

치료 불응성 갑상선암에 대한 실험적 치료 약제: Histone Deacetylase Inhibitor, PPAR- γ Agonist, Retinoic Acid

연세대학교 의과대학 외과학교실, ¹Department of Surgery, University of California, San Francisco

정 응 윤 · Orlo H Clark¹

New Promising Therapeutic Modalities for Thyroid Cancers: Histone Deacetylase Inhibitor, PPAR- γ Agonist, and Retinoic Acid

Woung Youn Chung, M.D., and Orlo H Clark, M.D.¹,

Most patients with thyroid cancer have well differentiated tumors that usually respond to conventional therapy including total or near total thyroidectomy, radioiodine ablation and TSH suppression. About 10% of patients, however, have aggressive cancers as a consequence of de-differentiation. During de-differentiation, thyroid cancers not only show more mitosis, fibrosis, and altered cell structure, they also lose thyroid-specific functions (iodine uptake, TSH receptor expression, and thyroglobulin production). These poorly differentiated or undifferentiated tumors mostly fail to take up radioiodine and are responsible for most deaths from thyroid cancer. New therapies need to be developed for patients with these types of tumors. Among the most promising antineoplastic therapies for these poorly differentiated and undifferentiated thyroid cancers are the histone deacetylase inhibitors, the PPAR- γ agonist and retinoic acids. These drugs have therapeutic effects for thyroid cancers in inhibiting growth and inducing apoptosis and redifferentiation, in vivo and in vitro studies. And, clinical trials in patients with refractory thyroid cancers have been initiated. Further laboratory investigation of these drugs is necessary to understand molecular mechanisms and demonstrate therapeutic efficacy for thyroid cancers. (*Korean J Endocrine Surg* 2005;5:69-74)

Key Words: Thyroid cancer, Histone deacetylase inhibitors, The PPAR- γ agonist, Retinoic acid, Redifferentiation

중심 단어: 치료 불응성 갑상선암, 재분화 치료

Department of Surgery, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea, ¹Department of Surgery, University of California, San Francisco, San Francisco, USA

서 론

대부분의 갑상선 암은 예후가 매우 좋은 고분화 갑상선 암이지만 전체 갑상선 암 중 약 10%는 역분화(de-differentiation) 과정을 거쳐 악성도가 높은 저분화 암 혹은 미분화 암으로 변하게 된다.(1) 이 같이 분화도가 좋지 않은 갑상선 암은 갑상선 세포의 고유 기능들(iodine uptake, TSH receptor expression, and thyroglobulin production)을 상실하게 됨으로써, 기존의 치료방법에 대한 반응도가 떨어짐은 물론 높은 재발 및 원격 전이율을 보임으로써 갑상선 암에 의한 사망의 대부분의 원인이 된다.(2,3) 특히, 미분화 갑상선 암은 진단 후 치료방법에 상관 없이 평균 생존율이 대부분 6개월 미만으로 획기적인 치료방법의 개발이 시급한 상황이다.(4)

이 같은 필요성에 의해 최근에 유전자 치료와 같은 새로운 치료법의 개발 및 새로운 약제의 개발에 대한 많은 연구들이 저분화 암 및 미분화 암의 치료에 초점을 맞추어 진행되고 있는데, 가능성 있는 새로운 치료 약제로 기대를 모으고 있는 histone deacetylase inhibitor (HDAC-I), PPAR- γ agonist 및 retinoic acid (RA)에 대하여 실험적 연구 결과를 토대로 소개하고자 한다.

Histone Deacetylase Inhibitors

뉴클레오솜(nucleosome)의 기본적인 구조는 핵 단백질 히스톤(histone) 4쌍이 중심(core)을 형성하고 바깥쪽으로는 DNA에 의해 둘러싸여 있다. 히스톤 단백질은 lysine-rich amino-terminal tail을 갖고 있는데, 이 부위에 2개의 효소, histone acetyltransferase와 histone deacetylase의 상반된 작용에 의해 아세틸 군이 부착 혹은 제거됨으로써 세포 성장,

책임저자 : 정응윤, 서울시 서대문구 신촌동 134
☎ 120-752, 연세대학교 의과대학 외과학교실
Tel: 02-2228-2126, Fax: 02-313-8289
E-mail: woungyounc@yumc.yonsei.ac.kr

본 논문의 요지는 2005년 추계외과학회에서 발표된 내용임.

세포주기 조절, 세포분화, 세포고사에 관련된 유전자들의 발현이 조절된다.(5,6) 정상 세포에서는 이 같은 히스톤의 아세틸화와 탈아세틸화가 자동적으로 조절이 되어 관련 유전자의 정상적인 발현이 이루어지지만 여러 가지 고형 암과 혈액 암에 대한 연구에서 밝혀진 바와 같이 암세포에서는 히스톤의 이상 아세틸화가 발생하여 정상 유전자 발현의 억제 및 암종 발생 과정이 유도된다. 즉, 암세포에서는 histone deacetylase가 암유전자(oncogene)의 프로모터(promoter)에 과작용함으로써 히스톤의 아세틸화 과정에 불균형을 초래함으로써 정상적인 세포의 증식, 분화, 고사 과정을 억제하고 암유전자의 발현을 유도해 암을 발생시키는 것으로 밝혀졌다.(5-9) 최근에 여러 가지 약제들이 histone deacetylase의 기능을 억제한다는 사실이 밝혀짐에 따라 이 같은 histone deacetylase inhibitor들의 항암치료 효과에 대해 많은 연구들이 이루어지고 있다.

Histone deacetylase inhibitor는 구조적으로 상이한 여러 가지 약제들로 크게 short-chain fatty acids (butyrate, valproic acid), hydroxamic acids (trichostatin, SAHA), cyclic tetrapeptides (depsipeptide; FK 228)과 benzamide-containing compounds (MS-275)로 분류할 수 있는데,(5,6) 이 중 trichostatin (TSA)와 depsipeptide (FK228)가 갑상선 암에 대한 다수의 연구에서 이미 사용되었고, valproic acid는 임상적 유용성이 높을 것으로 기대되어 최근에 여러 연구에서 사용되고 있다.

TSA의 작용 기전은 확실하지는 않지만 histone deacetylase의 촉매 역할을 하는 부위와 경쟁적 억제를 하는 것으로 알려졌으며,(5) 이미 여러 종류의 혈액 암 및 고형 암들에 대한 연구에서 암세포의 세포 주기 정지, 세포고사 촉진, 재분화(redifferentiation)를 유발하여 항암 작용을 하는 것으로 밝혀졌다.(5-13) 갑상선 암에서도 비교적 많은 연구가 행하여 졌는데, 유두상 암, 휘틀 암, 여포상 암과 같은 분화 갑상선 암에서는 물론 예후가 극히 안 좋은 미분화 암의 세포주에서도 세포 성장 억제 및 재분화 효과를 나타내어 기존의 치료 방법에 반응하지 않는 저분화 혹은 미분화 갑상선 암의 새로운 치료제로서 높은 가능성을 보이고 있다.(14,15) TSA는 세포 주기의 G1과 G2/M기에 작용하여 암 세포의 성장을 억제하고 p21과 p27과 같은 cyclin-dependent kinase inhibitor의 발현을 유도하여 다양한 cyclin-dependent kinase의 활성도를 저하시키고, bcl-2, bcl-xl, bax, bad와 같은 세포고사에 관련된 유전자들의 발현을 조절하여 항암 효과를 나타낸다.(5-10,12,16) 또한 세포의 immortalization과 transformation에 중요한 역할을 하는 telomerase의 발현을 촉진시키는 것으로 밝혀졌다.(5) TSA의 재분화 효과는 갑상선 암의 성장 억제 효과와 더불어 치료 불응성 갑상선 암의 치료에 있어 매우 중요한 관심사이다. 즉, 역분화 과정을 거치면서 갑상선 암 세포는 분화가 좋지 않은 세포로 변하게 되고, radioiodine을 섭취하는 능력을 상실하게 되어 기존의

치료에 반응하지 않는 예후가 매우 불량한 암종으로 변하게 되는데 여러 실험적 연구에서 TSA는 상실된 radioiodine 섭취 능력을 환원시키는 재분화 효과를 보임으로써 저분화 혹은 미분화 갑상선암의 방사성요오드 동위원소 치료에 대한 반응도를 증가시켜 생존율을 증가시킬 수 있는 가능성을 제시한 바 있다.(5,14)

FK228은 TSA의 작용기전과 달리 세포 내에서 활성화 형태로 변성된 후 histone deacetylase의 zinc group에 작용하여 기능을 억제 하는 것으로 알려져 있다.(17) TSA와 마찬가지로 여러 암종에서 세포 성장 억제 및 재분화 효과가 보고되었으며, 갑상선 암종에서도 이 같은 항암 효과가 좋은 것으로 알려졌다. 이전 연구에서는 세포 독성에 의한 안정성이 문제점으로 제기되었으나 최근 연구에서는 세포 독성이 미미한 것으로 밝혀져 TSA와 마찬가지로 치료 불응성 갑상선 암에 대한 가능성 있는 치료약제로서 많은 연구가 시행되고 있다.(17-22)

Valproic acid는 기존에 사용되었던 항 경련 및 항 정신 약제로서 최근에 histone deacetylase의 작용을 억제하는 것으로 밝혀졌으나 아직까지 그 작용 기전이 확실히 밝혀지지 않아 이에 대한 연구가 필요한 상황이다. 이미 상용되는 약제이기 때문에 약제의 부작용에 따른 안정성이 이미 검증된 상태로 환자를 대상으로 하는 임상 연구에 쉽게 사용할 수 있다는 장점이 있어 최근 많은 연구에서 사용되고 있다.(23,24) 실제로 환자를 대상으로 하는 2기 임상 연구가 UCSF 연구팀에서 이미 시작되어 진행 중이다.

본 저자들도 유두상 암 및 여포상 암과 같은 분화 갑상선 암과 미분화 갑상선 암의 세포주에 TSA, FK228, Valproic acid를 처리한 결과, 세포주의 종류에 따라 약간의 차이는 있었지만 세 가지 약제 모두 세포 성장 억제, 세포 고사 유도 및 방사성 요오드 동위원소 섭취능의 증가되고, 분화 표식 유전자인 NIS (sodium iodine symporter), Tg (thyroglobulin), TPO (thyroperoxidase)의 발현이 상승 조절됨으로써 재분화 효과가 있음을 알 수 있었다.(25,26)

PPAR-gamma agonist

Peroxisomal proliferator-activated receptor (PPAR)은 nuclear hormone receptor superfamily의 하나로서 세 개의 수용체 (α , β , γ)를 가지고 있다. 이 중 PPAR- γ 는 세포의 성장 및 분화에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며, retinoid-X-receptor와 이중 이형체(heterodimer)를 형성하고 peroxisomal proliferator-response element (PPRE)에 binding하여 ligand의 신호를 통해 전사과정의 활성화를 유도한다. 대표적인 ligand로는 지방산, 프로스타그란딘, NSAID와 당뇨 치료제로 많이 사용되고 있는 thiazolidinediones (TZD)이다. TZD계의 당뇨 치료제로는 troglitazone, ciglitazone, proglitazone과 rosiglitazone이 해당되는데 당뇨 치료 작용은 인슐린에 지방

세포 근육 및 간에서의 인슐린 민감도를 높임으로써 이루어진다.(27-29) 최근에는 이 같은 PPAR- γ agonist 약제들이 여러 암 중에서 세포 성장 억제, 세포고사 유도, 재분화의 항암치료 효과가 있음이 밝혀짐에 따라 갑상선 암에서도 이에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다.

2000년에 Kroll 등(30)이 여포상 갑상선 암에서 PAX-8과 PPAR- γ 수용체의 유전자의 재배열(rearrangement)과 융합 단백질(fusion protein)의 존재를 보고하였는데 PAX-8-PPAR- γ 융합 단백질은 wild typw의 PPAR- γ 수용체의 기능을 저하시켜 갑상선 암세포의 증식을 유도하고 세포 분화, 세포 고사를 억제하는 것으로 알려졌다. 갑상선 암 조직 및 세포주에서 PPAR- γ 수용체의 발현도는 암종에 따라 다양하며 PPAR- γ agonist에 의해 PPAR- γ 수용체의 이상 발현을 보이는 암세포가 그 기능을 회복함으로써 암세포의 성장 억제 및 재분화와 세포고사를 유도하게 된다.(31,32) 이 같은 PPAR- γ agonist의 치료 효과는 사용된 갑상선 암세포 주와 약제의 종류에 따라 연구자마다 다소의 차이를 보였기 때문에 아직도 새로운 치료 약제로서 가능성을 검증하기 위한 실험적 연구들이 필요하고 아울러 PAX-8-PPAR- γ 융합 단백질의 임상적 중요성을 규명하려는 노력이 지속되어야 할 것으로 생각한다.

본 연구자들도 유두상암, 여포상암, 미분화암의 세포주에 Rosiglitazone을 투여한 결과 우수한 세포 성장 억제 효과와 세포 고사 유도 유전자인 bcl2, bcl-xl의 발현도가 특히 여포상 갑상선 암세포 주에서 50% 이상 감소됨을 확인하여 갑상선 암에 대한 치료제로서의 가능성을 확인하였다. 또한 앞서 언급한 valproic acid와 마찬가지로 Rosiglitazone도 이미 당료치료제로서 임상에서 광범위하게 사용되어 안정성이 입증되었기에 임상 연구에 쉽게 사용할 수 있다는 장점이 있으며, 실제로 환자를 대상으로 하는 2기 임상 연구가 UCSF 연구팀에서 진행 중이다.

Retinoic acid

Retinoic acids (RAs)는 비타민 A의 생물학적 활성 산물로서 정상적인 세포 형성, 세포 증식, 세포 분화에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.(33) RA의 약리학적 기전은 기본적으로 RA receptors (RAR α , RAR β , RAR γ)와 retinoid-X receptors (RXR α , RXR β , RXR γ)에 의해 매개되는데 이 같은 수용체들은 ligand-activated transcription factors로 작용한다.(34) RAR/RXR 이중 이형체 혹은 RXR 동종 이형체(homodimers)는 RA에 의해 발현되는 유전자들의 프로모토에 존재하는 RA response elements (RARE)에 부착됨으로써 세포전달 신호를 전달하고 유전자 전사를 활성화시키는 작용을 하는 것으로 알려졌다.(35,36)

RA는 여러 가지 암종에 대한 재분화 치료제로서 그 유용성이 입증된 바 있으며, 특히, acute promyelocytic leukemia,

피부암, 유방암, 두경부 암에서 탁월한 치료 효과가 보고된 바 있다.(37-40) 갑상선 암에서도 이미 무수히 많은 실험 연구에서 탁월한 항암 효과를 보고하여 기존의 치료에 반응하지 않는 불응성 갑상선 암에 대한 새로운 치료제로서 많은 관심을 끌었으며(41,42), 1990년대 후반부터는 환자를 대상으로 하는 임상연구에도 활발히 사용된 바 있다. 그러나 최근에 이 같은 임상연구에 대한 치료 효과가 단지 20~40%라는 회의적인 결과가 보고됨에 따라(43,45)이 같은 RA 치료의 저항성에 대한 원인을 규명하려는 연구들이 시행되었다.

RA의 치료 효과는 핵 수용체의 효과적인 신호 전달 체계에 의해 매개되는데, 갑상선 암에서는 종류에 따라 수용체들의 표현 정도가 다르고 이에 따라 RA의 항암 효과가 다양하게 나타나는 것으로 보고되었다.(46-48) 따라서 RA 수용체의 발현 양상은 갑상선 암의 증식 및 분화와 밀접한 관련이 있고 RA 재분화 치료의 효과를 예측할 수 있는 중요한 척도가 될 수 있다고 말할 수 있다. 최근의 연구에서는 여러 가지 RA 수용체 중 RAR β 발현 이상이 여러 가지 상피암의 발암 과정과 RA에 의한 항암 치료 효과에 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀졌으며, 암 억제 유전자로 간주될 정도로 항암 치료의 중요한 목표가 되고 있다.(49-57) 실제로 유방암, 두경부암, 구강암, 갑상선암에서 RAR β 의 발현 저하가 밝혀졌고 이 같은 이상 발현이 RA 치료에 대한 저항성의 중요한 원인으로서는 가능성이 제시됨에 따라 저발현된 RAR β 를 재발현시킬 수 있는 약제를 찾아내고 RA와 병용하여 RAR β 재발현에 따른 항암 치료효과를 극대화하려는 연구들이 활발히 이루어지고 있으며, 최근, 여러 가지 HDAC-I들이 RAR β 의 재발현에 효과적이라는 연구 보고들이 발표됨에 따라 RA 저항성 혈액암, 신암, 두경부암에서 TSA 혹은 valproic acid와 RA를 병용치료하여 단독 치료한 경우보다 더욱 효과적인 RAR β 의 재발현은 물론 좋은 항암효과를 보고하였다.(24,58-62)

본 연구자들도 여러 가지 갑상선 암 세포주 및 조직에서 RAR β 의 저 발현을 확인함으로써 이 같은 RAR β 의 이상 발현이 갑상선 암의 발생 과정과 연관성이 있음을 알아 내었으며, TSA와 RA를 미분화 갑상선 암 세포주에 단독 혹은 병행 투여한 결과 병행 요법이 단독 요법에 비해 RAR β 의 재발현은 물론 여러 가지 항암치료효과가 우월하다는 결과를 얻을 수 있었다. 이 같은 결과는 갑상선 암에서 TSA 및 valproic acid와 같은 HDAC-I의 단독 요법은 물론 RA와의 병용요법이 치료 불응성 갑상선 암에 대한 새로운 치료법으로서 가능성을 확인한 것으로 앞으로 지속적인 실험적 및 임상적 연구가 필요할 것으로 생각된다.

요 약

많은 기초 연구가 저분화 혹은 미분화 갑상선 암이 같은

치료 불응성 갑상선 암에 대한 새로운 치료 방법 및 약제 개발에 초점을 두고 시행되고 있는데, 최근 가능성 있는 새로운 치료 약제로서 여러 가지 HDAC-I와 PPAR- γ agonist에 대한 연구가 많이 이루어지고 있다. 이 약제들은 갑상선 암의 증식 억제제는 물론 상실된 방사상 요오드 섭취능을 회복시켜 치료 반응도를 높이는 재분화 치료제로서의 가능성을 제시하고 있으며, valproic acid, rosiglitazone과 같은 일부 약제는 이미 다른 목적으로 임상에서 상용되었기 때문에 실험적 연구 결과를 토대로 임상연구에도 활용하려는 노력이 필요할 것으로 생각한다. 재분화 치료제로서 많은 연구가 이루어졌던 RA는 저항성으로 인한 치료적 한계성을 극복하기 위해 이미 여러 가지 다른 약제들과의 병용요법이 시도되었으며, 최근에는 저자들의 연구와 함께 중앙 억제 인자로서 중요한 역할을 하는 RAR β 의 발현을 유도할 수 있는 여러 가지 HDAC-I와의 병용요법이 시도되어 좋은 결과들이 보고된 바 있으므로 이에 대한 관심과 지속적인 연구도 필요할 것으로 생각된다.

REFERENCES

- Hundahl SA, Fleming ID, Fremgen AM, Menck HR. A national cancer data base report on 53,856 cases of thyroid carcinoma treated in the U.S., 1985-1995. *Cancer* 1998;83:2638-48.
- Arturi F, Russo D, Schlumberger M, Du Villard JA, Caillou B, Vigneri P. Iodide symporter gene expression in human thyroid tumors. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:2193-6.
- Elisei R, Pinchera A, Romei C, Cryczynska M, Pohl V, Maenhaut C, et al. Expression of thyrotropin receptor (TSH-R), thyroglobulin, thyroperoxidase and calcitonin messenger ribonucleic acid in thyroid carcinoma: evidence of TSH-R gene transcript in medullary histotype. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;78:867-71.
- Haugen BR. Management of the patient with progressive radioiodine non-responsive disease. *Semin Surg Oncol* 1999;16:34-41.
- Marks P, Rifkind RA, Richon VM, Breslow R, Miller T, Kelly WK. Histone deacetylases and cancer: causes and therapies. *Nat Rev Cancer* 2001;1:194-202.
- Johnstone RW. Histone-deacetylase inhibitors: novel drugs for the treatment of cancer. *Nat Rev Drug Discov* 2002;1:287-99.
- Dressel U, Renkawitz R, Baniahmad A. Promoter specific sensitivity to inhibition of histone deacetylases: implications for hormonal gene control, cellular differentiation and cancer. *Anticancer Res* 2000;20:1017-22.
- Yoshida M, Furumai R, Nishiyama M, Komatsu Y, Nishino N, Horinouchi S. Histone deacetylase as a new target for cancer chemotherapy. *Cancer Chemother Pharmacol* 2001;48 (Suppl 1):S20-6.
- Weidle UH, Grossmann A. Inhibition of histone deacetylases: a new strategy to target epigenetic modifications for anticancer treatment. *Anticancer Res* 2000;20:1471-85.
- Eickhoff B, Ruller S, Laue T, Kohler G, Stahl C, Schlaak M, et al. Trichostatin A modulates expression of p21- waf1/cip1, Bcl-xL, ID1, ID2, ID3, CRAB2, GATA-2, hsp86 and TFIIID/TAFII31 mRNA in human lung adenocarcinoma cells. *Biol Chem* 2000;381:107-12.
- Donadelli M, Costanzo C, Faggioli L, Scupoli MT, Moore PS, Bassi C, et al. Trichostatin A, an inhibitor of histone deacetylases, strongly suppresses growth of pancreatic adenocarcinoma cells. *Mol Carcinog* 2003;38:59-69.
- Herold C, Ganslmayer M, Ocker M, Hermann M, Geerts A, Hahn EG, et al. The histone-deacetylase inhibitor Trichostatin A blocks proliferation and triggers apoptotic programs in hepatoma cells. *J Hepatol* 2002;36:233-40.
- Vigushin DM, Ali S, Pace PE, Mirsaidi N, Ito K, Adcock I, Coombes RC. Trichostatin A is a histone deacetylase inhibitor with potent antitumor activity against breast cancer in vivo. *Clin Cancer Res* 2001;7:971-6.
- Zarnegar R, Brunaud L, Kanauchi H, Wong M, Fung M, Ginzinger D, et al. Increasing the effectiveness of radioactive iodine therapy in the treatment of thyroid cancer using Trichostatin A, a histone deacetylase inhibitor. *Surgery* 2002;132:984-90.
- Greenberg VL, Williams JM, Cogswell JP, Mendenhall M, Zimmer SG. Histone deacetylase inhibitors promote apoptosis and differential cell cycle arrest in anaplastic thyroid cancer cells. *Thyroid* 2001;11:315-25.
- Sambucetti LC, Fischer DD, Zabludoff S, Kwon PO, Chamberlin H, Trogani N, et al. Histone deacetylase inhibition selectively alters the activity and expression of cell cycle proteins leading to specific chromatin acetylation and antiproliferative effects. *J Biol Chem* 1999;274:34940-7.
- Furumai R, Matsuyama A, Kobashi N, Lee KH, Nishiyama M, Nakajima H, et al. FK228 (depsipeptide) as a natural pro-drug that inhibits class I histone deacetylases. *Cancer Res* 2002;62:4916-21.
- Sandor V, Senderowicz A, Mertins S, Sackett D, Sausville E, Blagosklonny MV, et al. P21-dependent G1 arrest with down-regulation of cyclin D1 and upregulation of cyclin E by the histone deacetylase inhibitor FR901228. *Br J Cancer* 2000;83:817-25.
- Mori N, Matsuda T, Tadano M, Kinjo T, Yamada Y, Tsukasaki K, et al. Apoptosis induced by the histone deacetylase inhibitor FR901228 in human T-cell leukemia virus type 1-infected T-cell lines and primary adult T-cell leukemia cells. *J Virol* 2004;78:4582-90.
- Zhang Y, Adachi M, Zhao X, Kawamura R, Imai K. Histone deacetylase inhibitors FK228, N-(2-aminophenyl)-4-[N-(pyridin-3-yl-methoxycarbonyl)amino-methyl]benzamide and m-carboxycinnamic acid bis-hydroxamide augment radiation-induced cell death in gastrointestinal adenocarcinoma cells. *Int J Cancer* 2004;110:301-8.

- 21) Piekarczyk RL, Robey R, Sandor V, Bakke S, Wilson WH, Dahmouh L, et al. Inhibitor of histone deacetylation, depsipeptide (FR-901228), in the treatment of peripheral and cutaneous T-cell lymphoma: a case report. *Blood* 2001;98:2865-8.
- 22) Sandor V, Bakke S, Robey RW, Kang MH, Blagosklonny MV, Bender J, et al. Phase I trial of the histone deacetylase inhibitor, depsipeptide (FR901228, NSC 630176), in patients with refractory neoplasms. *Clin Cancer Res* 2002;8:718-28.
- 23) Gurvich N, Tsygankova OM, Meinkoth JL, Klein PS. Histone deacetylase is a target of valproic acid-mediated cellular differentiation. *Cancer Res* 2004;64:1079-86.
- 24) Trus MR, Yang L, Suarez Saiz F, Bordeleau L, Jurisica I, Minden MD. The histone deacetylase inhibitor valproic acid alters sensitivity towards all trans retinoic acid in acute myeloblastic leukemia cells. *Leukemia* 2005;19:1161-8.
- 25) Shen WT, Wong TS, Chung WY, Wong MG, Kebebew E, Duh Q, et al. Valproic acid inhibits growth, induces apoptosis, and modulates apoptosis-regulatory and differentiation gene expression in human thyroid cancer cells. *Surgery* 2005;138:979-85.
- 26) Shen WT, Chung WY. Treatment of thyroid cancer with histone deacetylase inhibitors and peroxisomal proliferator-activated receptor- γ agonist. *Thyroid* 2005;15:594-9.
- 27) Park JW, Clark OH. Redifferentiation therapy for thyroid cancer. *Surg Clin North Am* 2004;84:921-43.
- 28) Roberts-Thomson SJ. Peroxisome proliferator-activated receptors in tumorigenesis: targets of tumour promotion and treatment. *Immunol Cell Biol* 2000;78:436-41.
- 29) Na HK, Surh YJ. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR gamma) ligands as bifunctional regulators of cell proliferation. *Biochem Pharmacol* 2003;66:1381-91.
- 30) Kroll TG, Sarraf P, Pecciarini L, Chen CJ, Mueller E, Spiegelman BM, et al. PAX8-PPARgamma1 fusion oncogene in human thyroid carcinoma. *Science* 2000;289:1357-60.
- 31) Ohta K, Endo T, Haraguchi K, Hershman JM, Onaya T. Ligands for peroxisome proliferator-activated receptor gamma inhibit growth and induce apoptosis of human papillary thyroid carcinoma cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:2170-7.
- 32) Martelli ML, Iuliano R, Le Pera I, Sama' I, Monaco C, Cammarota S, et al. Inhibitory effects of peroxisome proliferator-activated receptor gamma on thyroid carcinoma cell growth. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:4728-35.
- 33) Pfahl M, Chytil F. Regulation of metabolism by retinoic acid and its nuclear receptors. *Ann Rev Nutr* 1996;16:257-83.
- 34) Chambon P. A decade of molecular biology of retinoic acid receptors. *Fed Am Soc Exp Biol J* 1996;10:940-54.
- 35) Kastner P, Mark M, Chambon P. Nonsteroid nuclear receptors: what are genetic studies telling us about their role in real life? *Cell* 1995;83:859-69.
- 36) Leid N, Kastner P, Chambon P. Multiplicity generates diversity in the retinoic acid signaling pathways. *Trends Biochem Sc* 1992;17:427-33.
- 37) Lotan R. Retinoids in cancer chemoprevention. *Fed Am Soc Exp Biol J* 1996;10:1031-9.
- 38) Hong WK, Sporn MB. Recent advances in chemoprevention of cancer. *Science* 1997;278:1073-7.
- 39) Crowe DL. Retinoic acid receptor, induces terminal differentiation of squamous cell carcinoma lines in the absence of cyclindependent kinase inhibitor expression. *Cancer Res* 1998;58:142-8.
- 40) Lawrence JA, Adamson PC, Caruso R, Chow C, Kleiner D, Murphy RF, et al. Phase I clinical trial of alitretinoin and tamoxifen in breast cancer patients: toxicity, pharmacokinetic, and biomarker evaluations. *J Clin Oncol* 2001;19:2754-63.
- 41) Jakobs TC, Schmutzler C, Meissner-Weigl J, Kohrle J. The promoter of the human type I 5'-deiodinase gene: mapping of the transcription start site and identification of a DR+4 thyroid-hormone responsive element. *Euro J Biochem* 1997;247:288-97.
- 42) Schreck R, Schnieders F, Schmutzler C, Kohrle J. Retinoids stimulate type-I iodothyronine 5'-deiodinase activity in human follicular thyroid-carcinoma cell lines. *J Clin Endocrinol Metab* 1994;79:791-8.
- 43) Simon D, Koehle J, Reiners C, Boerner AR, Schmutzler C, Mainz K, et al. Redifferentiation therapy with retinoids: therapeutic option for advanced follicular and papillary thyroid carcinoma. *World Journal of Surgery* 1998;22:569-74.
- 44) Simon D, Koerber C, Krausch M, Segering J, Groth P, Gorges R, et al. Clinical impact of retinoids in redifferentiation therapy of advanced thyroid cancer: final results of a pilot study. *European Journal of Nuclear Medicine* 2002;29:775-82.
- 45) Gruning T, Tiepoli C, Zophel K, Bredow J, Kropp J, Franke WG. Retinoic acid for redifferentiation of thyroid cancer-does it hold its promise-. *Eur J Endocrinol* 2003;148:395-402.
- 46) Kurebayashi J, Tanaka K, Otsuki T, Moriya T, Kunisue H, Uno M, et al. All-trans-retinoic acid modulates expression levels of thyroglobulin and cytokines in a new human poorly differentiated papillary thyroid carcinoma cell line, KTC-1. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:2889-96.
- 47) Love JM, Gudas LJ. Vitamin A differentiation, and cancer. *Current Opinion in Cell Biology* 1994;6:825-31.
- 48) Schmutzler C, Brtko J, Winzer R, Jakobs TC, Meissner-Weigl J, Simon D, et al. Functional retinoid and thyroid hormone receptors in human thyroid-carcinoma cell lines and tissues. *Int J Cancer* 1998;76:368-76.
- 49) Haugen BR, Larson LL, Pugazhenti U, Heys WR, Klopfer JP, Kramer CA, et al. Retinoic acid and retinoid X receptors are differentially expressed in thyroid cancer and thyroid carcinoma cell lines and predict response to treatment with retinoids *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:272-80.
- 50) Widschwendter M, Berger J, Daxenbichler G, Muller-Holzner E, Widschwendter A, Mayr A, et al. Loss of retinoic acid receptor β expression in breast cancer and morphologically normal adjacent tissue but not in the normal breast tissue

- distant from the cancer. *Cancer Res* 1997;57:4158-61.
- 51) Xu XC, Sneige N, Liu X, Nandagiri R, Lee JJ, Lukmanji F, et al. Progressive decrease in Nuclear retinoic acid receptor beta messenger RNA level during breast carcinogenesis. *Cancer Res* 1997;57:4992-6.
 - 52) Xu XC, Ro JY, Lee JS, Shin DM, Hong WK, Lotan R. Differential expression of nuclear retinoid receptors in normal, premalignant, and malignant head and neck tissues. *Cancer Res* 1994;54:3580-7.
 - 53) Lotan R, Xu XC, Lippman SM, Ro JY, Lee JS, Lee JJ, et al. Suppression of retinoic acid receptor-beta in premalignant oral lesions and its up-regulation by isotretinoin. *N Engl J Med* 1995;332:1405-10.
 - 54) Rochaix P, Monteil-Onteniente S, Rochette-Egly C, Caratero C, Voigt JJ, Jozan S. Reduced expression of retinoic acid receptor beta protein (RAR beta) in human papillary thyroid carcinoma: immunohistochemical and western blot study. *Histopathology* 1998;33:337-43.
 - 55) Liu Y, Lee MO, Wang HG, Li Y, Hashimoto Y, Klaus M, et al. Retinoic acid receptor β mediates the growth-inhibitory effect of retinoic acid by promoting apoptosis in human breast cancer cells. *Mol Cell Biol* 1996;16:1138-49.
 - 56) Sun SY, Wan H, Yue P, Hong WK, Lotan R. Evidence that retinoic acid receptor β induction by retinoids is important for tumor cell growth inhibition. *J Biol Chem* 2000;275:17149-53.
 - 57) Elisei R, Vivaldi A, Agate L, Ciampi R, Molinaro E, Piampani P, et al. All-trans-retinoic acid treatment inhibits the growth of retinoic acid receptor β messenger ribonucleic acid expressing thyroid cancer cell lines but does not reinduce the expression of thyroid specific genes. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:2403-11.
 - 58) Kuendgen A, Strupp C, Aivado M, Bernhardt A, Hildebrandt B, Haas R, et al. Treatment of myelodysplastic syndromes with valproic acid alone or in combination with all-trans retinoic acid. *Blood* 2004;104:1266-9.
 - 59) Ferrara FF, Fazi F, Bianchini A, Padula F, Gelmetti V, Minucci S, et al. Histone deacetylase-targeted treatment restores retinoic acid signaling and differentiation in acute myeloid leukemia. *Cancer Res* 2001;61:2-7.
 - 60) Kitamura K, Hoshi S, Koike M, Kiyoi H, Saito H, Naoe T. Histone deacetylase inhibitor but not arsenic trioxide differentiates acute promyelocytic leukaemia cells with t(11;17) in combination with all-trans-retinoic acid. *Br J Haematol* 2000;108:696-702.
 - 61) Touma SE, Goldberg JS, Moench P, Guo X, Tickoo SK, Gudas LJ, et al. Retinoic acid and the histone deacetylase inhibitor Trichostatin A inhibit the proliferation of human renal cell carcinoma in a xenograft tumor model. *Clin Cancer Res* 2005;11:3558-66.
 - 62) Whang YM, Choi EJ, Seo JH, Kim JS, Yoo YD, Kim YH. Hyperacetylation enhances the growth-inhibitory effect of all-trans retinoic acid by the restoration of retinoic acid receptor expression in head and neck squamous carcinoma (HNSCC) cells *Cancer chemotherapy and pharmacology* Published online: 16 June 2005.