

All-trans Retinoic Acid의 식이 보충이 랫드의 간 발암과정에 미치는 영향

서울대학교 의과대학 병리학교실

이 미 숙 · 이 민 재 · 장 자 준

Effects of All-trans Retinoic Acid Supplementation on Rat Liver Hepatocarcinogenesis

Mi-Sook Lee, Min-Jae Lee and Ja-June Jang

Department of Pathology, Seoul National University College of Medicine,
Seoul 110-799, Korea

Various liver diseases are associated with changes in retinoic acid metabolism and storage. These observations have led to speculation about whether retinoic acid level has an impact on hepatocarcinogenesis. In this study we have investigated the potential roles of retinoic acid in the preneoplastic stage of diethylnitrosamine (DEN) induced rat hepatocarcinogenesis. In addition, we also determined the relationship between retinoic acid supplementation and cell cycle-related proteins such as cyclin D1, cyclin E, CDK4, and p21. Three-week old female Sprague-Dawley rats were divided in two groups and DEN (50 mg/kg) was injected intraperitoneally twice in 1 week. And then, all rats received 0.5 ml/kg carbon tetrachloride (CCl₄) injection for 4 weeks. Phenobarbital was also treated during 10 weeks, after CCl₄ injection. In test group, 0.0012% all-trans retinoic acid was added to the AIN76 diet and treated during the experimental period. All animals were sacrificed 10 weeks after CCl₄ treatment. The results show that retinoic acid supplementation increases in glutathione-s-transferase placental form positive (GST-P⁺) foci number and area compared with control group. Proliferating cell nuclear antigen index was also increased by retinoic acid supplementation. However, liver collagen contents and cell cycle related proteins such as cyclin D1, cyclin E, CDK4, and p21 do not changed. These results demonstrate that retinoic acid may have promoting effect on DEN induced rat hepatocarcinogenesis. Additional studies are needed to understand the mechanism of the promoting effect.

Key Words: All-trans retinoic acid, Hepatocarcinogenesis, GST-P⁺ foci

서 론

암은 현재 전 세계 사망률 1위를 차지하고 있으며 수많은 연구자들의 노력에도 불구하고 아직

까지 완전히 정복되지 않은 채 인류의 건강을 끊임없이 위협하고 있다. 이처럼 완치가 어려운 상황에서 암의 예방은 더욱 중요한 의미를 갖는다. 암의 화학적 예방이란 약물 또는 자연계의 물

질로 암의 진행을 억제하는 것을 말하는 것으로 암화과정의 개시단계에서 DNA손상을 억제하거나 이미 손상이 일어난 전암성세포의 진행을 억제하는 작용을 갖는다. 뿐만 아니라 이러한 물질들은 특히 종양 제거수술 후 새로운 종양의 생성을 억제하기 위해 사용되기도 한다.¹⁾

필수 영양소의 하나인 비타민 A는 상피세포의 건강이나 시력의 유지 등 이미 알려진 기능 이외에 화학적 암예방의 가능성이 있는 물질로 주목받고 있는데 상반되는 연구 결과 또한 발표되고 있다. 식품섭취와 암 발생의 상관관계에 대한 역학조사에서 비타민 A의 섭취량과 폐암 위험도가 남성 흡연자에 있어서 역의 상관관계를 나타내었다.²⁾ 그러나 이 연구에서 여성 흡연자의 경우 아무런 상관관계가 없었다. 또한 5년에 걸친 추적조사에서 혈청 내 retinol 함량이 낮은 경우 간세포암종의 발생 위험률이 증가하는 것으로 보고되었다.³⁾ 그러나 식이 중 비타민 A의 섭취량과 폐암 발생률간의 상관관계를 19년간 추적조사한 또 다른 연구에서는 이 두 가지 인자 사이에 아무런 상관관계가 없는 것으로 나타나기도 하였다.⁴⁾

한편 환자를 대상으로 실시된 연구에서 Riecken 등⁵⁾은 췌장암 환자에게 retinoic acid와 interferon-alpha를 함께 투여했을 때 약 3분의 2 정도의 환자에서 치료효과가 나타났다고 보고하였다. 그러나 간세포암종 환자에게 all-trans retinoic acid 투여시 심한 독성으로 치료에 효과적이지 못했다는 보고⁶⁾도 있고, 간암 수술을 받은 환자에게 acyclic retinoid인 polyprenoic acid를 복용시킨 결과 2차성 암의 발생이 현저히 줄어들었다는 연구 결과⁷⁾도 보고되었다.

암세포를 이용한 *iv vitro* 실험결과는 간암,⁸⁾ 전립선암,⁹⁾ 췌장암,¹⁰⁾ 유방암¹¹⁾세포에서 retinoic acid 처리시 암세포의 성장이 현저하게 억제되는 것으로 나타났다.

그러나 동물실험에서는 쥐의 간암화 과정에서 억제작용을 나타낸다는 보고¹²⁾가 있는 반면 촉진작용을 나타낸다는 보고¹³⁾도 있어 좀더 다양한 실험 동물모델을 통한 다각적 연구가 필요한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 all-trans retinoic acid의 식이첨가가 흰 쥐의 간세포암종 발생단계에 미치는 영향을 알아보기 위하여 다음과 같은 실험을

계획하였다.

재료 및 방법

1) 실험동물 처치 및 실험식이

실험동물은 3주령의 암컷 Sprague-Dawley 랫드를 사용하였고, 장¹⁴⁾의 중기 간발암모델을 변형하여 간 발암을 유도하였다. 발암물질은 1주 동안 개시물질로 DEN (diethylnitrosamine)을 50 mg/kg의 농도로 2회 복강내 주사하고, 2주 후부터 4주간 1주에 3회 발암 촉진물질인 CCl₄를 투여하면서 phenobarbital을 0.05% 농도로 음수에 섞어 공급하였다. CCl₄는 12시간 공복시킨 후, corn oil에 녹여 체중 kg당 0.5 ml 농도로 경구투여 하였다 (Fig. 1).

실험식은 CCl₄ 처치가 끝나는 시점부터 AIN-76A¹⁵⁾ 식이를 공급하였으며, retinoic acid보충군은 all-trans retinoic acid를 0.0012% 농도로 식이에 첨가하여 공급하였다(Table 1).

2) 실험동물의 희생 및 시료수집

실험동물은 실험식이로 10주간 사육한 후, 12시간 금식시키고 CO₂ 마취상태에서 개복하여 간을 절제하였다. 간 조직의 일부는 cryo tube에 담아 액체질소로 급속 냉동시킨 후 -80°C에서 보관하였다가 western blot analysis를 실시하였고, 일부는 10% neutral buffered formalin에 고정하여 콜라겐 측정과 조직학적 분석에 이용하였다.

3) 콜라겐 측정

파라핀 포매된 조직절편을 이용하여 간 조직에 침착된 콜라겐을 측정하였다. Sirius red F3B는 collagen과 결합하고, Fast green FCF는 non-collagenous protein과 결합하는 특성을 이용하여 염색을 실시한 후 각각의 최대흡수 파장인 540, 605 nm에서 흡광도를 측정하여 단백질 mg당 collagen 함량(μg)을 측정하였다.¹⁶⁾

4) 조직학적 검사

조직학적 측정을 위하여 formalin에 고정된 간 조직을 조직병리학의 일반적인 방법으로 파라핀 블록을 만든 후 미세절편을 만들어 일반적인 he-

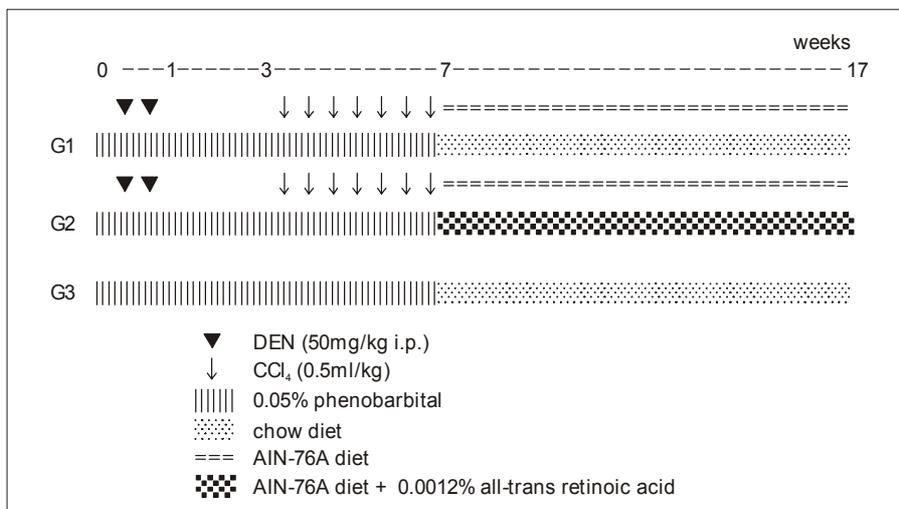


Fig. 1. Experimental design.

Table 1. Diet composition

Component	Amount (%)
Corn starch	50
Cellulose	5
Casein	20
DL-methionine	0.3
Sucrose	15
Corn oil	5
Salt mixture ¹	3.5
Vitamin mixture ²	1.0
Choline chloride	0.2

¹AIN-76A mineral mixture, ²AIN-76A vitamin mixture.

matoxylin and eosin (H&E)염색 및 면역염색을 실시하였다.

Glutathione S-transferase placental form positive (GST-P⁺) foci는 일반적인 ABC법¹⁷⁾을 이용하여 면역조직화화학적 염색을 실시하고, 영상분석장치로 측정하여 간 조직의 단위면적당 foci의 수와 면적으로 나타내었다. GST-P항체(polyclonal Ab, MBL, Japan)는 1 : 200으로 희석하여 사용하였고, foci 수와 면적은 최대직경이 0.2 mm 이상인 것만을 골라서 영상분석장치(VIDEOPLAN, Carl Zeiss,

Germany)로 측정하여 단위면적당 수와 면적으로 계산하여 나타내었다.

Proliferating cell nuclear antigen (PCNA)의 염색 방법은 앞에서 설명한 GST-P⁺ foci와 동일하고 일차항체만을 PCNA 항체(monoclonal Ab, Santa-Cruz, USA)로 바꾸어 사용하였다. 염색의 결과는 현미경으로 관찰하여 PCNA labelling index (LI)로 나타내었다.

5) Western blot analysis

냉동 보관시킨 간 조직을 갈아서 sample buffer (4% SDS, 20% glycerol, 0.2% bromophenol blue, 2.8% 2-mercaptoethanol, 125 mM Tris-HCl pH 6.8)와 1 : 1로 희석한 후 10% SDS-polyacrylamide gel에 전기영동하여 단백질을 분리하였다. Gel을 전기적으로 nitrocellulose membrane에 옮긴 다음 이를 immunoblot에 사용하였다. 비 특이적 반응을 막기 위해 blocking buffer로 blocking시키고 일차항체(p27, CDK4, cyclin D, cyclin E)와 이차항체를 차례로 반응시킨 다음 ECL용액으로 발색시킨 후 X-ray film에 노출하여 band를 얻었다. Band의 density는 BAS 2500의 Tina 2.10 program을 이용하여 정량화하였다.

Table 2. Body weight, liver weight and relative liver weight

	Body weight (g)	Liver weight (g)	Liver/body weight (g)
DEN+CCl ₄	317.3±24.7	14.943±1.678	4.710±0.307*
DEN+CCl ₄ +tRA	307.8±26.1	13.399±1.580	4.362±0.473
Control	334.3±32.0	13.453±1.979	4.010±0.266

*significantly different from control at $p < 0.05$.

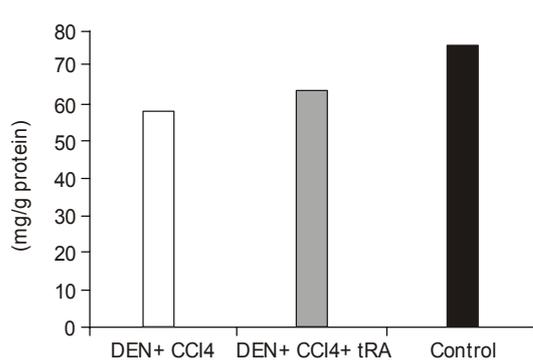


Fig. 2. Effect of retinoic acid on liver collagen content.

결 과

1) 간 섬유화 및 콜라겐 함량

부검 시 육안으로 관찰한 간은 모든 군에서 특별한 이상이 발견되지 않았다. 그러나 체중에 대한 백분율로 나타낸 상대적 간 무게는 DEN을 처리한 군에서 유의적으로 높게 나타났고 retinoic acid 보충은 영향을 미치지 않았다(Table 2).

H&E 염색의 결과 간 섬유화 및 기타 조직병리학적 이상소견은 발견되지 않았으며, 간 조직의 콜라겐 함량 측정 결과도 군간에 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다(Fig. 2).

2) GST-P⁺ foci 형성

간암의 발생에 있어서 전암성 병변의 지표로 사용되는 GST-P⁺ foci는 retinoic acid의 보충에 의해 더욱 증가되었다(Fig. 3). 이는 retinoic acid의 발암 촉진효과를 나타내는 결과로 해석할 수 있다.

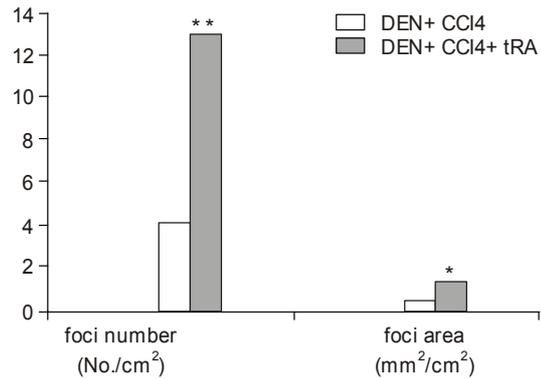


Fig. 3. Effect of retinoic acid on GST-P⁺ foci number and area. *significantly different at $p < 0.05$, **significantly different at $p < 0.001$.

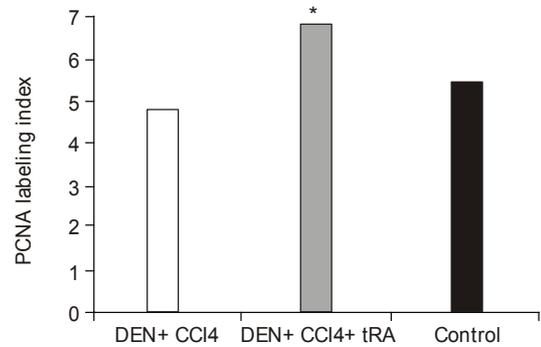


Fig. 4. Effect of retinoic acid on PCNA labeling index. *significantly different from control at $p < 0.05$.

3) PCNA 생성

PCNA는 DNA polymerase- δ 의 보조단백으로서 활발하게 증식하는 세포에서 증가하며, 특히 S phase 동안 현저히 증가하는 것으로 알려져 있으며, 최근 apoptosis와 세포주기와의 관계 및 PCNA

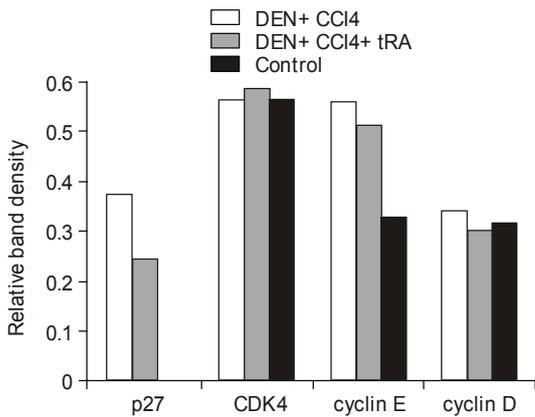


Fig. 5. Effect of retinoic acid on cell cycle related proteins.

에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다.

본 연구에서 PCNA는 retinoic acid 보충시 증가 되는 것으로 나타났다(Fig. 4).

4) 세포주기 관련 단백질 발현

본 연구에서는 세포주기 관련 단백질인 cyclin D, cyclin E, CDK4, p27을 측정 한 결과 retinoic acid 보충에 의한 변화는 관찰되지 않았다(Fig. 5).

고 찰

비타민 A가 간 섬유화에 미치는 영향에 대한 몇 가지 연구를 살펴보면, Okuno등¹⁸⁾은 porcine serum으로 유발된 쥐 간의 섬유화 진행과정에서 acyclic retinoid가 TGF-β를 증가시킴으로써 섬유화를 촉진한다고 보고하였다. 반면, Seifert등¹⁹⁾의 연구에서는 비타민 A 결핍 상태일 때 CCl₄에 의해 유발된 쥐의 간 섬유화를 더욱 촉진시키는 것으로 나타났는데 이러한 결과는 CCl₄ 처리시 간의 비타민 A가 혈액을 통해 유실되어 간 내의 비타민 A 농도가 낮아지고 이것이 섬유모세포로의 전환을 촉진하는 것이라 주장하는 등 아직까지 비타민 A와 간 섬유화에 대해 명확한 결론이 내려지지 않은 상태이다.

비타민 A의 항암 가능성에 대한 연구는 다양한 장기를 대상으로 이루어져 왔다. 쥐의 췌장암에서 retinoids의 투여가 억제효과를 나타내었고, 대장

암²⁰⁾에서도 식이로 섞어준 all-trans retinoic acid가 발암억제효과를 나타내었다. 또한 전립선암 세포의 경우 9-cis retinoic acid가 성장을 억제하였고,⁹⁾ 췌장암 세포¹⁰⁾에서도 동일한 결과가 나타났다.

Baba등¹²⁾의 연구에서는 retinoic acid의 보충이 N-nitrosomorpholine (NNM)으로 유도된 쥐의 간암화 과정에서 GST-P⁺ foci의 발생을 감소시키는 것으로 나타났다. 그러나 Tamura등²¹⁾의 연구에서 all-trans retinoic acid는 DEN으로 유발된 쥐 간암화 과정을 억제하지 못하는 반면 콜린 결핍식으로 유발된 암화과정에서는 억제효과를 나타내는 것으로 나타났다. 또한 DEN으로 유발된 마우스의 간암모델에서는 all-trans retinoic acid가 간암의 발생을 증가시켰고, 3'-methyl-4-dimethyl-aminoazobenzene (3'MeDAB)로 유발된 쥐의 간암발생 과정에서 retinol acetate의 식이보충이 간암의 발생을 촉진시켰다는 보고¹³⁾도 있다.

또한 all-trans retinol이 woodchuck 간세포에서 AFB₁-DNA adducts의 형성을 용량의존적으로 감소시키는 했지만 western blot analysis에서 glutathione-s-transferase M1 단백질량을 변화시키지는 않는 것으로 나타났고,²²⁾ all-trans retinoic acid가 p53-knockout mice의 자발적 암 발생을 억제시키지 못하였으며 생존기간 연장에도 효과가 없었던 보고도 있다.²³⁾

Berberian등²⁴⁾은 retinyl palmitate는 DEN으로 유발된 쥐의 간암 발생시 간세포의 피사나 지방축적, 전암성 병변을 억제하는 효과가 있다고 보고하였다.

그러나 retinoid는 간에 축적되는 특성이 있으므로 간에서 독성을 유발할 가능성이 있고 따라서 다른 장기와는 달리 발암촉진 가능성이 있을 것으로 사료된다.

또한 본 연구에서 PCNA는 retinoic acid 보충시 증가되었는데 이러한 결과는 GST-P⁺ foci의 결과와 유사한 경향을 나타내는 것으로 retinoic acid의 보충이 간세포의 분열을 증가시킴으로써 암의 발생을 촉진하는 것으로 생각된다.

세포주기 관련 단백질의 발현 양상은 retinoic acid의 보충에 의해서 변화되지 않았는데, Zhu등¹¹⁾의 연구에서는 지방암세포의 성장을 retinoic acid가 억제하기는 하였지만 cyclin D1, cyclin A, cyc-

lin E, p16, p27 등의 발현에는 변화가 없었고 p21, CDK4는 감소시키는 것으로 나타났다.

그러나 Zhou등²⁵⁾은 9-cis retinoic acid와 all-trans retinoic acid가 *in vitro*에서 사람 유방암세포의 cyclin D1과 D3의 발현을 감소시키고, CDK2, CDK4 또한 감소시킴으로써 유방암을 억제하는 것으로 설명하였다.

사람의 정상 유방상피세포에서도 all-trans retinoic acid는 성장억제 효과를 보였으며, cyclin D1, CDK4, cyclin E 등을 감소시키는 것으로 나타났다. 그러나 c-myc, p53, p21, p27 등의 변화는 관찰되지 않았다.²⁶⁾

반면 Sueoka등²⁷⁾은 all-trans retinoic acid가 human bronchial epithelial (HBE) cell의 성장을 억제하는 과정에서 cyclin D1, cyclin E, CDK2, CDK4의 발현 및 활성을 감소시키고 p27의 발현을 증가시킨다고 보고하였고, Langenfeld등²⁸⁾의 연구에서도 cyclin E의 감소가 암세포의 억제와 관련 있는 것으로 나타나는 등 세포주기 관련 단백질의 발현에 대한 연구 결과는 일치하지 않고 있다.

요약 및 결론

본 연구에서는 all-trans retinoic acid의 식이첨가가 흰 쥐의 간세포암종 발생단계에 미치는 영향을 알아보기 위하여 3주령의 암컷 Sprague-Dawley 랫드에 DEN (diethylnitrosamine), CCl₄, phenobarbital을 사용하여 간암을 유도한 후, AIN-76A 식이에 all-trans retinoic acid를 0.0012% 농도로 첨가하여 공급하고 몇 가지 발암관련 인자들의 변화를 검사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 간 조직의 콜라겐 함량 측정 결과는 군간에 유의적인 차이가 없었다.

2) 전암성 병변의 지표인 GST-P⁺ foci는 retinoic acid의 보충에 의해서 더욱 증가되었다.

3) 세포분열을 나타내는 PCNA는 retinoic acid보충시 증가되는 것으로 나타났다.

4) 세포주기 관련 단백질인 cyclin D, cyclin E, CDK4, p27은 retinoic acid 보충에 의한 변화는 관찰되지 않았다.

이상의 연구 결과를 통하여 본 실험에서 사용한 동물모델 시스템에서 all-trans retinoic acid의

식이보충은 간암화 과정에서 세포분열을 증가시킴으로써 암으로의 진행을 촉진시키는 것으로 나타났다. 이와 관련된 정확한 기전에 대한 더 많은 연구가 계속적으로 이루어져야 할 것으로 생각된다.

참고 문헌

- 1) Hong WK, Sporn MB. Recent advances in chemoprevention of cancer. *Science* 1997; 278(5340): 1073-1077.
- 2) Hinds MW, Kolonel LN, Hankin JH, Lee J. Dietary vitamin A, carotene, vitamin C and risk of lung cancer in Hawaii. *Am J Epidemiol* 1984; 119(2): 227-237.
- 3) Yu MW, Hsieh HH, Pan WH, Yang CS, Chen CJ. Vegetable consumption, serum retinol level, and risk of hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 1995; 55(6): 1301-1305.
- 4) Shekelle RB, Lepper M, Liu S, Maliza C, Raynor WJ Jr, Ross AH, Paul O, Shryock AM, Stamler J. Dietary vitamin A and risk of cancer in the Western Electric study. *Lancet* 1981; 2(8257): 1185-1190.
- 5) Riecken EO, Rosewicz S. Retinoids in pancreatic cancer. *Ann Oncol* 1999; 10(Suppl 4): 197-200.
- 6) Meyskens FL Jr, Jacobson J, Nguyen B, Weiss GR, Gandara DR, MacDonald JS. Phase II trial of oral beta-all trans-retinoic acid in hepatocellular carcinoma (SWOG 9157). *Invest New Drugs* 1998; 16(2): 171-173.
- 7) Muto Y, Moriwaki H, Ninomiya M, Adachi S, Saito A, Takasaki KT, Tanaka T, Tsurumi K, Okuno M, Tomita E, Nakamura T, Kojima T. Prevention of second primary tumors by an acyclic retinoid, poly-prenic acid, in patients with hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 1996; 334(24): 1561-1567.
- 8) Yokoyama S, Nozawa F, Mugita N, Ogawa M. Suppression of rat liver tumorigenesis by 25-hydroxycholesterol and all-trans retinoic acid: differentiation therapy for hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol* 1999; 15(3): 565-569.
- 9) Elstner E, Campbell MJ, Munker R, Shintaku P, Binderup L, Heber D, Said J, Koeffler HP. Novel 20-epi-vitamin D3 analog combined with 9-cis-retinoic acid markedly inhibits colony growth of prostate cancer cells. *Prostate* 1999; 40(3): 141-149.
- 10) Riecken EO, Rosewicz S. Retinoids in pancreatic cancer. *Ann Oncol* 1999; 10(Suppl 4): S197-200.
- 11) Zhu WY, Jones CS, Kiss A, Matsukuma K, Amin S, De Luca LM. Retinoic acid inhibition of cell cycle progression in MCF-7 human breast cancer cells. *Exp Cell Res* 1997; 234(2): 293-299.

- 12) Baba M, Iishi H, Yamamoto R, Tatsuta M. Inhibition by retinoic acid of hepatocarcinogenesis induced by N-nitrosomorpholine and of expression of myc oncogene protein in Sprague-Dawley rats. *Int J Cancer* 1991; 49(3): 467-470.
- 13) Ohkawa K, Abe T, Hatano T, Takizawa N, Yamada K, Takada K. The facilitated effect of retinol on rat hepatocarcinogenesis induced by 3'-methyl-4-dimethylaminoazobenzene. *Carcinogenesis* 1991; 12(12): 2357-2360.
- 14) Jang J-J, Lee YS, Lee MS, Kim TH. Development of GST-P⁺ foci in 3 week old rats induced by diethylnitrosamine: Preliminary data for liver foci model. *J Korean Cancer Assoc* 1994; 26: 231-235.
- 15) American Institute of Nutrition. Report of the AIN Ad Hoc Committee on standards for nutritional studies. *J Nutr* 1977; 107: 1340-1348.
- 16) Gascon-Barre M, Huet PM, Belgiorio J, Plourde V, Coulombe PA. Estimation of collagen content of liver specimens. Variation among animals and among hepatic lobes in cirrhotic rats. *J Histochem Cytochem* 1989; 37(3): 377-381.
- 17) Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 1981; 29: 577-580.
- 18) Okuno M, Moriwaki H, Imai S, Muto Y, Kawada N, Suzuki Y, Kojima S. Retinoids exacerbate rat liver fibrosis by inducing the activation of latent TGF-beta in liver stellate cells. *Hepatology* 1997; 26(4): 913-921.
- 19) Seifert WF, Bosma A, Brouwer A, Hendriks HF, Roholl PJ, van Leeuwen RE, van Thiel-de Ruyter GC, Seifert-Bock I, Knook DL. Vitamin A deficiency potentiates carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in rats. *Hepatology* 1994; 19(1): 193-201.
- 20) Zheng Y, Kramer PM, Olson G, Lubet RA, Steele VE, Kelloff GJ, Pereira MA. Prevention by retinoids of azoxymethane-induced tumors and aberrant crypt foci and their modulation of cell proliferation in the colon of rats. *Carcinogenesis* 1997; 18(11): 2119-2125.
- 21) Tamura K, Nakae D, Horiguchi K, Akai H, Kobayashi Y, Andoh N, Satoh H, Denda A, Tsujiuchi T, Yoshiji H, Konishi Y. Inhibition by N-(4-hydroxyphenyl)retinamide and all-trans-retinoic acid of exogenous and endogenous development of putative preneoplastic, glutathione S-transferase placental form-positive lesions in the livers of rats. *Carcinogenesis* 1997; 18(11): 2133-2141.
- 22) Yu MW, Zhang YJ, Blaner WS, Santella RM. Influence of vitamins A, C, and E and beta-carotene on aflatoxin B1 binding to DNA in woodchuck hepatocytes. *Cancer* 1994; 73(3): 596-604.
- 23) Hursting SD, Perkins SN, Haines DC, Ward JM, Phang JM. Chemoprevention of spontaneous tumorigenesis in p53-knockout mice. *Cancer Res* 1995; 55(18): 3949-3953.
- 24) Berberian I, Chen LC, Robinson FR, Glauert HP, Chow CK, Robertson LW. Effect of dietary retinyl palmitate on the promotion of altered hepatic foci by 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl and 2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl in rats initiated with diethylnitrosamine. *Carcinogenesis* 1995; 16(2): 393-398.
- 25) Zhou Q, Stetler-Stevenson M, Steeg PS. Inhibition of cyclin D expression in human breast carcinoma cells by retinoids in vitro. *Oncogene* 1997; 15(1): 107-115.
- 26) Seewaldt VL, Kim JH, Caldwell LE, Johnson BS, Swishelm K, Collins SJ. All-trans-retinoic acid mediates G1 arrest but not apoptosis of normal human mammary epithelial cells. *Cell Growth Differ* 1997; 8(6): 631-641.
- 27) Sueoka N, Lee HY, Walsh GL, Hong WK, Kurie JM. Posttranslational mechanisms contribute to the suppression of specific cyclin: CDK complexes by all-trans retinoic acid in human bronchial epithelial cells. *Cancer Res* 1999; 59(15): 3838-3844.
- 28) Langenfeld J, Lonardo F, Kiyokawa H, Passalaris T, Ahn MJ, Rusch V, Dmitrovsky E. Inhibited transformation of immortalized human bronchial epithelial cells by retinoic acid is linked to cyclin E down-regulation. *Oncogene* 1996; 13(9): 1983-1990.