

비소세포 폐암에서 bcl-2의 발현률과 세포분열주기 및 예후에 미치는 영향†

원광대학교 의과대학 내과학교실

국 향, 고혁제, 구기선, 정은택

= Abstract =

Expression of bcl-2 in Non-small Cell Lung Cancer and its Effects on Cell Proliferation and Survival

Hiang Kuk, M.D., Hyeck Jae Koh, M.D., Ki Seon Gu, M.D. and Eun Taik Jeong, M.D.

Department of Internal Medicine, Wonkwang University College of Medicine, Iksan, Korea

Background : Tumor growth is the net result of intrinsic proliferation and escape from active cell death. bcl-2 is a member of a new category of oncogenes that is not involved in influencing cell proliferation but is involved in regulating cell death(apoptosis). Based on this information, it seems to be reasonable to expect that there may be clinical prognostic significance of bcl-2 expression in non-small cell lung cancer. But its prognostic significance is not established.

Methods : To investigate the role of bcl-2 in lung cancer, we performed immunohistochemical stain of bcl-2 on 57 biopsy specimens from resected primary non-small cell lung cancer. Thereafter, flow cytometric cell cycle analysis was done. And we analyzed the correlation between bcl-2 expression, clinical parameters, S-, G₁-phase fraction and survival.

Results : bcl-2 were detected in 43.8% of total 57 patients(according to histology, squamous cancer 47%, adenocarcinoma 32%, according to TNM stage, I 28.6%, II 52.3%, III 45.5%. both differences were insignificant). By using the flow cytometric analysis, mean S-phase fraction of bcl-2(+) and (-) group were 14.1 (±7.8)%, 24.7(±10.5)%(p<0.005), mean G₁-phase fraction of bcl-2(+) and bcl-2(-) group were 75.5(±10.8)%, 65.5(±11.4)%(p<0.05). 2yr, 3yr and 5yr survival and median survival time of bcl-2(+) group were 65%, 54%, 41%, 53 months, and those of bcl-2(-) group were 71%, 52%, 46%, 37 months. (p>0.05, Kaplan-Meier, log rank)

Conclusion : bcl-2 was detected in 43.8% of primary non-small cell lung cancer. The S-phase fraction of bcl-2(+) group was less than bcl-2(-) group, and G₁-phase fraction of bcl-2(+) group was more than bcl-2

† 본 연구는 원광대학교 97년도 교내 연구비 지원에 의해 이루어졌음.

(-) group. But, expression of bcl-2 could not be a prognostic factor. (Tuberculosis and Respiratory Diseases 1999, 46 : 36-43)

Key words : bcl-2, Lung cancer, Prognosis.

서 론

지금까지 폐암의 치료계획과 예후 판단에는 조직병리학적 소견, TNM의 해부학적 병기, performance status scale(PS scale)의 생리적 병기가 주로 채택되어 왔다¹⁾. 더욱 나아가 최근에는 종양세포의 생물학적 특성을 반영하는 여러 인자들을 사용하여 예후 추정에 이용하려는 시도가 이루어지고 있다. 암은 여러 과정의 신호전달체계를 거쳐서 이루어지는 단단계 발암과정에 의한다. 이러한 단계마다에 관여하는 인자들이 규명되어지고 있다. 이러한 발암과정에는 세포의 비정상적인 증식 뿐 아니라 계획 세포사멸(programmed cell death, apoptosis)가 관여하게 되며, apoptosis의 억제에 관여하는 유전자로서 p53과 bcl-2가 알려져 있다.

bcl-2는 B-cell lymphoma/leukemia-2 유전자의 약어로서, follicular lymphoma의 70%, diffuse B-cell lymphoma의 20%에서 발현되며, 염색체 14 ; 18 translocation에 의해 발생된다²⁾. 이 bcl-2는 apoptosis를 억제하여³⁾ 세포 수명을 연장시키면서, 연장된 세포의 생존기간 중 다른 암 유전자의 추가적인 영향을 받을 수 있는 기회를 증가시킴으로서 암을 유발하는 것으로 알려져 있다⁴⁾. bcl-2는 림프조직 외에 여러 상피조직에서도 발현되므로, 여러 종양에서도 발견이 가능하다. 이러한 bcl-2는 apoptosis 억제에도 불구하고, 임상적으로 bcl-2 양성인 경우에 그 기전은 아직 확실치 않으나 오히려 예후가 양호하다는 보고가⁵⁾ 주류를 이루고 있다.

이에 저자들은 비소세포 폐암에서 bcl-2의 발현률을 면역조직 화학법으로 확인하고, bcl-2의 발현과 폐암의 임상적 인자들 즉 조직 병리학적 소견, TNM 병기 및 유식세포분석법(flow cytometry)에 의한 세포 분열능의 반영인 S-주기, G₁-주기 비율과의 관계

를 다변량분석에 의해 확인하고 더욱 나아가 폐암 환자의 생존률과의 관계도 검색하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

대상군은 본 병원에서 원발성 비소세포 폐암으로 확진 후 치료목적의 외과적 절제술에 의해 채취되어 paraffin에 보관된 57례의 폐암 조직 절편을 사용하였다. 중간 연령은 62세였으며, 남녀비는 43 : 14 였고, 조직학적 분류는 편평상피암 34례, 선암이 19례, 대세포암이 4례였으며, TNM 병기에 따른 I 병기가 14례, II 병기가 21례, III 병기가 22례였다(Table 1, 2).

2. 방 법

대상 가검물은 paraffin에 보관된 조직을 4 μ m로 절

Table 1. bcl-2 expression of lung cancer by pathology

Pathology	-	+	Total
Squamous	18	16	34
Adeno	13	6	19
Large cell	1	3	4
Total	32	25	57

Table 2. bcl-2 expression of lung cancer by TNM stage

Stage	-	+	Total
I	10	4	14
II	10	11	21
III	12	10	22
Total	32	25	57



Fig. 1. Positive reaction to bcl-2 Ab stain.
(HE counterstain, 400X)

편한 후, histoclear 용액으로 paraffin을 제거한 다음, 100%, 95%, 75%, 50% ethanol에 연속적으로 처리하여 재수화시킨 후, 비특이적 peroxidase 작용을 차단기 위해 3% H_2O_2 로 처리한 후 증류수에 담긴 다음 PBS(phosphate buffered saline)으로 세척한 후, 비특이적 항체 결합을 막기 위해 non-immune goat serum(5%, pH 7.6)으로 20분간 처리한 후, bcl-2 일차 항체(Dako, 124)를 4℃에서 반응시켰다. 이후의 반응은 면역화학 염색법의 공통적인 것으로서, biotin이 결합된 2차 항체를 작용시키고, avidin이 결합된 peroxidase reagent를 반응시키면 biotin과 avidin이 결합되어 bcl-2에 peroxidase가 부착된다. 여기에 3-amino-9-ethylcarbazole과 반응하여 갈색반응을 일으키게 한 후 Hematoxylin-Eosin 염색으로 대조 염색시킨 후 bcl-2의 발현을 확인하였다(Fig. 1).

해당 병리조직의 세포분열주기의 측정을 위한 실험 방법은 다음과 같다. paraffin 보관 조직을 절편하여 paraffin 제거와 재수화시킨 후 0.5% pepsin 용액에 처리하여 단일세포 부유액을 만든다. 채취된 단일세포 부유액은 PBS(pH 7.2)로 세척한 후 세포수가 10^6 /ml 정도로 되게 조정된 후 propidium iodide (Sigma Co.)용액으로 DNA를 염색한 후 RNase를 이용하여 RNA를 제거하였다. Propidium iodide 용액에 의한 염색이 끝난 후 단일세포 부유액은 $40\mu m$

의 nylon망으로 거른 후 전체 세포수가 10^5 정도이면 시료로서 분석이 가능하였다. 사용된 유식세포분석기는 FACStar(Fluorescent Activated Cell Sorter, Becton Dickinson Immunocytometry System, USA)로서 488nm의 파장을 발산하는 Argon LASER를 갖추고 있다. DNA 양을 측정하기 위해 사용되는 DNA 염색물질인 propidium iodide는 488nm의 파장에서 610nm의 파장으로 작동되는 형광물질로서, 형광의 발하는 강도에 따라 DNA 양을 측정할 수 있다. 시료의 신뢰도를 위해서 CV(Coefficient of Variation)가 8 이하인 경우만을 채택하였으며, FACStar에 내장되어진 Becton Dickinson Immunocytometry System에 의한 Consort 30 program을 이용하여 세포분열주기의 histogram을 얻은 후 S-주기비율과 G_1 -주기비율을 계산해 내었다.

폐암의 병리조직형과 TNM 병기에 따른 bcl-2 발현률의 비교는 Chi-square로 하였으며, bcl-2 발현 여부에 따른 세포분열주기비율의 비교는 Student t test로 하였고, 생존률과 중간생존기간은 Kaplan-Meier로서 구하였으며, 각 군간의 생존률 비교는 log-rank로 비교하였다.

결 과

1. 병리조직형에 따른 bcl-2의 발현률

총 57례 중 43.8%(25례)에서 발현되었으며, 조직 병리학적 분류에 따른 발현률은 편평상피암 47%(16/34), 선암 32%(6/19), 대세포암 75%(3/4)였으나, 각 군간의 유의한 차이는 없었다(Table 1).

2. TNM 병기에 따른 생존률 및 bcl-2의 발현률

종양의 진행정도를 반영하는 수술후 TNM 병기에 따라 2년 생존률 및 중간 생존기간은 I 병기(14례)가 84%, 62개월, II 병기(21례)가 65%, 43개월, III 병기(22례)가 39%, 21개월로서 각 병기별로 유

Table 3. S-phase and G₁-phase fraction according to bcl-2 expression

	bcl-2(-)	bcl-2(+)
S-phase(%)	24.7(±10.5)	14.1(±7.8)*
G ₁ -phase(%)	65.5(±11.4)	75.5(±10.8)**
(mean±S.D.) *p<0.005, **p<0.05		

Table 4. Survival rate of lung cancer according to bcl-2 expression

	bcl-2(-)	bcl-2(+)
2 yr survival	71%	65%
3 yr	52%	54%
5 yr	46%	41%
Median survival time	37 months	53 months
(Kaplan-Meier, Log-rank) p>0.05		

의한 차이를 보였다 ($p<0.05$, Kaplan-Meier, log-rank). 그리고 각 병기에 따른 bcl-2의 발현률은 I 병기가 28.6%(4/14), II 병기가 52.3%(11/21), III 병기가 45.5%(10/22)로서, 각 병기에 따른 bcl-2 발현률의 차이는 없었다(Table 2).

3. bcl-2 발현에 따른 세포분열능의 비교

세포의 분열능을 반영하는 S-주기비율은 bcl-2 발현군이 14.1(±7.8)%, 비발현군이 24.7(±10.5)%였으며($p<0.005$), 세포의 정체성을 반영하는 G₁-주기비율은 bcl-2 발현군이 75.5(±10.8)%, 비발현군이 65.5(±11.4)%($p<0.05$)로서, bcl-2 발현군이 비발현군보다 유의하게 세포분열능이 저하되었음을 확인하였다(Table 3).

4. bcl-2 발현에 따른 생존률의 비교

TNM 각 병기별, 그리고 각 병리조직별로 bcl-2 발현군과 비발현군별로 나누어 생존률을 비교하였으나 각각의 대상례가 적어서 유의성은 없었다. 그리고, 전

대상군에 있어서 2년, 3년, 5년 생존률과 중간 생존기간은 bcl-2 발현군이 65%, 54%, 41%, 53개월, bcl-2 비발현군이 71%, 52%, 46%, 37개월로서 bcl-2 발현군의 생존률이 bcl-2 비발현군보다 중간 생존기간이 연장되었으나, 통계적 유의성에 이르지 못하였다($p>0.05$, Kaplan-Meier, log rank) Table 4).

고 찰

bcl-2는 Tsujimoto²⁾에 의해 B-cell lymphoma/leukemia에서 처음 발견된 26-KD의 단백질로서, 염색체 14;18 translocation에 의해 발생되며 림프조직 외에 여러 상피세포에서도 발견이 되었다. 피부, 장관 등의 상피세포에서는 주로 기저세포(basal cell)에서 발현되며, 표피세포나 분화가 잘된 세포에서는 발현이 되지 않는다³⁾. 그리고 표피세포에서 bcl-2가 발현되었을 때는 세포의 변화, 즉 세포의 이형(dysplasia, metaplasia)에 이어 암화과정을 밟고 있음을 시사해 주므로 암유전자로 인정되었다⁴⁾.

암유전자로서의 bcl-2의 기능은 apoptosis의 억제로 밝혀졌다³⁾. 즉 일반적인 암유전자가 세포의 증식에 관여하는 것에 비하여 bcl-2는 세포사망의 억제에 의해 암 유발에 관여하며, 실제 bcl-2를 전이시킨 암 세포주에서 세포의 분열능은 변하지 않으면서 세포의 사망이 억제됨을 확인하였다⁴⁾. 그리고 일반적인 암유전자는 세포의 분열을 촉진시키는데 비하여, bcl-2가 발현되는 종양세포는 bcl-2가 발현되지 않는 종양세포에 비하여 세포의 분열은 오히려 높지 않다⁶⁾. 즉 결과적으로 bcl-2는 세포사망을 억제시키는 유일한 암유전자이다⁴⁾. 이러한 bcl-2는 follicular lymphoma, diffuse B-cell lymphoma에서는 염색체 14;18 translocation에 의해서 즉 세포유전학적 변화에 의해서 발생하나⁷⁾, 폐암 등에서는 이러한 염색체의 변화 없이도 외부의 여러 자극에 의해서 m-RNA translation 단계의 변화에 의해 발암과정을 밟게 한다⁸⁾.

bcl-2는 여러 혈액 및 고형암에서 발현이 가능하

다. 비소세포 폐암에서의 발현률을 알아보면, Pezzella 등은 비소세포 폐암 전체에서 20%의 발현을 보고하였고⁵⁾, 그 외에 19.2%⁹⁾, 19.8%¹⁰⁾의 보고가 있었다. 저자들의 경우에는 43.8%로서(Table 1) 외국의 보고들에 비해 높게 나왔는데, 이는 bcl-2의 면역조직화학 염색상 cut-off value를 설정치 않았기 때문인 것으로 판단된다. 그리고 병리조직 소견별로의 bcl-2의 발현률은 Pezzella의 경우 편평상피암 25%, 선암 12%였으며⁵⁾, 그리고 Yoshinobu 등⁹⁾은 편평상피암 30.4%, 선암 8.9%라고 보고하였다. 모두 편평상피암에서 bcl-2의 발현률이 높았다. 저자들의 경우에도 편평상피암 47%, 선암 32%로서 비슷한 양상이었으나, 통계적 유의성에 이르지 못하는 못하였다(Table 1).

bcl-2는 정상 상피세포 중 분화가 잘된 세포에서는 발현이 되지 않으며⁶⁾, 종양세포에서도 분화가 잘 될수록, 진행이 될수록 발현이 낮다. 대장 종양의 경우에도 선종인 경우에는 12/13에서 발현되나 대장암인 경우에는 6/21에 불과하다¹¹⁾. 그리고 유방암의 경우에도 TNM 병기가 진행될수록 bcl-2는 유의하게 발현이 감소되었다¹²⁾. Yoshinobu 등⁹⁾은 비소세포 폐암에서 I, II 병기일 경우 30.4%, III, IV 병기일 경우 9.4%로서 초기 병기일수록 bcl-2의 발현이 높다고 하였으며 Higashiyama¹⁰⁾ 역시, TNM 병기가 진행될수록 bcl-2의 발현은 낮다고 하였다. 그러나, Pezzella 등은 TNM 병기에 따른 bcl-2의 발현률의 차이는 없었다 하였다⁵⁾. 저자들의 경우에도 I 병기 28.6%, II 병기 52.3%, III 병기 45.5%로서 TNM 병기에 따른 bcl-2의 발현률의 차이는 없었다(Table 2).

bcl-2는 apoptosis를 억제하여 종양세포의 수명을 연장시키고, 세포의 연장된 생존기간 중 다른 암유전자의 추가적인 발암 영향을 받을 수 있는 기회를 증가 시킴으로서 암유전자의 기능을 나타내는 것으로 알려져 있다⁴⁾. 따라서 bcl-2가 과발현되는 종양일수록 예후가 나쁠것으로 예상되지만 실제로는 이와 반대로 좋은 예후를 보이게 된다. 이는 bcl-2가 과발현되면,

apoptosis가 억제되고 종양세포의 수명이 길어져서 이차적인 유전자 결손이 생길 위험은 높아지지만, 이와 동시에 유사분열의 속도도 낮아져 종양 진행과정이 느려지기 때문에 bcl-2의 암유전자적 효과를 상쇄시키기도 종양 진행이 억제되므로 임상 경과가 좋을 것으로 설명된다⁵⁾. 실제 bcl-2가 발현되는 종양세포는 유사분열이 낮아 있으며^{13,14)} bcl-2에 의해 종양형성이 이루어지고, apoptosis도 억제되더라도 유사분열이 낮으므로 전반적인 종양의 진행은 저해된다. 즉 초기에는 oncogene의 기능이 우세하나, 곧 이어 유사분열의 억제에 의한 성장의 저하가 초래된다⁴⁾. bcl-2가 유사분열을 억제시키는지, 유사분열이 낮은 곳에서 bcl-2가 발현되는지의 여부는 확실치 않다. Mazel 등¹⁵⁾은 bcl-2 발현의 종양세포들에서 세포분열주기 중 세포의 정체성을 반영하는 G₁-주기비율이 비발현군보다 30-60% 증가하여 G₁->S arrest 기능이 있음을 확인하였다. 그리고 Linette 등¹⁶⁾은 bcl-2가 결핍된 B-cell에서 역시 G₁->S arrest를 확인하였다. 그리고 저자들의 경우에는 세포분열의 정체성을 반영하는 G₁-주기비율은 bcl-2 발현군과 비발현군에서 각각 75.5(±10.8)%, 65.5(±11.4)%로서, bcl-2 발현군의 세포분열이 비발현군보다 유의하게 저하되었으며(p<0.05), 세포의 분열능을 반영하는 S-주기 비율은 bcl-2 발현군과 비발현군에서 각각 14.1(±7.8)%, 24.7(±10.5)%로서 bcl-2 발현군이 비발현군보다 유의하게 세포분열이 억제됨을 확인하였다(p<0.005)(Table 3).

bcl-2와 예후와의 관계를 설명하고자 하는 보고도 여럿 있었다. Pezzella 등⁵⁾은 비소세포 폐암 전체에서 bcl-2 발현군과 비발현군의 5년 생존률이 각각 68%, 44%로서 통계적 유의성에 이르지 못하는 못하였으나(p<0.1), 편평상피암군에서는 bcl-2 발현군과 비발현군의 5년 생존률이 78%, 48%로서 유의하게 bcl-2 발현군의 생존률이 양호함을 확인하였고(p<0.05), 60세 이상인 환자군에서도 5년 생존률이 100%, 45%로서 유의하게 bcl-2 발현군의 예후가 양호함을 확인하였다. 그리고 Higashiyama 등¹⁰⁾도 비소

세포 폐암에서 bcl-2 발현군의 생존률이 양호하며 특히 재발률이 매우 낮다고 하였으며, Pastorino 등¹⁷⁾은 TNM I 병기인 환자들만을 대상으로 한 결과 역시 bcl-2 발현군의 예후가 양호하다 하였다. 그러나 Ritter 등¹⁸⁾은 TNM 병기 T1N0M0 단일군에서 bcl-2의 발현 여부는 예후와 관계없었다고 하였다. 저자들의 경우에는 bcl-2 발현군과 비발현군에서의 2년 생존률은 65%, 71%, 3년 생존률은 54%, 52%, 5년 생존률은 41%, 46%였으며, 중간 생존기간은 53개월, 37개월이었으나 통계적 유의성에 이르지 못하였다(Table 4).

이상에서와 같이 비소세포 폐암에서의 bcl-2의 임상적 예후와의 관계를 살펴 보았으나, 암은 여러 인자들의 복합적 작용(multistep carcinogenesis)의 결과이므로 bcl-2 단독의 기능은 확인하였을 망정, bcl-2 하나만으로 발암과정을 설명하기는 어렵다. 예를 들면, apoptosis에 관여하는 유전자에는 크게 bcl-family와 p53이 있다. p53은 apoptosis를 촉진시키며, bcl-family 중 bcl-2와 bcl-XL(long segment)는 apoptosis를 억제시키며 bax와 bcl-XS(short segment)는 bcl-2와 반대작용을 한다¹⁹⁾. 그래서 bcl-2와 bax의 균형에 의해서 정상 apoptosis의 기능이 유지되며 bcl-2와 bax의 균형이 무너질때 정상적인 apoptosis의 기능이 소실케 된다²⁰⁾. 그리고 mutant p53과 bcl-2는 apoptosis를 억제시킴에도 불구하고, 비소세포 폐암에서 서로 역비례의 관계로 발현되었다. 즉 mutant p53의 발현이 높으면 bcl-2의 발현이 낮고, mutant p53의 발현이 낮으면 bcl-2의 발현이 높게 나왔다²¹⁻²²⁾. 이렇듯, bcl-family 내의 균형 뿐 아니라, apoptosis에 관여하는 p53과의 관계 정립도 필요하며 더 나아가 다른 ras, myc 등의 암유전자와의 관계 설정도 아직 확립되지 않았다.

bcl-2의 예후에 미치는 영향과 기전은 더욱 연구되어야 하며 특히 bcl-family, apoptosis 관련인자, 그리고 다른 암유전자와의 관계도 더욱 연구되어야 한다.

요 약

연구배경 :

bcl-2는 apoptosis를 억제하여 세포 수명을 연장시켜 종양세포의 생존기간 중 다른 암유전자의 추가적인 영향을 받을 수 있는 기회를 증가시켜 암을 유발하는 암 유전자이다. 이러한 bcl-2는 apoptosis 억제에도 불구하고, 임상적으로 bcl-2 양성인 경우에 그 기전은 아직 확실치 않으나 오히려 예후가 양호하다는 보고가 있다. 이에 저자들은 비소세포 폐암에서 bcl-2의 발현률을 계측하고, 세포분열주기와 비교한 후 생존률과의 관계를 검색하였다.

방 법 :

원발성 비소세포 폐암으로 확진받고, 외과적 절제술 후 paraffin에 보관된 57례의 병리조직에서 면역조직화학 염색법으로 bcl-2의 발현을 확인하고, bcl-2와 병리조직형, TNM 병기, 유식세포분석법에 의한 세포주기비율(S-and G₁-phase fraction) 그리고 생존기간과의 관계를 분석하였다.

결 과 :

57례 중 남녀비는 43 : 14였고, 조직학적 분류는 편평상피암 34례, 선암 19례, 대세포암 4례였으며, TNM I 병기 14례, II 병기 21례, III 병기 22례였다. bcl-2는 43.8%(25/57)에서 발현되었으며 편평상피암 47%(16/34), 선암 32%(6/19)였으나, 유의한 차이는 없었고, TNM I 병기 28.6%(4/14), II 병기 52.3%(11/21), III 병기 45.5%(10/22)로서 역시 유의한 차이는 없었다. bcl-2 발현군과 비발현군에서의 G₁-주기비율은 75.5(±10.8)%, 65.5(±11.4)%로서 유의한 차이가 있었으며(p<0.05), S-주기비율은 14.1(±7.8)%, 24.7(±10.5)%로서 역시 유의하게 bcl-2 발현군의 세포분열능이 저하되어 있었다(p<0.005). bcl-2 발현군과 비발현군에서의 2년 생존률은 65%, 71%, 3년 생존률은 54%, 52%, 5년 생존률은 41%, 46% 그리고 중간 생존기간은 53개월, 37개월이었으나 통계적 유의성

에 이르지지는 못하였다. ($p > 0.05$, Kaplan-Meier, log rank)

결 론 :

비소세포 폐암에서 bcl-2는 43.8%에서 발현되었으며, 병리조직형, TNM 병기에 따른 발현률의 차이는 없었다. bcl-2 발현군은 비발현군에 비하여 S-주기비율은 유의하게 감소하고, G₁-주기비율은 유의하게 증가되었다. bcl-2 발현군의 중간 생존기간은 53개월로서 비발현군의 37개월보다 연장되었으나 통계적 유의성에 이르지지는 못하였다.

참 고 문 헌

1. Minna JD, Ginsberg RJ, Ihde DC : Chapter 30, Cancer of lung, In DeVita VD (Ed.) Cancer, 5th Ed., p849, Philadelphia, JB Lippincott 1997
2. Tsujimoto Y, Croce CM : Analysis of the structure, transcripts and protein products of bcl-2, the gene involved in human follicular lymphoma. Proc Natl Acad Sci USA 83 : 5214, 1986
3. Hockenbery D, Nunez G, Milliman C, Schreiber RD, Korsmeyer SJ : Bcl-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death. Nature 348 : 334, 1990
4. Korsmeyer SJ : Bcl-2 initiates a new category of oncogenes: regulators of cell death. Blood 80 : 879, 1992
5. Pezzella F, Turley H, Kuzu I, Tunekar MF, Dunnill MS, Pierce CB, Harris A, Gatter KC, Mason DY : bcl-2 protein in non-small cell lung carcinoma. N Engl J Med. 329 : 690, 1993
6. Hockenbery D, Zutter M, Hickey W, Nahm M, Korsmeyer SJ : Bcl-2 protein is topographically restricted in tissues characterized by apoptotic cell death. Proc Natl Acad Sci USA 88 : 6961, 1991
7. Pezzella F, Gatter KC, Mason DY : Bcl-2 protein expression in follicular lymphomas in absence of 14 ; 18 translocation. Lancet 336 : 1510, 1990
8. Reed JC, Tsujimoto Y, Alpers JD, Croce CM, Nowell PC : Regulation of bcl-2 proto-oncogene expression during normal human lymphocyte proliferation. Science 236 : 1295, 1987
9. Yoshinobu O, Eri T, Satoru F, Hideo M, Satoshi H, Naoyuki M, Yoshihiko K, Kenjiro K : bcl-2 and p53 protein expression in non-small cell lung cancers : correlation with survival time. Clin Cancer Res. 2 : 915, 1996
10. Higashiyama M, Doi O, Kodama K, Yokouchi H, Nakamori S, Tateishi R : bcl-2 oncoprotein in surgically resected non-small cell lung cancer : possibly favorable prognostic factor in association with low incidence of distant metastasis. J Surg Oncol. 64 : 48, 1997
11. Hague A, Moorghen M, Hicks D, Chapman M, Paraskeva C : bcl-2 expression in human colorectal adenomas and carcinomas. Oncogene 9 : 3367, 1994
12. Leek R, Kaklamanis L, Pezzella F, Gatter K, Harris A : bcl-2 in normal human breast and carcinoma, associated with estrogen receptor-positive, epidermal growth factor receptor-negative tumours and *in situ* cancer. Br J Cancer 69 : 135, 1994
13. McDonnell TJ, Deane N, Platt FM : bcl-2 Immunoglobulin transgenic mice demonstrate extended B cell survival and follicular lymphoproliferation. Cell 57 : 79, 1989
14. Vaux DL, Cory S, Adams JM : Bcl-2 gene promotes haemopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre-B cells. Nature 335 : 440, 1988
15. Mazel S, Burtrum D, Petrie HT : Regulation of cell division cycle progression by bcl-2 expression : a potential mechanism for inhibition of pro-

- grammed cell death. *J Exp Med.* 183 : 2219, 1996
16. Linette GP, Li Y, Roth K, Korsmeyer SJ : Cross talk between cell death and cell cycle progression : Bcl-2 regulates NFAT-mediated activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 93 : 9545, 1996
17. Pastorino U, Andreola S, Tagliabue E, Pezzella F, Incarbone M, Sozzi G, Buyse M, Menard S, Pierotti M, Rilke F : Immunocytochemical markers in stage I lung cancer : relevance to prognosis. *J Clin Oncol.* 15 : 2858, 1997
18. Ritter JH, Dresler CM, Wick MR : Expression of bcl-2 protein in stage T1N0M0 non-small cell lung carcinoma. *Hum Pathol.* 26 : 1227, 1995
19. Boise LH, Gonzalez-Garcia M, Poatema CE, Ding L, Lindsten T, Turka LA, Mao X, Nunez G, Thompson CB : bcl-x, a bcl-2-related gene that functions as a dominant regulator of apoptotic cell death. *Cell* 74 : 597, 1993
20. Oltvai Z, Millman CL, Korsmeyer SJ : bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homology, Bax, that accelerates programmed cell death. *Cell* 74 : 609, 1993
21. Kitagawa Y, Wong F, Lo P, Elliott M, Verburgt LM, Hogg JC, Daya M : Overexpression of bcl-2 and mutations in p53 and K-ras in resected human non-small cell lung cancers. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 15 : 45, 1996
22. Fontanini G, Vignati S, Bigini D, Mussi A, Lucchi M, Angeletti CA, Basolo F, Bevilacqua G : Bcl-2 protein : a prognostic factor inversely correlated to p53 in non-small cell lung cancer. *Br J Cancer* 71 : 1003, 1995
-