

전립선암종에서 Apoptosis와 Gleason Score와의 관계

이화여자대학교 의과대학 병리학교실

윤희수 · 김호정 · 구혜수 · 김옥경 · 김성숙

Correlation Between the Frequency of Apoptotic Bodies and Gleason Scores in Prostatic Cancer

Heesoo Yoon, M.D., Hojung Kim, M.D., Heasoo Koo, M.D.
Ok-Kyung Kim, M.D. and Sung Sook Kim, M.D.

Department of Pathology, School of Medicine, Ewha Woman University

Apoptosis (or programmed cell death) is defined by morphologic changes induced by a spectrum of physical and chemical agents, resulting in non-pathologic cell loss, which is relevant to a range of biological processes, including differentiation, development, maturation, and injury of cells as well as immunologic function.

In this study, we examined the frequency of apoptotic bodies and mitoses (apoptotic and mitotic indices) in the tissue samples of 35 patients of prostatic carcinoma, which were grouped according to the Gleason scores, and 5 cases of benign prostatic hyperplasia. The indices were determined as the numbers of apoptotic and mitotic bodies per 100 tumor cells in hematoxylin eosin stained section. The apoptotic bodies were confirmed by the in situ nick end labelling method. The apoptotic and mitotic indices were observed more frequently in prostatic carcinoma than the benign hyperplastic prostatic tissues with a positive correlation between the frequency of apoptotic bodies and Gleason scores in prostatic cancer.

In conclusion, an increased programmed cell death was correlated with the increasing malignant potential (higher Gleason scores) in prostatic cancer. (*Korean J Pathol* 1997; 31: 462~469)

Key Words: Apoptosis, Gleason score, Prostatic cancer

서 론

최근 전립선암은 인구 통계학상, 노인 인구가 늘어감에 따라 증가하고 있다. 과거에는 극히 일부의

경우만이 임상 증세를 나타내어 부검에서 주로 발견되었으나 요즘에는 초기 병변까지도 조기 진단이 가능하여 이병률이 점차 증가 추세에 있다. 또한 비교적 서구에 비해 발병률이 낮았던 우리 나라에서도 증가하는 추세에 있어¹ 조기 치료와 예후 판단이 새로운 문제로 대두되고 있다. 1974년에 중앙 조직의 성장 양상에 따른 다섯 단계의 grading system이 Gleason에 의해 제시되어 전립선암의 진행과 예후 판단에 좋은 지침이 되고 있으나², 불현성 암과 진

접 수: 1996년 11월 11일, 게재승인: 1997년 3월 14일
주 소: 서울시 양천구 목 6 동, 우편번호 156-058
이화여자대학교 의과대학 병리학교실, 김성숙

행성 암을 구분할 수 있는 형태학적인 지표의 제시가 여전히 문제점으로 남아 있다. 한편 Gleason score란 전립선암종에서 이와 같은 Gleason grade를 응용하여 가장 많이 관찰되는 두 grade의 합으로 정의되고 이것이 예후 및 치료 경과 등의 임상적 관찰에 중요한 정보가 되고 있다. 그러나 역시 grade에서 같이 문제점이 그대로 존재한다. 따라서 좀 더 개선되거나 보완할 수 있는 지표가 시급한 실정이다.

한편 아포프토시스란 예정된 세포사으로써, 정상과 종양 모두에서 일어날 수 있는 것으로^{3,4}, 세포의 유사 분열과 함께 조직의 평형 상태를 유지하는데 중요한 역할을 하며, 세포간 입자간^{5,6}, 그리고 세포사를 초래하는 경우들에서 일정한 관계를 요구하는 자연 발생하는 적극적인 과정이다. 특히 최근에는 항암제의 치료 기전뿐 아니라 종양의 발생 기전 및 전파 등의 기전에도 관여하는 과정으로 밝혀지고 있다. 이전부터 The mouse prostate Reconstitution(MPR) model system을 사용한 연구에서 아포프토시스와, 전립선암의 악성도와 증식 정도와의 상관관계가 논의되어 온 바 있다⁷. 그러나 최근에는 이에 대한 연구가 적고 확실하게 정립된 바가 없다. 따라서, 본 연구에서는 아포프토체(apoptotic body)의 빈도와 Gleason score의 정도간의 상관 관계를 살펴봄으로써 아포프토시스가 전립선암의 예후를 측정하는 형태학적인 지표의 가능성에 대해 밝혀 보고자 한다.

연구 재료 및 방법

1. 연구 재료

1992년부터 1996년 사이에 이화여자대학교 동대문 병원 해부병리과에 기록된 전립선암 35예와 전립선 비대증 환자 5예를 선별하였다. 전립선암 환자들의 나이는 21세에서 87세로, 평균 나이는 70.9세이었으며, Gleason score별로 분류하면 Gleason score 2가 3예, score 3이 5예, score 4가 3예, score 5가 5예, score 6이 3예, score 7이 5예, score 8이 5예, score 9가 5예, score 10이 1예이었다. 이들의 임상적 등급은 T2이었으며 모두 경요도절제술로 치료받았다. 대조군으로 선별된 5예의 양성 전립선 비대증 환자들의 나이는 63세에서 76세로, 평균 나이는 68.4세이었으며 이들도 모두 경요도절제술로 치료받았다.

2. 연구 방법

1) **통상적 방법에 의한 Gleason score 결정 및 유사분열수와 아포프토체수 측정:** 각 조직은 경요도절제술에 의해 얻어졌으며, 10% buffered formalin에 고정된 후 파라핀에 포매시킨 다음, 4 μ m 간격으로 잘라 hematoxylin eosin 염색을 하였다. 각 예들은 Gleason grade의 전 등급을 적용하여 계산한 Gleason score를 내었으며, 매 슬라이드마다 400 배율 하에서 종양 세포 100개 당 아포프토시스와 유사분열의 수를, 저배율하에서 관찰하여 가장 활발하게 나타나는 각기 다른 다섯 군데에서 주로 세었다. 이 때 아포프토체는 염색체와 세포질의 현저한 농축과 세포질 내에 농축된 염색체 조각들을 가진 세포들으로써 이러한 특징을 지닌 것들만 고려하였다⁸. 낮은 Gleason grade의 전립선암은 세포 간질이 적은 부분을 선별하였으며, 작은 아포프토체들의 군집은 하나로 간주하였고, 내강 내에 있거나 양염성(amphophilic)의 조각들을 포함하는 파편들은 모두 제외하였으며^{5,6}, 현저한 림프구들의 침윤이 있거나 괴사가 일어난 곳들도 제외하였다. 세포의 유사분열수도 이와 유사한 방법으로 산정 하였다.

2) **In situ nick end labelling method for apoptosis:** 아포프토시스를 확인하기 위해서 시행한 nick end labelling 방법은 sialic acid가 처리된 유리 슬라이드에 파라핀에 포매된 조직으로부터 5 μ m 절편을 붙인 후 58°C에서 24시간 고정하였다. 슬라이드를 xylene과 에탄올을 이용하여 탈파라핀과 합수를 시킨 후 prostate-buffered saline에 10분간 두었다. 그 후 proteinase K와 반응시키고 Apoptag kit(Oncor, USA)를 사용하여 염색하였다. 즉 Tdt(terminal deoxynucleotidyl transferase)효소와 반응시켜 digoxigenin이 표지된 뉴클레오티드를 결합시킨 후 효소 반응을 중단시키고 anti-digoxigenin-peroxidase를 반응시키고 DAB(3,3-diaminobenzidine)로 발색시켰다. 아포프토시스의 발현 빈도는 광학대에서 관찰되는 갈색으로 염색되는 양성 세포수를 관찰하여 통상의 방법에서 관찰된 아포프토체를 확인하였다. 이 방법은 비교적 최근에 진단된 전립선암 10예만 선택적으로 시행하였다.

3. 통계 처리

통계 처리는 SAS program을 사용하였는데 양성 전립선 비대증과 전립선암종과의 비교는 student t test를, 전립선암에서의 연속되는 두 변수에 대한 비교는 Pearson상관 계수를 이용하여 처리하였다. P값

Table 1. Mean number of apoptotic bodies and mitoses in each gleason score in prostatic carcinoma tissue.

Diagnosis	Gleason score(No.)	M** of apoptotic bodies(range)	M** of mitoses(range)
BPH***	— (5)	2.44 ± 1.55(1.0 ~ 5.0)	0.36 ± 0.50(0.2 ~ 1.2)
Prostatic cancer	2 (3)	2.13 ± 0.23(2.0 ~ 2.4)	0.20 ± 0.20(0 ~ 0.4)
	3 (5)	2.92 ± 0.46(2.2 ~ 3.4)	0.84 ± 0.26(0.6 ~ 1.2)
	4 (3)	3.20 ± 0.72(2.6 ~ 4.0)	0.87 ± 0.12(0.8 ~ 1.0)
	5 (5)	4.28 ± 2.17(1.6 ~ 7.0)	0.96 ± 0.62(0.4 ~ 1.0)
	6 (3)	4.73 ± 0.42(4.4 ~ 5.2)	0.93 ± 0.12(0.8 ~ 1.0)
	7 (5)	4.44 ± 1.48(3.2 ~ 7.0)	0.88 ± 0.23(0.6 ~ 1.2)
	8 (5)	4.96 ± 0.62(4.4 ~ 6.0)	0.86 ± 0.09(0.8 ~ 1.0)
	9 (5)	5.84 ± 0.38(5.2 ~ 6.2)	1.32 ± 0.61(0.6 ~ 2.2)
	10 (1)	8.0	1.60
Total (No*.)	(40)		

No.*: Number of cases (P<0.05)

M**: mean number ± SD

BPH***: benign prostatic hyperplasia

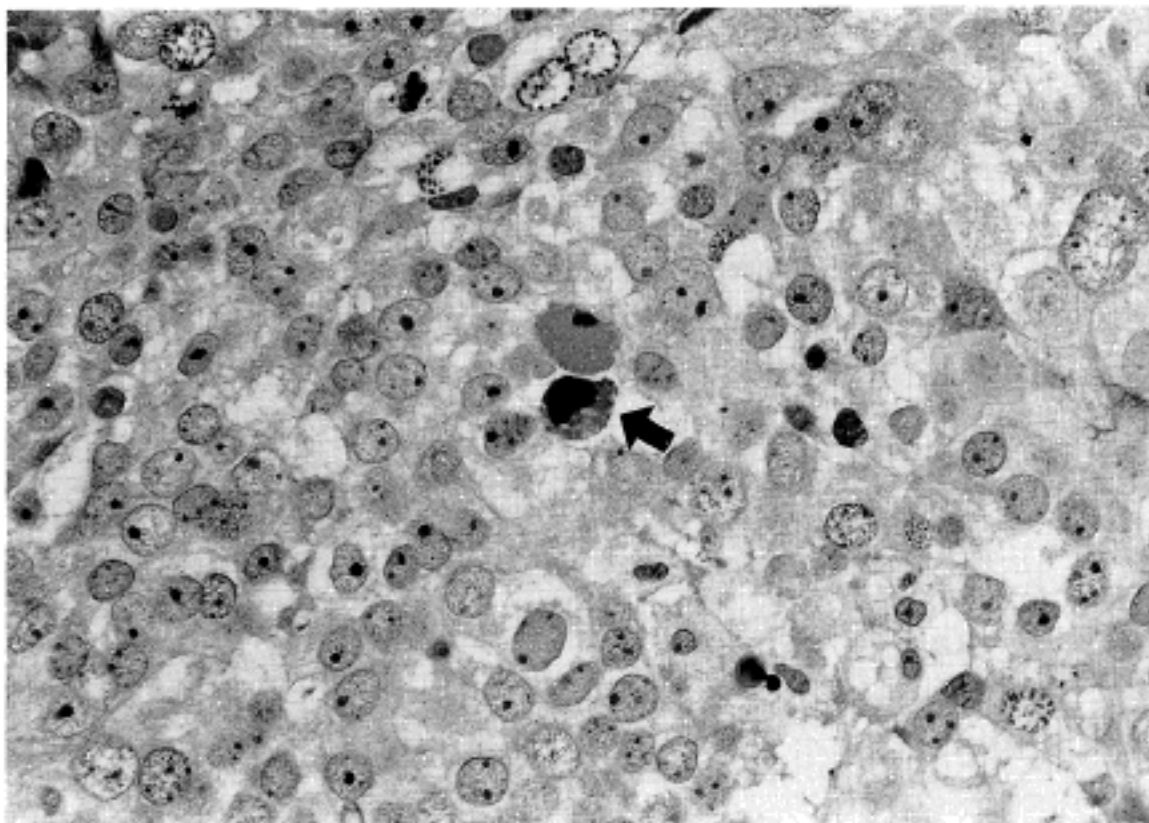


Fig. 1. A single round homogeneous, strongly basophilic mass with condensed, homogeneous, strongly eosinophilic cytoplasm, representing chromatin condensation.

이 0.05 이하인 경우를 유의하다고 판정하였다.

결 과

경요도전제술로부터 얻은 전립선암 환자와 양성 전립선 비대증 환자의 조직 표본 슬라이드를 살펴 본 결과, 환자 별 나이, Gleason grade, 세포 100개당 아포프토체수, 세포의 유사분열수는 다음과 같다

(Table 1). 유사분열이나 아포프토체는 가장 활발하게 관찰되는 부위를 5곳 선정하여 400배 시야에서 100개의 세포를 세면서 관찰되는 개수를 세어 평균하였다. 유사분열과 아포프토체 모두 Gleason score가 올라갈수록 많이 관찰되었다.

Hematoxylin eosin 염색 상에서 아포프토체는 다음과 같은 특징이 명확한 것만 선별하였다. ① 염색질이 농축된 것으로 보이는 하나의 강한 호염기성 물

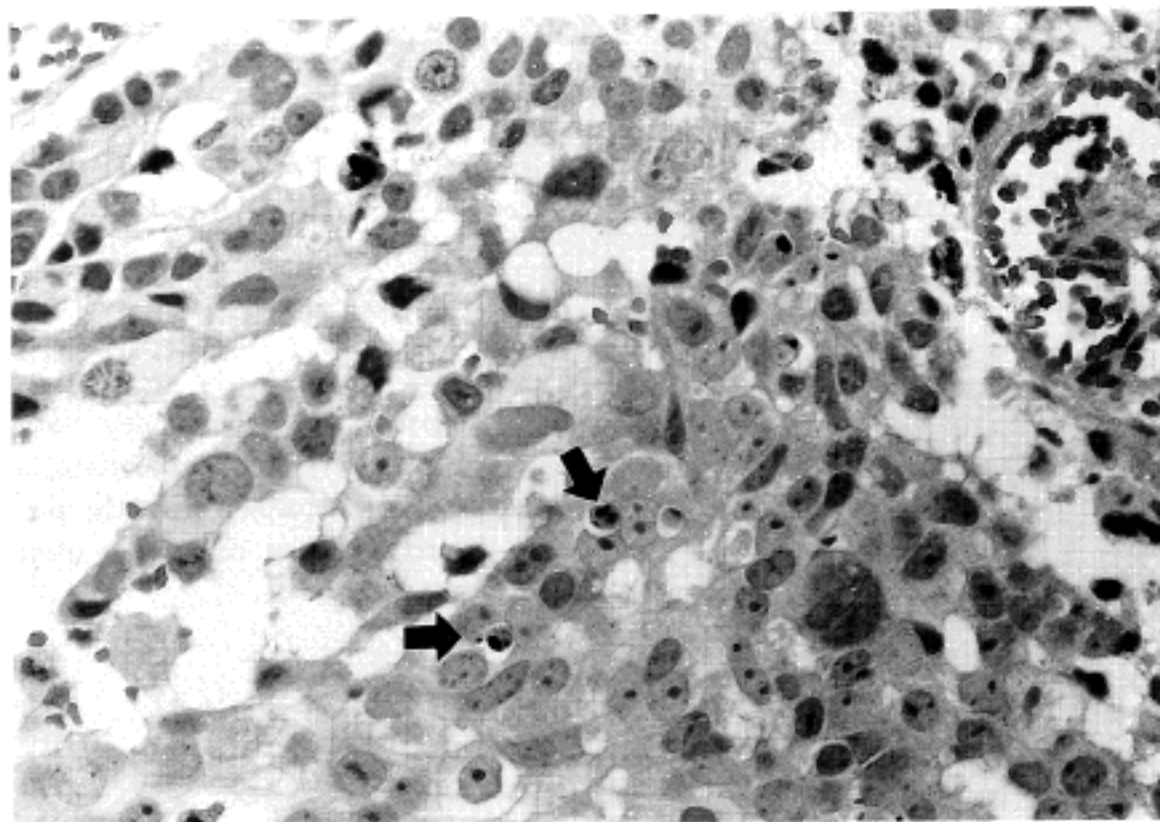


Fig. 2. Fragmented, condensed chromatin structures are also found.

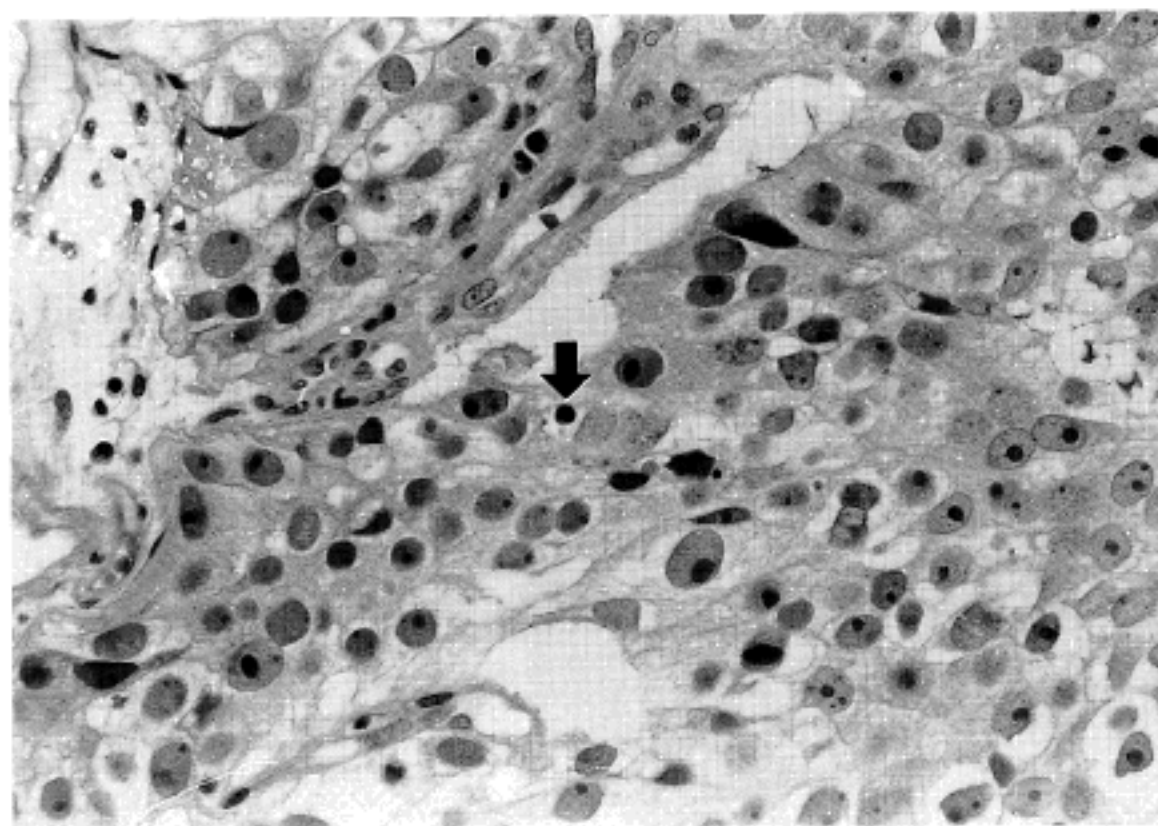


Fig. 3. Fragments of condensed chromatin material without surrounding cytoplasm.

질이, 농축되고 강한 호산성을 지닌 세포질 내에서 응집되어 있는 양상을 보이는 것(Fig. 1), ② 유사한 양상을 보이나 농축된 염색질이 여러 조각으로 나뉘어 있는 경우(Fig. 2), ③ 세포질이 없이 농축된 염색질의 조각만 있는 경우로 하였다(Fig. 3). 또한, 대개의 아포프토체들은 clear halo에 의해 주변의 정상적인 세포들과 구분되고(Fig. 4), 드물게는 군집을 이루기도 하였다. 종양 세포 피사와는 그 범위와 양상으로 구분되었으며⁹⁻¹⁰ 림프구는 세포질이 적고

호산성이 아니며 염색질 양상이 명확하므로 감별되었다. 그리고 종양 세포의 유사분열수도 그 양상이 명확한 것들만 선별하였다. 이들 아포프토체들은 in situ nick end labelling 방법을 시행하였을 때 붉은 색으로 선명하게 염색되어 이들이 아포프토시스 과정에 있음을 확인할 수 있었다(Fig. 5).

양성 전립선 비대증 환자 5명의 평균 나이는 68.4세이었고 정상 상피 세포 100개당 평균 아포프토체 수는 2.44이며 평균 유사분열수는 0.36이었다. 전립

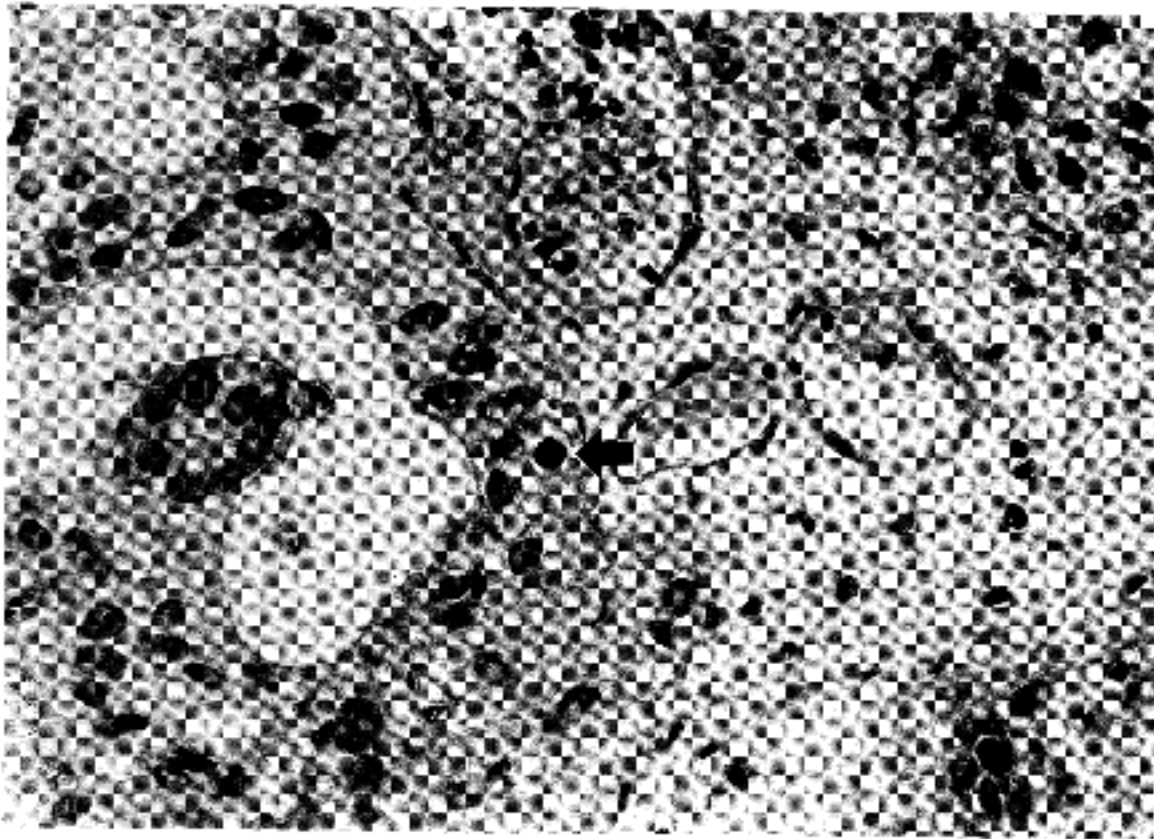


Fig. 4. The apoptotic bodies made up of a round, condensed chromatin structure, separated from the surrounding tumor cells by a clear halo.

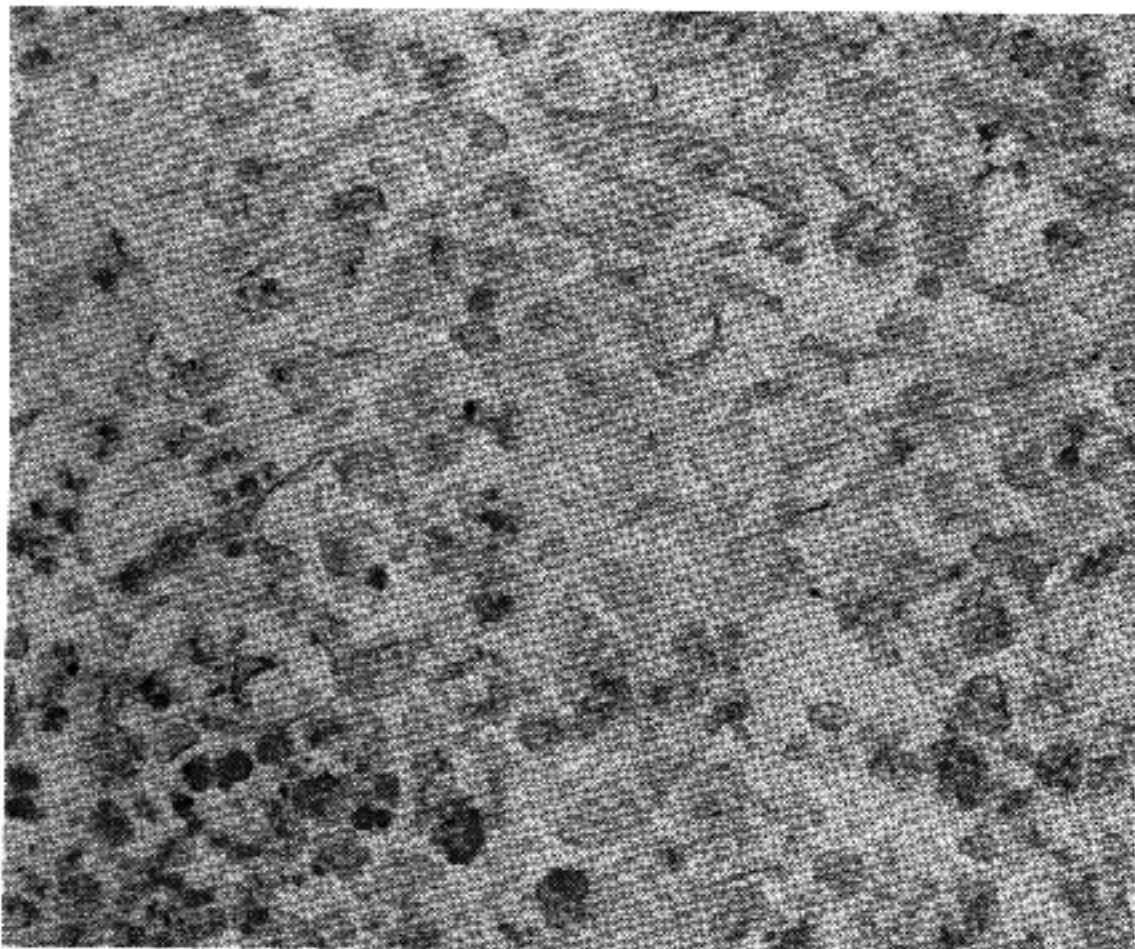


Fig. 5. In situ nick end labelling method confirmed apoptosis (in situ apoptosis detection).

선암 환자의 경우, 종양 세포 100개당 Gleason score 별 평균 아포프토체수, 평균 유사분열수를 각각 살펴보면, Gleason score 2인 3예는 2.13개, 0.20개이었고, Gleason score 3인 5예는 2.92개, 0.84개이었으며, Gleason score 4인 3예는 3.20개, 0.87개, Gleason score 5인 5예는 4.28개, 0.96개, Gleason score 6인 3

예는 4.73개, 0.93개, Gleason score 7인 5예는 4.44개, 0.88개, Gleason score 8인 5예는 4.96개, 0.86개, Gleason score 9인 5예는 5.84개, 1.32개, Gleason score 10인 1예는 8.0개, 1.60개이었다.

이들을 양성 전립선 비대증과 전립선암, 그리고 전립선암에서의 Gleason score'별로 비교 분석하여 보

면, 나이 분포는 별 차이가 없었으나 아포프토체수와 유사분열수는 뚜렷한 연관 관계가 있음을 알 수 있었다(Table 1). 또한 아포프토체의 빈도는 Gleason score가 증가함에 따라 증가하는 양상을 보여 비례 관계에 있음을 알 수 있으며, 또한 유사분열수는 아포프토체수보다 적지만 역시 Gleason score와 비례하는 관계에 있음을 알 수 있었다.

고 찰

본 연구에서 저자는 사람의 전립선암과 양성 전립선 비대증에서의 아포프토시스의 형태학적인 측면과 빈도, 전립선암에서의 아포프토시스의 빈도와 유사분열수와 Gleason score사이의 연관성등을 고찰해 보았다. 아포프토시스는 Kerr 등에 의해 명명되었으며⁴ 괴사와는 명확히 구별되는 과정으로써 세포의 형태학적 변화에서 비롯되어 궁극적으로는 세포사에 이르게 되는 비병리적 세포 손실, 즉 생리적으로 특정 세포의 제거를 위한 예정된 세포사로 정의될 수 있다. 이는 분화, 발달, 세포 성숙 및 면역학적인 기능도 관련된 광범위한 생물학적인 과정으로써^{11,12,13,14} 물리적, 화학적 요인에 의해 야기된 세포의 손상도 포함한다^{15,16,17,18}. 아포프토시스의 초기 발현은 세포의 위축과 함께 염색질의 현저한 농축과 가장자리로의 이동이 두드러지며, 그 다음 단계로는 핵이 조각나고 세포 표면에 주름이 잡히며 궁극적으로는 세포의 내용물이 아포프토체로 격절화된다¹⁹. 이 과정은 발달과정 동안 ced 유전자들이 특정 세포의 사멸을 조절하는 선충 *Caenorhabditis elegans*에서 가장 특징적으로 나타난다. 이에 대응하는 유전자가 포유동물의 세포에서도 인지되었다. Ced-9에 해당하는 포유동물의 bcl-2 유전자의 발현이 많은 체계내에서 아포프토시스를 억제함을 밝히는 연구가 많이 진행되었다^{20,21,22,23,24}. 또한, 약제나 방사선등 여러 요인에서 비롯된 DNA 손상으로 인한 종양 억제인자 p53의 증가는 G1 단계에서 세포 사이클을 차단시키거나 아포프토시스를 초래한다는^{25,26,27} 보고도 있지만, 한편 다른 연구에서는 아포프토시스가 p53과는 별개로 유발된다는 보고, 즉 전립선암에서의 안드로젠 절제 효과²⁸, 대장암에서의 나산 나트륨의 효과등을 보고한 사례도 있다²⁹. 이렇듯 아포프토시스가 생기는 경로의 시작은 성장 신호의 갈등의 결과로서 발생한다고 생각하는 추세이다^{30,31,32}.

MPR model system을 사용한 사전 연구에서는 transforming growth factor- β 1을 포함하여 아포프토시스

관련 유전자들의 발현도 증가가 쥐의 전립선암과 연관성이 있음을 보임으로써 아포프토체수와 전립선암의 성장과 악성도사이의 연관성을 보고하였다⁷. 또한, 사람에게 있어서도 면역조직학적 분석에 의하면 transforming growth factor- β 1이 양성 전립선 비대증에 비해 전립선암에서 더욱 상승되어 있음을 나타낸다³³. 따라서, 아포프토시스 관련 유전자 발현율의 증가와 예정된 세포사의 물리적 사건들은 전립선의 암생성과 밀접한 연관성이 있음을 알 수 있다. 아포프토시스는 신체의 다른 기관에서 보고된 것들과 유사한 특징을 지니고 있으며 전립선암의 각 Gleason grade마다 존재하였고 광학 현미경 상에서도 쉽게 감별할 수 있었으며 림프구 침윤이나 종양세포 괴사와도 감별이 용이하였고^{9,10} 아포프토체수는 Gleason grade의 증가와 비례관계가 있음을 알 수 있었다. 따라서, 아포프토시스는 전립선암의 진행 방향을 예지하는 또 다른 객관적 지표로써 그 의미를 지닌다고 하겠다. 그리고 아포프토체수의 빈도와, 비록 높지는 않지만 전립선암의 유사분열 지수는 상호 연관성이 있음을 알 수 있었고, 전립선암에서의 유사분열의 증가는 악성도의 증가를 의미하였으며 이는 곧 빠른 세포증식을 반영하였다. 또한, 아포프토체수와 유사분열 지수의 증가 백분율을 비교하여 보면 Gleason score의 증가율에 따른 아포프토체수의 증가 백분율이 유사분열 지수의 증가 백분율보다 현저하였다. 한편 아포프토시스가 DNA의 불규칙한 분절을 특징으로 한다는 점에서 Tdt(terminal dioxynucleotidyl transferase)효소와 digoxigenin이 표지된 누클레오티드를 이용한 in situ nick end labelling 방법이 아포프토시스를 관찰하는데 응용되고 있다. 본 연구에서는 통상의 hematoxylin eosin 염색에서 특징적인 형태를 보이는 아포프토시스의 수를 세었고 동시에 in situ detection법을 시행하여 이런 형태적인 특징을 가진 세포들이 실제로 아포프토시스 과정중에 있음을 확인하였다. 이 방법에 의해 비교하였을 때 통상 시행되는 형태학적 특징에 의한 수보다 좀 더 예민하게 관찰되는 경향이 있었으나 본 연구에서는 전립선암 10예에서만 선택적으로 시행하여 아포프토시스를 확인하는데만 이용하였다. 따라서, 이러한 차이점들을 종합하여 볼 때 아포프토시스는 모든 Gleason grade의 전립선암 및 양성 전립선 비대증에서 모두 존재하였으며, 유사분열과 함께 광학 현미경하에서 Hematoxylin eosin 염색으로 쉽게 발견할 수 있고 Gleason score의 증가에 따른 아포프토체수와 유사분열 지수의 비례관계는 전립선암의 예후를

인지하는 좋은 지표가 될 것으로 기대한다.

결 론

전립선암종에서 아포프토시스의 빈도와 Gleason score간의 상관관계를 살펴 봄으로써 아포프토시스가 전립선암종의 예후를 추정하는 형태학적인 지표가 될 수 있는지 알아보려고 전립선암종 30예와 대조군인 양성 전립선 비대증 5예를 대상으로 본 실험을 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 전립선암종에서 아포프토시스의 수는 평균 3.9개, 유사분열수는 0.8개로 대조군의 2.44개, 0.36개보다 높았다($P < 0.05$).

2) Gleason score와 비교하였을 때 아포프토시스, 유사분열수는 score와 모두 상관관계가 있었다.

이상과 같은 결과로 아포프토시스수는 Gleason score와 비례하며 따라서 아포프토시스는 전립선암의 예후를 추정할 수 있는 좋은 지표가 될 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. 김석원, 김종권, 박노정. 전립선암 33예에 대한 임상적 관찰. 대한비뇨기과학회지 1993; 34: 252-7.
2. Aihara M, Truong LD, Dunn JK, et al. Apoptosis in human prostate cancer. Hum Pathol 1994; 25: 797-801.
3. Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. Br J Cancer 1972; 26: 239-57.
4. Wyllie AH, Kerr JFR, Currie AR. Cell death: The significance of apoptosis. Int Rev Cytol 1980; 68: 251-306.
5. Wyllie AH. Cell death: A new classification separating apoptosis from necrosis, in Bowen ID, Lockshin RA(eds): Cell Death in Biology and Pathology, New-York, NY, Chapman and Hall, 1981: 9-34.
6. Searle J, Kerr JFR, Bishop CJ. Necrosis and apoptosis: Distinct mode of cell death with fundamentally different significance. Pathol Ann 1982; 17: 229-59.
7. Yoshida K, Kadmon D, Truong LD, et al. Association of apoptosis-related genes with the development of oncogene-induced prostate cancer in the mouse prostate reconstitution model system. J Urol 1993; 149: 469A(abstr 1027).
8. Hollowood K, Macartney JC. Reduced apoptotic cell death in follicular lymphoma. J Pathol 1991; 163: 337-42.
9. Gerschenson LE, Rottelo RJ. Apoptosis: a different

type of cell death. FASEB J 1992; 6: 2450-5.

10. 김인경. 아포프토시스와 종양성장억제. 대한의학협회지 1994; 37: 1222-9.
11. Wyllie AH. Apoptosis: cell death in tissue regulation. J Pathol 1987; 153: 313-6.
12. Ellis RE, Yuan JY, Horvitz HR. Mechanisms and functions of cell death. Annu Rev Cell Biol 1991; 7: 663-98.
13. Golstein P, Ojcius DM, Young JD. Cell death mechanisms and the immune system. Immunol Rev 1991; 121: 29-65.
14. Heintz N. Cell death and the cell cycle: a relationship between transformation and neurodegeneration? Trends Biochem Sci 1993; 18: 157-9.
15. Boobis AR, Fawthrop DJ, Davies DS. Mechanisms of cell toxicity. Curr Opin Cell Biol 1990; 2: 231-7.
16. Bansal N, Houle A, Melnykovich G. Apoptosis: mode of cell death induced in T cell leukemia lines by dexamethasone and other agents. FASEB J 1991; 5: 211-6.
17. Harmon BV, Takano TS, Winterford CM, et al. The role of apoptosis in the response of cells and tumors to mild hyperthermia. Int J Radiol Biol 1991; 59: 489-501.
18. Warters RL. Radiation-induced apoptosis in a murine T-cell hybridoma. Cancer Res 1992; 52: 883-90.
19. Stewart BW. Mechanisms of apoptosis: Integration of genetic, biochemical, and cellular indicators. J Natl Cancer Ins 1994; 86: 1286-96.
20. Hengartner MO, Ellis RE, Horvitz HR. Caenorhabditis elegans gene ced-9 protects cells from programmed cell death. Nature 1992; 356: 494-9.
21. Yuan JY, Horvitz HR. The Caenorhabditis elegans genes ced-3 and ced-4 act cell autonomously to cause programmed cell death. Dev Biol 1990; 138: 33-41.
22. Raff MC. Social controls on cell survival and cell death. Nature 1992; 356: 397-400.
23. Hengartner MO, Horvitz HR. C. elegans cell survival gene ced-9 encode a functional homolog of the mammalian proto-oncogene bcl-2. Cell 1994; 76: 665-76.
24. Vaux DL, Weissman IL, Kim SK. Prevention of programmed cell death in Caenorhabditis elegans by human bcl-2. Science 1992; 258: 1955-7.
25. Zhan Q, Lord KA, Alamo I Jr, et al. The gadd and myD genes define a novel set of mammalian genes encoding acidic proteins that synergistically suppress cell growth. Mol Cell Biol 1994; 14: 2361-71.
26. el-Deiry WS, Harper JW, O'Connor PM, et al. WAF1/CIP1 is induced in p53-mediated G1 arrest and apoptosis. Cancer Res 1994; 54: 1169-74.
27. Kastan MB, Zhan Q, el-deiry WS, et al. A mammalian

- cell cycle check-point pathway utilizing p53 and GADD45 is defective in ataxia-telangiectasia. *Cell* 1992; 71: 587-97.
28. Berges RR, Furuya Y, Remington L, et al. Cell proliferation, DNA repair, and p53 function are not required for programmed death of prostatic glandular cells induced by androgen ablation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 8910-14.
 29. Hague A, Manning AM, Hanlon KA, et al. Sodium butyrate induces apoptosis in human colonic tumor cell lines in a p53-independent pathway: implications for the possible role of dietary fibre in the prevention of large-bowel cancer. *Int J Cancer* 1993; 55: 498-505.
 30. Yonish-Rouach E, Grunwald D, Wilder S, et al. p53-mediated cell death: relationship to cell cycle control. *Mol Cell Biol* 1993; 13: 1415-23.
 31. Wang Y, Ramqvist T, Szekely L, et al. Reconstitution of wild-type p53 expression triggers apoptosis in a p53-negative v-myc retrovirus-induced T-cell lymphoma line. *Cell Growth Differ* 1993; 4:467-73.
 32. Shi L, Nishioka WK, Th'ng J, et al. Premature p34^{cdc2} activation required for apoptosis. *Science* 1994; 263: 1143-5.
 33. Truong LD, Kadmon D, McCune BK, et al. Association of transforming growth factor- β with prostate cancer: An immunohistochemical study. *Hum Pathol* 1993; 24: 4-9.
-