

마우스 피부암 발생과정에 있어서 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-Dioxin (TCDD) 처리에 의한 유전자발현 변화 연구

엽태경 · 김옥희 · 강미경 · 박미선 · 지승완 · 엄미옥 · 강호일*
국립독성연구원 유전독성과

Effects of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-Dioxin (TCDD) on Gene Expression in Mouse Skin Carcinogenesis

Tai Kyung Ryeom, Ok Hee Kim, Mi Kyung Kang, Misun Park,
Seung Wan Jee, Mi Ok Eom, and Hoil Kang*
Division of Genetic Toxicology, National Institute of Toxicological Research

(Received February 5, 2005 / Accepted March 21, 2005)

ABSTRACT: 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) displays high toxicity in animals and has been implicated in human carcinogenesis. Although the mechanism of carcinogenesis by TCDD is unclear, it is considered to be a non-genotoxic compound and tumor promoter. In our experiment, we investigated the effects of TCDD on gene expression in mouse skin carcinogenesis. We used cDNA microarray to detect the differential gene expression in tumors induced in hairless mouse skin by MNNG plus TCDD protocol. We found that *erb-2*, *c-ets2* and *p27^{kip1}* were significantly up-regulated, but *TNFR2*, *AKT-1*, *integrin β 1*, *maspin*, *IGF-1*, *c-raf-1*, *Rb* were significantly down-regulated, in tumor region, respectively. We also found that the expression of 53 genes involved in cell cycle, signal transduction, apoptosis, adhesion molecule, angiogenesis, and invasion, were changed two fold more, in tumor surrounding region. These data suggest that TCDD alters the expression of a large array of genes involved in apoptosis, cytokine production and angiogenesis in mouse skin carcinogenesis.

Key words : TCDD, oxidative stress, hairless mice, DNA microarray, gene expression

서 론

내분비계장애물질인 다이옥신 및 다이옥신 유사물질들 중 가장 대표적인 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) 은 국제암연구기관 (IARC)이 규정한 제 1급의 발암물질 (known human carcinogen)로서, 설치류 등 실험동물이 TCDD에 만성적으로 노출되면 간, 피부, 폐 등의 종양 발생이 증가한다고 보고되어 있다. 그러나 TCDD에 대한 광범위한 연구결과들이 발표되어 있음에도 불구하고, 어떤 기전으로 암을 일으키는지에 대해서는 정확히 알려져 있지 않다.

TCDD는 DNA와 직접 반응하거나 돌연변이를 일으키는 등 직접적인 유전독성은 나타내지 않으나 (Yoshida *et al.*, 2000; Poland *et al.*, 1979), 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)와 비슷하게 성장조절에 관여하는 유전자를 변화시켜 종양촉진을 유도하는 것으로 보고되어 있다

(Greenlee *et al.*, 1987; Gaido *et al.*, 1994). 즉, TCDD는 암 촉진인자로서 세포성장을 촉진시키거나 면역억제 혹은 호르몬의 기능에 변화를 유발함으로써 암을 발생시키는 것으로 생각되고 있다.

TCDD는 또한 여러 시험동물계에서 산화적 스트레스에 의해 발생하는 DNA break, 8-OHdG 생성, lipid peroxidation 및 활성산소를 증가시키는 것으로 보고되어 있다 (Bagchi *et al.*, 2002; Senft *et al.*, 2002; Wyde *et al.*, 2001; Tritscher *et al.*, 1996; Slezak *et al.*, 1999; Hassoun *et al.*, 2000; Shertzer *et al.*, 1988). 산화적 스트레스는 다양한 발암물질, 방사선 등에 의해 발생할 뿐만 아니라 세포내의 식세포 작용에 의해서도 발생되며, 조직이나 세포에서 항산화 능력을 초과하여 생성되는 singlet oxygen, superoxide anion, hydrogen peroxide, nitric oxide 등의 활성산소 (reactive oxygen species, ROS)에 의해서도 나타나는 것으로 알려져 있다 (Finkel *et al.*, 2000; Yoshida *et al.*, 2000). 특히, 암 촉진단계에서 ROS 그 자체 혹은 ROS에 의한 산화적 손상은 세포내 비정상적인 유전자 발

*To whom correspondence should be addressed

현, 세포간 communication 저해 및 신호전달과정의 조절을 통해 작용하는 것으로 알려져 있다 (Yoshida *et al.*, 2000; Klaunig *et al.*, 1998). 최근에는 사람유래의 CHE 및 HeLa 세포에서 TCDD 처리 30분 후 H₂O₂가 최대로 생성되었고, 이러한 효과가 α -tocopherol에 의해 감소됨이 보고되었다 (Hirai *et al.*, 2002).

또한 TCDD는 aryl hydrocarbon receptor (AhR)를 통하여 세포내 cytochrome P450s (CYP1A1, CYP1A2)을 유도하여 최종적으로 발암물질의 활성화를 유도한다는 보고가 있으며, EGF 및 에스트로겐 수용체와 상호작용을 일으키는 것으로 알려져 있다 (Whitelock, 1999; Bowes *et al.*, 1996). 즉, TCDD는 세포 내에서 AhR에 결합하게 되고, TCDD-AhR 복합체는 다시 aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator (ARNT)라는 단백질과 결합한 후 핵내로 이동하여 dioxin-response element 부위에 결합하여 여러 가지 2차 반응을 유도한다 (Hoffman *et al.*, 1986; Reyes *et al.*, 1992). 또한, 최근에는 TCDD가 PI3K/Akt pathway를 경유하여 암이 유발되는 것을 돕고 세포사멸을 억제한다고 보고되어 있다 (Davis *et al.*, 2000).

현재까지 TCDD의 암화기전에 관한 연구는 대부분 주요 표적장기인 간을 대상으로 진행되고 있지만, hairless 마우스의 피부에도 영향을 준다는 보고도 있다 (Schwarz *et al.*, 2000). Hairless 마우스에서 TCDD는 TNF- α 의 발현을 현저히 증가시켜 염소좌창 (Chloracne)을 유발한다고 보고되었으며 (Connor *et al.*, 1994a), 암화개시물질과 병용 처리하였을 경우에는 발암촉진 효과를 나타낸다고 알려져 있다 (Dragan *et al.*, 2000). Hairless 마우스에서 TCDD에 의한 발암촉진은 세포의 증식을 증가시키고 세포사멸을 억제시킴으로서 이루어진다고 예상되어지고 있으나 (Dragan *et al.*, 2000) 그 정확한 기전은 아직까지 밝혀지지 않았다.

따라서 본 연구에서는 TCDD의 작용기전에 대한 이해를 넓히기 위해, 독성기전 모델로 사용되고 있는 hairless 마우스에 MNNG와 TCDD를 병용 처리하여 발생시킨 종양을 대상으로 DNA microarray를 실시하여, 암 억제 유전자 및 암 유전자의 발현변화, 세포주기 관련 유전자의 발현변화 등을 조사하였다.

재료 및 방법

시 약

TCDD는 Cambridge Isotope Laboratories, Inc. (Austin, TX, USA)에서, *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitroso-guanidine (MNNG)은 Sigma (St. Louis, Mo, USA)에서 구입하여 사용하였다. Total RNA 분리용 키트는 Quiagen (Volencia,

CA, USA)으로부터 구입하였으며, cDNA microarray용 chip은 GEArray™ Q serie (SuperArray, Bethesda, MD, USA)를 사용하였다. 그 이외의 시약은 특급 이상의 것을 사용하였다.

실험동물 및 마우스 피부암 발생 실험

실험동물은 4주령 암컷 hairless 마우스 (SKH1)를 사용하였으며, Charles Liver 회사로부터 공급받아 일주일간의 순화기간을 두었다. 실험기간동안 폴리카보네이트 케이지에 각각 3마리씩 수용하였고, 실험동물용 고품사료 (퓨리나코리아 회사의 방사선처리용 실험용 쥐 사료)와 물은 자유롭게 섭취하도록 하였으며, 온도 23±2°C, 습도 55±10%, 12시간 명암주기의 사육조건을 유지하였다. 마우스는 무작위로 선별하여 군을 분류하였고, 2단계 동물 발암 모델을 이용하여 피부암을 유도하였다. 즉 발암개시 물질인 MNNG을 아세톤에 녹인 다음 5 μ mol을 실험동물의 등 (back skin)에 1회 도포한 후, 일주일이 경과된 시점부터 주 2회, 30주 동안 발암촉진물질인 TCDD 10 ng을 아세톤에 녹여 도포하였다. 대조군으로는 acetone 만을 처리하였다.

조직의 채취 및 RNA 분리

MNNG와 TCDD를 병용 처리한 hairless 마우스의 피부에서 발생한 암조직, 주변조직, 정상조직을 채취한 즉시 액화질소에 급속냉동 시킨 후, -80°C에서 보관하였다. Total RNA는 RNeasy mini kit (Qiagen) 시험법에 따라 분리하였고, 정제과정을 거쳐 total RNA의 순도가 약 1.8 이상 되는 것을 사용하였다.

유전자발현 변화 조사

마우스 피부의 정상조직, 암 주변조직, 암조직의 total RNA를 template로 GEArray Q series에 포함되어 있는 GEA primer mix를 사용하여 annealing 시킨 후, biotin-16-dUTP로 표지시켜 cDNA probes를 합성하였다. 합성된 cDNA probe를 membrane에 hybridization 시킨 후 세척하였다. Alkaline phosphatase-conjugated streptavidin (AP-streptavidin, 1:7500)과 CDP-Star chemiluminescent substrate를 결합시켜 형광 발색시킨 후, Chemi-Doc (Bio-Rad, USA)을 이용하여 이미지를 획득하고, GEArray Analyzer를 이용하여 분석하였다.

결과 및 고찰

마우스 피부암 발생 실험

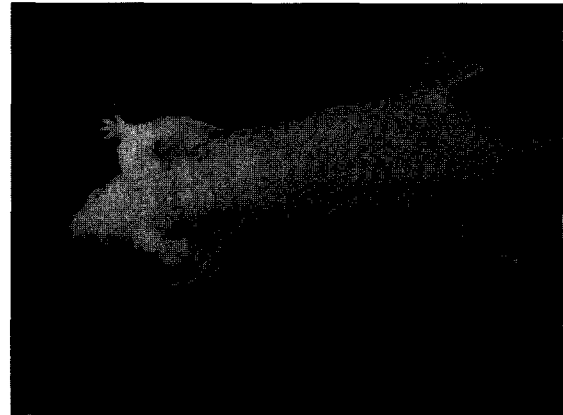
*In vivo*에서 TCDD의 발암기전을 연구하기 위해서

hairless 마우스 (SKH1)에 TCDD 단독 및 MNNG와 병용 처리하여 피부암 발생을 유도하였다 (Fig. 1). TCDD가 발암 촉진물질 (tumor promoter)로 작용하여 hairless 마우스 (HRS/J)에서 피부암을 유도한다는 이전의 보고 (Hebert *et al.*, 1990)와 같이, MNNG/TCDD 병용 처리군에서 32.5%의 피부암이 유발되었다 (Table 1). 그러나, HRS/J hairless 마우스를 이용한 발암시험 결과, TCDD 단독으로는 발암 개시능이 없었다는 이전의 보고와는 (Hebert *et al.*, 1990) 다르게, 본 실험에서 사용한 SKH1 hairless 마우스에서는 TCDD 단독처리 시에서도 16.7%의 피부암이 유도되어 TCDD가 SKH1 hairless 마우스에서는 complete carcinogen으로 작용함을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 마우스의 개체차 및 종별차이에 의한 결과로 생각된다 (Connor *et al.*, 1994b).

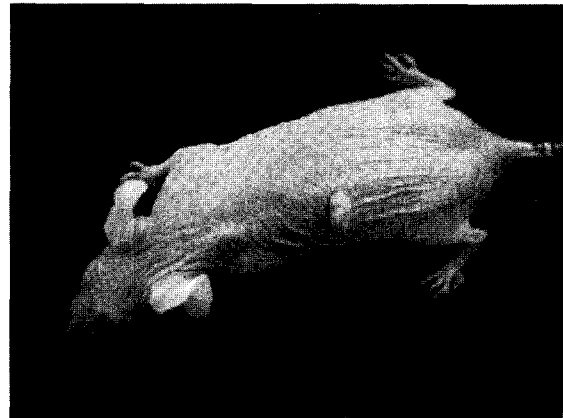
TCDD 처리에 의한 유전자 발현 분석

마우스 피부암 조직 및 암 주변조직에서 TCDD가 어떠한 경로로 암을 유발시키는지 조사하기 위해 세포주기, 신호전달, 혈관신생 및 전이 등 암과 관련된 유전자들이 포함되어 있는 pathway specific cDNA microarray를 이용하여 유전자의 발현변화를 확인하였다. 정상피부조직과 비교하여, 암 조직에서는 *erb-2* (31.7배), *c-ets2* (2.8배) 등 신호전달에 관여하는 유전자의 발현이 증가된 반면, *TNFR2* (3.3배), *integrin β1* (2.2배), *IGF-1* (2.1배), *AKT-1* (3.1배) 및 *c-raf-1* (2.1배), *maspin* (2.1배), *Rb* (2.0배) 유전자의 발현이 감소되어 있는 것으로 나타났다 (Table 2).

한편, 정상피부조직과 비교하여, 암 주변조직에서는 *integrin α3* (Cd49c; 6.9배), *integrin α4* (VLA-4; 5.8배), *integrin α2/LFA1b* (5.2배), *integrin α4* (fibronectin receptor α; 3.7배), *integrin β* (53.3배) 및 *integrin β3* (CD61; 2.8배) 등 세포부착에 관여하는 *integrin* 유전자 발현이 증가되어 있는 것으로 나타났다 (Table 3).



(A)



(B)

Fig. 1. (A) Hairless mouse skin treated with acetone only for 30 weeks. (B) mouse skin papilloma induced by initiation with MNNG and promotion with TCDD for 30 weeks.

*Integrin*은 세포와 세포의 기질의 부착에 관여하는 중요한 수용체로서 효소활성이 없는 short cytoplasm tail을 가지고 있으며 (Danen *et al.*, 2001), 이 부분에 다양한 종류의 focal adhesion kinase (FAK), Src-family kinase, serine-

Table 1. Incidence of proliferative lesions in the skin of hairless mice dosed dermally with TCDD^a.

Treatment	n ^b	Number of mice with		Total number of mice with proliferative lesions (P, or N) ^c	% ^d
		P	N		
Acetone-Acetone	10	0	0	0	0.0
MNNG-Acetone	10	0	0	0	0.0
Acetone-TCDD	12	1	1	2	16.7
MNNG-TCDD	40	1	20	13	32.5

^a A proliferative lesion is defined as either a squamous cell papilloma(P), or a hyperproliferative nodule(N).

^b Mice included in the calculation of the incidence of proliferative lesions included all mice which survived for the entire 30 weeks promotion phase plus mice which died before 30 weeks, but which had exhibited proliferative lesions prior to death.

^c Some mice had more than one type of proliferative lesion.

^d Percentage of mice with proliferative lesions in each treatment group (total number of mice with proliferative lesions/n).

Table 2. List of genes that respond to TCDD in tumor region

Genebank No.	Description	Gene name	Fold Induction
A) List of genes induced(> two fold) by TCDD			
U71126	Mus musculus erbB2	erb-2	31.77
NM_011809	Mus musculus E26 avian leukemia oncogene 2, 3' domain	c-ets2	2.81
U09968	Mouse cyclin-dependent kinase inhibitor p27 ^{Kip1}	p27 ^{Kip1}	2.04
B) List of genes repressed(> two fold) by TCDD			
M59377	Murine tumor necrosis factor II receptor	TNFR2	3.34
m94335	Thymoma viral proto-oncogene	AKT-1	3.12
X15202	Mouse mRNA for fibronectin receptor beta-chain	Integrin β 1	2.20
NM_009257	Mus musculus serine protease inhibitor 7	maspin	2.19
NM_010512	Mus musculus insulin-like growth factor 1	IGF-1	2.15
AB057663	v-raf-1 murine leukemia viral oncogene homolog 1	c-raf-1	2.15
M26391	Retinoblastoma protein	Rb	2.09

Table 3. List of genes that respond to TCDD in tumor surrounding region

Genebank No.	Description	Gene name	Fold Induction
A) List of genes induced(> two fold) by TCDD			
NM_007434	Mus musculus thymoma viral proto- oncogene 2	AKT-2	81.663
U36475	Breast cancer 1	BRCA1	50.980
X75888	Cyclin E	cyclin E	43.153
AF067834	Caspase 8	caspase-8	28.613
NM_010510	Mus musculus interferon beta, fibroblast	IFN- β 1	27.600
U43678	Ataxia telangiectasia gene mutated in human beings	ATM	23.591
X84046	Hepatocyte growth factor	HGF	18.608
V00727	Mouse c-fos oncogene	c-fos	12.05
NM_010113	Mus musculus epidermal growth factor	EGF	11.20
X62701	M.musculus muPAR2 mRNA	PLAUR	10.66
U71126	Mus musculus erbB2	erb-2	8.86
NM_009929	Mus musculus procollagen, type XVIII, alpha 1	COL18A1	8.78
L07297	FMS-like tyrosine kinase 1	VEGFR	7.72
Y00051	Mouse mRNA for neural cell adhesion molecule	NCAM	7.48
NM_013565	Mus musculus integrin alpha 3	Integrin α 3	6.95
J04115	Jun oncogene	c-JUN	6.37
M29464	Mouse platelet-derived growth factor A chain mRNA	PDGF a	6.21
X16490	Mouse RNA for plasminogen activator inhibitor 2	PAI-2	5.89
X53176	Mouse integrin alpha-4 mRNA	Integrin α 4	5.89
X01023	Mouse normal c-myc gene	c-myc	5.34
AB013819	Baculoviral IAP repeat-containing 5	survivin(API4)	5.33
M33960	Mouse plasminogen activator inhibitor	PAI-1	5.27
NM_008396	Mus musculus integrin alpha 2	Integrin α 2	5.25
AF162784	Mus musculus platelet-derived growth factor beta chain	PDGF β	5.02
NM_008163	Mus musculus growth factor receptor bound protein 2	GRB2	4.98
NM_019731	Mus musculus nucleoside diphosphate kinase	NM23-E4	4.92
M31585	Mouse intercellular adhesion molecule 1	ICAM-1	4.77
M27130	Mouse CD44 antigen	CD44	4.77
NM_013605	Mus musculus mucin 1, transmembrane	MUC1	3.73

Table 3. continued

Genebank No.	Description	Gene name	Fold Induction
NM_010577	Mus musculus integrin alpha 5	Integrinβ5	3.71
M64403	Cyclin D1	cyclin D1	3.69
X02389	Mouse mRNA for urokinase	PLAU	3.67
U52193	Mus musculus phosphatidylinositol 3-kinase, C2 domain containing, alpha polypeptide	PI3Kc2a	3.64
M13177	Transforming growth factor, beta 1	TGFβ1	3.55
U09968	Mouse cyclin-dependent kinase inhibitor p27 ^{Kip1}	p27 ^{Kip1}	3.53
M95200	Vascular endothelial growth factor	VEGF	3.53
NM_011842	Mus musculus metastasis associated 1-like 1	Mta-1	3.52
NM_013599	Mus musculus matrix metalloproteinase 9	MMP9	3.38
NM_010580	Mus musculus integrin beta 5	Integrinβ5	3.38
U97076	Mus musculus FLICE-like inhibitory protein	Casper	3.33
NM_010207	Mus musculus fibroblast growth factor receptor 2	FGFR2	3.30
D28526	Mus musculus transforming growth factor, beta receptor I	TGFBRI	2.94
NM_016780	Mus musculus integrin beta 3	Integrinβ3	2.87
U36277	Mus musculus I-kappa B alpha chain	ικBα	2.85
M26391	Retinoblastoma protein (Rb)	Rb	2.69
D89628	c-fos induced growth factor (vascular endothelial growth factor D)	VEGF-D/FIGF	2.48
AB057663	v-raf-1 murine leukemia viral oncogene homolog 1	c-raf-1	2.45
M57999	Nuclear factor of kappa light chain gene enhancer in B-cells 1, p105	NFκB1	2.30
L35049	Bcl2-like	bcl-x	2.30
L76150	Mouse CDK4 and CDK6 inhibitor p16 ^{ink4a}	p16 ^{ink4a}	2.30
NM_008927	Protein kinase, mitogen-activated, kinase 1	MEK1	2.24
NM_008610	Mus musculus matrix metalloproteinase 2	MMP2	2.00
B) List of genes repressed(> two fold) by TCDD			
NM_009263	Mus musculus secreted phosphoprotein 1 (Spp1)	osteopontin	2.63

threonine kinase 등이 결합하여 활성화됨으로서 PI3K 신호 전달을 포함한 여러 종류의 신호 전달경로를 조절하고 있는 것으로 알려져 있다 (Giancotti *et al.*, 1999). 또한 EGF (11.2배), EGFR2 (KGFR; 3.3배), FLT1 (VEGFR; 7.7배), PDGFa (6.2배), PDGFb (5.0배), TGFβ1 (3.5배), VEGF-D/FIGF (2.4배) 등 여러 종류의 성장인자 및 그와 관련된 수용체의 발현이 증가되어 있는 것으로 나타났다 (Table 3).

일반적으로 성장인자의 수용체 활성화와 관련된 신호전달경로는 암의 촉진과 진행에 중요한 역할을 한다고 알려져 있으며 (Porter *et al.*, 1988), TCDD는 human mammary epithelial cell (HMEC)에서 growth factor-mediated signaling pathway에 관여한다고 보고되어 있다 (Tannheimer *et al.*, 1998). 성장인자의 수용체가 활성화되면 GrB2/ Shc/Sos 복합체와 결합하게 되는데 이들은 신호전달에 있어서 adaptor 역할을 하며 Ras 유전자의 활성화에 관여한다. TCDD가 GrB2/Shc/Sos 복합체의 활성을 증가시킨다는 이전의 보고와 같이 (Park *et al.*, 1998), 암 주변세포에서 Grb2 (4.9배)의

발현이 증가되었으며, Ras gene pathway와 관련된 Raf (2.4배), MEK1 (2.2배)의 발현 역시 증가하였다 (Table 3).

최근 TCDD는 HMEC 세포주인 MCF 10A에서 EGF, insulin-like growth factor (IGF), TGF-α 등을 과량으로 발현시키며, 그 결과 Akt 및 Erk의 발현을 증가시킨다고 보고되었다 (Davis *et al.*, 2001). 본 연구에서는 이와 유사한 결과로 암 주변조직에서 PI3K/Akt pathway와 관련된 phosphatidylinositol-3-kinase (PI3Kc2a, 3.6배), Akt (1.8배), NF-κB1 (2.3배), bcl-x (2.3배), cyclin D1 (Ccn1; 3.6배), c-myc (5.3배)의 발현이 증가한 것을 알 수 있었다 (Table 3).

PI3K은 adaptor subunit, Ras, interacting protein 등과 결합할 수 있는 다양한 domain을 가지고 있으며, 그 활성화는 EGFR, FGFR, PDGFR, VEGFR 및 integrin의 활성화와 밀접한 관련이 있고 (Wymann *et al.*, 1988), serine-threonine kinase Akt (protein kinase B라고도 함)를 활성화시키는 것으로 알려져 있다. Akt는 death gene의 발현을 유도하는 forkhead transcription factor, class O (FOXO)를

직접 인산화 시켜 death gene의 발현을 억제하고, 그 결과 간접적으로 NF- κ B를 활성화시켜 여러 종류의 survival gene을 활성화시키며, BAD가 Bcl-XL에 결합하지 못하게 함으로서 세포사멸을 억제할 뿐만 아니라 (Burgering *et al.*, 2002), cyclin D1 및 c-myc의 활성억제 및 분해에 관여하는 glycogen synthase kinase 3 (GSK3)를 활성을 억제 시킴으로서 세포주기에 관여한다고 보고되어 있다 (Cantley, L., 2002).

따라서 본 연구에서 얻어진 결과를 종합하면, TCDD는 여러 종류의 성장인자 및 integrin의 활성화에 관여하며, 그 결과 Ras 및 PI3K/Akt pathway에 영향을 주어 세포사멸억제 및 세포주기에 관여함으로써 암의 촉진 (promotion)과 진행 (progression)에 관여하는 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 식품의약품안전청의 내분비계 장애물질 연구사업비로 수행되었음.

참고문헌

- Bagchi, D., Balmoori, J., Bagchi, M., Ye, X., Williams, C. and Stohs, S. (2002): Comparative effects of TCDD, endrin, naphthalene and chromium (VI) on oxidative stress and tissue damage in the liver and brain tissues of mice. *Toxicology*, **175**, 73-82.
- Bowes, R.C., Parrish, A.R., Steinberg, M.A., Willett, K.L., Zhao, W., Savas, U., Jefcoate, C.R., Safe, S.H. and Ramos, K.S. (1996): Atypical cytochrome P45 induction profiles in glomerular mesangial cells at the mRNA and enzyme level. Evidence for CYP1A1 and CYP1B1 expression and their involvement in benzo[a]pyrene metabolism. *Biochem. Pharmacol.*, **52**, 587-595.
- Burgering, B.M. and Kops, G.J. (2002): Cell cycle and death control : long live Forkheads. *Trends. Biochem. Sci.*, **27**, 352-360.
- Cantley, L.C. (2002): The phosphoinositide 3-kinase pathway. *Science*, **296**, 1655-1657.
- Connor, M.J., Nanthur, J. and Puhvel, S.M. (1994a): Influence of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) on TNF-alpha levels in the skin of congenic haired and hairless mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **129**, 12-15.
- Connor, M.J., Puhvel, S.M., Sakamoto, M. and Nanthur, J. (1994b): The hr locus and the toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in new bone mice. *Arch. Toxicol.*, **69**, 87-90.
- Danen, E.H. and Yamada, K.M. (2001): Fibronectin, integrins, and growth control. *J. Cell. Physiol.*, **189**, 1-13.
- Davis, J.W. 2nd, Melendez, K., Salas, V.M., Lauer, F.T. and Burchiel, S.W. (2000): 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) inhibits growth factor withdrawal-induced apoptosis in the human mammary epithelial cell line, MCF-10A. *Carcinogenesis*, **21**, 881-886.
- Davis, J.W. 2nd, Lauer, F.T., Burdick, A.D., Hudson, L.G. and Burchiel, S.W. (2001): Prevention of apoptosis by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in the MCF-10A cell line : correlation with increased transforming growth factor alpha production. *Cancer Res.*, **61**, 3314-3320.
- Dragan, Y.P. and Schrenk, D. (2000): Animal studies addressing the carcinogenicity of TCDD (or related compounds) with an emphasis on tumour promotion. *Food. Addit. Contam.*, **17**, 289-302.
- Finkel, T. and Jolbrook, N. (2000): Oxidants, oxidative stress and the biology of aging. *Nature*, **408**, 239-247.
- Gaido, K.W. and Maness, S.C. (1994): Regulation of gene expression and acceleration of differentiation in human keratinocytes by 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **127**, 199-208.
- Giancotti, F.G. and Ruoslahti, E. (1999): Integrin signaling. *Science*, **285**, 1028-1032.
- Greenlee, W.F., Osborne, R., Dold, K.M., Hudson, L.G., Young, M.J. and Toscano, W.A. (1987): Altered regulation of epidermal cell proliferation and differentiation by 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). *Rev. Biochem. Toxicol.*, **8**, 1-35.
- Hassoun, E., Li, F., Abushaban, A. and Stohs, S. (2000): The relative abilities of TCDD and its congeners to induce oxidative stress in the hepatic and brain tissues of rats after subchronic exposure. *Toxicology*, **145**, 103-113.
- Hebert, C.D., Harris, M.W., Elwell, M.R. and Birnbaum, L.S. (1990): Relative toxicity and tumor-promoting ability of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD), 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran (PCDF), and 1,2,3,4,7,8-hexachlorodibenzofuran (HCDF) in hairless mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **102**, 362-377.
- Hirai, K., Pan, J., Shui, Y., Simamura, E., Shimada, H., Kanamaru, T. and Koyama, J. (2002): Alpha-tocopherol protects cultured human cells from the acute lethal cytotoxicity of dioxin. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, **72**, 147-153.
- Hoffman, R.E., Stehr-Green, P.A., Webb, K.B., Evans, R.G., Knutsen, A.P., Schramm, W.R.F., Staake, J.L., Gibson, B.B. and Steinberg, K.K. (1986): Health effects of long-term exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *JAMA*, **255**, 2031-2038.
- Klaunig, J., Xu, Y., Isenberg, J., Bachowski, S., Kolaja, K., Jiang, J., Stevenson, D. and Walborg, E. (1998): The role of oxidative stress in chemical carcinogenesis. *Environmental Health Perspectives*, **106**, 289-295.
- Park, R., Kim, D.H., Kim, M.S., So, H.S., Chung, H.T., Kwon, K.B., Ryu, D.G. and Kim, B.R. (1998): Association of Shc, Cbl, Grb2, and Sos following treatment with 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in primary rat hepatocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **253**, 577-81.
- Reyes, H., Reisz-Porszasz, S., and Hankinson, O. (1992): Identification of the Ah receptor nuclear translocator protein (Arnt) as a component of the DNA binding form of the Ah receptor. *Science*, **256**, 1193-1195.

- Poland, A. and Glover, E. (1979): An estimate of the maximum *in vivo* covalent binding of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin to rat liver protein, ribosomal RNA, and DNA. *Cancer Res.*, **39**, 3341-3344.
- Porter, A.C. and Vaillancourt, R.R. (1988): Tyrosine kinase receptor-activated signal transduction pathways which lead to oncogenesis. *Oncogene*, **17**, 1343-1352.
- Schwarz, M., Buchmann, A., Stinchcombe, S., Kalkuhl, A. and Bock, K. (2000): Ah receptor ligands and tumor promotion : survival of neoplastic cells. *Toxicol. Lett.*, **15**, 69-77.
- Senft, A., Dalton, T., Nebert, D., Genter, M., Hutchinson, R. and Shertzer, H. (2002): Dioxin increases reactive oxygen production in mouse liver mitochondria. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **178**, 15-21.
- Shertzer, H., Nebert, D., Puga, A., Ary, M., Sonntag, D., Dixon, K., Robinson, L., Cianciolo, E. and Dalton, T. (1988): Dioxin causes a sustained oxidative stress response in the mouse. *BBRC*, **253**, 44-48.
- Slezak, B., Diliberto, J. and Birnbaum, L. (1999): 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin-mediated oxidative stress in CYP1A2 Knockout (CYP1A2^{-/-}) mice. *BBRC*, **264**, 376-379.
- Tritscher, A., Seacat, A., Yager, J., Groopman, J., Miller, B., Bell, D., Sutter, T. and Lucier, G. (1996): Increased oxidative DNA damage in livers of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin treated intact but not ovariectomized rats. *Cancer Letters*, **98**, 219-225.
- Whitelock, J.P. (1999): Induction of cytochrome P4501A1. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **39**, 103-125.
- Wyde, M., Wong, V., Kim, A., Lucier, G. and Walker, N. (2001): Induction of hepatic 8-oxo-deoxyguanosine adducts by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in Sprague-Dawley rats is female-specific and estrogen-dependent. *Chem. Res. Toxicol.*, **14**, 849-855.
- Wymann, M.P. and Pirola, L. (1988): Structure and function of phosphoinositide 3-kinases. *Biochim. Biophys. Acta.*, **1436**, 127-50.
- Yoshida, R. and Ogawa, Y. (2000): Oxidative stress induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin; An application of oxidative stress markers to cancer risk assessment of dioxins. *Industrial Health*, **38**, 5-14.