

림프절 양성 유방암에서 E2F1의 발현과 치료 효과의 상관 분석

상계 백병원 외과학교실, ¹병리학교실

곽금희 · 배병노 · 김기환 · 김홍주 · 김영덕 · 김홍용 · 박경미¹ · 한세환

Relationship between E2F1 Expression and Clinical Outcome in Node-Positive Breast Cancer

Keum-Hee Kwak, Byung-Noe Bae, Ki Hwan Kim, Hong-Joo Kim, Young-Duck Kim, Hong-Yong Kim, Kyeongmee Park and Sehwan Han¹

Departments of ¹Surgery and ²Pathology, Inje University Sanggye Paik Hospital, Seoul, Korea

Purpose: This study was performed to investigate whether the E2F1 protein expression can be used as a prognostic factor in clinical breast cancer.

Methods: The expressions of E2F1 and retinoblastoma protein (pRB) were analyzed in 165 lymph node positive breast cancers. All patients underwent adjuvant chemotherapy with fluorouracil, doxorubicin, and cyclophosphamide (FAC) after curative surgery.

Results: E2F1 was expressed in 43.6% and pRB was expressed in 46.1%. E2F1 expression was significantly increased in pRB-expressing tumors and was associated with S-phase fraction. By univariate survival analyses, E2F1 expression and ER were the significant prognostic factors for the disease recurrence and patient survival. E2F1 was the only significant prognostic factor for the patient outcome after FAC chemotherapy by multivariate analysis.

Conclusion: Conclusion The results of the current study indicate that abnormal expression of E2F1 and pRB is prevalent and are intimately associated with each other in clinical breast cancer. A significant association between E2F1 expression and patient survival after FAC chemotherapy mandates a further validation study. (Journal of Korean Breast Cancer Society 2003;6:155-160)

Key Words: Breast cancer, Chemotherapy, E2F1, Retinoblastoma protein (pRB), Prognosis

중심 단어: 유방암, 항암화학 요법, E2F1, Retinoblastoma protein (pRB), 예후

서론

비정상적인 세포성장은 암세포의 대표적인 특성이다. 정상세포와 암세포의 성장은 여러 성장 자극 신호들에 의해 활성화된 cdk들이 cyclin과 결합하는 과정으로 시작된다. 여러 cdk에 의한 cyclin들의 연속적인 활성화는 인산화(phosphorylation)과정에 의한 retinoblastoma protein (pRB)의 기능상실을 유발하고 결과적으로 pRB와 결합되어 있던 E2F1이 유리되어 활성화된다.(1,2) 전사요소(transcriptional factor) E2F family 중 하나인 E2F1은 세포 증식 경로에서 pRB와 결합된 형태로 조절되는데,(3) pRB의 비활성화를 통한 E2F1의 비정상적인 활성화는 암의 발생에 관여하는 것으로 밝혀져 있다.(4,5) pRB-E2F1 pathway의 기능은 cyclin E나 BRCA1과 같이 DNA합성과 세포증식에 관여하는 유전자들의 발현에 관여하여 세포증식을 조절하는 것이다.(6,7)

실험 동물에서 E2F1은 세포가 G1기에서 S기로 이행하는 순간마다 활성화되는 것이 밝혀져 있고(3) E2F1의 비정상적인 활성화는 정상적인 세포증식의 조절 소실을 야기하게 되고 따라서 세포들의 악성화와 과성장을 유발하게 된다.(8) 실험실에서 E2F1에 대한 연구는 광범위하게 이루어져 왔으나, 실제 인체 암에서 E2F1의 역할에 대한 자료는 거의 없었고(9-11) 현재까지 단지 한 연구만이 유방암에서 E2F1의 발현을 보고하였으나 그 연구도 극히 소수의 유방암조직을 이용하여 세포주 실험에 대한 보조적 자료만을 제시하였다.(11)

본 연구에서 저자들은 165명의 림프절 전이가 있는 유방암 환자들에서 수술로 적출된 조직을 이용하여 E2F1 발현과 동시에 pRB의 발현을 분석하였고 이 두 단백질의 발현이 임상실제에서 유방암의 치료에 대한 반응을 예측할 수 있는지 분석하였다.

책임저자 : 한세환, 서울특별시 노원구 상계 7동 761-1

☎ 301-721, 인제대학교 상계백병원 외과

Tel: 02-950-1023, Fax: 02-950-1955

E-mail: shwhan@unitel.co.kr

접수일 : 2003년 7월 11일, 게재승인일 : 2003년 9월 3일

방 법

1) 대상 환자

1992년 5월부터 1997년 12월까지 인제대학교 부속 상계백병원 외과에서 수술을 받고 림프절 전이가 있는 것으로 판명된 165명의 유방암 환자들을 대상으로 하였고 이들의 평균 연령은 53.4세(29~72세)였으며 모두 변형 근치 유방절제술(n=98)이나 유방 보존술과 방사선치료(n=67)를 받았고 동일한 보조 항암 요법을 받은 환자들만을 연구대상에 포함하였다.

항암 요법은 수술 후 평균 10일 뒤에 500 mg/m²의 fluorouracil과 50 mg/m²의 doxorubicin, 500 mg/m²의 cyclophosphamide (FAC)를 3주 간격으로 6회 정맥으로 투여하였다. 화학 항암 요법 없이 항에스트로겐 치료만 받았던 환자는 연구대상에서 제외하였다.

2) 면역조직화학검사(Immunohistochemistry; IHC)

수술 후 얻은 유방암 조직을 완충 포르말린액에 고정시키고 파라핀 블록을 5 μ m로 잘게 절편을 만든 후 탈파라핀화 및 탈수 과정을 거쳐 만든 슬라이드를 95°C에서 15분간 처리하여 E2F1과 pRB에 대한 특이 항원을 부착시켰다. E2F1의 검색에는 anti-E2F1 mouse monoclonal antibody MS-879-P1 (1 : 50 dilution) for E2F1 protein (NeoMarkers, Fremont, CA; www.labvision.com)을 사용하였고 pRB검색에는 mouse monoclonal antibody를 이용하였다.(12)

E2F1 발현은 양성으로 나타나는 암세포의 비율(%)과 염색 강도 모두를 조직 슬라이드를 현미경으로 관찰하여 분석하였고 전체 암세포 중에 분명한 핵 염색을 보이는 암세포의 비율(%)을 측정하였다. E2F1의 발현은 59예에서는 전혀 관찰되지 않았고 암세포의 5% 미만을 차지하는 경

우가 34예였다. 염색점수의 중간치는 5%였고 25예에서 5%의 범주에 들었다. 본 연구 이전의 E2F1 발현에 대한 자료가 전혀 없었으므로 E2F1발현의 양성 기준을 10%에서 정하였고 본 연구의 E2F1 염색 분포에 따라 세포핵이 10% 미만으로 염색되면 음성, 10~50%이면 양성, 50% 이상 염색되면 강양성으로 분류하였다. 종양의 분화도는 Nottingham modification of the Scarff-Bloom-Richardson scoring system을 사용하여 분류하다.(12)

3) 유세포측정(Flow cytometry)

수술 후 얻은 유방암 조직을 잘게 파쇄하여 원심분리한 후 완충용액 (10 mM citrate, pH 7.5, 20 mM NaCl, 20 mM MgCl₂) 250 μ l로 처치하였다. Trypsin, trypsin inhibitor, DNase-free RNase 10 μ l/ml을 첨가한 뒤 핵은 30분 동안 실온에서 배양하였다. 암실에서 4°C로 1시간 동안 PBS (100 μ l/ml PI, 0.1% Triton X-100, 1%FCS)에서 propidium iodide용액(PI; Molecular probes, Eugene, OR, USA) 500 μ l로 처치한 후, 유세포 측정 분석을 시행하였다. DNA fluorescence는 FACScan (Becton-Dickinson, Bedford, MA, USA)을 사용하여 분석하였고 유세포 분석 자료는 Cell Fit software (Becton-Dickinson)과 Phoenix Flow System Multi-cycle AV software(12)를 사용하여 분석하였다.

3) 자료 분석

E2F1 발현과 임상 자료 간의 상관관계 분석에는 Chi-square test와 Spearman's correlation coefficient를 이용하였고 생존곡선은 Kaplan-Meier법을 사용하였으며 환자 생존의 단변량 분석은 log-rank test를 사용했고 다변량 분석은 Cox- proportional hazards model을 사용하였다.

Table 1. Relationship between E2F1 expression and the biologic profiles of breast cancer

	E2F1 expression ≥ 10%	P-value	pRB expression (%) ≥ 10%	Total	P-value
Tumor size		0.811			0.831
< 2 cm	23 (48.9)		23 (48.9)	47	
2~5 cm	40 (39.6)		43 (42.6)	101	
> 5 cm	9 (52.9)		10 (58.8)	17	
Histologic grade		0.062			0.858
I	16 (76.2)		12 (57.1)	21	
II	34 (47.9)		37 (52.1)	71	
III	22 (30.1)		27 (36.9)	73	
Estrogen receptor		0.089			0.311
Negative	31 (35.6)		38 (43.6)	87	
Positive	41 (52.5)		38 (48.7)	78	

결 과

E2F1은 165명의 유방암 환자 중 72명(43.6%)에서 발현되었다. E2F1 발현을 양성, 즉 관찰된 세포의 10~50%가 염색되는 경우와 강양성, 즉 관찰된 세포의 50% 이상 염색되는 경우로 나누었을 때 46예(27.8%)가 E2F1 발현 양성이었고 26예(15.8%)가 강양성의 소견을 보였다. 이러한 음성, 양성, 강양성에 대한 통계학적 분석 결과는 양성 판정 기준을 10%로 잡고 E2F1 발현을 이분화한 것과 차이가 없었기 때문에 통계학적인 분석은 10% 기준의 이분화된 자료를 이용하였다. E2F1 발현 변화를 유방암의 크기, 조직학적 등급, 에스트로겐 수용체 발현에 따라 분석하였지만 의미 있는 상관관계는 없었다(Table 1).

Table 2. E2F1 expression and its correlation with pRb expression

	E2F1 expression		Total	P-value
	< 10%	≥ 10% (%)		
pRb expression				< 0.001
< 10%	62 (69.6)	27 (30.4)	89	
≥ 10%	31 (40.7)	45 (59.3)	76	

pRB의 발현도 E2F1 발현과 같은 방법으로 분류하였는데 76예(46.1%)에서 발현되었고 이 중에 51예(30.1%)는 양성이었고 25예(16%)는 강양성이었다. pRB발현 변화 역시 유방암의 조직학적, 생물학적 변수들과의 관련성이 관찰되지 않았다(Table 1). E2F1 발현 변화를 pRB의 발현 상태에 따라 분석하였을 때(Table 2) E2F1 발현의 빈도는 pRB 발현 음성 종양에서는 30.3%인 반면 pRB 발현 양성 종양에서 59.2%로 증가되어 있었다. 즉 E2F1 발현은 pRB 발현을 보이는 종양에서 의미 있게 증가되어 있었다($P < 0.001$). 세포 증식 지표를 S-phase 10%를 기준으로 분류하였을

Table 3. Change in S-phase fraction according to the expressions of E2F1 and pRB

	S-phase fraction (%)		Total	P-value
	< 10%	≥ 10%		
E2F1				0.015
< 10%	54 (58.1)	39 (41.9)	93	
≥ 10%	19 (26.3)	53 (73.7)	72	
pRB				0.321
< 10%	40 (44.9)	49 (55.1)	89	
≥ 10%	33 (43.4)	43 (56.6)	76	

Table 4. Univariate analysis of disease free survival and overall survival in breast carcinoma patients

	Patient No. (%)		Recurrence	P-value	Death	P-value
Tumor size				0.083		0.262
	< 2 cm	46	12 (26.1)		10 (21.7)	
	2~5 cm	100	33 (33.0)		26 (26.0)	
	≥ 5 cm	19	8 (42.1)		5 (26.3)	
HG				0.125		0.189
	1	31	9 (29.1)		6 (19.3)	
	2	70	25 (35.7)		19 (27.1)	
	3	64	19 (29.7)		16 (25.0)	
ER				0.042		0.047
	Absent	87	33 (37.9)		26 (29.8)	
	Present	78	20 (25.6)		15 (19.2)	
S-phase				0.088		0.107
	< 10%	73	20 (27.4)		16 (22.2)	
	≥ 10%	92	33 (35.9)		25 (27.2)	
E2F1				0.041		0.032
	< 10%	93	24 (25.8)		18 (19.3)	
	≥ 10%	72	29 (40.3)		23 (31.9)	
pRB				0.552		0.227
	< 10%	89	27 (30.3)		20 (22.5)	
	≥ 10%	76	26 (34.2)		21 (27.6)	

Table 5. Multivariate analysis of disease free survival and overall survival in breast carcinoma patients

	Disease free survival		Overall survival	
	Relative risk (95%CI)	P-value	Relative risk (95% CI)	P-value
Tumor size	2.29 (0.85~3.68)	0.254	1.81 (0.82~2.63)	0.221
HG	1.71 (0.94~2.73)	0.143	1.55 (0.87~2.14)	0.354
ER	2.98 (0.96~4.93)	0.078	2.67 (0.94~3.15)	0.074
S-phase	2.45 (0.75~3.12)	0.116	1.78 (0.83~2.24)	0.107
E2F1	3.12 (1.53~3.56)	0.031	2.83 (1.54~5.23)	0.036
pRB	1.57 (0.98~2.33)	0.325	1.56 (0.91~2.23)	0.173

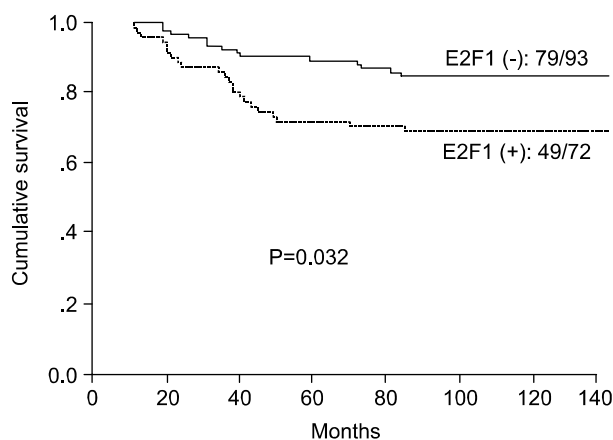


Fig. 1. Overall survival of the patients according to E2F1 expression. Survival of the patients having an E2F1-expressing tumor was significantly lower than that of patients having an E2F1-negative tumor ($p=0.032$).

때 E2F1 발현을 보인 유방암 72예의 73.6%에서 S-phase가 10% 이상으로 증가된 반면, E2F1 발현을 보이지 않는 유방암 93예 중 39예(41.9%)에서 S-phase가 10% 이상으로 증가되어 있었다(Table 3). S-phase는 E2F1의 발현을 보이는 유방암에서 의미 있게 증가되어 있었으나 pRB 발현과는 연관성이 관찰되지 않았다.

중간값 52개월(13~68개월)의 추적관찰기간 동안 53명(32.1%)의 환자들이 재발하였고 41명(24.8%)의 환자들이 재발성 유방암으로 사망하였다. E2F1 발현 양성 유방암 환자 72명 중 29명(40.3%)이 재발하였고 23명(27.6%)의 환자는 추적관찰 기간 중에 사망하였다. E2F1 발현 음성인 종양을 가진 환자 93명 중에서는 24명(25.8%)이 재발하였고 18명(19.3%)이 추적 관찰 기간 중에 사망하였다(Fig. 1).

유방암의 재발 및 환자들의 생존율은 E2F1의 발현에 따라 의미 있게 감소하였으나($P=0.032$) pRB의 발현과 생존율 사이에는 연관성이 관찰되지 않았다. 단변량 분석을 하였을 때 ER 발현과 E2F1 발현이 무병 생존과 전체 생

존의 의미 있는 예후인자로 나타났으나(Table 4) 다변량 분석에서는 E2F1 발현만이 환자 생존에 의미 있는 예후인자였다(Table 5).

고 찰

본 연구의 결과는 E2F1의 발현이 림프절 전이가 있는 유방암 환자에 있어 FAC 요법에 대한 치료효과를 예측할 수 있는 유용한 생물학적 지표로 이용될 수 있는 가능성을 보여주고 있다.

E2F1 발현을 보인 유방암 환자는 수술 후 FAC 화학 항암요법을 시행했음에도 불구하고 상대적으로 높은 재발률과 저조한 생존율을 보이는 반면 E2F1의 발현을 보이지 않는 유방암 환자들은 상대적으로 더 낮은 재발률과 우수한 생존율을 보였다. FAC요법이 실제 유방암 환자의 치료에 가장 보편적으로 사용되는 약제임을 고려할 때 본 연구의 결과를 토대로 보다 많은 환자군을 대상으로 한 연구가 필요하다고 생각되며, 상대적으로 작은 표본수를 가지고 후향적으로 시행된 본연구의 특성을 고려할 때 E2F1 발현을 유방암 환자에서 FAC 화학 항암요법의 효과를 예측할 수 있는 유용한 생물학적 지표라고 단순히 결론짓기는 어렵다. pRB-E2F1 pathway가 암 연구영역에서 생물학적으로 가장 광범위하게 연구된 분야 중 하나임에도 불구하고 유방암 환자의 임상결과와 연결시켜 E2F1 발현을 보고한 연구는 아직 없었다.

유방암 세포주를 이용한 실험은 E2F1의 발현이 원발성, 전이성 유방암에서 감소되는 것을 분석하여,(11) E2F1의 발현 변화가 유방암의 전이 과정에도 관여함을 시사하였다. 방광암에서도 E2F1의 발현이 감소하는 것은 전이와 사망으로 진행할 위험성이 높아지는 것과 관련이 있다는 연구결과가 있다.(9) 하지만 위암의 경우 E2F1은 63%에서 증폭되고 과발현된다고 보고되어 E2F1이 소화기암에서는 암 유발 유전자로서 작용할 수도 있다는 것을 암시하고 있다.(10) 대장암 환자는 E2F1의 발현이 정상 점막조직보다 증가된다고 보고되고 있으며(14) 비소세포성 폐암의 경우

도 종양 조직에서의 E2F1의 발현이 정상 폐 상피 세포보다 증가되는 양상을 보여주는데 이러한 결과들은 실제 인체 암에서 E2F1의 발현 변화가 드물지 않음을 시사한다.(15) 암 세포주에서 E2F1을 과발현시키면 아포토시스가 증가하는 반면 E2F1 nullizygous mice는 아포토시스 기능을 상실하게 되고 곧 종양 발생을 유발하게 된다.(18,19) 이러한 소견은 E2F1이 암을 유발하는 기능을 가지고 있을 뿐만 아니라 종양억제 성향을 함께 가지고 있음을 시사하고 있다. 아포토시스를 유발시키는 반면 세포증식을 촉진시키기도 하는 E2F1의 특성이 여러 장기의 인체암에 따라 다른 연구 결과를 보여주는 이유로 설명되기도 한다.(20)

세포주에서 E2F1의 이소성 발현(ectopic expression)은 G1에서 cdk를 활성화시켜 세포들의 S-phase 이행을 유도하게 되는데,(21,22) 인산화에 의한 pRB의 기능 상실은 E2F1에 의해 유도되는 G1-S transition에 매우 중요한 과정이다.(23) 따라서 E2F1 발현과 S-phase 사이의 의미 있는 상관관계를 보여주는 본 연구의 결과는 E2F1의 생물학적 특성과 잘 일치한다. 하지만 E2F1의 발현은 같은 종양에서 pRB의 발현과 유의한 관계가 있음에도 불구하고 pRB의 발현은 S-phase와 연관성을 보이지 않았다. 이러한 결과는 pRB가 세포주기 조절이외의 생물학적 기능을 가지고 있다는 것을 암시한다고 할 수 있다. 최근의 연구에서 pRB의 발현이 대장암 발생의 여러 과정 중에 점차 증가하는 것이 보고되고 있는데,(24) 이러한 소견은 pRB와 E2F1 발현 간에 밀접한 연관성으로 인해 발생하는 E2F1의 과도한 발현이 가진 잠재적인 독성 효과에 대해 균형을 유지할 수 있는, 즉 항상성(homeostasis)을 유지시키기 위한 조절 기전이 인체암 세포 간에 존재함을 제시하는 최근 연구 결과로 설명할 수 있겠다.(25)

결 론

본 연구의 의의는 E2F1과 pRB의 비정상적인 발현이 임상 유방암에서 드물지 않게 관찰되고 서로 긴밀한 관련성을 가지고 있다는 것을 밝혀낸 데 있다고 하겠다. FAC항암 요법에 대한 치료 반응의 예측인자로써 E2F1의 의미를 규명하기 위해서는 보다 많은 환자를 대상으로 한 연구가 필요할 것으로 생각되며, E2F1 발현이 유방암의 발생과 진행과정에서 가지는 역할을 정확히 알기 위해서는 pRB 이외의 다른 세포 성장 인자들과의 상호 관계를 분석하는 과정이 필요할 것이다.

REFERENCES

- 1) Sherr CJ. G1 phase progression: cycling on cue. *Cell* 1994; 79:551-5.
- 2) Sherr CJ. Cancer cell cycles. *Science* 1996;274:1672-7.
- 3) Dyson N. The regulation of E2F by pRB-family members. *Genes Dev* 1998;12:2245-62.
- 4) Yamasaki L, Bronson R, Williams B, Dyson N, Harlow E, Jacks T. Loss of E2F-1 reduces tumorigenesis and extends the lifespan of Rb1(+/-) mice. *Nat Genet* 1998;18:360-4.
- 5) Pierce AM, Fisher SM, Conti CJ, Johnson DG. Deregulated expression of E2F-1 induces hyperplasia and cooperates with ras in skin tumor development. *Oncogene* 1998;16:1267-76.
- 6) Hurford RK, Cobrinik D, Lee MH, Dyson N. pRB and p107/p130 are required for the regulated expression of different sets of E2F responsive genes. *Genes Dev* 1997;11:1147-63.
- 7) Wang A, Schneider-Broussard R, Kumar AP, MacLeod MC, Johnson DG. Regulation of BRCA1 expression by the Rb-E2F pathway. *J Biol Chem* 2000;275:4532-6.
- 8) Lavia P, Jansen-Durr P. E2F target genes and cell-cycle checkpoint control. *BioEssay* 1999;21:221-30.
- 9) Rabbani F, Richon VM, Orlow I, Lu ML, Drobnjak M, Dudas M, et al. Prognostic significance of transcriptional factor E2F-1 in bladder cancer: genotypic and phenotypic characterization. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:874-81.
- 10) Seki T, Yasui W, Yokozaki H, Naka K, Ishikawa T, Tahara E. Expression of the E2F family in human gastrointestinal carcinomas. *Int J Cancer* 1999;81:535-8.
- 11) Ho GH, Calvano JE, Bisogna M, Van Zee KJ. Expression of E2F-1 and E2F-4 is reduced in primary and metastatic breast carcinomas. *Breast Cancer Res Treat* 2001;69:115-22.
- 12) Han S, Park K, Kim HY, Lee MS, Kim HJ, Kim YD, et al. Clinical implication of altered expression of Mad1 protein in human breast carcinoma. *Cancer* 2000;88:1623-32.
- 13) Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. The value of histologic grade in breast cancer: experience from a large study with long term follow-up. *Histopathology* 1991;19:403-10.
- 14) HH. Mady, Hasso S, Melhem MF. Expression of E2F4 gene in colorectal adenocarcinoma and corresponding covering mucosa: Immunohisto-chemistry, Image analysis, and Immunoblot study. *Immunohistochemistry & Molecular Morphology* 2002;10:225-30.
- 15) Rosell R, Tarón M, O'Brate A. Predictive molecular markers in non-small cell lung cancer. *Current Opinion of Oncology* 2001;13:101-9.
- 16) Wu X, Levine AJ. p53 and E2F-1 cooperate to mediate apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:3602-6.
- 17) Qin X-Q, Livingston WGK Jr, Adams PD. Deregulated transcription factor E2F-1 expression leads to S-phase entry and p53-mediated apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91: 10918-22.
- 18) Yamasaki L, Jacks T, Bronson R, Goillot E, Harlow E, Dyson N. Tumor induction and tissue atrophy in mice lacking E2F-1. *Cell* 1996;85:537-48.
- 19) Field SJ, Tsai F-Y, Kuo F, Zubiaga AM, Kaelin WG Jr, Livingston SH, et al. E2F-1 functions in mice to promote

- apoptosis and suppress proliferation. *Cell* 1996;85:549-61.
- 20) Nevins JR. Toward an understanding of the functional complexity of the E2F and retinoblastoma families. *Cell Growth Diff* 1998;9:585-93.
 - 21) Johnson DG, Schwarz JK, Cress WD, Nevins JR. Expression of transcriptional factor E2F1 induces quiescent cells to enter S-phase. *Nature* 1993;365:349-52.
 - 22) Lukas J, Petersen BO, Holm K, Bartek J, Helin K. Deregulated expression of E2F family members induces S-phase entry and overcomes p16 (INK4A)-mediated growth suppression. *Mol Cell Biol* 1996;16:1047-57.
 - 23) Weinberg RA. The retinoblastoma protein and cell cycle control. *Cell* 1995;81:323-30.
 - 24) Yamamoto H, Soh JW, Klein MG, Zhang LM, Schieren I, Stein CA, ETA. Paradoxical increase in retinoblastoma protein in colorectal carcinomas may protect cells from apoptosis. *Clin Cancer Res* 1999;5:1805-15.
 - 25) Weinstein IB. Disorders in cell circuitry during multistage carcinogenesis: the role of homeostasis. *Carcinogenesis* 2000; 21:857-64.
-