

“Krebs” entsteht nicht wie manche andere Krankheiten unvermittelt und als Folge eines einmaligen Ereignisses. Der mehrstufige Vorgang der Krebsentstehung beginnt mit dem Auftreten von Fehlern in der molekularen Steuerung der betroffenen Zellsysteme - lange bevor eine Tumorerkrankung diagnostizierbar wird. Oftmals ist dabei das zelluläre Fehlverhalten auf Wechselwirkungen der Zellen mit “krebserrregenden” Umweltfaktoren zurückzuführen.

Ein Prozeß in vielen Schritten

Die Entstehung von Krebserkrankungen nach Einwirkung exogener und endogener Kanzerogene / Von Manfred F. Rajewsky

Mehr als zweihundert verschiedene, deutlich unterschiedliche Krankheitsbilder werden zur Zeit unter den Begriff “Krebs” zusammengefaßt - eine leider allzu vereinfachende Bezeichnung für das vielgestaltige Spektrum der bösartigen, *malignen* Erkrankungen. Die einzelnen Krebsarten werden in erster Linie nach den Körperzellen unterschieden, von denen die Krankheit ausgeht. Dabei nehmen über 90 Prozent aller malignen Zellneubildungen ihren Ausgang von *epithelialen* Zellen, also von denjenigen Zellschichten, die als Gewebeoberflächen in Kontakt mit der Umwelt stehen. Diese

Tumoren werden als *Karzinome* bezeichnet. Der Rest verteilt sich auf Tumoren des Knochen-, Knorpel-, Muskel- oder Bindegewebes (*Sarkome*) und Leukämien (Abb. 2). Das Entstehen maligner Tumoren in den verschiedenen Geweben und von Leukämien im blutbildenden System oder im Immunsystem nimmt seinen Ausgang von Fehlern in der molekularen Steuerung der Zellvermehrung (*Proliferation*) und -differenzierung zu spezialisierten Zelltypen, der Erkennung der “Mikro-Umgebung” durch die Zelle und damit der strengen Einhaltung ihrer Gewebeexposition.

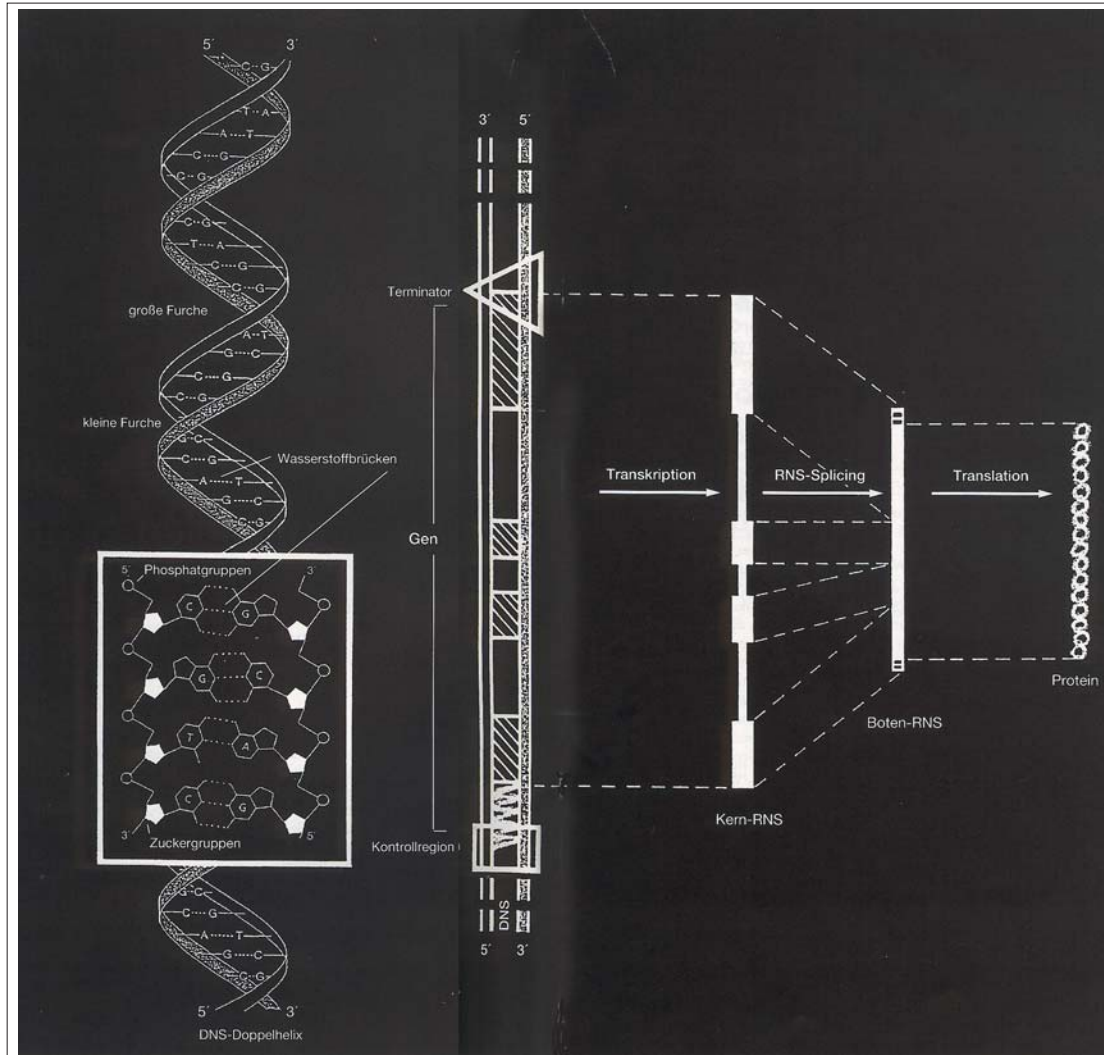
Diese Fehler führen zu einem atypischen Verhalten der Zelle im Zellverband und einer unkontrollierten Zellteilung.

Das Wachstum maligner Tumoren geht meist von einer einzelnen veränderten Zelle aus, mit dem Ergebnis einer *klonalen* Proliferation tumoriger Zellen. Diese ist verbunden mit dem unerlaubten und destruktiven Einwandern (*Invasion*) von Tumorzellen in benachbarte Gewebereiche und ihrer Ansiedlung in vom Primärtumor entfernt liegende “Organe”, der *Metastasierung*. So entwickeln sich - zunächst mikroskopisch klein

und kaum diagnostizierbar - Sekundärtumoren (*Metastasen*), die eine effektive Therapie erheblich erschweren. Lebensbedrohend an einer Tumorerkrankung ist zumeist nicht so sehr der Primärtumor, sondern vielmehr seine multiplen Metastasen. Daher ist der Therapieerfolg besonders abhängig von einer möglichst frühen Erkennung maligner Zellen, solange diese noch in geringer Zahl und zumeist an einem Ort im Organismus vorliegen. Selbst den modernsten bildgebenden Diagnostikverfahren entgehen in der Regel maligne Neubildungen in inneren Organen, wenn der Tumordurchmesser unter einem halben bis einem Zentimeter liegt. Ein Tumor enthält in diesem Stadium bereits zwischen 100 Millionen und einer Milliarde (10^8 bis 10^9) Tumorzellen, die es zu eliminieren gilt. Nicht nur die unterschiedlichen molekularen Mechanismen der Krebsentstehung, sondern auch das

(1) Ein DNS-Molekül besitzt zwei Stränge aus miteinander verbundenen Zucker- (Desoxyribose) und Phosphatgruppen; an jedem Zuckerrest hängt jeweils eine der vier Basen Guanin (G), Cytosin (C), Thymin (T), oder Adenin (A). Die Phosphatgruppe verbindet das 5'-Kohlenstoffatom des einen mit dem 3'-Kohlenstoffatom des folgenden Zuckers. Im "Inneren" der Doppelhelix (B-Form) paaren sich jeweils die Basen Thymin und Adenin (über zwei Wasserstoffbrücken) und Guanin und Cytosin (über drei Wasserstoffbrücken). Um die in der Basensequenz eines Gens - d.h. eines durch die enthaltene Information definierten Abschnitts der DNS - codierte Information weiterzugeben, wird der codierende Strang der DNS (schwarz) zunächst in die sogenannte Kern-Ribonukleinsäure (Kern-RNS) abgeschrieben (*transkribiert*), wobei der komplementäre DNS-Strang als Matrize dient. Im nachfolgenden Prozeß des RNS-Splittings werden die *Introns* - RNS-Abschnitte die im Gegensatz zu den *Exons* keine Informationen für den Bau von Genprodukten enthalten - aus der Kern-RNS herausgeschnitten. Im anschließenden Vorgang der Translation wird die Information dieser Boten-RNS umgesetzt: Als Genprodukte entstehen Proteine.

Die Abstände zwischen den Atomen sind nicht maßstabgetreu.
 Quellen: Spektrum der Wissenschaft (1988), Moleküle des Lebens/
 Albert: Das Bakterium *E. coli* (manuscriptum form 81/22)/Kajewsky,
 Grafik: Universität GH Essen/LKM&S



Verhalten und die spezifische Erkennung maligner Zellen im Organismus bilden daher wichtige Problemstellungen der Krebsforschung und zugleich der molekularen Zellbiologie und Zellsystembiologie - besonders im Hinblick auf neue Ansätze für eine erfolgreiche Therapie.

Zusammenspiel und Interdependenz der Zellsysteme

Aus der befruchteten Eizelle des Menschen entwickelt sich durch genau abgestimmte Vermehrung von Vorläuferzellen für viele unterschiedliche Zelltypen ein komplexer Organismus, bestehend aus der kaum vorstellbaren Zahl von nahezu 100 Billionen (dies entspricht 100.000 Milliarden oder 10^{14}) Zellen. Für diese Entwicklung und zum Ausgleich ständiger Zellverluste ist im Laufe eines Lebens die noch weniger faßbare Anzahl von etwa 10 Billionen (10.000 Billionen oder 10^{16}) Zellteilungen erforderlich. Dabei entstehen reife, sogenannte *differenzierte* Zellen aus zunächst noch *pluripotenten*, später dann zur Ausprägung bestimmter Zelltypen determinierten "Stammzellen", deren Teilungsaktivität während einer fortgeschrittenen Phase des Differenzierungsprozesses erlischt. Diese Abschaltung der Proliferation ist in vielen Fällen unumkehrbar, sie kann aber auch reversibel sein - etwa bei Geweben, die nach Schädigung, also Zellverlusten, zur Regeneration befähigt sind.

Das Ensemble von Form, Struktur und Funktion bildet den *Phänotyp* der Zelle. Dieser ist innerhalb einer gewissen, zur Adaptation an wechselnde Umgebungsbedingungen erforderlichen Variationsbreite präzise festgelegt und charakteristisch für den entsprechenden Zelltyp und seine unterschiedlichen Differenzierungsstadien. Der Phänotyp der Zelle resultiert aus dem jeweiligen Muster makromolekularer Zellbausteine, vor allem dem der Proteine. Letztere sind spezifisch

Zelltyp	Häufigkeit
Karzinome, entstanden aus äußeren Epithelzellen, die in direktem Kontakt mit der Umwelt stehen (Haut, Magen-Darm-Trakt, Lunge, Cervix uteri)	56 %
Karzinome, entstanden aus inneren Epithelzellen (Brustdrüse, Prostata, Ovar, Blase, Pankreas)	36 %
Sarkome und Leukämien, entstanden aus Stützgeweben und blutbildenden Zellen	8 %

(2) Häufigkeit der Krebsentstehung aus unterschiedlichen, normalen Zelltypen.
 Quelle: J. Clemons, Statistical studies in malignant neoplasms. Acta Path. Microbiol. Scand. Suppl. 174 (1964), 259 (1969), 247 (1974). Cited by J. Cairns (1978).

sche Produkte individueller Abschnitte (*Gene*) der als fadenförmige Doppelhelix wohlbekanntes Desoxyribonukleinsäure (DNS), also der in den 46 Chromosomen des menschlichen Zellkerns lokalisierten "Erbsubstanz".

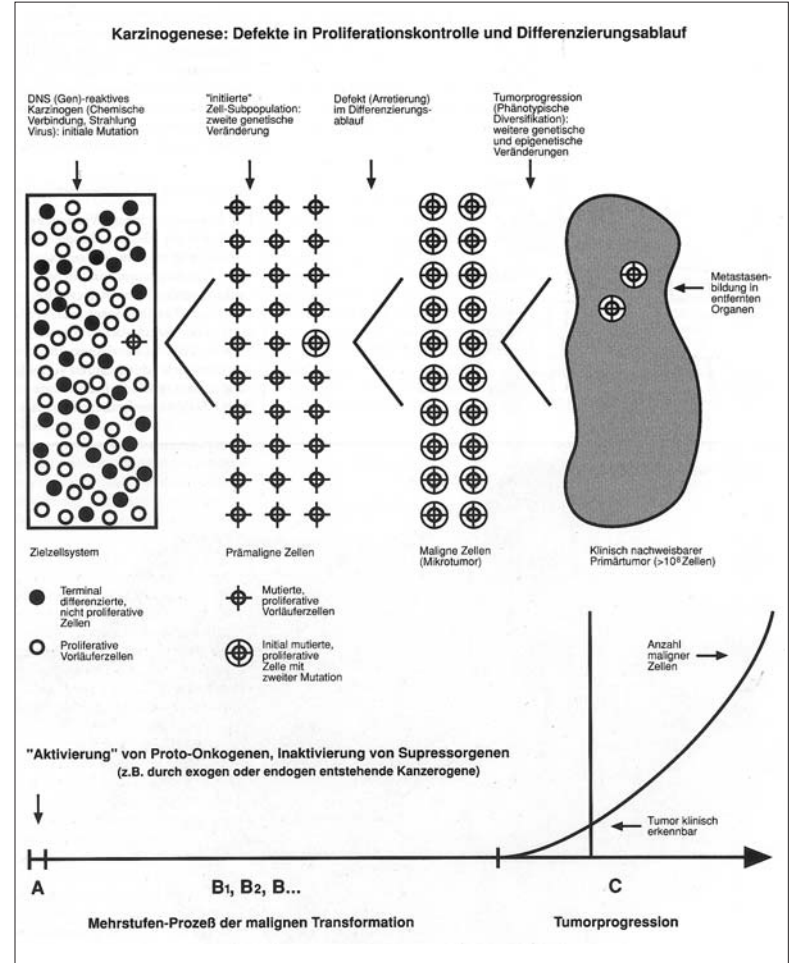
Das doppelsträngige DNS-Molekül besteht aus vier für den "genetischen Code" verantwortlichen Grundelementen, nämlich den Basen Guanin (G), Adenin (A), Cytosin (C) und Thymin (T), deren Sequenz entlang eines DNS-Stranges variiert und die über Wasserstoffbrücken zwischen den beiden Strängen der DNS-Doppelhelix zu den Basenpaaren Guanin-Cytosin und Adenin-Thymin verbunden sind. Die Reihenfolge der Basen (die *Basensequenz*) bestimmt die Reihenfolge der Aminosäuren (die *Aminosäuresequenz*) im zugehörigen Protein: Zur Ablesung der Information (*Expression*) eines Gens wird zunächst die Basensequenz des Gens in einen Ribonukleinsäure-Strang umgeschrieben (*transkribiert*). Diese Boten-RNS (*mRNS*) dient als Vorlage für die Synthese eines bestimmten Proteins: Ihre Basensequenz wird in die Aminosäuresequenz des Proteins übersetzt. Die Proteine ihrerseits steuern die Vielzahl der biochemischen Reaktionen, die zusammen den Stoffwechsel einer Zelle ausmachen. Auf diese Weise *kodieren* jeweils drei der vier Basen - nach Umschreibung in die komplementäre Boten-RNS - für eine der 20 verschiedenen Aminosäuren, aus denen alle Proteinmoleküle zusammengesetzt sind (Abb. 1). Die fast zwei Meter lange DNS einer diploiden menschlichen Zelle enthält etwa 10 Milliarden (10^{10}) Basenpaare und - nach heutiger Schätzung - etwa 100.000 Gene, die in wechselnden Kombinationen entweder für spezifische Proteine kodieren (aktive Gene) oder "abgeschaltet" und damit inaktiv sind.

Nur schwer vorstellbar ist die wohlorganisierte, räumliche "Verpackung" der chromosomalen DNS im Zellkern. Vergrößerte man den

Durchmesser des Zellkerns, der etwa ein Tausendstel Zentimeter beträgt, auf einen Meter, so würde das fadenförmige DNS-Molekül eine Länge von etwa 160 Kilometern annehmen. Allein um die täglich verbrauchten roten Blutkörperchen (*Erythrozyten*) durch Vermehrung ihrer Vorläuferzellen und der damit verbundenen identischen Verdopplung ihrer DNS zu ersetzen, müssen mit Hilfe des Enzyms *DNS-Polymerase* etwa 400 Millionen Kilometer DNS möglichst fehlerfrei synthetisiert werden, was etwa der tausendfachen Länge der Strecke von der Erde zum Mond entsprechen würde. Die Fehlerquote bei diesem, mehrere Schritte umfassenden Synthesevorgang ist mit einer falschen Basenpaarung pro einer bis 100 Milliarden ($10^9 - 10^{11}$) replizierten Basen extrem niedrig. Hierfür sorgt neben der Präzisionsarbeit der DNS-Polymerase die Erkennung und Elimination fehlgepaarter Basen durch DNS-Reparaturproteine (*mismatch-Reparatur*).

Im Gegensatz zu autonomen einzelligen Organismen wie etwa Bakterien, deren Vermehrung im wesentlichen unkontrolliert erfolgt, "erkauft" sich die Zellen eines Säugerorganismus ihre Spezialisierung auf bestimmte Funktionen an genau definierten Orten durch einen hohen Grad an gegenseitiger Abhängigkeit und Unselbständigkeit. Dabei garantieren direkte Zell-Zell und Zell-Grenzflächen (*Matrix*-) Kontakte sowie die über lösliche "Signalmoleküle" vermittelte Kommunikation zwischen Zellen gleichen oder unterschiedlichen Typs eine präzise Steuerung des Gesamtsystems und die Erhaltung seiner Architektur.

Je komplexer eine Apparatur konzipiert und gebaut ist, umso abhängiger ist sie hinsichtlich Funktion und Lebensdauer von einer über lange Zeiträume gleichbleibenden Qualität und Funktion ihrer unterschiedlichen Bestandteile. Mit anderen Worten: Mit der Komplexität des Systems wächst sowohl die



(3) Der Prozess der Karzinogenese. A: Ein Karzinogen interagiert mit epithelialen Zielzellen. B₁, B₂, B...: Aufeinanderfolgende Schritte der Zellveränderung. Proliferative Vorläuferzellen sind durch die Interaktion mit dem Karzinogen initial mutiert und bilden eine Subpopulation von prä-malignen Zellen. Nach weiteren genetischen und epigenetischen entsteht zunächst eine kleine Subpopulation maligner

Zellen ("Mikrotumor"). C: Stadien des Tumorwachstums. Erst ab einem Durchmesser von 0,5 bis 1 cm wird ein Tumor diagnostisch erfassbar. Zu dieser Zeit sind bereits 100 Millionen bis eine Milliarde (10^8 bis 10^9) maligne Zellen entstanden. Krebskrankungen entwickeln sich in der Regel über Jahre, ohne daß sie in frühen Stadien bemerkt werden.
 Quelle/Grafik: Universität GH Essen/Rajewsky/MSK&L

Fehlerwahrscheinlichkeit als auch die Vielfalt der Fehlerformen. Daher mag der Säugerorganismus in Anbetracht seiner Eigenschaften - der komplizierten, zur ordnungsgemäßen Funktion der Zelle erforderlichen molekularen Maschinerie und dem präzisen Zusammenspiel vieler verschiedener Zellsysteme - geradezu als Inbegriff einer überzüchteten "Luxusapparatur" mit extremer Störanfälligkeit erscheinen. Daß dem nicht so ist, verdanken wir dem außerordentlich hohen, im Verlauf der Evolution über Jahrmillionen erreichten Optimierungsgrad biologischer Systeme, die auch den größten "Wunderwerken" unserer modernen Technik bei weitem überlegen sind.

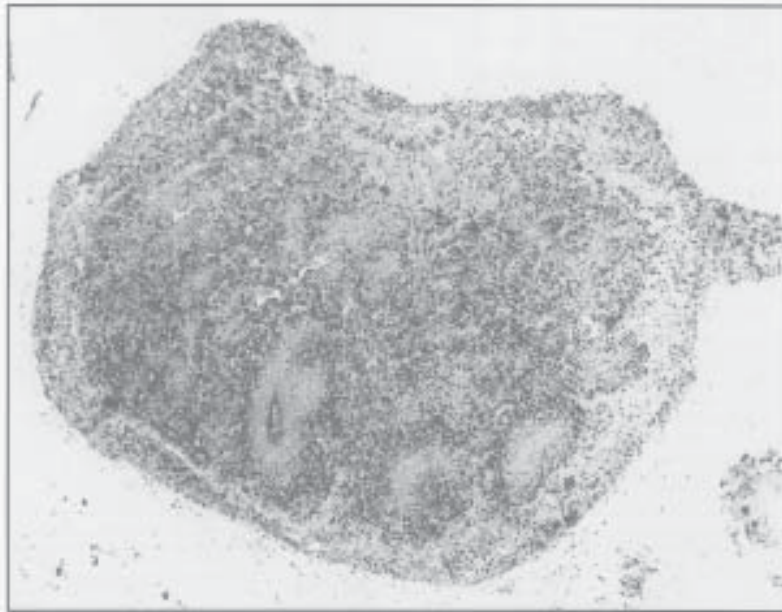
Trotzdem kann es - wenngleich mit geringer Häufigkeit - zu qualitativen und quantitativen Verände-

rungen in der Struktur und der Funktion von Zellen kommen, die dann entweder ihr Absterben, eine verminderte Leistung oder aber ein Fehlverhalten im Verband der entsprechenden Gewebe zur Folge haben. Das Ergebnis sind degenerative Vorgänge, Alterungsprozesse und bestimmte Erkrankungen.

Mechanismen der Krebsentstehung

Die Krebsentstehung (*Kanzero-genese*), d.h. die Umwandlung von normalen in maligne Zellen (*maligne Transformation*) und deren nachfolgende unkontrollierte Vermehrung (*Tumorprogression*), verläuft in der Regel über mehrere Stufen (Abb. 3). Bei diesem "Mehrschrittprozess" durchlaufen vermehrungsfähige (*proliferationskompetente*) Zellen eine Reihe von Verän-

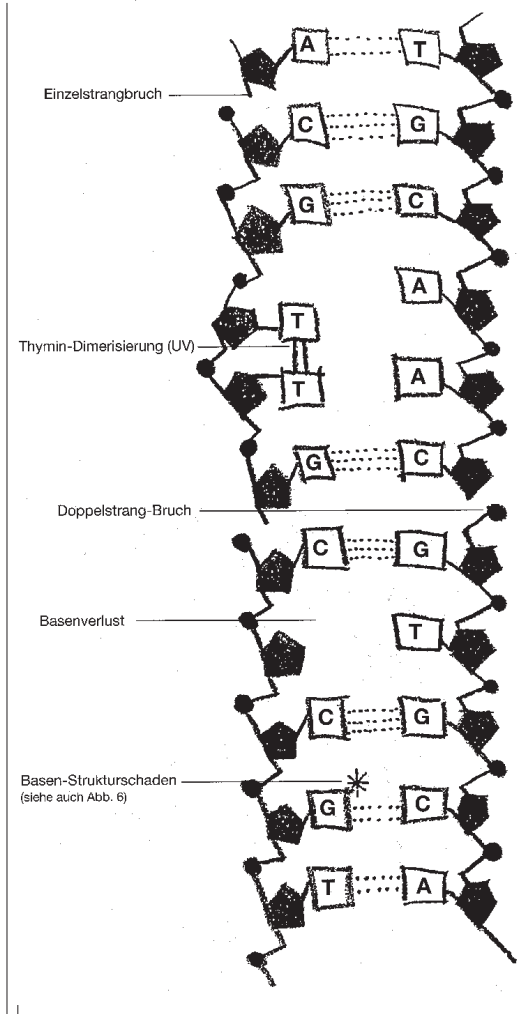
(4) Autoradiogramm (Dünnschnitt) eines primären Brustdrüsenkarzinoms (Maus). Schwarze Punkte (Silberkörner nach Entwicklung der Photoemulsion): $[^3\text{H}]$ -Thymidin-markierte, DNS-synthetisierende (d.h. proliferierende) Zellen. Deutlich sichtbar ist deren inhomogene Verteilung innerhalb des Tumorgewebes.
Foto/Quelle: Universität GH Essen/Rajewsky MF, Biophysik 3: 65-93 (1966) Springer Verlag, Heidelberg



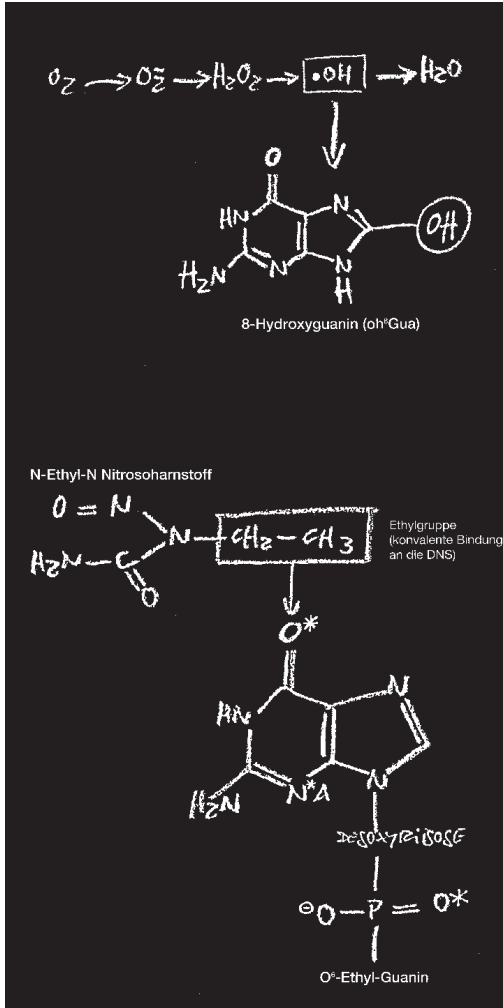
derungen, denen Modifikationen in der Struktur und Expression verschiedener Gene zugrundeliegen, und an deren Ende die Ausprägung maligner Phänotypen steht. Unglücklicherweise sind maligne Zellen besonders gekennzeichnet durch genetische Instabilität und phänotypische Heterogenität - auch innerhalb des gleichen Tumors (Abb. 4). Sie sind daher nur bedingt geeignet, um an ihnen diejenigen molekularen Veränderungen eindeutig "abzulesen", die für die maligne Transformation ihrer Ursprungszellen verantwortlich waren. Die Anzahl der einzelnen Schritte der Kanzerogenese und ihre molekularen Charakteristika, vor allem die jeweils kausal beteiligten Gene und Genprodukte, sind aus diesem Grund bisher nur bruchstückhaft bekannt; sie sind jedoch abhängig von der Art der auf die Zelle einwirkenden Faktoren: vom Typ und Differenzierungsstadium - dem *Genexpressions-Muster* - der betroffenen Zelle sowie von den Wechselwirkungen mit ihrer "Mikro-Umgebung" im Verlauf des Prozesses.

Mindestens zwei Kategorien von Genen sind heute bekannt, die bei der malignen Transformation der Zelle eine wichtige Rolle spielen: sogenannte *Proto-Onkogene* und *Suppressorgene*. *Proto-Onkogene* sind Gene, deren unkontrollierte Expression, Expression in veränderter Form oder Überexpression, beispielsweise in Folge einer Änderung der Basensequenz (*Mutation*) oder einer Vermehrung der Anzahl der Genkopien (*Gen-Amplifikation*) die maligne Transformation begünstigen. Von diesen Genen wurden bereits mehr als 40 identifiziert. Gegensinnig zu den Proto-Onkogenen begünstigt im Falle der Suppressorgene die Ausschaltung des Gens eine maligne Transformation der Zelle. Zu den Suppressorgenen können gerechnet werden:

- *Regulatorgene*, die die Expression anderer Gene kontrollieren;
- *DNS-Reparaturgene*, deren Produkte (Reparaturproteine, bzw.



(5) Einige Grundtypen der Schädigung doppelsträngiger DNS-Moleküle durch DNS-reaktive Agentien (Mutagen, Kanzerogene).



(6) Anhängen einer OH-Gruppe (Hydroxylierung) in der C-8 Position der DNS-Base Guanin durch Sauerstoffradikale (oben). Struktur der durch das alkylierende Kanzerogen N-Ethyl-N-Nitrososoharnstoff modifizierten DNS-Base Guanin (unten).
Grafik: Universität GH Essen/Rajewsky/LKMSS

-enzyme) in der Lage sind, DNS-Schäden zu reparieren, die unrepariert zu Genmutationen oder zur Geninaktivierung führen würden;

- Gene, deren Produkte Zell-Zell und Zell-Matrix Kontakte vermitteln und damit das korrekte Verhalten der Zelle im Rahmen der Gewebearchitektur sichern und schließlich
- Gene, deren Produkte für den Empfang und den intrazellulären Transfer von proliferationshemmenden Signalen verantwortlich sind.

Äußere Einflüsse

Offenbar können unterschiedliche exogene Faktoren, aber auch spontan auftretende genetische Veränderungen, den Prozeß der Kanzerogenese durch Modifikation des Genexpressions-Musters der Zelle in "schrittspezifischer" Weise vorantreiben. Umgekehrt resultiert aus der Mehrschrittnatur der Kanzerogenese die - vorläufig nur theoretische - Möglichkeit, den Prozeß auf einer "prämaligen" Stufe anzuhalten, wenn es gelingt, die entsprechenden Zellen aufgrund spezifischer molekularer Frühveränderungen diagnostisch zu erfassen.

Faktoren, deren Einwirkung auf den Organismus zur Entstehung maligner Tumoren oder Leukämien führt - etwa chemische Verbindungen exogener und endogener Herkunft, UV-Licht, natürliche oder künstlich erzeugte ionisierende Strahlen - werden als *Kanzerogene* bezeichnet; Faktoren, die den Prozeß der Kanzerogenese in intakten Zellen zwar nicht auslösen (*initieren*), den einmal in Gang gesetzten Prozeß aber weitertreiben und beschleunigen können, nennt man auch *Promotoren*.

Der Nachweis der Kanzerogenität, wenn auch nicht in allen Fällen verbindlich für den Menschen, muß im Tierversuch geführt werden. Nur in wenigen Fällen ist eine Kanzerogenität bestimmter Faktoren beim Menschen epidemiologisch so eindeutig gezeigt, daß sie

als sicher gelten kann: etwa beim Tabakrauch, einem Gemisch aus vielen chemischen Verbindungen unterschiedlicher Art, bei Asbest, UV-Licht, Radon-222-Zerfallsprodukten und einer Reihe anderer synthetischer Verbindungen. Ein wichtiger Promotor ist auch eine über das natürliche Maß hinausgehende Zahl an Zellteilungen (*DNS-Replikationsrunden*), weil sie naturgemäß das Risiko einer bereits initiierten Zelle für weitere DNS-Veränderungen (Mutationen) erhöht. Die meisten chemischen Verbindungen sind - dosisabhängig - auch zellschädigend (*cytotoxisch*) oder zellabtötend (*cytotoxisch*). Sie können bei hierzu befähigten Zellpopulationen zur reparativen Zellproliferation führen, besonders ausgeprägt bei chronischer Einwirkung. Proliferationsfördernd können sich auch bestimmte Kanzerogen-induzierte Mutationen von Genen auswirken, die für die Zelloberflächen-Rezeptoren proliferationskontrollierender, löslicher Moleküle (*Liganden*) kodieren. Hierdurch kann das Rezeptorprotein strukturell so verändert werden, daß es dem Zellkern permanent "grünes Licht" für den Betrieb der Proliferationsmaschinerie signalisiert. In diesem Falle kann ein initiiertes Ereignis, die Kanzerogen-induzierte Mutation, gleichzeitig auch eine promovierende Wirkung haben.

Anders als Promotoren reagieren die meisten kanzerogenen chemischen Verbindungen (ebenso wie ionisierende Strahlen oder UV-Licht) mit der zellulären DNS. Dies geschieht, nachdem die nicht reaktiven Ausgangsverbindungen im Organismus entweder durch spontanen Zerfall oder durch (häufig zellspezifischen) enzymatischen Abbau (*Bioaktivierung*) in reaktive Moleküle umgewandelt wurden. Die entstehenden Strukturveränderungen der DNS können entweder die Ausprägung modifizierter Proteine mit veränderten Eigenschaften bewirken oder aber die funktionelle Inaktivierung spezifischer Gene. Im

ersten Fall handelt es sich häufig um *Punktmutationen*, um den Austausch eines bestimmten Basenpaares im DNS-Doppelstrang gegen ein anderes (beispielsweise Adenin-Thymin anstelle von Guanin-Cytosin) mit der möglichen Folge des Einbaus einer falschen Aminosäure in das entsprechende Protein. Eine solche Punktmutation kann in der DNS einer proliferationskompetenten Zelle hervorgerufen werden, die durch Reaktion mit einem Kanzerogen strukturell modifiziert wurde. Bei der nächstfolgenden DNS-Replikation bewirkt diese Modifikation (durch Irreführung der DNS-Polymerase) dann eine Fehlkodierung. Im letzteren Fall, bei der Inaktivierung von Genen, können ebenfalls Punktmutationen die Ursache sein; häufig liegt hier jedoch eine Elimination längerer Basensequenzen oder sogar ganzer Chromosomenabschnitte zugrunde (Abb. 5).

Sauerstoffradikale

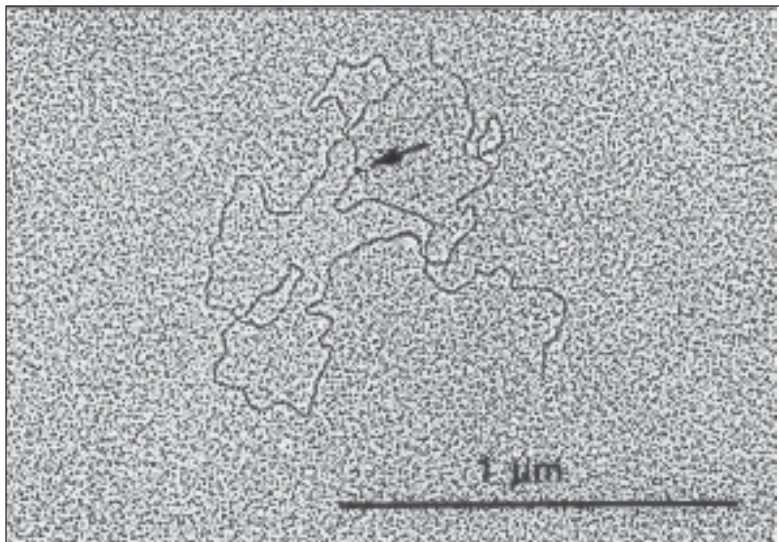
Ionisierende Strahlen bewirken Strukturmodifikationen im Genom der Zelle nicht nur durch Freisetzung energiereicher Elektronen unmittelbar im DNS-Molekül sondern vor allem auch über reaktive freie Radikale, die als Folge von Kollisionen ionisierter Wassermoleküle in der Nachbarschaft der DNS entstehen. Besonders wichtig sind dabei Sauerstoffradikale (etwa OH[•]), die - wie andere reaktive Sauerstoffmoleküle - ständig als Nebenprodukte des endogenen Stoffwechsels des Sauerstoffs entstehen und die normalerweise durch DNS-Enzyme wie die Superoxid-Dismutase oder Antioxidantien wie reduziertes Glutathion, Vitamin C und Vitamin E unschädlich gemacht werden. Hinzu kommen Stoffwechselprodukte einer Reihe chemischer Verbindungen - unter anderen auch solche, die im Tabakrauch enthalten sind. Eine Anzahl oxidativ veränderter DNS-Bausteine sind bekannt, so etwa das in das mutagene *8-Hydroxyguanin* umgewandelte

Guanin (Abb. 6), das aufgrund seiner einfachen Nachweisbarkeit auch als Indikator molekül zum Monitoring oxidativer DNS-Schäden dienen kann.

UV-Strahlung

Die UV-Strahlung der Sonne und aus künstlichen Quellen - also Photonen eines Wellenlängenbereichs von 200 - 400 Nanometern - führt im Bereich < 310 Nanometern zu einer Vielzahl verschiedener DNS-Veränderungen. Bisher wurde ein großer Teil dieser Strahlung von der stratosphärischen Ozonschicht abgefangen. Ihre Schutzfunktion läßt jedoch infolge steigender atmosphärischer Verschmutzung in jüngster Zeit zunehmend nach. Amerikanische und schwedische Wissenschaftler konnten kürzlich in menschlichen Haut-Karzinomen UV-spezifische Mutationen in einem Gen (*p53*) nachweisen, dessen Veränderungen häufig mit der entsprechenden Krebsentstehung assoziiert ist.

Die beiden häufigsten, durch UV-Strahlung bewirkten DNS-Veränderungen, sogenannte *Cyclobutan-Pyrimidinindimere* und das *Pyrimidin-Pyrimidon-(6-4)-Photoprodukt*, werden an einem Tag mit durchschnittlicher Sonnenbestrahlung mit einer Frequenz von etwa 10⁶ pro Hautzelle gebildet. Beide Produkte sind mutagen und somit potentiell kanzerogen. Hautzellen sind daher mit einem äußerst effektiven enzymatischen DNS-Reparatursystem ausgestattet, um UV-modifizierte Basen sofort nach ihrer Entstehung wieder aus dem DNS-Molekül "herauszuschneiden" (*Exzisions-Reparatur*). Bei einer seltenen erblichen Erkrankung, *Xeroderma pigmentosum*, ist eines der an der Exzisions-Reparatur beteiligten Gene defekt. Entsprechend weisen Patienten mit dieser Erkrankung ein etwa 1000-fach erhöhtes Hautkrebsrisiko auf - ein Beleg für die große Bedeutung spezifischer DNS-Reparatursysteme zur Verhinderung von Mutatio-



(7) Erkennung einer Kanzerogen-induzierten Basenmodifikation (O^6 -Ethylguanin) in einem DNS-Molekül durch einen spezifischen monoklonalen Antikörper, an den ein zweiter, Ferritin-gekoppelter Antikörper gebunden ist. Der Pfeil deutet auf die Antikörper-Bindungsstelle. Das DNS-Molekül wurde mit Hilfe der Immun-Elektronenmikroskopie sichtbar gemacht.
Foto: Universität GH Essen/Nehls/Rajewsky

nen, gleichzeitig aber auch für das Risiko, das für die Zelle mit einer Funktionsminderung dieser Systeme verbunden ist.

Chemische Kanzerogene

Die bisher bekannten chemischen Kanzerogene gehören sehr unterschiedlichen Stoffklassen an und finden sich in Pilzen (beispielsweise das Pflanzengift Aflatoxin B1, pflanzliche Pyrrolizidinalkaloide), unter den Pyrolyseprodukten vieler organischer Substanzen (etwa in stark gebratenem Fleisch), sowie unter den synthetischen Verbindungen: in erster Linie aromatische Kohlenwasserstoffe oder N-Nitroso-Verbindungen – beide auch Bestandteile des Tabakrauchs. Es ist daher nicht verwunderlich, wenn epidemiologische Daten das Rauchen, verstärkt vor allem in der Kombination mit Alkohol, neben der fettreichen Überernährung als besonders signifikante Ursachen

menschlicher Krebserkrankungen ausweisen. Dies paßt zu der Tatsache, daß der weitaus größte Anteil maligner Tumoren epithelialen Ursprungs ist (Abb. 1), da exogene kanzerogene Verbindungen, wie solche aus Tabakrauch oder Nahrung, zunächst epitheliale Zellschichten treffen und dort zu einem beträchtlichen Teil auch reagieren.

N-Nitroso-Verbindungen

Eine große und sehr gut untersuchte Gruppe meist hochwirksamer Kanzerogene sind die N-Nitroso-Verbindungen. Aufgrund ihrer Reaktivität mit der DNS sind diese Kanzerogene stets auch mutagen. So ist der als prototypische kanzerogene N-Nitroso-Verbindung besonders eingehend analysierte *N-Ethyl-N-Nitrosoharnstoff* (EtNH; Abb. 6) eines der stärksten bekannten Punktmutagene. Aufgrund ihrer zytotoxischen Wirkung, die ebenfalls auf einem primären Angriff an

der DNS basiert, finden eine Reihe von N-Nitroso-Verbindungen auch in der Krebstherapie Verwendung.

Im Gegensatz zu anderen kanzerogenen N-Nitroso-Verbindungen (wie Nitrosaminen) bedarf das Nitrosamid EtNH einer Bioaktivierung durch zelluläre Enzyme nicht, sondern es zerfällt im Gewebe spontan. Dabei wird ein hochreaktives elektrophiles Ethyldiazonium-Ion freigesetzt, das mit nukleophilen Atomen in der zellulären DNS reagiert, was zur kovalenten Bindung von Ethylresten an diese Atome führt. Nach Applikation einer Einzeldosis von EtNH ist diese Reaktion *in vivo* schon nach weniger als einer Stunde abgeschlossen (*Kanzerogen-Puls*). Bereits eine einzige Applikation von EtNH führt etwa bei der Ratte zur Entstehung maligner Tumoren, so daß hier der Ablauf des Mehrstufen-Prozesses der Kanzerogenese ohne störende Überlagerung durch weitere "Initialereignisse" analysierbar wird.

"Fingerabdrücke" im Genom der Zelle

Am Modell von EtNH und anderer N-Nitroso-Verbindungen mit unterschiedlich großen Alkylgruppen sind die spezifischen Reaktionsprodukte von N-Nitroso-Kanzerogenen mit der zellulären DNS inzwischen vollständig charakterisiert worden. Auch die Analyse der DNS-Sequenzabhängigkeit der Entstehung spezifischer Alkylierungsprodukte, ihrer Mutagenität sowie der Fähigkeit unterschiedlicher - auch maligner - Zellen zu ihrer selektiven Reparatur durch verschiedene DNS-Reparaturproteine ist - verglichen mit dem Stand der Forschung bei anderen Klassen chemischer Kanzerogene - bereits weit vorangetrieben worden. Hierzu, sowie zur kritischen Bedeutung prämutagener DNS-Alkylierungsprodukte (vor allem des O^6 -Alkylguanins, Abb. 6) und ihrer unterschiedlich effizienten enzymatischen Reparatur für das zelluläre

Transformationsrisiko, hat die Arbeitsgruppe I des Instituts für Zellbiologie (Tumorforschung), IFZ, am Universitätsklinikum Essen wichtige Beiträge geleistet.

So wurde in Zusammenarbeit mit der Laboreinheit "Monoklonale Antikörper" in den Henry-S.-Kaplan-Laboratorien des IFZ eine Kollektion hochaffiner monoklonaler Antikörper (MAK) aufgebaut, die gegen spezifische DNS-Alkylierungsprodukte gerichtet sind. Eine ultrasensitive Immunanalytik unter Verwendung dieser MAK ermöglicht den Nachweis auch geringster Mengen eines Alkylierungsprodukts - bis zu wenigen Molekülen pro diploidem Genom. Dabei können quantitative Messungen durchgeführt werden an:

- DNS aus Geweben oder Zellkulturen,
- an Einzelzellen (über fluoreszenzmarkierte MAK) oder
- an DNS-Sequenzen bekannter Gene - über Immun-Elektronenmikroskopie (Abb. 7) oder durch MAK-Bindung an DNS-Alkylierungsprodukte in definierten Gensequenzen und nachfolgende Amplifikation der MAK-gebundenen DNS-Fragmente mit Hilfe der *Polymerase-Kettenreaktion* (PCR).

Diese Analytik eröffnet nicht nur die Möglichkeit, die "Fingerabdrücke" bestimmter Kanzerogene im Genom einzelner Zellen zu erkennen (*molekulargenetische Epidemiologie*), sondern erlaubt auch die Messung der Kapazität verschiedener Typen von Zellen zur Reparatur spezifischer Kanzerogen-DNS-Addukte. Solche Messungen geben Auskunft über genetische Unterschiede einzelner Individuen hinsichtlich der Expression definierter DNS-Reparaturgene und besonders hinsichtlich möglicher DNS-Reparaturdefekte, die für ein erhöhtes Risiko der Krebsentstehung prädisponieren. Die gleiche Analytik wird im onkologischen Bereich verwendet, und zwar zur Quantifizierung definierter Alkylierungsprodukte in der DNS maligner Zellen bei der The-

rapie mit alkylierenden zytotoxischen Agentien (*Therapie-Monitoring*) und zur prätherapeutischen Messung der DNS-Reparaturkapazität von Tumorzellen (*reparaturbedingte Therapieresistenz*) als Hilfe bei der Auswahl geeigneter Therapeutika.

Der Prozeß der malignen Transformation

Das experimentelle System der *Puls-Kanzerogenese* durch N-Nitroso-Verbindungen erlaubt es bei entsprechender Wahl der Versuchsbedingungen Informationen über initiale und nachfolgende genetische (und epigenetische) Veränderungen im Verlauf des Prozesses der malignen Transformation unterschiedlicher Zelltypen zu gewinnen. Bisher wurden solche Untersuchungen an zwei Modellen durchgeführt.

Im ersten Modell wurde die Beobachtung genutzt, daß bei zwei Tage alten weiblichen Ratten eine Einzeldosis des Nitrosamids *N-Me-thyl-N-Nitrosoharnstoff* (MeNH) nach einer Latenzzeit von etwa vier Monaten zur Entwicklung von Brustdrüsenkarzinomen führt, also zu malignen Tumoren, die von epithelialen Brustdrüsenzellen ausgehen. In diesem System wurden bereits wenige Wochen nach dem Kanzerogen-Puls in der DNS aus 11 von 70 Brustdrüsen ein "aktiviertes" (mutiertes) *H-ras*- bzw. *K-ras*-Gen nachgewiesen. Dagegen enthielt keine der aus 39 Brustdrüsen unbehaltener Kontrolltiere isolierten DNS diese mutierten Gene.

Zu diesem Zeitpunkt hat die Brustdrüse der Ratte einen Durchmesser von 1 - 2 mm und enthält $1 - 5 \times 10^4$ epitheliale Zellen, von denen jedoch nur etwa 50 - 100 Zellen proliferationskompetente Vorläuferzellen für die ausgereifte Brustdrüse sind. Da auch in der Mehrzahl der MeNH-induzierten Brustdrüsenkarzinome aktivierte *ras*-Gene nachweisbar waren, kann man annehmen, daß die Mutation des

ras-Gens bei epithelialen Vorläuferzellen der Rattenbrustdrüse häufig die initiale genetische Veränderung im Prozeß der MeNH-induzierten Kanzerogenese darstellt. Die nach der initialen Mutation des *ras*-Gens zur Ausprägung maligner Phänotypen notwendigen Sekundärveränderungen sind im Detail nicht geklärt. Jedoch erfolgt eine endgültige maligne Transformation erst und nur dann, wenn die mutanten Zellen die Östrogen-abhängige Reifung (Stimulation der Zellproliferation) der Brustdrüse (im Alter von 1 - 2 Monaten) durchlaufen. Wird die Östrogenzufuhr durch Ovariektomie oder durch das Antioestrogen Tamoxifen unterbunden, so kommt es nicht zur Tumorentstehung. Eine initiale Mutation des *ras*-Gens allein genügt also nicht.

Das zweite Modell macht sich den Befund zunutze, daß eine Einzeldosis des Nitrosamids EtNH bei der Ratte zur Entstehung eines Spektrums verschiedener maligner Tumoren im zentralen Nervensystem (ZNS: Gehirn, Rückenmark) und im peripheren Nervensystem (PNS) führt. Dabei sind die Tumorausbeute und die relativen Anteile von Tumoren des ZNS und PNS abhängig vom Entwicklungsstadium des Nervensystems zum Zeitpunkt der Kanzerogen-Exposition; die maximale kanzerogene Wirkung stellt sich ein, wenn das Kanzerogen während der späten Pränatal- bis frühen Postnatalperiode appliziert wird. Dieses Modellsystem wird von der Arbeitsgruppe II des IFZ verwendet, um kritische Schritte der zelltypspezifischen Kanzerogenese zu klären. Nach einem EtNH-Puls am Postnataltag 1 und einer Tumorinduktionszeit von etwa 180 Tagen findet sich eine Punktmutation in der Transmembranregion des *neu*-(*erbB-2*)-Gens - eines Gens, das für ein rezeptorähnliches Zelloberflächenprotein vom Typ des *epithelial growth factor* (EGF)-Rezeptors kodiert - in den Zellen aller induzierten Tumoren des PNS (maligne Nervenscheidentumoren; *Schwannome*). Diese Mutation fehlt

dagegen in allen analysierten ZNS-Tumoren der gleichen Tiergruppe.

Bei diesem Versuchsansatz wird das "Entwicklungsfenster" für den Kanzerogen-Puls so gewählt, daß der Hauptanteil der PNS-Tumoren Schwannome des *N. trigeminus* sind. Das Vorkommen *neu*-Gen-mutanter Zellen konnte daher mit Hilfe hochempfindlicher Methoden (mutantenspezifische Restriktionsfragment-Längenanalyse und asymmetrische PCR) innerhalb eines kleinen intrakranialen Abschnitts des *N. trigeminus* in Richtung des Kanzerogen-Pulses zeitlich zurückverfolgt werden. Am Postnataltag 1 enthält dieser Abschnitt des *N. trigeminus* - neben dem Nervenstrang - eine nahezu reine Population von etwa 10^6 zumeist proliferativen Schwann-Vorläuferzellen. Schwann-Zellen des PNS sind das Äquivalent der Gliazellen des ZNS. Die Ausreifung des *N. trigeminus* ist etwa am Postnataltag 30 abgeschlossen.

Die Analysen zeigten, daß *neu*-Gen-mutante Schwann-Vorläuferzellen im untersuchten Abschnitt des *N. trigeminus* bereits 7 Tage nach dem EtNH-Puls nachzuweisen sind. Ihre initiale Zahl wurde zu $10^4 - 100$ von 10^6 Zellen abgeschätzt. Diese kleine Ausgangspopulation *neu*-Gen-mutanter Zellen besitzt gegenüber den umgebenden *Wildtyp*-Zellen einen ausgeprägten proliferativen Vorteil. Im Gegensatz zu den *Wildtyp*-Zellen stellen die mutanten Zellen ihre proliferative Aktivität zum Zeitpunkt der Ausreifung des *N. trigeminus* nicht ein. Sie haben zu dieser Zeit bereits eine Zellzahl von etwa 10^8 erreicht und stellen aufgrund ihrer unkontrollierten Proliferation eine Zellsubpopulation mit erhöhtem Risiko für das Auftreten weiterer Veränderungen (beispielsweise Mutationen) dar, die schließlich zur Ausprägung maligner Phänotypen führen (Abb. 3). Auch für dieses System, bei dem kaum Zweifel daran bestehen, daß die Mutation des *neu*-Gens das initiale Ereignis im Prozeß der malignen Transformation von

Schwann-Vorläuferzellen durch EtNH darstellt, bleiben die molekularen Details der nachfolgenden Schritte zu klären. Jedoch sind die *neu*-Gen-mutanten Zellen der malignen Schwannome in nahezu allen geprüften Fällen für das mutante Gen *homozygot*. Sie müssen also zu einem noch unbekanntem Zeitpunkt auf dem Wege zur malignen Transformation das intakte *Allel* verloren haben. Dieser Verlust der *Heterozygotie* könnte ein kritisches Zweitereignis im Prozeß der Entstehung maligner Schwannome darstellen.

Die experimentellen Ergebnisse der jüngsten Zeit zeigen einerseits, wie sehr die Bemühungen um ein Verständnis der molekularen Grundlagen aller Aspekte der Krebsentstehung noch am Anfang stehen. Andererseits belegen sie aber auch die großen Möglichkeiten und Hoffnungen, die sich aus der raschen Entwicklung der Molekulargenetik und Zellbiologie für die Krebsforschung und klinische Onkologie der kommenden Jahre ergeben.

Summary

The term "cancer" describes a broad spectrum of pathological alterations (*malignant disorders*) the common denominator of which is the uncontrolled multiplication (*proliferation*) of transformed cells whose atypical, often destructive behavior subverts the highly ordered structures of organs and tissues. More than 90% of cancers are solid tumors (*carcinomas*) originating from epithelial cells; other forms of cancer are tumors derived from mesenchymal cells (*sarcomas*) or from the *hemopoietic* (blood-forming) system (*leukemias*, fig. 2). With present diagnostic methodology, most malignant tumors remain undetectable before they have grown to a cell number of $10^8 - 10^9$. Subsets of variant cells arising during tumor development cause



Prof. Dr. med. Manfred F. Rajewsky, Gründungsdirektor des Essener Instituts für Zellbiologie (Tumorforschung), IFZ.

increasing genetic and phenotypic diversity within the tumor cell population (fig. 4), and cells resistant towards therapeutic anti-cancer agents are favored by selective pressure. Moreover, spread of malignant cells (via blood or lymph vessels) frequently occurs from the primary tumor to multiple sites in distant organs (*metastasis*). Both metastasis and drug resistance represent major obstacles to successful therapy. In either case more sensitive methods for the early detection of malignant (and pre-malignant) cells would be beneficial.

Embryonal and postnatal development, and the proliferative activity, maturation, and expression of specialized functions of different types of cells, and the maintenance of tissue architecture, all require delicately balanced, interactive networks of controls at the level of molecules, individual cells, and cell systems. The pathway of cell differentiation - from the pluripotent "stem cell", via proliferative precursor states (with the commitment to a distinct cell lineage), to the ultimate mature type of cell - is controlled and directed by the information encoded in specific base sequences (*genes*) of the cell's chromosomal (*genomic*) DNA. Diploid cells contain two copies (*alleles*) of each of an estimated 50,000 - 100,000 genes. Transcriptionally active genes, in different combinations, are translated into distinct protein molecules, thus specifying a given cell type and its phenotypic changes in the course of differentiation. To ensure the genetic identity of dividing cells, about 10^{12} bases arranged along the DNA molecule in defined sequence must be replicated precisely, i. e. with an error frequency low enough to be handled by corrective mechanisms. Moreover, genomic DNA is monitored by a multi-membered set of proteins (*enzymes*) designed for the recognition and repair of specific forms of damage caused by endogenously produced or exogenous DNA-reactive agents.

Carcinogenesis, i. e. the process culminating in the appearance of clonally proliferating (*tumorigenic*) malignant cells, is associated with defective molecular controls of cell proliferation and phenotypic expression (*differentiation*) and involves multiple and synergistic genetic and epigenetic alterations (up to seven "steps", according to current estimates, fig. 3). Both the cumulative nature of the process and the generally extended "latency period" are in agreement with the observation that cancer is predominantly a disease of older age. Available evidence indicates that carcinogenesis is usually initiated in proliferation-competent cells, e. g. in immature precursor cells rather than in terminally differentiated cells whose replication machinery has been switched off. At the onset of the process, subsets of cells often exhibit excessive proliferative activity, indicative of defective control of proliferation and/or aberrant (or blocked) differentiation. The resulting amplified populations of proliferative cells bear an increased risk of undergoing further alterations required for the expression of fully malignant phenotypes. While the initial and probably important further steps in carcinogenesis appear to be due to genetic alterations, epigenetic mechanisms driven by "promoting" agents not directly interacting with DNA must not be neglected. Genes whose inappropriate expression (*proto-oncogenes*) or inactivation (*suppressor genes*) is associated with critical steps of carcinogenesis in specific types of cells, and the physiological role of these genes in the control of proliferation and differentiation, are currently the subject of intensive investigations. More than 40 proto-oncogenes, several suppressor genes, and a number of genes encoding *transcription factors* (proteins) involved in the positive or negative regulation of gene expression, have thus far been characterized, and the list of transformation-associated genes is growing steadily.

Structural alterations of genomic DNA (fig. 5, 6, 8) can be of various kinds and may either inactivate genes or affect gene expression in different ways. Thus, point mutations (single base changes) may "activate" the transforming potential of proto-oncogenes (through the production of altered forms of proteins), and gene rearrangements, translocations or amplification may lead to inappropriate gene expression, whereas deletion of extended DNA sequences or gross chromosomal damage usually results in gene inactivation (as required in the case of suppressor genes). Genetic defects may be transmitted through the germ-line, thus potentially predisposing individuals to various diseases including cancer. While the overall importance for carcinogenesis of spontaneously occurring mutations and other genetic alterations is difficult to assess, it is likely that a considerable contribution also comes from endogenous (e. g. *oxygen radicals*, *N-nitroso compounds*) and exogenous (environmental) DNA-reactive agents (chemicals, ionizing radiation, UV-light). Many exogenous agents with known carcinogenic activity in laboratory animals, and in some cases in man (e. g. components of tobacco smoke, asbestos), are "bio-activated" by cellular enzymes or decompose spontaneously, yielding DNA-reactive derivatives.

DNA reaction products have been identified and structurally clarified for a number of potent chemical carcinogens; notably for the large class of N-nitroso compounds (fig. 7). Ultrastructural immunanalytical methods using monoclonal antibodies have been developed for the low-level detection of specific carcinogen-DNA adducts. These can now be quantified even in single cells or in individual genes by combining immunanalysis with image intensification or with the polymerase chain reaction, respectively. It has thus become possible (i) to analyze cells or isolated DNA molecules for the

"finger prints" of specific carcinogens of DNA-reactive anti-cancer agents (*molecular epidemiology and disimetry*), and (ii) to measure the capacity for the enzymatic repair of specific DNA lesions in different types of cells (including malignant cells), and to determine cell-cell and inter-individual variations regarding the expression of specific genes involved in DNA repair. These analyses will be important for two reasons: (i) the capacity of cells to remove carcinogen-induced, potentially mutagenic lesions from DNA is inversely correlated with their risk of malignant conversion (and genetically defective DNA repair thus predisposes to cancer) and (ii) the relative capacity of the cells of (and within) individual tumors to repair specific cytotoxic DNA lesions may critically influence their drug resistance and hence the choice of DNA-reactive agent.

Der Autor:

Nach seiner Promotion zum Dr. med. an der Universität Freiburg i. Br. (1960) arbeitete Manfred F. Rajewsky zunächst an den Max-Planck-Instituten für Biophysik (Frankfurt a. M.) und Virusforschung (Tübingen), am Institute of Cancer Research (London) und an der Stanford Universität, Kalifornien. Im Jahre 1971 habilitierte er sich an der Universität Tübingen, wurde dort 1974 außerplanmäßiger Professor und erhielt 1975 den Ruf zum ordentlichen Professor an die Medizinische Fakultät der Universität - Gesamthochschule - Essen, wo er die Leitung des neugegründeten Instituts für Zellbiologie (Tumorforschung), IFZ, übernahm. Seine Arbeitsgebiete, zu denen er über 170 Veröffentlichungen vorgelegt hat, sind molekulare und zelluläre Mechanismen der Krebsentstehung, DNS-Reparaturprozesse sowie experimentelle Grundlagen der Krebsdiagnostik und -therapie. Neben seiner Tätigkeit in Essen war M. F. Rajewsky 1983 Visiting Professor an der Harvard Universität, Boston, und 1986 am Institute of Cell Biology der Academia Sinica in Shanghai, China. Er ist unter anderem Mitglied der European Molecular Biology Organization, korrespondierendes Mitglied der American Association for Cancer Research und Ehrenmitglied der Japanese Cancer Association.

Von 1980 bis 1983 war M. F. Rajewsky Gründungsvorsitzender der Abteilung Experimentelle Krebsforschung (AEK) der Deutschen Krebsgesellschaft, von 1982 bis 1987 Sprecher des DFG-geförderten Sonderforschungsbereichs "Experimentelle und klinische Leukämie- und Tumorforschung" an der Universität GH Essen und von 1985 bis 1991 Koordinator des DFG-Schwerpunktprogramms "Molekulare und klassische Tumortypogenetik". Von 1983 bis 1991 hatte er den Vorsitz der Senatskommission für Krebsforschung der DFG inne; von 1987 bis 1990 leitete er das Programm-Komitee "Grundlagenforschung" für den erstmals nach Deutschland vergebenen 15. Internationalen Krebskongress (Hamburg 1990), und war von 1988 bis 1991 Vorsitzender des Research Branch der European Organization for Research and Treatment of Cancer. Prof. Rajewsky gehört den Herausgebergruppen verschiedener nationaler und internationaler wissenschaftlicher Zeitschriften an. Nach anderen Wissenschaftspreisen in den vorausgegangenen Jahren erhielt er 1989 den Deutschen Krebspreis (Grundlagenforschung).

Anmerkungen:

^{*) 1. Allel:} Die gleiche Form, oder unterschiedliche Formen eines bestimmten Gens an selben Gen-Locus zweier homologer Chromosomen. 2. *Homozygotie:* Ein Paar identischer Allele eines bestimmten Gens. 3. *Heterozygotie:* Ein Paar verschiedener Allele eines bestimmten Gens (z.B. entstanden durch Mutation eines der beiden Allele).

Literatur:

Adamkiewicz J, Drosdzioł W, Eberhardt W, Langenbrun U, Rajewsky MF (1982) High-Affinity Monoclonal Antibodies Specific for DNA Components Structurally Modified by Alkylating Agents. In: Bridges BA, Butterworth BE, Weinstein IB (Eds.): Indicators of Genotoxic Exposure. BANBURY REPORT 13, pp. 265-276; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York
Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD (1990) Molekularbiologie der Zelle (2., Auflage); VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim
Bourne HR (1991) Suppression with a Difference. NATURE (Lond.) 353: 696-698
Brash DE, Rudolph JA, Simon JA, Lin A, McKenna GJ, Baden HP, Halperin AJ, Pontén J; (1991) A Role for Sunlight in Skin Cancer: UV-Induced p53 Mutation in Squamous Cell Carcinoma. PROC NATL ACAD SCI USA 88: 10124-10128
Cairns J (1978) Cancer: Science and Society; W. H. Freeman, San Francisco
Cooper CS, Grover PL (Eds.) (1990) Chemical Carcinogenesis and Mutagenesis (Volumes I and II); Springer Verlag, Berlin, Heidelberg
Cox PM, Goding CR (1991) Transcription and Cancer. BRIT J CANCER 63: 651-662
Foulds L (1975) Neoplastic Development (Volumes I and II); Academic Press, New York
Friedberg EC (1985) DNA Repair; W. H. Freeman, New York
Harris CC (1991) Chemical and Physical Carcinogenesis: Advances and Perspectives for the 1990s. CANCER RES (Suppl.) 51: 5023s-5044s
Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC (1991) p53 Mutations in Human Cancers. SCIENCE (Wash.) 253: 49-53
Loeb LA (1991) Mutator Phenotype May be Required for Multistage Carcinogenesis. CANCER RES 51: 3075-3079
Nikitin AYU, Ballering LAP, Lyons J, Rajewsky MF (1991) Early Mutation of the *new (erb-B-2)* Gene During Ethylnitrosourea-Induced Oncogenesis in the Rat Schwann Cell Lineage. PROC NATL ACAD SCI USA 88: 9939-9943
Pienta KJ, Partin AW, Coffey DS (1989) Cancer as a Disease of DNA Organization and Dynamic Cell Structure. CANCER RES 49: 2525-2532
Pitot HC (1986) Fundamentals of Oncology; Marcel Dekker, New York, Basel
Ponder BAJ (1991) Genetic Predisposition to Cancer. BRIT J CANCER 64: 203-204
Rajewsky MF (1989) Formation, Distribution, and Enzymatic Repair of Specific Carcinogen Adducts in Genomic DNA: Relevance for Malignant Transformation. In: Fortner JG, Rhoads JE (Eds.): Accomplishments in Cancer Research 1988, pp. 273-283; J. B. Lippincott, Philadelphia
Rajewsky MF (for the Scientific Advisory Board of the European Organization for Research and Treatment of Cancer) (1991) Towards Improved Cancer Diagnosis and Treatment Founded on Current Developments in the Basic Sciences: Options for Intensified European Efforts. EUROP J CANCER 27: 936-939
Rajewsky MF, Auegnlich LH, Biessman H, Guth R, Hücker DF, Lauerum OD, Lomakina LYa (1977) Nervous System-specific Carcinogenesis by Ethylnitrosourea in the Rat: Molecular and Cellular Aspects. In: Hiatt HH, Watson JD, Winsten JA (Eds.): Origin of Human Cancer, pp. 709-726; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York
Starbuck E (1990) Human Tumor Suppressor Genes. ANNU REV GENET 24: 615-657
Thomae J, Huh N, Nehls P, Eberle G, Rajewsky MF (1990) Repair of O'-Ethylnitrosourea in DNA Protects Rat 208F Cells from Tumorigenic Conversion by N-ethyl-N-nitrosourea. PROC NATL ACAD SCI USA 87: 9883-9887
Weinstein IB (1991) Cancer Prevention: Recent Progress and Future Opportunities. CANCER RES (Suppl.) 51: 5080s-5085s