

고집적방법을 이용한 한국인 태아의 발생과정에서 Bcl-2의 분포에 관한 연구

유 영 복, 이 영 일, 이 병 란¹

단국대학교 의과대학 해부학교실, ¹서울대학교 의과대학 해부학교실

간추림 : 세포자멸사(apoptosis)는 배아의 장기 발생과정 및 어른의 조직 항상성에 중요한 역할을 하는 예정된 세포사망이다. 세포자멸사와 관련된 유전자들이 발생에 중요하지만 인체 발생과 관련된 연구는 소수이며 주로 암질 환과 신경변성질환에 대해 연구되어왔다. 본 연구에서는 고집적(high-throughput) 연구방법인 tissue-array 기법을 사용하여 사람의 발생 14~30주까지의 태아 조직을 준비한 후 다수의 중요 장기를 대상으로 여러 세포자멸사 관련 유전자들이 인체 발생에 미치는 영향을 파악하는 것을 궁극적인 목표로 하며 그 첫단계로 세포사망의 조절자로서 가장 잘 알려진 bcl-2 유전자의 발현단백인 Bcl-2를 폐, 콩팥, 가슴샘, 태반, 고환, 작은창자, 이자, 피부, 방광에서 관찰하였다. 그 결과 Bcl-2는 발생초기에는 폐, 콩팥, 가슴샘, 태반, 작은창자, 이자 조직에서 관찰되었으나 분화가 진행됨에 따라 점차 감소되며 기관지상피, 세관상피, 보우만주머니상피, 태반융합세포, 신경절세포, 이자의 관상피에 국한되는 경향이 있었다. 이는 분화가 진행되지 않은 발생초기 단계에는 세포사망이 억제되거나 분화가 진행되면서 세포사망이 전반적으로 증가하여 불필요한 부분을 제거하고 기관의 고유한 기능을 가진 세포들을 보호함으로써 기관의 기능완성에 기여하는 것으로 사료된다.

본 연구는 발생연구를 위해 tissue-array라는 고집적 방법을 사용한 첫 예가 될 것이며 이 연구 이후에도 발생단계에서 단백질에 대한 관찰이나 유전자의 발현 등을 관찰하는 연구의 진행 속도가 고효율로 진행할 수 있는 계기가 될 것으로 사료된다.

찾아보기 낱말 : 세포자멸사, 발생, Bcl-2, tissue-array

서 론

세포자멸사는 개체의 발생기에 기관들의 형태형성(morphogenesis)이나 기능 형성에 중요한 역할을 한다. 그러나 세포자멸사와 관련된 유전자들은 주로 암연구와 관련되어 연구되어 있고(Hetts 1998), 발생과 관련된 연구는 소수에 불과할 뿐만 아니라 대부분 시험관실험에서 시행되었으며(Boise 등 1993, Vekrellis 등 1997) 특히 사람 발생에서는 소수의 장기에서만 연구되었다. 세포자멸사와 관련된 유전자

들 중에서 세포자멸사를 억제하는 Bcl-2의 발현은 Novack과 Korsmeyer(1994)가 생쥐의 발생 12일과 15일의 상피조직에서 보고하였으며, Groc 등(2001)은 발생기 흰쥐의 흑색질에서 관찰하였다. LeBrun 등(1993)이 사람 태아의 여러 조직에서 Bcl-2에 대한 면역조직화학염색을 이용하여 관찰하였으나 22주 태아에 국한된 결과이어서 조직의 분화가 진행함에 따른 Bcl-2 분포의 변화를 살피기에는 불충분하였다. Lu 등(1993)은 사람의 외분비세포, 콩팥, 대장, 신경세포에서 Bcl-2의 발현을 관찰하였으며 Lichnovsky 등(1996, 1999)은 사람의 발생기 4주~12주에서 콩팥, 폐, 소화기 조직에서, Chan과 Yew(1998)는 사람 발생 14주~32주에 걸쳐 뇌조직에서, 그리고 Ratts 등(2000)은 신생아 태반조직에서 Bcl-

*이 논문은 2000년도 서울대학교 의과대학 교육연구재단의 지원에 의해 연구되었음.

교신저자 : 이병란(서울대학교 의과대학 해부학교실)
전자우편 : dslant@plaza.snu.ac.kr

2의 발현을 관찰하였다. 발생과 관련된 유전자들의 역할에 대한 위의 연구들은 제한된 수나 제한된 시기의 표본만을 대상으로 하여 연구의 신빙성이 결여된 실정이며 세포자멸사가 인체전체에 미치는 영향을 이해하기 위해서는 태아의 전발생기 동안 다수의 중요 장기조직을 대상으로 연구를 수행하는 것이 필요하다.

특히 인체발생을 이해하기 위해서는 다수의 사람의 발생기 조직이 필요하나 많은 인체조직을 구하기 어렵고, 또한 통상적인 연구기법으로는 여러 장기를 동시에 관찰하여 장기사이의 관련성이나 차이를 비교하기가 어렵다. 본 연구에서는 이러한 난관들을 극복하기 위하여 고집적 (high-throughput) 연구방법인 tissue-array 방법을 사용하였는데 이는 통상 사용되는 유리 슬라이드에 60개의 조직을 부착하여 제작하는 기술을 말하며, 60개의 조직이 가로와 세로로 배열되어 각각의 조직을 구별할 수 있으므로 유리슬라이드에 조직을 1개나 2개 부착하는 기존의 방법에 비하여 다수의 표본을 대상으로 한 연구를 수행하는 데 시간과 노력의 절약이 가능하며 염색시마다 생기는 오차를 감소시키는 것이 가능하게 되었다.

세포자멸사와 관련된 유전자들의 발현을 관찰함으로써 각 장기의 형성에 미치는 세포자멸사 관련 조절인자들의 영향을 관찰하고 그 상관관계를 밝히는 것을 목적으로 하며 일차적으로 Bcl-2의 발현을 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 한국인 태아의 장기조직수집

서울대학교 병리학교실의 지제근 교수가 제공한 발생 14~30주 (Carnegie stage)까지의 정상 태아 26 예로부터 얻은 장기조직 168 예를 대상으로 하였다.

2. tissue-array 제작

본 연구에서는 많은 수의 조직을 대상으로 해야 하기 때문에 이를 해결하기 위하여 고집적 조직 배

열방법인 tissue-array 방법을 도입하였다. Tissue-array는 2.5×7.5 cm 크기의 통상 사용되는 유리 슬라이드에 60개의 조직을 부착시킨 연구재료를 제작하는 기술을 말하며, 60개의 조직이 가로와 세로로 배열되어 각각의 조직을 구별할 수 있으므로 다수의 표본을 대상으로 한 연구를 수행하는 데는 시간적 및 경제적으로 많은 이점이 있다 (Fig. 1). 본 연구에서는 10% formalin에 고정시킨 각 태아조직을 파라핀에 포매한 후 각 조직에서 관찰하고자 하는 부위를 직경 2 mm의 원주모양으로 파낸 후 60개를 모아 다시 recipient paraffin block에 포매하여 4 μm 두께로 절편을 얻어 슬라이드 위에 올리는 방법으로 Superbiochips Laboratories (Seoul, Korea)에 의뢰하여 표본을 주문 제작하였다.

3. 면역조직화학염색

tissue-array slide 위의 조직을 xylene에 4분씩 5번 처리하고, 59°C 항온기에서 1시간동안 탈파라핀 과정을 거친 후, 100% ethanol에 1분씩 3번, 95% ethanol에 1분씩 3번을 거친 후 증류수에 침지시켰다. 항원 부활처리로 10 mM citrate buffer (pH 6.0, 0.01 M solution of citric acid, 0.01 M solution of sodium citrate)에 slide를 담근 후 전자렌지에서 15분간 처리하고 내재성 peroxidase를 제거하기 위하여 3% hydrogen peroxide로 10분간 처리하고, 비특이적 반응을 제거하기 위하여 2차항체를 만든 동물의 normal serum으로 30분간 반응시킨 후 목적 항원에 대한 1차 항체 (Sigma, 1:300)를 실온에서 2시간 반응시킨 다음 PBS로 수세하고 biotin이 표지된 2차 항체 (biotinylated rabbit anti-sheep IgG; 1:500) (Vector Laboratories, CA, USA)에서 2시간 반응시켰다. 다시 PBS로 수세 후 ABC 용액 (Vector Lab.)을 30분간 반응시킨 후, PBS로 수세하고 3', 3'-diamin benzidine (DAB)으로 5분동안 발색시킨 후 Mayer's hematoxylin으로 3초간 대조염색을 시행하였다. 95% ethanol에 2번, 100% ethanol에 2번, xylene에 5번 탈수와 투명 과정을 거친 후 비수용성 봉입제로 봉입하였다.

Table 1. Immunoreactivity for Bcl-2 in developmental human tissues

Organ (number)	14W	15W	16W	19W	20W	21W	22W	24W	25W	28W	30W
Lung (26)	++ ⁽²⁾	++ ⁽³⁾	++ ⁽⁴⁾	++ ⁽¹⁾	+ ⁽²⁾	+ ⁽³⁾	+ ⁽⁴⁾	+ ⁽²⁾	+ ⁽¹⁾	+ ⁽³⁾	+ ⁽¹⁾
Kidney (24)	++ ⁽²⁾	++ ⁽³⁾	++ ⁽⁴⁾	++ ⁽¹⁾	N	+ ⁽³⁾	+ ⁽⁴⁾	+ ⁽²⁾	+ ⁽¹⁾	+ ⁽³⁾	+ ⁽¹⁾
Thymus (20)	+ ⁽²⁾	+ ⁽²⁾	++ ⁽³⁾	++ ⁽¹⁾	+ ⁽²⁾	+ ⁽²⁾	+ ⁽³⁾	+ ⁽²⁾	N	+ ⁽²⁾	+ ⁽¹⁾
Placenta (23)	N	++ ⁽³⁾	++ ⁽⁴⁾	++ ⁽¹⁾	+ ⁽²⁾	+ ⁽³⁾	+ ⁽⁴⁾	+ ⁽²⁾	N	+ ⁽³⁾	+ ⁽¹⁾
Endometrium (4)	+ ⁽¹⁾	N	+ ⁽²⁾	N	N	N	N	+ ⁽¹⁾	N	N	N
Testis (6)	+ ⁽¹⁾	N	+ ⁽¹⁾	N	N	+ ⁽¹⁾	+ ⁽¹⁾	N	N	+ ⁽¹⁾	+ ⁽¹⁾
Small intestine (25)	+ ⁽²⁾	+ ⁽³⁾	+ ⁽⁴⁾	+ ⁽¹⁾	+ ⁽²⁾	+ ⁽³⁾	+ ⁽³⁾	+ ⁽²⁾	+ ⁽¹⁾	+ ⁽³⁾	+ ⁽¹⁾
Pancreas(16)	+ ⁽²⁾	+ ⁽²⁾	+ ⁽²⁾	+ ⁽¹⁾	N	+ ⁽²⁾	+ ⁽²⁾	+ ⁽¹⁾	+ ⁽¹⁾	+ ⁽²⁾	+ ⁽¹⁾

N: Tissue specimens are not available.
 +: Weak, ++: Moderate, +++: Strong

결 과

Table 1은 관찰대상 조직의 수와 Bcl-2에 대한 면역조직화학염색 후 염색의 강도를 총괄적으로 관찰한 결과를 보여 주고 있다.

1. 폐

발생 14~19주에 기관지 상피의 기저층 세포 대부분에서 염색되었으며 기관지들 사이조직에도 염색된 세포가 산재되어 관찰되었다. 발생 20주부터는 염색된 세포 수가 적어지고 28주부터 폐포가 관찰되었으며 기관지 상피의 기저층 세포가 염색되었고 일부 염색된 세포는 폐포중격에 산재되어 관찰되었다(Figs. 2, 3).

2. 콩팥

발생 14~19주에 후신장발생모체 (metanephric blastema), 세관 상피와 보우만 주머니 상피에서 진하게 염색되었고 후반기로 갈수록 보우만주머니 상피는 염색성이 약해지고 세관상피의 염색된 세포 수는 감소하였다(Figs. 4, 5).

3. 가슴샘

발생 14~30주에 가슴샘 속질에서 림프구가 염색되었으며 16주와 19주에 염색성이 증가하였다가 20

주에 감소하였다(Figs. 6, 7).

4. 태반

발생 15~30주에 태반융합세포가 염색되었고 21주부터 후반기로 갈수록 염색된 태반융합세포 수가 감소하고 염색성도 약해졌다(Figs. 8, 9).

5. 자궁내막

발생 14주, 16주와 24주에서 자궁내막상피의 기저층 세포에서 염색되었다(Fig. 10).

6. 고환

발생 14~30주 조직에서 정세관 주변의 간질세포 (interstitial cell)가 염색되었다(Figs. 11, 12).

7. 작은창자

발생 14~30주 조직에서 장샘상피, 민무늬근육세포, 근층간신경총 (myenteric plexus), 점막하신경총 (submucosal plexus)이 염색되었다(Figs. 13, 14, 15).

8. 이자

발생 14~19주의 조직에서는 소엽사이공간 (interlobular space)에 염색된 세포무리가 관찰되었으며 발생 25주와 28주의 조직에서는 관상피 (ductal epithelium)가 염색되었다(Figs. 16, 17).

고 찰

세포자멸사 조절유전자로서는 전사인자(transcription factor), 종양억제유전자, 성장조절인자 등이 제시되고 있지만 개체 발생과 관련된 세포사망의 조절인자로서는 소수만이 알려져 있으며, 그 중 가장 잘 알려진 유전자로는 bcl-2를 들 수 있다. bcl-2는 bcl-2 family 유전자에 속하는데 bcl-2 family에는 이 이외에도 bax, bcl-Xs, bid, bad, bak 등이 알려져 있으며 이들은 세포자멸사를 증가시키거나 감소시키는 기능을 가지고 있다.

bcl-2의 발현단백인 Bcl-2는 사립체에 의존적인 세포사망경로의 두 부분에서 작용한다. 즉 사립체로부터의 cytochrome c의 방출을 억제하거나(Yang 등 1997) Apaf-1 복합체의 형성을 방해함으로써(Mirkes 2002) 세포자멸사를 감소시켜 세포생존을 증가시키는데 중요한 역할을 한다. 따라서 Bcl-2가 발현된 세포는 세포자멸사를 유도하는 여러 자극에도 세포가 생존하도록 도와주므로 림프구 분화과정 중 Bcl-2가 적게 발현된 세포는 세포자멸사에 민감하다(Novack과 Korsmeyer 1994). 조혈세포 배양 시 Bcl-2 발현세포는 인터루킨을 제거해도 생존하며, 미성숙한 흉선세포에 bcl-2를 발현시킨 형질전환생쥐(transgenic mice)에서는 glucocorticoid나 anti-CD3를 투여해도 세포가 생존한다(Strasser 등 1991).

bcl-2와는 대조적으로 세포자멸사를 촉진시키는 유전자에는 bax, bcl-Xs, bad, bak 등이 알려져 있다. Bcl-2와 amino acid homology를 가진 Bax는 생체 실험에서 동형이합체를 형성하거나 Bcl-2와 이형이합체를 형성하는데, 과발현된 Bax는 세포자멸사를 증가시키고 Bcl-2의 작용을 완화시킨다. 따라서 조직에서 Bcl-2와 Bax의 비율에 따라 세포의 생존과 사망이 조절되는 것으로 추정하는 견해도 있다(Hanada 등 1995). bcl-X에는 bcl-2와 mRNA size가 비슷한 bcl-XL과 이것보다 작은 bcl-Xs가 있으며 bcl-XL은 세포자멸사를 억제하며 bcl-Xs는 bcl-2의 작용을 억제함으로써 세포자멸사를 증가시킨다(Gonzalez-Garcia 등 1995). bad는 bcl-2, bcl-XL과 선택적으로 이합체를 형성하여 bcl-XL의 작

용인 세포자멸사 억제작용을 방해하므로써 세포자멸사를 증가시켜 주는 것으로 알려졌다(Yang 등 1995). bcl-2 결핍생쥐에서는 신장만 제외하고 대부분의 장기가 정상적 발생을 보였는데 bcl-2가 세포사망을 감소시키는 중추적 조절인자라는 점에서 bcl-2 관련유전자가 bcl-2의 역할을 대행할 수 있는 가능성이 제기되었다(Novack과 Korsmeyer 1994). 그러나 이와 같은 연구들은 소수이며 주로 시험관 실험상의 연구이므로 생체상태의 연구를 통한 확인이 필요하다.

본 연구에서는 세포자멸사와 관련된 유전자들 중에서 일차적으로 세포자멸사를 방해하는 대표적 유전자인 Bcl-2의 발현을 관찰하기 위하여 지금까지 관찰된 것보다 더 많은 한국사람 발생기의 장기조직 168개를 대상으로 하여 장기별로 발생시기에 따른 Bcl-2 항체에 대한 염색정도의 변화를 관찰하였다. 그 결과 폐, 갑상샘, 태반과 콩팥조직은 분화가 진행됨에 따라 Bcl-2의 발현이 적어지며, 이자조직에서는 Bcl-2 항체에 염색된 세포무리가 소엽사이 공간에서 보이던 것이 발생 25주 이후에는 관구조물로 분화되면서 Bcl-2가 발현되었다. 본 연구결과에서 폐, 콩팥, 태반에서는 조직의 분화가 진행됨에 따라 Bcl-2의 발현이 감소하면서 조직의 특정세포에만 국한되는 경향은 Novack과 Korsmeyer (1994)가 생쥐의 폐와 콩팥조직에서 보고한 것과 유사한 결과이다. 본 연구결과는 분화가 진행되지 않은 발생초기에는 세포자멸사가 억제되나 분화가 진행되면서 세포사망이 전반적으로 증가함을 시사하는 소견이며, Bcl-2가 발생초기에 여러 조직에서 발현되는 것은 미분화된 세포는 세포사망에 이르는 취약점을 극복하기 위해 생존인자를 발현시켜야만 하기 때문이며, 분화 후에는 불필요한 부분을 제거하고 기관의 고유한 기능을 가진 세포들을 보호함으로써 기관의 기능완성에 기여하는 것으로 사료된다. 특히 bcl-2 결여생쥐에서 콩팥의 크기가 작거나 다낭콩팥으로 진행되는 것(Sorenson 등 1995)을 볼 때 Bcl-2의 발현이 여러 장기 중에서 특히 콩팥의 발생에 중요한 역할을 할 것으로 사료된다. 한편, 발생기 세포사망은 bcl-2와 같은 생존인자의 발현감소로 초래된 세포사망보다 실제로는 세포사망을 증가

시키는 다른 유전자의 발현으로 인해 세포사망이 훨씬 많을 가능성도 있으므로 향후 Bcl-2의 발현과 함께 bcl-2 family에 속하는 다른 유전자의 발현도 관찰하는 것이 필요하다고 생각된다.

본 연구에서는 2.5×7.5 cm 크기의 유리 슬라이드에 60개의 조직을 부착시킨 연구재료를 제작하는 고집적 배열기술을 사용하였다. 생체 조직을 대상으로 하는 연구분야에서 연구의 질과 속도를 향상시키는 데 있어서 고집-적화가 대단히 중요한 과제이나, 아직까지 단백질, DNA, RNA가 포함된 세포를 고집적 상태로 제작한 생체 조직표본의 제작방법은 보편화되고 있지 않아 조직 하나 하나에 대해 분석을 시행해야 하기 때문에 유전자발현에 대한 정보의 해석이 늦어지고 있다. 따라서 여러 개의 표본을 동시에 관찰할 수 있는 tissue-array slide를 이용한다면 발생연구에 필요한 시간을 줄일 수 있을 것이다. 따라서 여러 발생시기의 많은 조직을 손쉽게 관찰할 수 있을 뿐 아니라, 결과적으로 여러 가지 유전자 발현을 관찰하여 그 관련성을 연구하는 것이 가능할 것이다. 이 연구가 완성되면 사람의 장기형성 과정에서 세포사멸사가 관여하는 양상을 이해함으로써 발생 과정을 파악하는데 도움이 될 것으로 생각된다.

본 연구는 발생연구에서 고집적인 방법을 사용한 첫 예가 될 것이며 tissue-array라는 새로운 방법은 시간 및 인력이 효율로 사용됨으로써 이 연구 이후에도 발생단계에서 단백질에 대한 관찰이나 유전자의 발현 등을 관찰하는 연구의 진행 속도가 수십배로 빨라지는 효과를 확인하는 계기가 될 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

Boise LH, Gonzalez-Garcia M, Postema 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* 27: 74 : 597-608, 1993.

Chan WY, Yew DT : Apoptosis and Bcl-2 oncoprotein expression in the human fetal central nervous system. *Anat*

Rec 252 : 165-175, 1998.

Gonzalez-Garcia M, Garcia I, Ding L, Oshea S, Boise LH, Thompson CB, Nunez G : bcl-X is expressed in embryonic and post natal neural tissues and functions to prevent neuronal cell death. *Proc Natl Acad Sci USA* 92 : 4304-4308, 1995.

Groc L, Bezin L, Jiang H, Jackson TS, Levine RA : Bax, Bcl-2, and cyclin expression and apoptosis in rat substantia nigra during development. *Neurosci Lett* 306 : 198-202, 2001.

Hanada M, Aime Sempe C, Sato T, Reed JC : Structure-function analysis of Bcl-2 protein. Identification of conserved domains important for homodimerization with Bcl-2 and heterodimerization with Bax. *J Biol Chem* 270 : 962-969, 1995.

Hettis SW : To die or not to die: an overview of apoptosis and its role in disease. *JAMA* 279 : 300-307, 1998.

LeBrun DP, Warnke RA, Cleary ML : Expression of bcl-2 in fetal tissues suggests a role in morphogenesis. *American J Pathol* 142 : 733-753, 1993.

Lichnovsky V, Prochazkova J, Erdosova B, Nepozit kova D, Kolar Z : The role of the apoptosis and the genes regulating apoptosis in the early differentiation of human embryo. *Gen Physiol Biophys* 18 : 96-99, 1999.

Lichnovsky V, Kolar Z, Tauber Z, Bocek M : Expression of Bcl-2 protein in tissues and organs of the human embryo. *Acta Univ Palacki Olomuc Fac Med* 140 : 39-42, 1996.

Lu QL, Poulosom R, Wong L, Hanby AM : Bcl-2 expression in adult and embryonic non-haematopoietic tissues. *J Pathol* 169 : 431-437, 1993.

Mirkes PE : 2001 Warkany lecture: To die or not to die, the role of apoptosis in normal and abnormal mammalian development, *Teratology* 65 : 228-39, 2002.

Novack DV, Korsmeyer SJ : Bcl-2 Protein Expression During Murine Development. *Am J Physiol* 145 : 61-73, 1994.

Ratts VS, Tao XJ, Webster CB, Swanson PE, Smith SD, Brownbill P, Krajewski S, Reed JC, Tilly JL, Nelson DM : Expression of Bcl-2, BAX and BAK in the trophoblast layer of the term human placenta: a unique model of apoptosis within a syncytium. *Placenta* 21 : 361-366, 2000.

Sorenson CM, Rogers SA, Korsmeyer SJ, Hammerman MR : Fulminant metanephric apoptosis and abnormal kidney development in bcl-2-deficient mice. *Am J Physiol* 268 (1 Pt 2) : F73-81. 1995.

- Strasser A, Harris AW, Cory S : Bcl-2 transgene inhibits T cell death and perturbs thymic self-censorship. *Cell* 67 : 889-899, 1991.
- Vekrellis K, McCarthy MJ, Watson A, Whitfield J, Rubin LL, Ham J : Bax promotes neuronal cell death and is downregulated during the development of the nervous system. *Development* 124 : 1239-1249, 1997.
- Yang J, Liu X, Bhalla K : Prevention of apoptosis by bcl-2: release of cytochrome c from mitochondria blocked. *Science* 275 : 1129-36, 1997.
- Yang E, Zha J, Jockel J, Boise LH, Thompson CB, Korsmeyer SJ : Bad, a heterodimeric partner for Bcl-x and Bcl-2 displaces bax and promotes cell death. *Cell* 80 : 285-291, 1995.

Legends for Figures

Various human organs in development immunostained for Bcl-2 followed by counterstaining with Mayer's hematoxylin.

Fig. 1. An tissue-array slide.

Fig. 2. Lung (16 wk). Immunoreactivity for Bcl-2 appeared in the most of basal cells in the bronchus. × 100.

Fig. 3. Lung (28 wk). Immunoreactivity for Bcl-2 appeared in the alveolar interstitium. × 100.

Fig. 4. Kidney (16 wk). Immunoreactivity for Bcl-2 appeared densely in the tubular cells and the epithelium of Bowman's capsule. × 100.

Fig. 5. Kidney (28 wk). Immunoreactivity for Bcl-2 appeared weakly in the epithelium of Bowman's capsule. × 100.

Fig. 6. Thymus (16 wk). Immunoreactivity for Bcl-2 appeared in the lymphocytes of thymic medulla. × 100.

Fig. 7. Thymus (28 wk) Immunoreactivity for Bcl-2 decreased in the lymphocytes of thymic medulla. × 100.

Fig. 8. Placenta (19 wk). Immunoreactivity for Bcl-2 appeared in the syncytiotrophoblastic cells densely. × 100.

Fig. 9. Placenta (28 wk). Immunoreactivity for Bcl-2 in syncytiotrophoblastic cells is decreased. × 100.

Fig. 10. Endometrium (16 wk). Immunoreactivity for Bcl-2 appeared in the basal cells of endometrial epithelium. × 100.

Fig. 11. Testis (16 wk). Immunoreactivity for Bcl-2 appeared in the tubular interstitium. × 100.

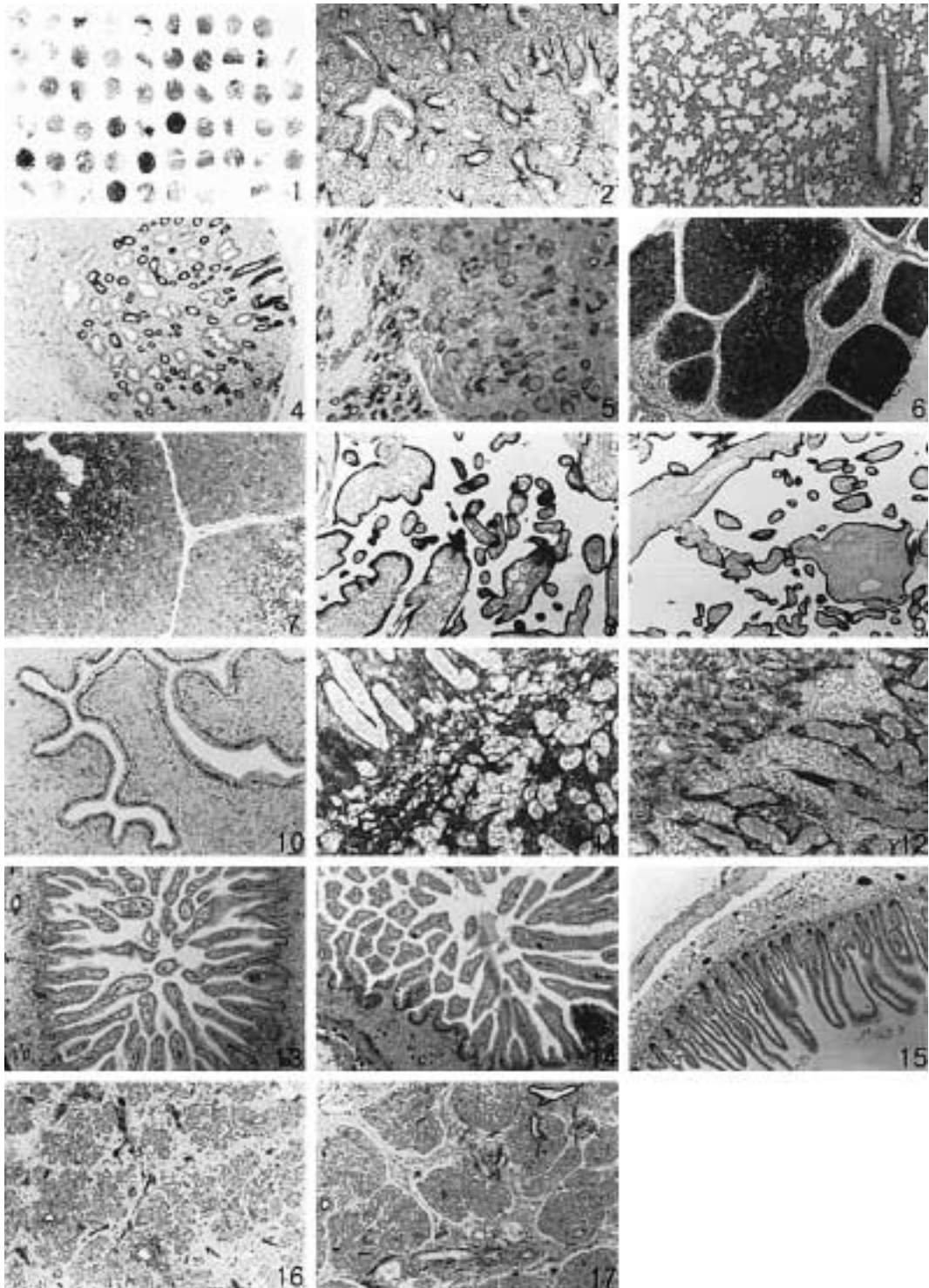
Fig. 12. Testis (28 wk). Immunoreactivity for Bcl-2 is not changed in the tubular interstitium. × 100.

Figs. 13-15. Small intestine (16 wk, 19 wk and 28 wk). Immunoreactivity for Bcl-2 appeared in the epithelium of intestinal gland, myenteric plexus and submucosal plexus. × 100.

Fig. 16. Pancreas (16 wk). Immunoreactivity for Bcl-2 appeared in the interlobular space. × 100.

Fig. 17. Pancreas (28 wk). Immunoreactivity for Bcl-2 appeared in the ductal epithelium. × 100.

— 발생과정의 Bcl-2 분포 —



Abstract

Study on the Bcl-2 Expression in Korean Fetal Development Using a Tissue-array Technique

Young-Bok Yoo, Young-Il Lee, Byung-Lan Lee¹

*Department of Anatomy, College of Medicine, ¹Seoul National University, Seoul, Korea,
Dankook University, Chonan, Korea*

Apoptosis is a genetically programmed cell death that is required for morphogenesis during embryogenic development and for tissue homeostasis in adult organisms. Although apoptosis is important in the development, expression of apoptosis-related genes has been studied mostly in the cancers and neurodegenerative diseases. We intended to obtain the basic data in order to understand the role of the apoptosis-related genes including bcl-2 in the apoptosis in the human development. Immunohistochemistry for Bcl-2 was performed using Korean fetal lung, kidney, thymus, placenta, testis, small intestine, pancreas, skin, urinary bladder tissues in the 14 ~ 30 weeks of the human development. Our results showed that Bcl-2 appeared in early stages of human development in the lung, kidney, thymus, placenta, small intestine, pancreas. As differentiation grew, expression of Bcl-2 decreased and had the tendency of localizing in the bronchial epitheliums, tubular epitheliums, Bowman's epithelium, lymphocytes, syncytial trophoblasts, intestinal epitheliums, ganglionic cells, ductal epitheliums of pancreas. We suggested that in the early stages when differentiation didn't occur cell death was suppressed, in the late stages when differentiation was achieving cell death increased to remove the unnecessary portions of the organs to protect the specific cells of the organs having functions.

For the efficiency of the experiment, a high-throughput technique, a tissue-array method was applied which contributed to save time, money and labor without performance errors. Tissue-array technique will be useful to fasten the developmental studies.

Key words : Apoptosis, Development, Bcl-2, Tissue-array