑아세포종과 정상 치은에서는 p53과 p21의 발현이 서로 연관성이 있는 것으로 나타났다(Table 3, 4). 그러나 편평세포암종에서는 서로 연관관계를 보이지 않고 독립적으로 발현되는 것으로 나타났다(Table 5).

Table 4. Statistical analysis of relationship between p53 and p21 expression in normal gingiva with Pearson correlation coefficient.

		p53	p21
p53	Pearson Correlation	1.000	.374
	Sig. (2-tailed)	.	.042
	N	30	30
p21	Pearson Correlation	.374	1.000
	Sig. (2-tailed)	.042	.
	N	30	30

IV. 총괄 및 고찰

암의 발생에는 흡연과 음주, 바이러스 감염, 영양결핍, 식생활 습관들이 유발인자로 알려져 있으며, 암의 발생에 관여하는 유전인자로서 종양 유전자 (oncogene)와 종양억제 유전자 (tumor suppressorgene)에 대한 연구가 많이 진행되고 있다. 그 중 p53은 종양억제 유전자로서 이미 널리 알려져 있으며, 근래에는 그 하위 매개체로 알려진 p21의 작용이 밝혀지면서, p53과 p21 발현의 연관성에 대한 많은 연구들이 발표되고 있다. 유방암과 위암에서는 p53과 p21 연관되어 나타난다고 보고되었으나^{8,19}, 최근 결과들에 의하면 p53과 p21은 암종의 종류에 따라 연관성이 다르게 나타난다고 하며, 그 발현 정도가 예후에도 영향을 미치는 것으로 드러나고 있다^{2,3,14,16-18}.

편평세포암종은 구강내에 가장 흔히 발생하는 암종으로 이에 대한 관심도가 높은 만큼 p21에 대해서도 많은 연구들이 편평세포암종을 대상으로 이루어지고 있다. 1998년 Agarwal 등은⁶ 구강내 편평세포암종 51증례 중 68.6%에서 p21이 발현 되었다고 하였으며 전암병소인 백반증에서는 60%, 정상 구강조직에서는 5%의 발현을 보였다고 하였다. 정상치은에서 낮게 발현되던 p21이 전암병소와 편평세포암종에서 높게 나타난 결과들을 토대로, 그들은 p21발현의 변화가 구강내 발암현상의 초기단계에서 일어난다고 하고 있으며 구강내 발암과정에서 p21의 발현이 p53과 의존적과 비의존적인 두가지 방법 모두에 의해서 이루어지는 것 같다고 하였다.

1998년 Yook과 Kim은⁵ 구강내 편평세포암종 20증례를 이용한 연구에서 50%의 p53 발현과 75%의 p21 발현을 보고하였다. 정상 구강 점막조직에서는 극상 세포층에서만 p21의 발현이 보였다고 하였으며, 기저 세포층에서는 p21의 발현이 보이지 않았다고 하였다. 이와는 달리 편평세포암종에 근접한 이형성 점막에서는 기저 세포층을 포함한 전체층에서 p21이 발현이 강하게 나타났다고 하였다. 이 결과로 그들은 p21의 증가된 발현이 구강내 발암과정의 초기 과정에서 나타난다고 하였으며 구강내 발생한 편평세포암종에서는 p21이 p53과는 독립적인 과정을 통하여 발현된다고 하였다. 같은 해 van Oijen 등도¹⁰ 구강내 발생한 편평세포암종에서 67%의 p21 발현을 보였다고 하였으며, 상피이형성에서는 60%에서 p21의 발현이 보였다고 하였다. 이들은 Yook과 Kim의⁵

Table 5. Statistical analysis of relationship between p53 and p21 expression in squamous cell carcinoma with Pearson correlation coefficient.

		p53	p21
p53	Pearson Correlation	1.000	-.146
	Sig. (2-tailed)	.	.443
N	30	30	
p21	Pearson Correlation	-.146	1.000
	Sig. (2-tailed)	.443	.
N	30	30	

결과와 비슷하게 p21이 정상 상피세포의 상부층 부위에서만 발현되었다가 이형성이 심해짐에 따라 상피의 전체층에서 발현이 일어났다고 하였다. 그리고 구강내 편평세포암종에서는 p21의 발현이 p53과 무관하게 나타나며 세포 분화에 관여한다고 하였다.

구강내 발생한 편평세포암종에서 82.4%의 p21 발현을 보고도 있었는데⁶, 이 수치는 본 연구에서의 결과 83.33%와 매우 근접한 수치였다. 정상상피에서도 58.8%에서 p21의 발현이 보였다고 하였으며 모두 기저세포층 상부에서 발현되었다고 하여 위의 연구들과 같은 결과를 보여주고 있다. 그리고 이 연구에서도 p21이 p53과 무관하게 발현되었다고 하였다. 그러나 이처럼 대부분의 연구들이 악성종양에서 주로 행해지고 있으며, 양성종양에서 p21의 발현을 연구한 문헌들이 매우 적은 상태이다. 범랑아세포종은 병리학적으로는 양성이나 임상적으로 악성도를 보이는 종양으로 유명하다. 이에 저자들은 양성종양 중에서도 악성에 가까운 범랑아세포종에서 먼저 p21의 발현을 살펴보기로 하고 본 연구를 계획하여 실행하였다.

현재 유일하게 범랑아세포종에서의 p21 발현을 다루고 있는 문헌이 Kumamoto가¹⁰ 2001년에 발표한 논문이다. 여기서 그는 p21이 치배의 상피세포와 범랑아세포종의 상피세포에서 대부분 발현되었다고 하였으나 정확한 증례 수나 백분율을 제시하지 않았고 양성으로 판단한 기준도 제시하지 않고 있다. 그리고 본 연구와는 달리 p53보다 p21이 더 많이 발현된 사실을 말하면서, 이 사실만으로 통계처리 없이 p53과 p21의 연관관계가 없었다고 말하고 있다. 본 연구에서는 여러 문헌에서 임상적으로나 병리학적으로 자료들에 관련하여 의미있는 차이를 보인다고 하고있는 수치인 10% 이상 p21과 p53이 발현된 것을 양성으로 판정하였다^{2,9,13,14}. 범랑아세포종에서의 p21 발현율은 30%로 p53의 63.33%에 비해 낮은 발현을 보였고, 이는 정상 치은 조직에서보다 낮은 수치였다. 조직학적 형태별로 보면 follicular type에서는 p53과 p21 모두가 25%로 비교적 낮은 수치를 보였다. 그러나 형태별에 따른 발현의 정도를 비교하기 위하여는 좀 더 많은 증례들에 관한 연구가 필요할 것으로 보인다. p21과 p53의 발현은 범랑아세포종에서도 정상 치은조직에서와 같이 서로 연관되어 발현되는 것으로 나타났다. 그러나 다른 양성종양에서도 p21이 p53과 관련되어 나타나는지를 파악하고 악성종양과의 비교를 위해서는 다른 여러 양성종양에서의 p21 발현에 관한 연구가 필요할 것으로 사료

된다. 정상 치은조직에서는 73.33%의 p21 발현을 보였다. 이는 p53의 63.33%와 비교하여 볼 때 더 높은 수치였으며 p21과 p53이 발현되는 부위가 서로 달랐다. 위의 여러 문헌들과서와 마찬가지로 p21은 세포분화가 일어나고 있는 부위인 기저 세포층 상부에서만 발현이 되었고 다른 부위에서는 나타나지 않았다. p21과는 달리 p53은 상피세포의 기저 세포층에서 주로 강하게 발현되었다. 이로써 p21이 정상 세포에서는 세포의 분화에 관여한다는 사실을 확인할 수 있었다. 그리고 정상 치은조직에서는 p21이 발현이 p53과 연관되어 나타났다. 편평세포암종에서는 p21의 발현율이 83.33%로 p53(66.67%)에서보다 더 많이 발현되었다. 다른 문헌들과서와 마찬가지로 구강내 편평세포암종에서 p53과 p21의 발현은 서로 연관성이 없는 것으로 나타났다. 이 결과로 볼 때 기존의 p53을 이용한 혈청 검사에 대한 연구가 진행되고 있는 것처럼, p21을 이용한 진단법도 구강내 발생한 편평세포암종에서 연구할 가치가 있을 것으로 보인다. p21이 정상세포에서는 세포분화가 일어나는 상피에서만 발현되고 양성종양인 법랑아세포종에서는 낮은 발현을 보이다가 악성 종양인 편평세포암종에서는 높은 발현을 보이는 것으로 볼 때, p21의 발현이 발암과정과 연관되어 있는 것으로 추론되어진다. 이러한 추론은 전암병소에서는 p21이 기저 세포층을 포함하여 높게 발현되었다는 앞의 여러 문헌들의 결과를 볼 때 더욱 확실해 보인다^{5,6,10,20}. 그러나 더 정확한 결과를 도출해 내기 위해서는, 법랑아세포종에서 진행된 법랑아세포암종에 대한 연구 및 법랑아 세포종과의 결과 비교가 필요할 것으로 보인다.

V. 결 론

본 연구에서는 법랑아세포종에서 p21의 발현 정도를 관찰하고 p21의 p53과의 관계를 살펴보고자 정상 치은 조직, 편평세포암종과 비교, 연구하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

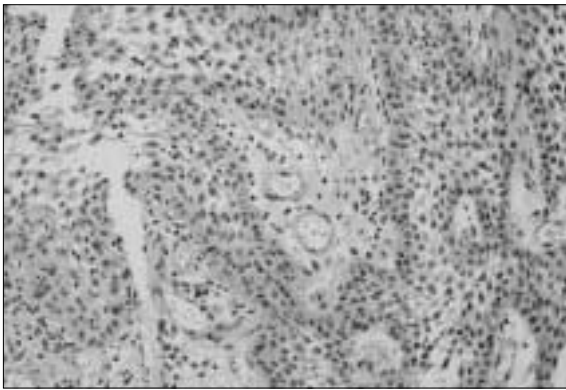
1. p21은 법랑아세포종에서 30% 발현되었으며 이는 정상치은, 편평세포암종에 비해 낮은 수치였다.
2. 정상치은과 법랑아세포종에서 p21의 발현은 p53의 발현과 연관되어 나타났다.
3. 편평세포암종에서 p21은 83.33%의 발현율을 보여 p53에서보다 높게 나타났다. 그러나 p21의 발현은 p53과 서로 연관성을 보이지 않았다. 그러나 더 정확한 p21의 기능과 작용을 확인하기 위해서는 좀 더 많은 양성종양 및 법랑아세포종에서 발현한 악성 법랑아세포종 및 법랑아세포암종에서의 p21 발현에 관한 비교, 연구가 이루어져야 할 것으로 보인다.

참고문헌

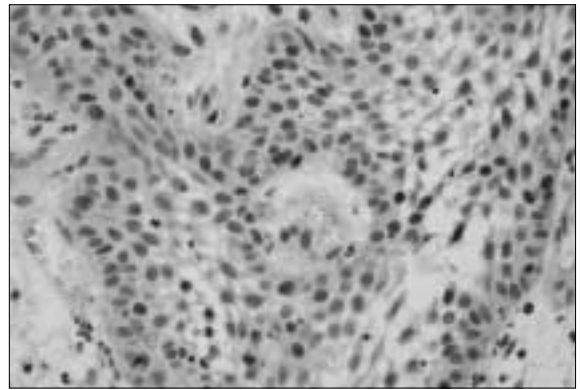
1. Lu S, Tiekso J, Hietanen S, Syrjänen K, Havu V, K, Syrjänen S. Expression of Cell-cycle Proteins p53, p21 (WAF-1), PCNA and Ki-67 in Benign, Premalignant and Malignant Skin Lesions with Implicated HPV Involvement. *Acta Derm Venereol* 79:268-273, 1999.
2. Kapranos N, Stathopoulos G, P, Manolopoulos L, Kokka E, Con. Papadimitriou, Bibas A, Yiotakis J, Adamopoulos G. p53, p21 and p27 Protein Expression in Head and Neck Cancer and their Prognostic Value. *Anticancer Research* 21:521-528, 2001.

3. Annette Schmitter, Conway Gee, Wolfgang Friedmann, Jason J. Lukas, Michael F. Press, Werner Lichtenegger, Angela Reles. p21(WAF1/CIP1) protein expression is associated with prolonged survival but not with p53 expression in epithelial ovarian carcinoma. *Gynecologic Oncology* 77:237-242, 2000.
4. Ng I. O. L, Lam K. Y, Ng M, Regezi J. A. Expression of p21/waf1 in oral squamous cell carcinomas - correlation with p53 and mdm2 and cellular proliferation index. *Oral Oncology* 35:63-69, 1999.
5. Yook J. I, Kim J. Expression of p21(WAF1/CIP1) is unrelated to p53 tumour suppressor gene status in oral squamous cell carcinomas. *Oral Oncology* 34:198-203, 1998.
6. Agarwal S, Mathur M, Shukla N. K, Ralhan R. Expression of cyclin dependent kinase inhibitor p21waf1/cip1 in premalignant and malignant oral lesions: relationship with p53 status. *Oral Oncology* 34:353-360, 1998.
7. Xin Li, Ai-Min Hui, Tadatoshi Takayama, Xing Cui, Yazhou Shi, Masatoshi Makuuchi. Altered p21waf1/cip1 expression is associated with poor prognosis in extrahepatic bile duct carcinoma. *Cancer Letters* 154:85-91, 2000.
8. Ozelik H, Mousses, Andrulis I. L. Low levels of expression of an inhibition of cyclindependent kinases(CIP1/WAF1) in primary breast carcinomas with p53 mutations. *Clin Cancer Res* 1:907-912, 1995.
9. Shin D. M, Lee J. S, Lippman S. M. p53 expression: predicting recurrence and second primary tumors in head and neck squamous cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 88:519-529, 1996.
10. van Oijen M. G. C. T, Tilanus M. G. J, Medema R. H, Slootweg, P. J. Expression of p21 (Waf1/Cip1) in head and neck cancer in relation to proliferation, differentiation, p53 status and cyclin D1 expression. *J Oral Pathol Med* 27:367-37, 1998.
11. Michieli P, Chetid M, Lin D, Pierce J. H, Mercer W. E, Givol D. Induction of WAF/cip1 by a p53-independent pathway. *Cancer* 54:3391-3395, 1995.
12. Datto M. B, Li Y, Panus J. F, Howe D. J, Xiong Y, Wang X. F. Transforming growth factor β induces the cyclin-dependent kinase inhibitor p21 through p53-independent mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA* 92:5545-5549, 1995.
13. Costa M. J, Hansen C. L, Walls J. E, Scudder S. A. Immunohistochemical markers of cell cycle control applied to ovarian and primary peritoneal surface epithelial neoplasm: p21WAF1/CIP1 predicts survival and good response to platinum-based chemotherapy. *Hum Pathol* 30:640-647, 1999.
14. Tatamoto Y, Osaki T, Yoneda K, Yamamoto T, Veta E, Kimura T. Expression of p53 and p21 proteins in oral and squamous cell carcinoma: Correlation with lymph node metastasis and response to chemotherapy. *Pathol Res Pract* 194:821-830, 1998.
15. Tahara E. Molecular biology of gastric cancer. *World J Surg* 19:484-490, 1995.
16. Staffan Jahnson, Mats G. Karisson. Tumor mapping of regional immunostaining for p21, p53, and mdm2 in locally advanced bladder carcinoma. *Cancer* 89:619-629, 2000.
17. Steven A. Ahrendt, Heather M. Brown, Richard A. Komorowski, Yong-ran Zhu, Stuart D. Wilson, Beth A. Erickson, Paul S. Ritch, Henry A. Pitt, Michael J. Demeure. p21waf1 expression is associated with improved survival after adjuvant chemoradiation for pancreatic cancer. *Surgery* 128:520-528, 2000.
18. Ceccarelli C, Santini D, Chielco P, Lanciotti C, Taffurelli M, Paladini G, Marrano D. Quantitative p21waf1/p53 immunohistochemical analysis defines groups of primary invasive breast carcinomas with different prognostic indicators. *Int J Cancer* 95:128-34, 2001.
19. Kumamoto Hiroyuki, Kimi Kenji, Ooya Kiyoshi. Detection of cell cycle-related factors in ameloblastomas. *J Oral Pathol Med* 30(5):309-315, 2001.
20. Chang Kuo-Wei, Lin Shu-Chun, Kwan Po-Cheung, Wong Yong-Kie. Association of aberrant p53 and p21waf1 immunoreactivity with the outcome of oral verrucous leukoplakia in Taiwan. *J Oral Pathol Med* 29, 56-62, 2000.
21. Sandra F, Mitsuyasu T, Nakamura N, Shiratsuchi Y, Ohishi M. Immunohistochemical evaluation of PCNA and Ki-67 in ameloblastoma. *Oral Oncology* 37:193-198, 2001.
22. Kumamoto Hiroyuki. Detection of apoptosis-related factors and apoptotic cells in ameloblastomas: analysis by immunohistochemistry and an in situ DNA nick end-labelling method. *J Oral Pathol Med* 26:419-442, 1997.

사진부도 ①

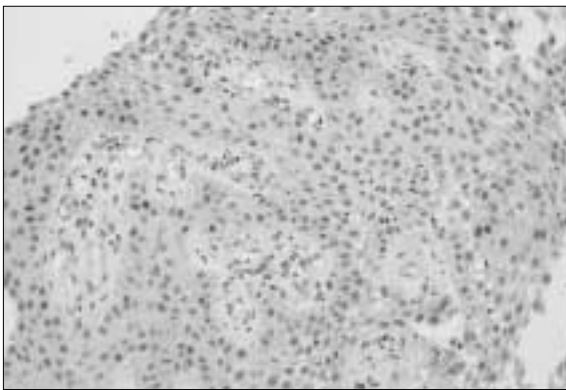


(A)

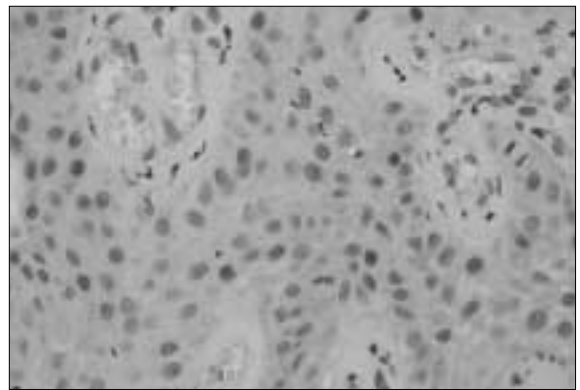


(B)

Fig. 1. Photography of p53 expression in ameloblastoma with $\times 200$ (A) and $\times 400$ (B). Intensive expressions of p53 were shown in tumor cells.

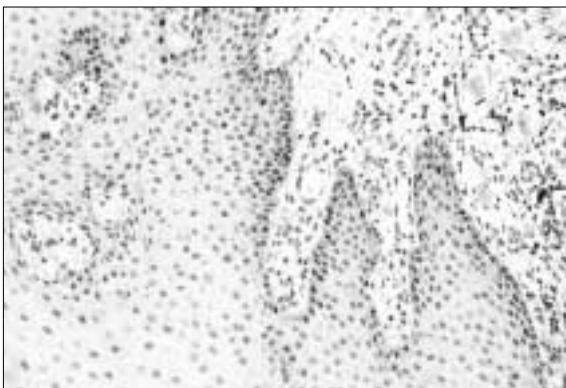


(A)

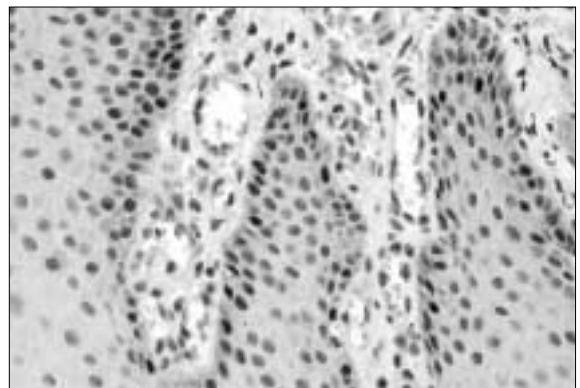


(B)

Fig. 2. Photography of p21 expression in ameloblastoma with $\times 200$ (A) and $\times 400$ (B). Intensive expressions of p21 were shown in tumor cells. But this were in only 9 cases.



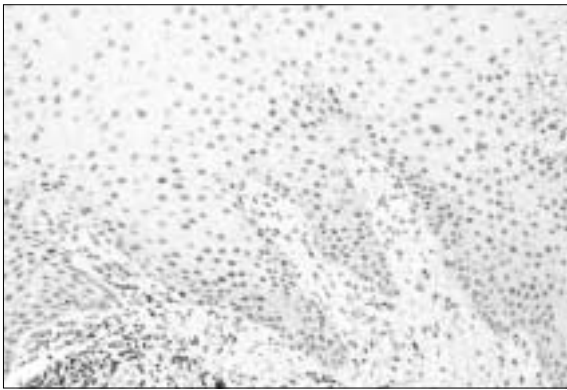
(A)



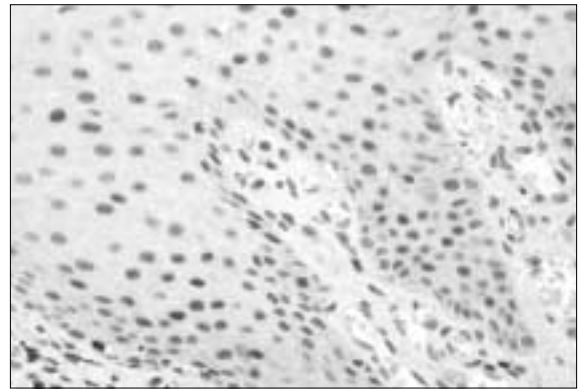
(B)

Fig. 3. Photography of p53 expression in normal gingiva with $\times 200$ (A) and $\times 400$ (B). p53 were expressed intensively in basal cell layer.

사진부도 ②

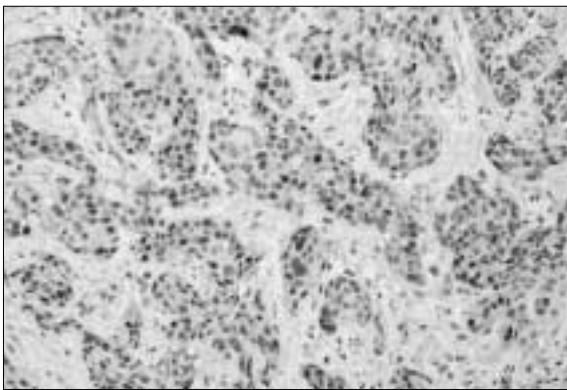


(A)

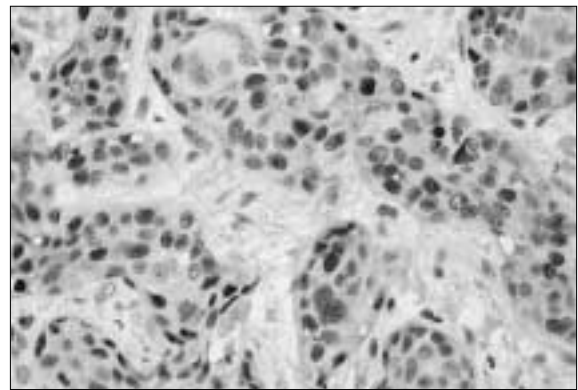


(B)

Fig. 4. Photography of p21 expression in normal gingiva with $\times 200$ (A) and $\times 400$ (B). p21 expressed above the basal cell layer. p21 were expressed intensively in supra basal cell layer. There were few p21 expressions in basal cell layer.

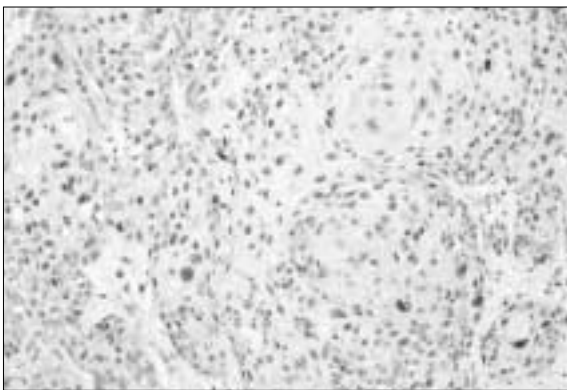


(A)

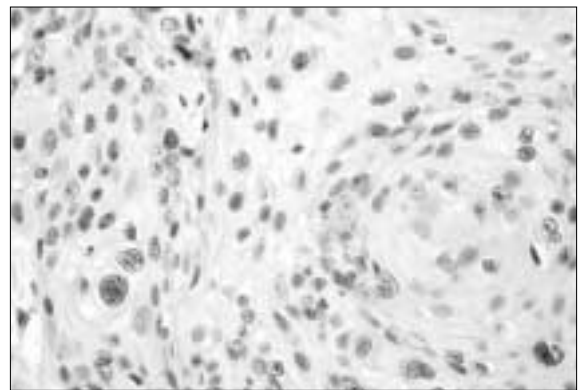


(B)

Fig. 5. Photography of p53 expression in squamous cell carcinoma with $\times 200$ (A) and $\times 400$ (B). Intensive expressions of p53 were shown in tumor cells.



(A)



(B)

Fig. 6. Photography of p21 expression in squamous cell carcinoma with $\times 200$ (A) and $\times 400$ (B). There were strong p21 expressions in tumor cells.