

## 초기 정상임신과 계류유산에서의 세포자멸사 억제인자 (bcl-2)의 발현

이지애 · 김정옥 · 최범채<sup>1</sup> · 양광문<sup>1</sup>  
조영열<sup>2</sup> · 홍성란<sup>3</sup>

성균관대학교 의과대학 삼성제일병원  
불임연구실, <sup>1</sup>산부인과, <sup>3</sup>조직병리과  
<sup>2</sup>조산부인과의원

접 수 : 2000년 9월 5일  
게재승인 : 2000년 12월 29일

책임저자 : 홍 성 란  
우 100-380 서울시 중구 목정동 1-19  
삼성제일병원 조직병리과  
전화: 02-2000-7661  
Fax: 02-2000-7779  
E-mail: sungran@samsung.co.kr

\*본 연구는 삼성제일병원 연구비의 지원으로 이루어졌음.

### Immunolocalization of the Apoptotic Inhibiting Protein (bcl-2) in Early Normal Pregnancy and Abortion

Jiae Lee, Jeong Wook Kim, Bum Chae Choi<sup>1</sup>, Kwang Moon Yang<sup>1</sup>  
Young Youl Cho<sup>2</sup> and Sung Ran Hong<sup>3</sup>

Laboratory of Reproductive Medicine; <sup>1</sup>Department of Obstetrics and Gynecology; <sup>3</sup>Department of Pathology, Samsung Cheil Hospital and Women's Healthcare Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul; <sup>2</sup>Dr. Cho's Women's Clinic, Kuri, Korea

**Background :** The human placenta is an important organ in the maintenance of pregnancy, having functions in maturation and differentiation until the end of pregnancy. The bcl-2 protein is a proto-oncogene that prevents apoptosis and maintains cell survival. However, the mechanism through which bcl-2 inhibits apoptosis is unclear. The aims of this study are to localize bcl-2 at the placenta and to determine whether the expression of bcl-2 in early normal pregnancy is different from that of a missed abortion. **Methods :** Immunohistochemistry was performed for bcl-2 in formalin-fixed chorionic villi and decidua tissue collected from five early normal pregnancies and eleven missed abortions having histories of recurrent abortions during the first trimester. **Results :** The bcl-2 protein was observed in the syncytiotrophoblasts of chorionic villi and decidua in both the normal pregnancy and the missed abortion, and the expression of bcl-2 significantly increased in the missed abortion group ( $p < 0.05$ ). **Conclusion :** The bcl-2 may be necessary to maintain pregnancy through modulating the survival of the syncytiotrophoblast and decidua without affecting cell proliferation, and the increased bcl-2 expression is presumed to be a reparative process to the increased apoptotic activity.

**Key Words :** Pregnancy, Missed abortion, Placenta, Apoptosis, bcl-2

임신 동안에 반-동종이식인 태아(semi-allogeneic fetus)는 모체의 자궁, 조혈세포 및 면역세포와 직접 혹은 간접적으로 다양하게 접촉하고 있다. 그러나 아직까지도 부계항원을 표현하는 태아가 면역학적으로 부적절한 자궁 내에서 문제 없이 생존해 나가는 것에 대한 이해가 부족하며, 이러한 현상을 설명하기 위한 이론들도 여러 가지로 제시되어 왔다. 그 중 대표적인 것은 영양막(trophoblast) 표면에서 전형적인 제 I 형 및 제 II 형의 HLA 항원 결핍과 비전형적인 HLA-G 발현의 감소이다. 이들 감소는 동종항원으로부터 태아를 보호하는 기전으로 궁극적으로는 모체 림프구에 의한 면역공격으로부터 태아를 해방시킬 수 있다.<sup>1</sup> 그리고 탈락막에서의 항염증성 사이토카인인 TGF- $\beta$ 2, IL-4와 IL-10이 염증성 사이토카인인 IL-2, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ 에 상반되게 작용을 하여 세포매개면역을 미약하게 만들고 체액성 면역반응을 증진시켜,<sup>2,3</sup> 자궁이 면역학적인 특구로서 만삭까

지 태아의 생존에 중요한 역할을 담당하게 한다.<sup>2-4</sup> 최근 보고에 의하면 탈락막내의 국소적인 사이토카인의 균형과 조직 개형은 착상에 있어서 중요한 요소이며, 이러한 현상은 세포자멸사와 관련이 있다고 하였다.<sup>5</sup>

세포자멸사란 생리적으로 발생하는 예정 세포사로 원치 않는 세포가 제거되는 자연 과정을 말한다.<sup>6</sup> 잘 조절된 세포자멸사는 태아 착상과 임신초기 동안에 중요하다. 세포자멸사는 세포자멸사를 억제하는 유전자와 유도하는 유전자들에 의해 조절된다. 세포자멸사의 발생에서 세포를 보호하며 세포 생존을 도모하는 bcl-2 (B cell lymphoma/leukemia) 유전자는 원형종양유전자(proto-oncogene)의 일종으로 B세포 백혈병과 비호즈킨의 여포성 임프종에서 종종 발견되는 t(14:18) 염색체 이상에 대한 연구에서 염색체 18q21에 위치하고 있다는 것이 확인되었다.<sup>7-9</sup> 그 산물인 bcl-2 단백질은 내형질세망(endoplasmic reticulum),

미토콘드리아와 핵막 등에 존재하면서<sup>10</sup> 사이토카인과 함께 세포자멸사를 억제하여 정상세포의 교체에 중요한 역할을 한다.<sup>11</sup> Bcl-2는 자궁내막, 유방, 갑상선, 전립선, 피부, 생존기간이 긴 장관 및 신경세포 등<sup>10,12</sup>에 존재하고, 사람 태반의 융모내 합포 영양막(syncytiotrophoblast)에서 임신초기부터 말기까지 지속적으로 발현한다.<sup>13</sup> Bcl-2가 세포자멸사를 억제하여 세포의 생존을 연장시키는 역할에 대하여는 이미 잘 알려져 있으나, 그 작용기전은 아직 확실하게 설명되어 있지 않다. 또한 임신초기 태반조직에서의 bcl-2의 발현과 반복유산 환자에서의 발현에 관한 연구는 미미한 실정이다. 이에 저자들은 태반-자궁 사이에서의 bcl-2의 발현 위치를 확인하고 임신 제 1삼분기 동안에 계류유산된 원인불명의 반복유산과 정상임신에서 bcl-2의 발현정도를 비교 분석하였다.

### 재료와 방법

#### 재료

임신 제 1삼분기 동안에 본 병원 산부인과에 내원한 산모로, 이전 유산경력이 없이 외과적 인공유산을 한 5명과 반복유산의 과거력을 가지고 있으면서 계류유산된 환자 11명을 대상으로 하였다. 임신 주수는 최종 월경일과 초음파로 정하였다. 인공유산군과 계류유산군 각각의 평균 나이는 29.1세와 31.5세였고, 평균 임신 주 수는 각각 8.2주와 7.9주였다.

#### Bcl-2에 대한 면역조직화학염색

소파 수술 후 즉시 검체를 10%의 중성 포르말린에서 24시간 고정한 후 파라핀 포매한 블록을 5 μm 두께로 박절한 다음 xylene으로 파라핀을 제거하였다. 0.01M sodium citrate로 도포한 후에 마이크로웨이브 오븐에서 3분간 열처리하였다. 열처리 후 3% 과산화수소수 용액에 5분간 처리하여 내인성 페록시다제를 제거하였다. 차가운 0.5 M Tris buffered saline (TBS)에 3번 세척 후에 goat serum (DAKO, Carpenteria, CA, U.S.A.)을 도포하여 20분간 반응시켰다. Mouse anti-human bcl-2 항체(DAKO, Carpenteria, CA, U.S.A.)를 1:40으로 희석하여 도포하고 30분간 반응시켰다. 그 후 avidin-biotin-peroxidase detection system을 이용하였다. 반응 후 기질인 diaminobenzidine을 도포한 후 Meyer's hematoxylin으로 대조염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

Bcl-2의 면역반응이 세포질에 국한되어 뚜렷이 갈색으로 염색되는 세포를 양성으로 판독하였다. 염색의 강도에 따라 양성을 약양성(+), 중양성(++), 및 강양성(+++)으로 구분하였고 염색이 전혀 되지 않으면 음성(-)으로 하였다. 탈락막의 자궁내막선, 자궁내막기질과 태반 융모의 세포영양막(cytotrophoblast)

및 합포영양막에서 염색강도와 그강도에 따른 세포의 비율을 관찰하였다. Bcl-2의 염색 정도를 반 정량하기 위하여 histochemical score (H-score) = ΣPi (i+1)의 공식을 이용하였다.<sup>14</sup> 이때 i는 각 세포가 나타내는 양성도로 0 (음성), 1 (약양성), 2 (중양성), 3 (강양성)으로 구분하여 관찰하였고, Pi는 각 i의 세포가 차지하는 백분율이다. 즉 염색이 잘된 부위에서 최소한 100개 이상의 세포에 대한 염색강도와 각 양성도에 따른 세포의 비율을 관찰하여 H-score를 구하였다. 통계적 분석을 위해 Mann-Whitney U test를 사용하였다.

### 결 과

임신 제 1삼분기 산모를 대상으로 소파 수술 후 얻은 임신 부산물에서 융모막융모(chorionic villi)와 탈락막을 동시에 염색하였다. 반복유산의 과거력을 가지고 있는 계류유산군과 인공유산

Table 1. H-score in artificial and missed abortions

Case	Cause of MA	Chorionic villi		Decidua	
		CT	ST	Gland	Stroma
AA		100	270	231	100
AA		100	296	212	121
AA		100	264	100	100
AA		100	293	140	100
AA		100	282	170	100
MA	Anatomic	100	398	255	152
MA	Anatomic	100	310	80	100
MA	Anatomic	100	400	300	100
MA	Autoimmune	108	400	89	106
MA	Hormonal	100	400	293	148
MA	Unexplained	100	400	198	110
MA	Unexplained	00	362	290	160
MA	Unexplained	100	399	209	100
MA	Unexplained	100	337	222	110
MA	Unexplained	100	400	300	151
MA	Unexplained	100	400	150	110

H-score: histochemical score, AA: artificial abortion, MA: missed abortion, CT: cytotrophoblast, ST: syncytiotrophoblast.

Table 2. Comparison of bcl-2 expression between artificial and missed abortions

Tissue	Group	No. of case	Median H-score (range)
Syncytiotrophoblast	AA	5	282 (264-296)
	MA	11	400 (310-400)*
Decidual gland	AA	5	170 (100-231)
	MA	11	322 (180-400)*
Decidual stroma	AA	5	100 (100-121)
	MA	11	110 (100-163)

AA: artificial abortion, MA: missed abortion, H-score: histochemical score. \*: p<0.05 (Mann-Whitney U test).

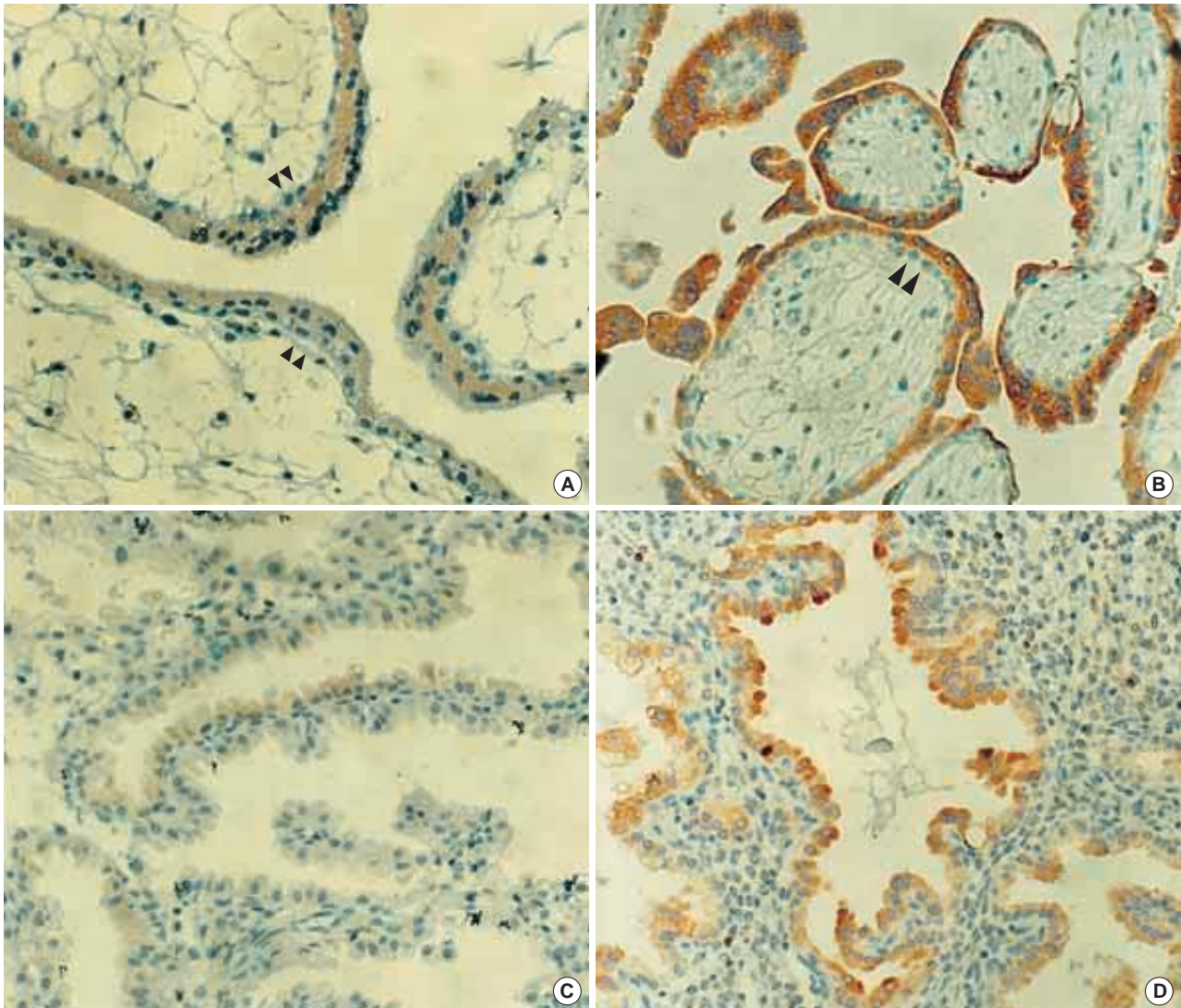


Fig. 1. Immunohistochemical stain for bcl-2 protein in chorionic villi and decidua. Chorionic villi show a no reactivity in cytotrophoblasts (arrowheads), and weak (A) and strong (B) positive reactions in early normal pregnancy and missed abortion syncytiotrophoblasts, respectively. Decidua reveals weak (C) and relatively strong (D) immunoreactivity in the glandular epithelium of normal early pregnancy and missed abortion, respectively.

군 모두에서 용모막용모의 세포영양막은 bcl-2 면역염색에 대하여 음성반응을 보였으나, 합포영양막과 탈락막의 자궁내막선 및 기질은 양성반응을 보였다(Fig. 1). 인공유산군과 계류유산군에서 bcl-2의 염색 강도에 따른 H-score를 비교하여 보면(Table 1), 용모막용모의 합포영양막과 탈락막의 자궁내막선에서의 점수가 각각 282 대 400과 170 대 322로 계류유산군에서 통계적으로 의의 있게 높았다( $p < 0.05$ ) (Table 2). 자궁내막 기질에서의 bcl-2 염색은 자궁내막선에 비하여 훨씬 약하고 국소적이었고, 계류유산군에서 다소 약하였지만 인공유산군과 계류유산군간에 의미있는 차이는 없었다. 또한 계류유산의 원인에 따른 통계적 차이도 보이지 않았다. 결과적으로 bcl-2는 임신 제 1삼분기 동안에 합포영양막과 탈락막의 자궁내막선 및 기질에서 주로

발현하였으며, 정상임신군에 비하여 계류유산군은 용모막용모의 합포영양막과 자궁내막선에서 통계적으로 의의있게 bcl-2의 강한 발현을 보였다( $p < 0.05$ ).

## 고찰

임신시 영양막과 탈락막의 성장은 호르몬 및 여러 성장인자들의 복잡한 상호작용에 의하여 이루어지며, 이때 여러 원형 종양 유전자 및 성장인자는 세포 증식 및 분화의 조절에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되어 있다.<sup>15-18</sup> 또한 건강한 개체를 유지하기 위하여 필요한 세포의 자연적인 교체와 전환 활동인 세포자

멸사는 성장인자, 호르몬, 그리고 다른 인자들에 의하여 조절된다. 세포자멸사와 관련된 인자들에는 proapoptotic (bax, bcl-xs, p53) 단백질과 antiapoptotic (bcl-2, bcl-xl, mcl-1) 단백질이 있다. Bcl-2는 세포자멸사를 억제하여 세포의 생존을 유지하고,<sup>19,20</sup> 세포의 증식과 분화에 관여하는 등 세포에서 다양한 역할을 하는 것으로 보고되어 있다.<sup>21</sup> 본 연구는 임신 중 영양막과 탈락막에서 세포자멸사를 억제하는 bcl-2의 존재 부위를 규명하고 또한 정상임신군과 계류유산군에서의 bcl-2를 비교함으로써, 계류유산에서의 bcl-2 관련여부를 보고자 하였다. 그 결과 정상임신의 합포영양막과 탈락막에서 bcl-2의 존재를 확인하였고, 또한 정상임신군에 비해 계류유산군의 합포영양막과 탈락막의 자궁내막선세포에서 통계적으로 유의 있게 bcl-2가 많이 존재함을 알 수 있었다.

태반용모 영양막에서의 bcl-2 발현은 다양하게 보고되어 있다. bcl-2는 임신 초기의 용모내 및 용모외의 영양막, 용모내 간질세포, 용모내 혈관세포, 용모내 대식세포, 중간영양막(intermediate trophoblast), 양막상피, 탈락막 등 태반에 관련된 모든 세포에서 양성반응을 보였고, 태반이 이미 성숙된 임신 말기에서 보다는 활발하게 증식하는 임신 초기 및 중반기에서 높게 나타나, bcl-2가 세포 증식과 성숙에 관련이 있음을 시사하였다.<sup>22</sup> 이와같이 bcl-2는 증식성 세포인 세포영양막에서 발현된다는 보고도 있으나, 대부분은 이미 성숙된 세포인 합포영양막에서만 bcl-2가 발현된다는 보고들이다.<sup>13,23,24</sup> Marzioni 등<sup>24</sup>의 보고에 의하면 bcl-2는 임신 초기와 말기의 세포영양막이나 용모내 간질세포에서는 발현이 없었고 합포영양막에서만 발현하였으며 특히 섬유소 침착이 많이 있는 부위의 합포영양막에서 많이 출현하였으므로, 모체와의 면역반응에 대한 방어 기전으로 섬유소 침착과 함께 bcl-2가 증가한 것으로 이해된다. 즉 bcl-2는 면역반응으로 손상된 영양막의 보상(reparative process) 및 태반의 보존에 필요한 인자로서 세포증식에 관여하기 보다는 세포생사에 관여하는 인자임을 강조하였다. 본 연구에서도 세포영양막은 음성반응을 보였고 합포영양막에서만 bcl-2가 존재하여 bcl-2가 세포증식보다는 세포생사에 더 관여함을 시사하였다.

자궁내막에서 bcl-2는 비임신성 및 임신성 자궁내막 선세포와 간질세포에 발현하며 증식기에 비하여 분비기에 더 많이 존재한다고 보고된 바 있다.<sup>22,23</sup> 본 연구에서도 탈락막의 선세포와 간질세포 모두에서 bcl-2가 나타났으나, 간질세포보다는 선세포에서 더 선명하게 발현하였고 정상임신군에 비하여 유산군에서 더 높게 나타났다. 이와 같은 bcl-2는 임신중 모체-태아간의 물질교환, 면역반응의 억제, 호르몬 생성 등에 중요한 역할을 하는 합포영양막 및 탈락막의 생존에 필요한 인자임을 알 수 있었다.

발현된 bcl-2의 정량이 다양하게 보고되어 있다. 임신 주수에 따른 bcl-2의 발현도를 보면, 임신 초기와 말기 영양막에서 차이가 거의 없다는 보고가 있는가 하면<sup>13,25</sup> 임신 초기에서 유의 있게 bcl-2 발현도가 증가한 보고도 있다.<sup>22</sup> Lea 등<sup>23</sup>에 의하면 임신이 실패한 유산군에 비하여 정상 임신에서 bcl-2가 높게 발

현하였는데, 이는 본 연구 결과와 반대되는 소견이다. 이와 같이 bcl-2 발현도가 다양하게 나타나는 것은 한 태반 내에 다양한 정도의 태반 손상이 있다는 것을 의미한다고 이해한 보고가 있다.<sup>25</sup> 그러나 이에 대해서는 세포자멸사와의 관계를 살펴 볼 필요가 있다. Bcl-2가 세포자멸사를 억제하는 기능을 한다는 것이 밝혀져 있으나 그 작용 기전은 아직 명확하게 밝혀져 있지 않다. 임신 주수에 따른 영양막에서의 세포자멸사 정도는 임신 초기나 중기보다 말기에서 높게 나타났고,<sup>26</sup> 정상 임신에 비하여 유산된 경우에 많이 나타났다.<sup>27</sup> 이와 같이 bcl-2 발현도는 대체적으로 세포자멸사와 역비례하거나 의의가 없는 관계를 보여 주었다. 그러나 최근 다른 문헌에 의하면 세포자멸사와 bcl-2가 정상 임신에서보다는 자궁내 태아 발육지연의 태반에서 그 발현이 더 증가되는 비례적인 관계를 보였다.<sup>28</sup> Bcl-2와 세포자멸사의 역비례적인 관계는 증가된 bcl-2가 사이토카인에 의하여 유발된 세포자멸사를 억제하거나,<sup>29</sup> 세포자멸사로 인한 세포파괴 시 bcl-2도 파괴되어 감소되는 기전으로 설명하였다.<sup>30</sup> 이에 반하여 비례적인 관계는 세포자멸사가 발생하면서 이를 보상하기 위하여 bcl-2 발현이 증가한 것이라고 설명하였다.<sup>28</sup> 본 연구에서 세포자멸사(Fas 또는 FasL)에 관한 연구는 실시하지 못하였지만, 다른 문헌에서 정상 임신에 비하여 유산된 경우에 세포자멸사가 많이 나타난 점<sup>27</sup>을 미루어 볼 때, 정상임신군에 비해 계류유산군의 높은 bcl-2 발현은 유산에 따른 세포자멸사를 보상하기 위하여 이차적으로 증가한 것이라고 설명할 수 있겠다.

본 연구는 초기 정상 임신 5명과 임신 제 1삼분기 동안 반복 유산의 경험이 있는 계류유산환자 11명을 대상으로 영양막과 탈락막에서 세포자멸사를 억제하는 bcl-2의 존재 부위를 규명하고, 정상 임신군과 계류유산군을 비교함으로써 계류유산에 있어 bcl-2의 관련여부를 보고자 하였다. 그 결과 정상 및 유산된 태반의 합포영양막과 탈락막에서 bcl-2의 존재를 확인하였고, 정상 임신군에 비해 계류유산군의 합포영양막과 탈락막의 자궁내막선에서 통계적으로 유의 있게 bcl-2가 많이 발현함을 결론적으로 말하여 bcl-2는 합포영양막과 탈락막 보존에 필요한 인자로, 세포증식보다는 세포생사에 더 관여하며, 세포자멸사에 대하여 bcl-2가 보상적으로 증가한 것이라고 추측할 수 있다.

### 참고문헌

1. Roitt IM. Essential immunology. 8th ed. Oxford: Blackwell Scientific Publication, 1994; 358-9.
2. Chaouat G, Assal MA, Martal J, et al. IL-10 prevents naturally occurring fetal loss in CBA\*DBA/2 mating combination and local defect in IL-10 production in this abortion-prone combination is corrected by *in vivo* injection of IFN-tau. J Immunol 1995; 154: 4261-8.
3. Wegmann TG, Lin H, Guilber L, Mosmann TR. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful

- pregnancy a TH2 phenomenon? *Immunol Today* 1993; 14: 353-6.
4. Tafuri A, Alferlink J, Moller P, Hammerling GJ, Arnold B. T cell awareness of paternal alloantigens during pregnancy. *Science* 1995; 270: 630-3.
  5. Thompson ZB. Apoptosis and steroid hormones. *Mol Endocrinol* 1994; 8: 665-73.
  6. Palumbo A, Yeh J. Apoptosis as a basic mechanism in the ovarian cycle: follicular atresia and luteal regression. *J Soc Gynecol Invest* 1995; 2: 565-73.
  7. Yunis U, Oken MM, Kalpan MK. Distinctive chromosomal abnormalities in histologic subtypes of non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 1982; 307: 1231-6.
  8. Bakhshi A, Jensen JP, Goldman P. Cloning the chromosomal breakpoint of t(14:18) human lymphomas: clustering around JH on chromosome 14 and near a transcriptional unit on chromosome 18. *Cell* 1985; 41: 899-906.
  9. Tsujimoto Y, Finger LR, Yunis U. Cloning of the chromosome breakpoint of the neoplastic B cells with the t(14:18) chromosome translocation involved in B-cell neoplasms result from mistakes in VDJ joining. *Science* 1985; 229: 1390-3.
  10. Hockenbery DM, Zutter M. Bcl-2 protein is topographically restricted in tissues characterized by apoptotic cell death. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 6961-5.
  11. Poommipanit PB, Chen B, Oltvai ZN. Interleukin-3 induces the phosphorylation of a distinctive fraction of Bcl-2. *J Biol Chem* 1999; 274: 1033-9.
  12. Lu QL, Poulson R, Wong L. Bcl-2 expression in adult and embryonic non-haematopoietic tissues. *Am J Pathol* 1993; 169: 431-7.
  13. Sakuragi N, Matsuo H, Coukos G, *et al.* Differentiation-dependent expression of the Bcl-2 proto-oncogene in the human trophoblast lineage. *J Soc Gynecol Invest* 1994; 1: 164-72.
  14. Leone M, Cucuccio S, Venturini PL. Immunohistochemical localization of epidermal growth factor receptor in leiomyoma from women treated with goserelin depot. *Horm Metab Res* 1991; 23: 442-5.
  15. Pfeifer-Ohlsson SB, Goustin AS, Rydnert J. Spatial and temporal pattern of cellular myc oncogene expression in developing human placenta: implications for embryonic cell proliferation. *Cell* 1984; 38: 585-96.
  16. Pollard JW, Bartocci A, Arceci R. Apparent role of the macrophage growth factor, CSF-1, in placental development. *Nature* 1987; 330: 484-6.
  17. Ohlsson R. Growth factors, protooncogenes and human placental development. *Cell Differ Dev* 1989; 28: 1-15.
  18. Dungy LJ, Siddiqi TA, Kahn S. C-jun and jun-B oncogene expression during placental development. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165: 1853-6.
  19. Katz VL, Kuller JA. Recurrent miscarriage. *Am J Perinatol* 1994; 11: 386-97.
  20. Bulmer JN, Longfellow M, Ritson A. Leukocytes and resident blood cells in endometrium. *Ann NY Acad Sci* 1991; 622: 57-68.
  21. Lockwood CJ, Rand JH. The immunobiology and obstetrical consequences of antiphospholipid antibodies. *Obstet Gynecol Surv* 1994; 49: 432-41.
  22. Kim CJ, Choe YJ, Yoon BH, Kim CW, Chi JG. Patterns of bcl-2 expression in placenta. *Pathol Res Pract* 1995; 191: 1239-44.
  23. Lea RG, Al-Sharekh N, Tulppala M, Critchley HOD. The immunolocalization of bcl-2 at the maternal-fetal interface in healthy and failing pregnancies. *Hum Reprod* 1997; 12: 153-8.
  24. Marzioni D, Muhlhauser J, Crescimanno C, Banita M, Pierleoni C, Castellucci M. Bcl-2 expression in the human placenta and its correlation with fibrin deposits. *Hum Reprod* 1998; 13: 1717-22.
  25. Ho S, Winkler-Lowen B, Morrish DW, Dakour J, Li H, Guilbert LJ. The role of bcl-2 expression in EGF inhibition of TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$ -induced villous trophoblast apoptosis. *Placenta* 1999; 20: 423-30.
  26. Runic R, Lockwood CJ, LaChapelle L, *et al.* Apoptosis and fas expression in human fetal membrane. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 660-6.
  27. Kokawa K, Shikone T, Nakano R. Apoptosis in human chorionic villi and decidua during normal embryonic development and spontaneous abortion in the first trimester. *Placenta* 1998; 19: 21-6.
  28. Chan CCW, Lao TT, Cheung ANY. Trophoblastic proliferation and apoptosis in pregnancies complicated by intrauterine growth restriction. *Placenta* 1999; 20: A16.
  29. Chen M, Quintans J, Fuks Z, Thomson C, Kufe CW, Weichselbaum RR. Suppression of bcl-2 messenger RNA production may mediate apoptosis after ionizing radiation, tumor necrosis factor alpha, and ceramide. *Cancer Res* 1995; 55: 991-4.
  30. Houge G, Doskeland SO. Divergence towards a dead end? Cleavage of the divergent domains of ribosomal RNA in apoptosis. *Experientia* 1996; 52: 963-7.