

## 环境致癌与生物工程\*

Margaret M.L.Chu(朱曼丽) Arthur Chiu(徐凯德)

Office of Research and Development, US EPA, Washington, DC, U.S.A.

**摘要** 许多已知和未知环境因子与宿主因子都与癌的发生有关。虽然研究资料很多,但我们目前对于癌与环境之间关系的了解仍很有限。了解环境致癌对于有效的管理是至关重要的。生物工程使生物学研究和生物医学科学研究发生了根本性的改变。这篇短评对环境致癌作了述评,着重点在生物工程的成就及展望方面,以促进对环境致癌的预防和干预的了解

**关键词** 癌;环境;生物工程;预防;治疗

### 1. 引言

这篇短评对环境致癌、生物工程的成就及展望作了概述,使我们对癌的发生有更好的了解以支持对其进行有效的管理。

癌的发生是一种宿主与环境之间复杂的、动态的相互作用过程。重要的宿主因子包括遗传构成和健康状况。环境因子包括食物、环境污染物,职业和生活方式(例如吸烟)。而且据信癌是可以预防的(Doll和Peto, 1981)。了解环境致癌对于进行有效的管理是至关重要的。我们必须了解些什么?我们必须做些什么?生物工程的作用是什么?

癌是古老的疾病。古病理学家已经注意到恐龙骨骼的瘤性损害,在木乃伊尸体解剖中也发现有骨瘤(Zimmerman, 1977)。人们一直在寻求对于癌的知识理解,然而这方面的发展受到了所用的实验技术的限制。分子生物学的发展激发了生化和机理研究。损害DNA的一些因子(例如辐射和引起甲基化反应的化学物质)可以引起肿瘤的发现导致了使人们的注意力集中在把突变作为癌发生的病因学事件。

Bishop小组(1987)有关逆病毒遗传学和

\* 本文系作者个人见解,并不反映EPA的观点。

癌的分子遗传学研究证明在癌发生中分子水平上涉及到遗传因素。随着我们对生物系统在分子水平上进行研究的能力的增长,把癌看作是由于遗传损害积累所致疾病的证据也在增加(Vogelstein等, 1988)。

我们有关遗传性癌和因遗传素质而易患癌的遗传病的知识已取得了重要的进展(Knudson, 1986; Cavenee, 1989)。这种进展得到了对于罕见的先天性染色体疾病和癌所进行的研究的支持(Rowley, 1973; Pathak, 1986; Pathak和Goodacre, 1986; Fong和Brodeur, 1987; Sandberg等, 1988),这些为在基因水平上进行分子研究提供了标记。从遗传性癌的研究中所获得的发现支持目前的研究热潮,有必要检定重要的靶基因,并且研究它们的结构、功能、表达以及表达的调节。

然而对于癌的发生要有起码了解的领域之一就是遗传和环境因子之间的相互作用。传统流行病学研究和急性动物试验研究都是孤立的研究宿主和环境因子(Tomatis, 1988),但是要了解宿主-环境的相互作用就需要把二者结合起来进行研究。这可能说明缺乏对环境致癌的机理的了解。对于推定的遗传和环境因子进行更多学科的综合研究是必要的。生物工程的发展为进行这种研究提

供了新工具。

下面将对癌的发生、与致癌研究有关的某些分子生物学技术以及分子生物学技术的进展和展望作些简要说明,以增进我们对环境致癌的理解。

## 2. 癌的发生

正如引言中说过的,了解环境致癌对于有效管理是至关重要的。而且,从临床和实验的角度了解癌的病理发生对于检定重要的环境和宿主因子以便进行干预是重要的。

最常见的癌发生类型是进行性的潜在的非限制性生长。大多数探查和治疗策略是针对这个特性的。迄今所进行的研究指出癌是多种因素引起的,癌的病理发生本质上是多阶段的。而且癌对治疗的反应是不可预测的。第4世纪就已有癌发生的理论, Hippocrates曾提出癌是一种黑胆汁过量所致疾病。环境因子与癌有关也并非新发现。Ramazzini在1700年就把修女中乳癌的高发生率归之于她们的生活方式。John Hill在1761年提出鼻烟引起鼻息肉。Percivall Pott在1775年说到职业接触烟卤煤烟与阴囊癌有关。Johannes Muller在1838年证明癌组织是由细胞组成的。在19世纪曾提出过许多有关癌的起源和发生的假说。一般可将其称作刺激假说,胚胎假说或寄生假说(Pitot, 1986a)。

在本世纪,继续提出有关癌发生的概念,一般试图用这些概念来描述这种临床现象,或实验现象。Boveri(1929)提出了恶性肿瘤可能是某些染色体异常的结果,这种异常是由于多极有丝分裂所引起的。目前对于有关染色体和癌的发现支持Boveri的见解。

癌发生的概念有许多,有时使人迷惑不解。还没有一个可供利用的完整概念。所用的概念包括从概括为数学表达一直到机理假设,其范围甚广(Iversen,1988)。为了对实验观察加以描述,造出了许多术语,例如,二阶段癌发生,多阶段癌发生,始动,促进,

恶变,单克隆的,多克隆的,辅致癌作用,同步致癌作用,抗癌作用,增强,协同,遗传毒性,外遗传的,癌基因,癌抑制基因。两个主要的题目,即癌发生的阶段及与此过程有关的因子可用于描述这些概念。

## 3. 癌发生的阶段

支持癌发生的阶梯式早期实验模型是以Berenblum和Shubik(1947, 1949)关于小鼠皮肤癌形成的研究为依据的。他们认为化学致癌中至少有两个阶段-始动和促进阶段。恶变一词最先由Foulds(1957, 1958)用来描述他在赘瘤的演进中所观察到的变化。

Nowell(1976,1986)进一步认为肿瘤的恶变是一个经历本质上不同阶段的阶梯式发展过程。他也提出遗传不稳定性是肿瘤发生的根本机理。相继发生的一些变化包括细胞形态和行为;生长率的提高;局部对生长控制的逃逸;代谢改变;抗原性的降低以及抗药性的获得。此外他也提出了支持癌发生的克隆进化概念的证据(Nowell, 1986)。Ling等(1985)研究了肿瘤恶变的遗传学,他们的发现支持遗传不稳定性是癌发生原因的概念。他们观察到的不稳定性尤以遗传改变为其特征,例如染色体的断裂、不分离和倍性变化。

Farber的有关大鼠肝癌发生的研究(Farber和Cameron, 1980;Farber和Sarma, 1987)提供了动物肿瘤阶梯式发展的最详尽的信息。他们把赘瘤的发生划分成几个阶段,并指出始动,促进以及恶变阶段中存在有生物学事件的阶梯。应用培养的哺乳类细胞所作的细胞和分子研究也提供了阶梯式变化的证据(Weinstein, 1985; Nettesheim等, 1987; McCormick和Mahr, 1989; Weinberg, 1989)。这些研究对癌发生的多阶段本质提供了分子水平的证据。应该认识到这些阶段/阶梯与为了探明癌发生机理而作的实验设计是密切相连的。即使这样一些阶段/

阶梯的特征已经明确；它们与人类癌症的关系仍不清楚。

年龄-癌发生率曲线的早期统计学分析也提示癌发生的阶段性(Nordling, 1953; Armitage和Doll, 1954)。Nordling(1953)观察到大多数成人癌症死亡率随着时间的增加而逐步提高。他进而提出这样一条曲线可以由肿瘤起源于单细胞来加以解释,因此肿瘤具有大量的突变,但突变性质是相同的。Armitage和Doll(1954)对于部位和性别特异的癌症死亡率资料结合年龄作了分析并作出结论:分析结果符合Nordling的假说。他们提出癌变是一个复杂的过程并且资料可以用有六个或七个阶段的过程来加以解释,但是这些阶段并不一定是突变。

Armitage和Doll(1954)分析了癌发生率资料并提出多阶段模式后不久,又提出了癌症的年龄分布的两阶段理论,其中引入了克隆生长的观念。14年后,Knudson(1971)对48例视网膜母细胞瘤资料作了分析并提出两次突变,限速事件模式(a two-mutation, rate-limiting event model)。根据对于人类癌症的进一步分析提出:结合克隆生长的两阶段模式可能具有普遍适用性(Moolgavkar和Knudson, 1981; Knudson, 1987)。最近,Gaffney和Altshuler(1988)分析了Doll和Hill的有关吸烟的资料并且发现结合克隆生长的两阶段模式比多阶段模式更适合于这些资料。

即使阶段的数目随着癌的种类、宿主以及环境因子的变化而改变,人类和动物的癌发生是分阶段的,这一点似乎已经相当清楚了。

目前已可以估计到:人类和动物的癌发生通常要跨越其寿命的重要时期;这个时期或潜伏期在表现出疾病以前一定会发生的。病理发展伴随有进行性的分子、细胞和组织的改变(Farber, 1982; Pitot, 1986b)。所观察到的生物学事件或细胞表型的改变就被

描述为癌变的阶段。

这些阶段进而就被描述为始动、促进和恶变。这些术语尚无可供利用的统一意义,因为他们与特定的实验步骤或病理学解释密切相关。一般而言,特别就实验系统来说,始动一词用于描述与DNA损伤有关的癌发生的早期变化。对于促进则了解的较少,通常用它来描述紧接着DNA损伤而发生的事件并且与细胞增殖活性有关。恶变一词用于描述癌发生的最后一个阶段,该阶段的特征是染色体的变化及核型的变化增加,细胞逃逸正常生长和分化的能力递增。

这种阶梯式的癌发生一般就被看作癌变的多阶段概念,其主要阶段为始动,促进及恶变(Pitot, 1986b; Farber和Sarma, 1987)。

#### 4: 与癌变有关的因子

对于癌症病因和治疗的探索激起了我们对于癌的极大兴趣。对于与癌有关的因子的检定特别依赖于流行病学研究和动物毒性测试。癌是可以避免的这种信念导致人们热心努力去寻求与癌发生有关的环境因子。这种寻求的结果导致发现辐射、病毒和化学品是引起癌的因子,而饮食习惯和生活方式是宿主相关因子(Pitot, 1986; IARC, 1987a)。

人们以主要精力去发现引起癌的工业化学品。国际癌症研究中心(IARC)对大约628种物质,工业加工,职业接触以及文化习俗作了人类致癌危险度评价(IARC, 1987a)。IARC将50种定为人类的致癌物;此外,根据并不充分的资料对于大约381种物质可能的致癌性作了评价。而且目前用于商业的化学品中根据不充分的资料作过评价的不到1%。显然,我们现行的检定致癌物的方法难以应付许许多多正在使用的化学品。

化学品只是许多影响癌发生的环境因子之一。Doll和Peto(1981)把生活方式以及其

它环境因子分为12类并且分析了每一类因子与在美国引起癌症死亡之间的关系。他们作出结论,大约有30%癌症的死亡可以肯定地归之于吸烟,饮食因子可能最终会被发现具有相当的重要性。人们正在努力扩大对那些与癌有关的其它环境因子的了解。

并非所有接触致癌因子的个体都生癌,这种认识表明遗传因素在癌发生中可能起了重要作用。遗传因素的意义是难以确定的。生物工程出现以前,家族系谱研究是确定遗传因子是否与癌发生有关的一种方法。最严谨的方法之一是双生子研究[例如 Cederlof 等(1970)对吸烟和肺癌的研究]。

Knudson(1986)曾说过,除了少数例外(例如视网膜母细胞瘤),遗传并不是癌的唯一决定因子。他认为大多数人类癌症或许是遗传与环境因子互相作用所造成的,而某些癌可能只是由环境因子所诱发的。这种环境因子的例子可能包括由 IARC 检定过的(IARC, 1987a)人类致癌物(例如氯乙烯)。

检定能改变对致癌物的易感性的宿主因子以及宿主与环境的相互作用,对生物工程所取得的成就加以考虑是适合时宜的。

化学品能引起染色体畸变,例如断裂,缺失或易位(IARC, 1987b)。利用自动化仪器,现代细胞遗传学技术可以快速检出这样的染色体改变。化学品在不同的机体和细胞中引起突变(IARC, 1987b)。然而这些突变的特殊性质,尤其是如果属于单碱基变化,便难以确定。生物工程的克隆化和序列分析方法使单碱基改变的检定可以进行了。

## 5. 生物工程方法

生物工程或称作“工业生物学”,“新分子生物学”已成为对核酸进行操作以提供遗传反应物的方法。检定和分离遗传物质,并在宿主外任意繁殖,然后重新将其导入宿主,使我们能研究生命过程,而这在以前是无法完成的。

Burck等(1988)对可用于研究癌变过程中的细胞和分子事件的生物工程方法作了总结。可以用于细胞和分子水平研究的常规技术包括:限制酶;限制图谱;DNA克隆;探针;Southern印迹;DNA序列测定;滤过结合RNA试验(filter bound RNA assays);体外翻译试验;聚丙烯酰胺凝胶电泳;免疫试验;免疫印迹(Western印迹);细胞培养及表型;NIH 3T3细胞及转化;转染及利用完整机体试验。从这个目录可以明显看出,用于癌变中的细胞和分子事件的研究方法是多种多样的。然而新的和/或改进的方法在不断的出现,在这方面没有哪一篇文章是适时而包罗无遗的。

以下主要谈及基因制图,DNA序列测定,细胞融合以及基因转移技术。

### 5.1 基因制图

一个基因的染色体位置的制图须以下述方法为出发点:基因的分离或克隆,基因产物的检定,研究环境因子诱发的突变,以及研究这些突变在特定癌中的作用。人类基因组包含有30000到50000个基因,因此基因制图是一项颇费精力的任务(Frezal, 1987)。

已知的染色体变化适于作为所要定位的基因的标记。染色体显带及其它细胞遗传学技术用来确定与基因制图有关的染色体区域。癌的染色体改变的目录(Mitelman, 1983, 1985, 1986)是可以利用的,可将其用于直接制图。

染色体步移或跳跃法可用于将一个基因定位到一条染色体上。染色体步移法以一条染色体上的一个参考点为起点,分阶段的一步一步的进行,或步幅不超过插入子(insert)的大小。染色体跳跃法是从染色体上的一个点向另一个点跳跃,跳跃的长度依裂解染色体的酶而定,也与所用的酶引起裂解的频率有关(Rommens等, 1989)。无论是用哪种方法,目标都是把一特定染色体上的一个基因的位置加以定位以便进行克隆。

有不同种类的基因图。限制图显示位点特异的内切酶的裂解位点之间的次序和距离。连锁图是基于造成 RFLPs (限制性片段长度多态) 或 VNTRs (串联重复拷贝数易变区) 多态位点上两个基因之间的连锁。邻接图 (Contig maps) 代表基因组的邻接区域的结构, 该基因组则为一套克隆的重叠关系所详尽说明。物理图表示一个基因在染色体上的物理位置。有许多制图方法目前正在使用, 而新方法还会不断地出现 (Olson 等, 1989)。

目前所用的人类基因组的遗传连锁图是低分辨率的 (Donis-Keller 等, 1987)。人类基因组计划正在进行中, 可以预计大约 5 年内会有一幅中等分辨率的人类基因组物理图可供利用 (Olson 等, 1989)。经过人们的努力, 除了会对于癌的研究提供重要的信息外, 还会提供新的技术。

## 5.2 DNA 序列测定

一旦定位了一个感兴趣的基因, 那么下一步就是分离和克隆该基因, 对其结构和功能进行详尽的分析。序列测定是用来对一个基因或 DNA 的一个片段的核苷酸顺序加以确定。最初的 DNA 直接测序技术是由 Sanger 于 1975 年提出的, 而后又作了改进 (Sanger 等, 1977); 也提出了其它一些方法 (例如, Maxam 和 Gilbert, 1980)。自动化程序, 例如 Wada (1987) 的自动化程序使 DNA 序列测定成为相对地常规程序。此外, 还发展出一种最优化法 (Kambara 等, 1988), 而且计算机软件 and 硬件用于分析和贮存序列数据。生物工程学和微电子学的结合产生了十分有效的方法以应付已往令人乏味的任务 (Bishop 和 Rawlings, 1987)。

多聚酶链反应 (PCRs) 对于体外的基因扩增是一种强有力的方法 (Saiki 等, 1988)。PCRs 通过一定的因子可从一个细胞将 DNA 扩增一百万倍 (20 个周期) 到十亿倍 (30 个周期), 并且无需克隆基因就能进行序列测定。而分步来作则须花费数星期的时间。

## 5.3 细胞融合

对于单克隆抗体技术的发展来说, 细胞融合是关键的一步 (Kohler 和 Milsten, 1975)。一种技术是把骨髓瘤细胞系与无活力的 (mortal) B 细胞融合而得到 “杂交瘤” 细胞; 这种杂交瘤细胞就产生抗体而言是有活力的 (immortal)。单克隆抗体作为一种试剂可以用来增强纯化和分离基因产物的能力。由于其特异性和敏感性, 单克隆抗体可用于不同的探测 (sensing) 和监测程序 (例如污染物的生物监测)。而且单克隆抗体有许多临床应用, 包括用于分娩, 药物的监测以及它自身就可作为一种药物: 免疫毒素作为抗肿瘤试剂 (Vitetta 等, 1987)。

细胞融合或体细胞杂交对于研究与癌发生有关的隐性基因来说是一种重要的方法。肿瘤抑制基因的检定主要依赖于体细胞杂交的应用。

## 5.4 基因转移和转基因动物

生物工程的新成果可能就在于发掘遗传密码的普遍性的能力, 不过它是把遗传密码与一种有机体所发育的性状结合起来, 而有机体则依各自的种系发生而进化的。通过基因转移产生的转基因动物就是这种新成果的例证。

转基因工程学有若干优点。与典型的细胞和分子研究相反, 转基因动物具有行使功能的神经、免疫和内分泌系统, 以及其它的生物控制系统。因此有可能利用这种动物研究致癌物对体内平衡的维持和调节的影响, 而在这种情况下遗传物质并不是致癌物的靶。Jaenisch (1988) 说过, 利用转基因技术获得的信息与现代生物学的所有领域都有关系, 这包括发育过程中的基因调节, 癌基因的激活, 免疫系统, 哺乳类的发育。

可以把基因导入胚胎细胞, 也可以导入体细胞。对基因转移到细胞的方法以及这些方法的长处和局限性已作过不少评述 (Cline, 1987; Jaenisch, 1988; Orkin 和

Williams, 1988; Friedman, 1989)。有物理载体介导的技术,也有生物载体介导的技术。物理方法包括染色体介导的转移,经由磷酸钙沉淀或电穿孔的转染,把DNA融入脂类膜或原生质球膜,把DNA溶液显微注射到靶细胞的核内。DNA病毒和RNA病毒均可作为基因转移的生物载体。显微注射(Gordon和Ruddle, 1983)和逆病毒转移(kohn等, 1987)是最常用的方法,因为应用这些方法可以得到相对高水平的基因参入。用于产生转基因小鼠的技术包括:卵的显微注射(Brinste等, 1985);通过逆病毒感染胚胎或胚胎干细胞而转移到胚细胞中,这些都是可供选择的方法(Jaenisch, 1988)。

带有癌基因例如ras基因的转基因小鼠已商品化。这种在性细胞和体细胞中携带有激活的癌基因的转基因动物使癌变研究的时间大为缩短。总有一天我们能够得到有关致癌物测试的模型,而且这种测试在机理方面和化学类别方面是特异的。基因转移为基因治疗的发展奠定了基础。

## 6. 进展

我们有关遗传性癌,遗传疾患和癌的知识已取得明显的进展(Fong和Brodeur, 1987; Hansen和Cavenee, 1987; Cavenee, 1989; Knudson, 1989)。实验系统的进展也很明显。对于细胞生长,细胞分化,基因激活与失活,基因结构和功能,细胞通讯,信号转换的精巧系统我们所知甚多,而这对理解癌变可能都是关键性的(Bishop, 1987; Klein和Klein, 1987; Weissman等, 1987; Bourne, 1988; Klein, 1988; Weinberg, 1989)。所有这些都是新分子技术的成果。

遗传性癌的知识支持罕见癌症的遗传起源,而对其分子基础所知甚少(Cavenee, 1989)。但是视网膜母细胞瘤的起因是由于一个隐性基因的突变这一点已得到肯定(Cavenee等, 1985; Hansen和Cavenee,

1987)。Knudson(1971)分析了视网膜母细胞瘤的遗传方式,与散发性病例分析作了比较,提出了两次突变事件模型。Cavenee等(1985)和Bookstein等的研究明确支持这个概念。对Rb基因在这些癌症中的作用的了解有巨大进展(Squire等, 1986; Wiggs等, 1988)。并且提出了应用DNA多态性来预测遗传性视网膜母细胞瘤的危险度的可能性(Bookstein等, 1988)。

另一方面,结直肠癌的研究提出至少在某些人类癌症发生中有一个多阶段过程。在结直肠肿瘤中所观察到的遗传变化(Fearon等, 1987; Vogelstein等, 1988)支持一种模型——遗传变化累积,至少影响到一个显性的有活性的癌基因和若干个肿瘤抑制基因,这些都与肿瘤的发生有关。遗传改变的进行性本质如同临床疾病发展一样,进一步支持这些细胞基因是参予到结直肠癌中的。通过早期检出和干预,这些研究结果可用于结直肠癌的管理。当前正在努力进一步了解易患性因子(Predisposing factors)的特征,例如结直肠腺瘤息肉病(Bodmer等, 1987; Cannon-Albright等, 1988)。细胞和分子变化的阶段可作为疾病监测的标记(Lipkin, 1988)。可以确信,通过早期检出和筛检,癌症死亡率是会降低的(Kinzie等, 1988)。

### 6.1 癌 的 细胞和分子生物学

现在可以应用克隆化,序列测定,免疫学,细胞融合和细胞培养技术对癌变进行多方面的详细研究,而这在以前是不可能的。过去十年中所获得的研究结果表明细胞基因是多阶段癌变的分子靶(Bishop, 1987; Stanbridge, 1987; Weinberg, 1989)。

原癌基因或癌基因可以定义为细胞癌基因,当这种细胞癌基因从质的方面被激活或者它的表达在量的方面发生改变时就会造成恶性表型的发生(Klein和Klein, 1986; Weinberg, 1989)。肿瘤抑制基因,抗癌基因,或隐性癌基因可以定义为正常细胞生长

的负遗传调节子, 当它们因丧失功能或功能改变而失活时, 就会造成恶性表型 (Klein, 1987; Stanbridge, 1987; Barrett, 1988; Weinberg, 1989)。

细胞培养转化系统可用于致癌物的筛检 (Heidelberger, 1980; Heidelberger 等, 1983)。细胞转化可以看作获得肿瘤细胞的若干特性。恶性转化细胞可以定义为能引起进行性生长, 侵入适宜的宿主形成肿瘤细胞 (McCormick和Mahez, 1989)。

转化研究陆续增进了我们目前关于简单突变, 染色体改变, DNA甲基化, 分化, 癌基因, 肿瘤抑制基因, 生长因子和肿瘤的促进在多阶段癌变过程中的作用的概念。重要的哨表型 (Sentinel Phenotypes) 包括形态学方面及生长类型的改变, 在培养中获得无限制增生的潜能 ('不死性' immortality), 不接触固体基质 (固着自主性 anchorage independence) 而进行生长的能力以及对生长和营养因子需求方面的改变 (Boreik, 1988)。

## 6.2 治疗

癌症治疗已获得不同程度的成功。一般情况下, 对于一种癌症病理发生了解的比较清楚时对其处理的成功率就高。然而药物抗性的发展使治疗的设计遭到困难。所获得的有关癌变的分子和细胞基础的知识与新技术相配合就可以为治疗方法提供新途径。这些包括了发展抗肿瘤的免疫毒素 (Vitetta, 1987), 白细胞介素 (Smith, 1988; Hawkins, 1989), 生长和分化控制剂 (Pierce和Speers, 1988), 作为抑制因子的寡核苷酸 (Stein和Cohep, 1988), 肿瘤坏死因子以及复合疗法 (Krosnick等, 1989)。

白血病可以作为这样一个例子, 即对癌的多阶段恶变有较为坚实的了解会怎样增进对于癌症的治疗。临床上已确立骨髓发育不全是白血病的预兆。这种白血病前期可由贫血情况而识别, 血液中细胞成分的其它次级征候和症状提示骨髓形成干细胞的异常行

为。这些征候可以作为阶段性治疗方案的指示者 (Estey等, 1987; Verwilghen和Boogaerts, 1987)。

## 7. 展望

由于我们的研究工具在迅速发展以及癌分子和细胞决定正在迅速被揭示, 因此可想象对环境致癌会有更好的了解。这可能要求对环境致癌的的现行研究途径加以修改。

了解遗传与环境因子的相互作用是有希望的, 并且目前的进展增加了利用人类系统进行研究的可能性。况且在人类分子遗传研究方面我们已拥有丰富的基因信息 (White和Caskey, 1989)。目前在可供利用的人类遗传变异型的目录中有4000种以上的孟德尔式疾患已作过描述; 相比之下在小鼠中经过检定的遗传座位只有700个。Harris (1978) 对应用人类组织和细胞进行癌变研究的难得机会也作了评论。

人类癌症研究的中心问题是把动物研究资料外推到人。应用人类组织进行分子和细胞研究也有其自身的许多局限性。主要的具有代表性的局限性是脱离了生物学控制的完整体系。转基因动物模型的出现应能弥补这个缺陷。有了这个模型加上丰富多样的人类突变型表型以及目前已有的分子和细胞技术, 环境致癌之谜不久就会进一步加以澄清, 对这一点似乎应持乐观态度。应该更积极地加以研究的领域包括生态遗传学和分子流行病学。

### 7.1 生态遗传学

生态遗传学研究人类对环境因子的反应的遗传变异, 而药物遗传学则研究人类对医药因子的反应的遗传变异。早期的生态遗传学研究受到限制, 因为尚无可供利用的分子方法。

Mulvihill (1979, 1984, 1985; Mulvihill和Tulinius, 1987) 致力于将不同的生态因子和家族因子加以对比, 其中对肿瘤和吸

烟的研究可作为一个生态遗传学研究的例子。基于遗传多态性(Gusella, 1986)的种种技术应该能克服一些技术方面的困难。不同个体和群体中的多态性为了解基因与环境之间同时发生的重多的相互作用以及随之而来的可遗传性状的表型表达提供了难得的机会。

有关AHH(芳香羟化酶)的诱导性与肺癌的早期研究(Kellermann等, 1973a, b)证明具有2个等位基因的单一座位控制AHH的诱导。Kellermann等(1973a, b)发现约有96%的肺癌患者具有高的到中等的诱导性,而相比之下在对照组中仅为55%。

目前我们有关细胞色素P-450s及其在外来物代谢中的作用以及疾病易感性的知识已非常精确(Nebert等, 1982; Adesnik和Atchison, 1986; Gonzalez等, 1986; Whittlock, 1986; Guengerich, 1988)。这些信息支持在确定环境致癌物(例如多环芳烃)或药物(例如异喹啉)的易感性差别方面检定多态性的作用(Knudson, 1989)。

Weber和Hein(1984)研究过N-乙酰化作用的药物遗传学。他们发现一些慢乙酰化个体对'slow'等位基因是纯合的。Karakaya等(1986)研究了膀胱癌患者以确定病人对N-乙酰转移酶的乙酰表型。他们发现了慢乙酰化表型与患膀胱癌危险度之间的相关性。乙酰化活性的多态表达在人类对由于芳香胺致癌物而引起的膀胱癌的易感性中是一个重要的危险因子(Kirlin等, 1989; Knudson, 1989)。

蛋白质的磷酸化作用是一种主要的生物调节机理,有关的生物化学已作过广泛地研究(Krebs, 1985)。分子研究表明激酶是一个大家族(Hunttr, 1987)。某些激酶涉及信号传送通路(Bourne, 1988)。并且这涉及到癌基因的激活(Fry等, 1986; McCormick, 1989)。了解蛋白激酶和G-蛋白质的生态遗传学对于环境致癌可能提供重要的

信息。

生物工程能使我们对于在DNA水平上影响致癌物代谢的遗传性状的特性有更好的了解。可以应用基因的检定,分离和克隆来确定所发生的基因修饰、缺失、重复以及其它此类事件是否影响到中毒和解毒。多态性的研究可能阐明致癌物代谢方面的种间差异以及对这些致癌物的反应方面的种间差异。把适当的生态遗传学诊断服务引入到一般的遗传学服务中,这对于预防环境致癌的公共卫生监测,可能是有用的。

## 7.2 分子流行病学

Tomatis(1988)说过,在环境致癌危险的研究方面存在的障碍是流行病学家和临床医生各走各的路而并不试图把他们的知识和方法结合起来。Taylor(1989)说过,问题在于对环境毒素的人类遗传易感性的研究被分割成两个领域:遗传学和流行病学。遗传学家是根据表型研究通过家系来探讨易感性,而流行病学家则根据征询意见表利用群体来研究环境因子。一些研究表明两种因子是同时起作用的。

分子流行病学一词是用来描述在解析流行病学(analytical epidemiology)研究中应用分子实验方法(Harris等, 1987)。Perera和Weinstein(1982)讨论过有关致癌物检定的分子癌症流行病学的展望。对环境与宿主之间的所有相互作用都应加以研究这是合乎理想的。这包括研究影响对致癌物易感性的宿主因子;检测人类组织,体液和细胞中的致癌物,估测偶而与接触有关连的早期生物学事件。Perera和Weinstein的工作集中在利用致癌物-DNA加合物作为剂量计检测人体液中的致癌物(Perera, 1987)。对人体液中致癌物的检测受到重视的同时分子水平的效应研究却是缓慢的,这是由于对于癌变在分子水平上所知很少。

新的分子技术可应用到流行病学的研究中,在短期内可望用于对少数题目以及看来



是遗传与环境同时发生的作用所进行的研究。分子技术也可以吸引多学科科学家来推进我们对环境致癌的理解。

应用高敏感度的分子技术(例如多聚酶链反应)能用数量有限的生物材料检出特异的突变。这种分子生物学方法具有对特定环境因子的接触进行检定的潜力,而传统的流行病学方法是无能为力的。

### 7.3 体细胞基因治疗

生物工程最具吸引力的前景可能在于发展人类体细胞基因治疗(Ledley, 1987a, b)。这是假定癌是由遗传缺陷所引起的,对遗传病的最后治疗应是直接在发生缺陷的位点——突变基因——而不是突变基因产物。

基因转移技术是发展基因治疗的基础。例如国立卫生研究院的研究是利用淋巴细胞-活化杀伤细胞(LAK)和肿瘤-浸润淋巴细胞(TIL)来治疗高度恶性肿瘤。发展了一种技术来分离病人的TIL细胞,体外生长并插入新霉素抗性基因;当TIL细胞被重新回输用于治疗时,所插入的基因就可作为监测治疗进程的标记。虽然并不是治疗基因本身,这项技术可以看作基因治疗的先兆。

对于人类基因治疗的潜力,进展和展望已作过评述(Caskey, 1987; Cline, 1987; Qrkin和Williams, 1988; Friedman, 1989)。基因治疗的战略包括基因置换,基因校正和基因增大(augmentation)。

基因置换疗法是去掉突变基因,用正常基因替换之。基因校正是要复原正常基因结构而不改变其它的核苷酸顺序。基因增大是修饰限定突变基因在缺陷细胞中表达的量。已发展出许多将功能性基因引入哺乳类细胞的方法(Dick, 1988; kohn等, 1987; Qrkin和Williams, 1988; Friedman, 1989)。

### 7.4 预防

通过变更有使癌发生倾向的遗传因子以及通过调整诱发此过程的环境因子有可能作到预防癌症。把改变人类基因作为调整遗传

素质的战略在目前尚不可行,但是生物工程具有使这些技术在将来变成现实的潜力。我们认为修饰遗传因子对于预防癌症来说并不是根本的战略。

我们处于新的工业革命的时刻,这是一场以高速电脑和工业生物学为特征的革命。生物工程的远景是令人乐观的,生物工程有可能改变与癌发生有关的非遗传的宿主因子和环境因子并提供新疗法(Chu和Kameley, 1988)。可限定的宿主因子包括饮食习惯和生活方式。环境因子可以通过工业的,农业的和废物处理的实践的变革加以限定(Lindow等, 1989)。生物加工可能用于生产货物商品,生物能源和生物化学制品(Lipinsky, 1981; Stiefel, 1987),农业生物工艺以及废物的生物处理(Lai等, 1984; Glick和Skof, 1986; Buswell和Odier, 1987)。

正如早先说过的,在美国有1/3的癌症与吸烟有关,当然这可以通过不吸烟就能很好地加以预防。在美国另外1/3的癌症与食品有关,这方面生物工程或许能起一些作用,即改变我们食物的营养含量,以保证供应美味可口而致癌危险因子少的食品。

改良的抗病农作物和使用生物杀虫剂可以使对危险化学品的接触减到最小程度。而抗病家畜可以降低肉中的药物残留量。固氮作物的出现可降低化肥的需求量。废物处理中应用微生物虽说并非新鲜事,但新技术可以拓宽应用范围。利用微生物除去废弃物(例如顽固性的有机毒素,农药和木质素)已有评述。令人感兴趣的是把微生物应用到采矿业中(Toma, 1988)。

然而新工艺带来了尚未明了的危险,例如将有害的物质引入环境中。新工艺的潜力是巨大的,同时对实验和应用必须仔细的规划,要考虑到对环境潜在的有害后果(Chu和Kameley, 1988; Lindow等, 1989)。可以对于投放到环境中的一种生物应加以改造,使之不危害环境而带来生态学的效益。

(原文载Journal of Biotechnology 1990;  
16:17-36 李怀义译, 薛京伦校)

参 考 文 献

1. Adesnik, M. and Atchison, M. Genes for cytochrome P-450 and their regulation. *CRC Crit.Rev.*1986, 19, 247-305.
2. Armitage, P. and Doll, R. The age distribution of cancer and a multistage theory of carcinogenesis. *Br. J. Cancer* 1954; 8, 1-10.
3. Armitage, P. and Doll, R. A two-stage theory of carcinogenesis in relation to the age distribution of human cancer. *Br. J. Cancer* 1957; 11, 161-169.
4. Barrett, J. C. (Ed.) Tumor Suppressor Genes and Reversion of Tumorigenicity. *Oncology Overview*, Superintendent of Documents, Washington, DC, 1988; GPO 017-242-00244-3.
5. Berenblum, I. and Shubik, P. A new quantitative approach to the study of the stages of chemical carcinogenesis in the mouse skin. *Br. J. Cancer* 1947; 1, 383-389.
6. Berenblum, I. and Shubik, P. The persistence of latent tumor cells induced in the mouse skin by a simple application of 9:10 dimethyl-1:2 benzanthracene. *Br. J. Cancer* 1949; 3, 384-386.
7. Bishop, J.M. The molecular genetics of cancer. *Science* 1987; 235, 305-311.
8. Bishop, J. M. and Rawlings, C. J. (Eds.) Nucleic Acid and protein Sequence Analysis: A practical Approach, IRL Press, Oxford, 1987, 417pp.
9. Bodmer, W. F., Bailey, C.J., Bodmer, J., Bussey, H. J. R., Ellis, A., Gorman, P., Lucibello, F. C., Mudday, V. A., Rider, S. H., Scambler, P., Sheer, D., Solomon, E. and Spurr, N.K. Localisation of the gene for familial adenomatous polyposis on chromosome. *Nature* 1987; 328, 614-619.
10. Bookstein, R.B., Lee, E. Y. H. P., To, H., Young, L.-J., Sery, T.W., Hayes, R.C., Friedman, T. and Lee, W.-H. Human retinoblastoma susceptibility gene: Genomic organization and analysis of heterozygous intragenic deletion mutants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1983; 85, 2210-2214.
11. Boreiko, C. J. (Ed.) Mammalian Cell Transformation Systems: Application in the Study of Multistage Chemical Carcinogenesis. *Oncology Overview*, Superintendent of Documents, Washington, DC, 1988; GPO 017-242-00245-1.
12. Bourne, H. R. Summary: Signals past, present, and future. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 1988, LIII, 1019-1031.
13. Boveri, T. The Origin of Malignant Tumors as Translated by Boveri, M., Williams and Wikins, Baltimore, MD 1920, 119 PP.
14. Brinster, R.L., Chen, H.Y., Trumbauer, M.E., Yagle, M.K. and Palmiter, R. D. Factors affecting the efficiencies of introducing foreign DNA into mice by microinjecting eggs. *Proc. Natl. Acad. Sci U. S.A.* 1983; 82, 4438-4442.
15. Burck, K.B., Liu, E.T. and Larrick, J. W. Assays: tools of the new biology. In: *Oncogenes: An Introduction to the Concept of Cancer Genes*, Springer-Verlag, New York, NY 1988, PP.4-37.
16. Buswell, J.A. and Odier, E. Lignin biodegradation. *CRC Crit.Rev. Biotech* 1987; 6, 1-60.
17. Cannon-Albright, L.A., Skolnick, M. H., Bishop, D.T., Lee, R.G. and Burt, R.W. Common inheritance of susceptibility to colonic adenomatous polyps and associated colorectal cancers. *New Engl. J. Med.* 1933, 319, 533-537.
18. Caskey, C.T. Gene therapy: somatic gene transplants. *Hosp. Pract.* 1987; 22, 181-193.
19. Cavenee, W. K. Current knowledge of heritable tumors. In: Bloom, A. D., Spatz, L. and Paul, N.W. (Eds.), *Genetic Susceptibility to Environmental Mutagens and Carcinogens (Monograph 2)*, Birth Defects, 1989; 25, 29-43.
20. Cavenee, W.K., Hansen, M. F., Kock, E., Nordenskjold, M., Maumenee, I.,

- Squire, J.A., Phillip, R.A. and Gallie, B.L. Genetic origins of mutations predisposing retinoblastoma. *Science* 1985; 228, 501-503.
21. Cederlof, R., Floderus, B. and Friberg, L. Cancer in MZ and DZ twins. *Acta Genet. Med. Gemellol. (Roma)* 1970; 19, 67-74.
  22. Chu, M.M.L. and Kameley, D. Environmental cancer and biotechnology. *Bio/Technol.* 1988; 6, 675-678.
  23. Cline, M.J. Gene therapy: current status. *Am. J. Med.* 1987; 83, 291-297.
  24. Dick, J.E. Retrovirus-mediated gene transfer into hematopoietic stem cells. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1987; 501, 242-251.
  25. Doll, R. and Peto, R. The cause of cancer: Quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *J. Natl. Cancer Inst* 1981; 66, 1193-1308.
  26. Donis-Keller, H., Green, P., Helms, C., Cartinhour, S., Weiffenbach, B., Stephens, K., Keith, T.P., Bowden, D.W., Smith, D.R., Lander, E.S., Bostein, D., Akots, G., Rediker, K.S., Gravius, T., Brown, V.A., Rising, M.B., Parker, C., Powers, J.A., Watt, D.E., Kaufmann, W.R., Bricker, A. and Phipps, P. A genetic linkage map of the human genome. *Cell* 1987; 31, 319-337.
  27. Estey, E.H., Keating, M.J., Dixon, D.O., Trujillo, J.M., McCredie, K.B. and Freirech, E.J. Karyotype is prognostically more important than the FAB system's distinction between myelodysplastic syndrome and acute myelogenous leukemia. *Hematol. Pathol.* 1987; 1, 203-208.
  28. Farber, E. Chemical carcinogenesis: a biologic perspective. *Am. J. Pathol.* 1982; 106, 271-295.
  29. Farber, E. and Cameron, R. The sequential analysis of cancer development. *Adv. Cancer Res.* 1980; 35, 125-226.
  30. Farber, E. and Sarma, D.S.R. Biology of disease: hepatocarcinogenesis: a dynamic cellular perspective. *Lab. Invest.* 1987; 56, 4-22.
  31. Fearson, E.R., Hamilton, S.R. and Vogelstein, B. Clonal analysis of human colorectal tumors. *Science* 1987; 238, 19-197.
  32. Fong, C.-T. and Brodeur, G. M. Down's syndrome and leukemia: epidemiology, genetics, cytogenetics and mechanisms of leukemogenesis. *Cancer Genet. Cytogenet.* 1987; 28, 55-76.
  33. Foulds, L. Tumor progression. *Cancer Res.* 1957; 17, 355-356.
  34. Foulds, L. The natural history of cancer. *J. Chron. Dis* 1968; 8(1), 2-37.
  35. Frezal, J. Genes, gene map, gene mapping. In: *Human Gene Mapping 9: (9th International workshop on Human Gene Mapping)*. *Cytogenet. Cell Genet.* 1987; 46, 1-4.
  36. Friedman, T. Progression toward gene therapy. *Science* 1989; 244, 1275-1281.
  27. Fry, D.C., Kuby, S.A. and Mildva, A. S. ATP binding site of adenylate kinase: mechanistic implications of its homology with ras-encoded P 21, F1-ATPase and other nucleotide-binding proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1986; 83, 907-911.
  38. Gaffney, M. and Altshuler, B. Examination of the role of cigarette smoke in lung carcinogenesis using multistage models. *J. Natl. Cancer Inst.* 1988; 80, 925-931.
  39. Glick, B.R. and Skof, Y.C. Environmental implications of recombinant DNA technology. *Biotech. Adv.* 1986; 4, 261-277.
  40. Gonzalez, F.J., Jaiswal, A.K. and Nebert, D.W. P450 genes: evolution, regulation, and relationship to human cancer and pharmacogenetics. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 1986; LI, 879-890.
  41. Gordon, J.W. and Ruddle, F.H. Gene transfer into mouse embryos: production of transgenic mice by pronuclear injection. *Methods Enzymol.* 1983; 101, 411-433.
  42. Guengerich, F.P. Cytochromes P-450. *Comp. Biochem. Physiol* 1988; 89C, 1-4.
  43. Gusella, J.F. DNA polymorphism and human disease. *Annu. Rev. Biochem.* 1986; 55, 831-854.
  44. Hansen, M.F. and Cavenee, W.K. Genetics

- of cancer predisposition, *Cancer Res.* 1987; 55:18-5527.
45. Harris, C.C. (Ed.) *Biochemical and Molecular Epidemiology of Cancer*, Alan R. Liss, New York, NY, 1986,
  49. Harris, C.C. Human tissues and cells in carcinogenesis research, *Cancer Res.* 1987; 47, 1-10.
  47. Harris, C. C., Weston, A., Willey, J. C., Trivers, G.E., and Mann, D.L. Biochemical and molecular epidemiology of human cancer: indicators of carcinogen exposure, DNA damage and genetic predisposition, *Environ. Health Perspect.* 1987; 75, 109-119.
  48. Hawkins, M.J. IL-2/LAK: current status and possible future directions. *Principles Pract. Oncol.* 1989; 3(8), 1-14.
  49. Heidelberger, C. Mammalian cell transformation and mammalian cell mutagenesis in vitro, *Environ. Pathol. Toxicol.* 1980; 3, 69-87.
  50. Heidelberger, C., Freeman, A.E., Pienta, R.J., Sivak, A., Bertram, J.S., Casto, B.C., Dunkel, V. C., Francis, M. W., Kakunga, T., Little, J.B. and Schechtman, L.M. Cell transformation by chemical agents: a review and analysis of the literature, *Mutat. Res.* 1983; 114, 283-385.
  51. Hunter, T. 1001 Protein kinases, *Cell* 1987; 50, 823-829.
  52. Hwang, H.-M., Hodson, R.E. and Lee, R.F. Degradation of aniline and chloroanilines by sunlight and microbes in estuarine water *Water Res.* 1987; 21, 309-316.
  53. IARC Overall Evaluation of Carcinogenicity: An updating of IARC Monographs Volumes I to 42. (Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Suppl. 7), Lyon, France, 1987a,
  54. IARC Genetic and Related Effects: An Updating of IARC Monographs Volumes 1 to 42 (Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Suppl. 6), Lyon, France, 1987b,
  55. Iversen, O.H. (Ed.) *Theories of Carcinogenesis*, Hemisphere Publishing Corporation, Washington, 1988, DC, 319pp.
  56. Jaenisch, R. Transgenic animals, *Science* 1988; 240, 1468-1474.
  57. Kambara, H., Nishikawa, T., Katayama, Y. and Yamaguchi, T. Optimization of parameters in a DNA sequenator using fluorescence detection, *Bio/Technology* 1983; 6, 816-821.
  58. Karakaya, A., Cok, I., Sardas, S., Gogus, O. and Sardas, O.S. N-acetyltransferase phenotype of patients with bladder cancer, *Hum. Toxicol.* 1986; 5, 333-335.
  59. Kellermann, G., Shaw, C.R. and Luyten-Kellermann, M. Arylhydrocarbon hydroxylase inducibility and bronchogenic carcinoma, *New Engl. J. Med.* 1973a; 289, 934-937.
  60. Kellermann, G., Luyten-Kellermann, M. and Shaw, C.R. Genetic variation of arylhydrocarbon hydroxylase in human lymphocytes, *Am. J. Hum. Genet.* 1973b; 25, 327-331.
  61. Kinzie, J.L., Silverman, A. L., Gupta, T.P. and Peleman, R. R. Screening and surveillance for colorectal cancer, *Gastroenterol. Clin. North Am. (United States)* 1988; 17, 793-809.
  62. Kirilin, W. G., Trinidad, A., Yerokun, T., Ogolla, F., Ferguson, R.J., Andrews, A.F., Brady, P.K. and Hein, D.W. Polymorphic expression of acetyl coenzyme A-dependent arylamine N-acetyltransferase and acetyl coenzyme A-dependent O-acetyltransferase-mediated activation of N-hydroxyarylamines by human bladder cytosol, *Cancer Res.* 1989; 49, 2443-2464.
  63. Klein, G. Oncogenes and tumor suppressor genes, *Rev. Oncol.* 1, Acta Oncol. 27 Fasc. 1988; 4, 427-437.
  64. Klein, G. and Klein, E. Conditioned tumorigenicity of activated oncogenes, *Cancer Res.* 1986; 46, 3211-3224.
  63. Klein, G. and Klein, E. Evolution of tumors and the impact of molecular oncology, *Nature* 1987; 315, 190-193.

66. Knudson, A.G. Mutation and cancer, statistical study of retinoblastoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1971, 68, 820-823.
67. Knudson, A.G. Genetics of human cancer. *Annu. Rev. Genet.* 1986, 20, 231-251.
68. Knudson, A.G. A two-mutation model for human cancer. *Adv. Viral Oncol.* 1987, 7, 1-17.
69. Knudson, A.G. Genetic predisposition to cancers. In: Bloom, A.D., Spatz, L. and Paul, N.W. (Eds.), *Genetic Susceptibility to Environmental Mutagens and Carcinogens* (Monograph 2), Birth Defects, 1989, 25, 15-27.
70. Kobayashi, H. and Rittmann, B. Microbial removal of hazardous organic compounds. *Environ. Sci. Technol.* 1982, 16, 170A-188A.
71. Kohler, G. and Milstein, C. Continuous cultures of fused cells secreting antibodies of predefined specificity. *Nature* 1975, 256, 495-497.
72. Kohn, D. B., Kantoff, P. W., Eglitis, M.A., McLacqlin, J. R., Moen, R. C., Karson, E., Zwiebel, J.A., Nienhuis, A., Karlsson, S., O'Reilly, R., Gillio, A., Bordignon, C., Gilboa, E., Zanjani, E. D., Blease, R. M., and Anderson, W. F. Retroviral-mediated gene transfer into mammalian cells. *Blood Cells* 1987, 13, 285-293.
73. Krebs, E.G. The phosphorylation of proteins: a major mechanism for biological regulation. *Biochem. Soc. Trans.* 1985, 13, 813-820.
74. Krosnick, J.A., Mule, J. J., McIntosh, J.K. and Rosenberg, S.A. Augmentation of antitumor efficacy by the combination of recombinant tumor necrosis factor and chemotherapeutic agents in vivo. *Cancer Res.* 1989, 49, 3729-3733.
75. Lal, R., Lal, S. and Shivaji, S. Use of microbes for detoxification of pesticides. *CRC Crit. Rev. Biotech.* 1984, 3, 1-16.
76. Ledley, F.D. Somatic gene therapy for human disease: background and prospects, Part I. *J. Pediat.* 1937a, 110, 1-8.
77. Ledley, F.D. Somatic gene therapy for human disease: background and prospects, Part II. *J. Pediat.* 1987b, 110, 169-174.
23. Lindow, S.E., Panopoulos, N.J. and McFarland, B.L. Genetic engineering of bacteria from managed and natural habitats. *Science* 1989, 244, 1300-1307.
79. Liug, V., Chambers, A.F., Harris, J.F. and Hill, R.P. Quantitative genetic analysis of tumor progression. *Cancer Metastasis Rev.* 1985, 4, 173-194.
80. Lipinsky, E.S. Chemicals from biomass: petrochemical substitution options. *Science* 1981, 212, 1465-1471.
81. Lipkin, M. Biomarkers of increased susceptibility to gastrointestinal cancer: new application to studies of cancer prevention in human subjects. *Cancer Res.* 1988, 235-245.
82. McCormick, F. ras GTPase activating protein: signal transmitter and signal terminator, a minireview. *Cell* 1989, 56, 5-8.
83. McCormick, J.J. and Maher, V.M. Malignant transformation of mammalian cells in culture, including human cells. *Environ. Mol. Mutagen.* 1989, 14(Suppl.16), 105-113.
84. Maxam, A.M. and Gilbert, W. Sequencing end-label DNA with base-specific chemical cleavage. *Methods Enzymol.* 1980, 65, 499-560.
85. Mitelman, F. Catalog of chromosome aberrations in cancer. *Cytogenet. Cell Genet.* 1985, 36, 1-515.
86. Mitelman, F. *Catalog of Chromosome Aberrations in Cancer*, 2nd edn. Alan R. Liss, New York, NY.
87. Mitelman, F. Clustering of breakpoints to specific chromosomal regions in human neoplasms. A survey of 5,345 cases. *Hereditas* 1986, 104, 113-119.
83. Moolgavkar, S.H. and Knudson, A. G. Mutation and cancer: a model for human Carcinogenesis. *J. Natl. Catl. Cancer Inst.* 1981, 66, 1037-1052.
89. Mulvihill, J.J. Host factors in human lung

- tumors : an example of ecogenetics in oncology. *J. Natl. Cancer Inst.* 1976; 57, 3-7.
90. Mulvihill, J.J. Clinical genetics of human cancer. In : Chu, E. Y. and Generoso, W. M. (Eds.), *Mutation, Cancer and Malformation* (*Environ. Sci. Res.* 31, 13-33) Plenum Press, New York, NY, 1984;
  91. Mulvihill, J.J. Clinical ecogenetics : cancer in families. *New Engl. J. Med.* 1985; 312, 1569-1570.
  92. Mulvihill, J.J. and Tulinius, H. Cancer ecogenetics : studying genetic and environment interactions through epidemiology. *Int. J. Epidemiol.* 1987; 16, 337-340.
  93. Nebert, W. W., Negishi, M., Lang, M. A., Hjelmeland, L.M. and Eisen, H.J. The Ah locus, a multigene family necessary for survival in a chemically adverse environment : comparison with the immune system. *Adv. Genet.* 1982; 21, 1-52.
  94. Nettesheim, P., Fitzgerald, D.J., Kitamura, H., Walker, C.L., Gilmer, T.M., Barrett, J.C. and Gray, T. E. In vitro analysis of multistage carcinogenesis. *Environ. Health Perspect.* 1987; 75, 71-79.
  95. Nordling, C.E. A new theory on the cancer inducing mechanism. *Br. J. Cancer* 1953; 7, 68-73.
  96. Nowell, P. The clonal evolution of tumor cell population. *Science* 1976; 194, 23-28.
  97. Nowell, P. Mechanisms of tumor progression. *Cancer Res.* 1986; 46, 2203-2207.
  98. Olson, M., Hood, L., Cantor, C. and Bostein, D. A common language for physical mapping of the human genome. *Science* 1989; 245, 1434-1435.
  99. Orkin, S.H. and Williams, D. A. Gene therapy of somatic cells : status and prospects. *Prog. Med. Genet.* 1988; 7, 130-142.
  100. Pathak, S. Cytogenetics of solid tumors. In : Luderer, A. L. and Weetall, H.H. (Eds.), *The Human Oncogenic Viruses : Molecular Analysis and Diagnosis*. Humana Press, Clifton, NJ, 1986; pp. 43-87.
  101. Pathak, S. and Goodacre, A. Specific chromosomal anomalies and predisposition to human breast, renal cell and colorectal carcinoma. *Cancer Genet. Cytogenet.* 1936; 19, 29-36.
  102. Perera, F. Molecular cancer epidemiology : a new tool in cancer prevention. *J. Natl. Cancer Inst.* 1937; 78, 887-898.
  103. Perera, F. and Weinstein, I. B. Molecular epidemiology and carcinogen-DNA adduct detection : new approaches to studies of human cancer causation. *J. Chron. Dis.* 1982; 35, 581-600.
  104. Pierce, G.B. and Speers, W.C. Tumors as caricatures of the process of tissue renewal : prospects for therapy by directing differentiation. *Cancer Res.* 1983; 1996-2004.
  105. Pitot, H.C. *Fundamentals of Oncology*, 3rd edn. Marcel Dekker, New York, NY, pp. 1-20. 1986a;
  106. Pitot, H.C. *Fundamentals of Oncology*, 3rd edn. Marcel Dekker, New York, NY, 1986b; 532pp.
  107. Rehacek, Z. and Krumphanzl, V. New trends in microbial technology. *Folia Microbiol.* 1987; 32, 65-81.
  108. Rommens, J.M., Iannuzzi, M.C., B.-S. Kerem, Drumm, M. L., Melmer, G., Dean, M., Rozmahel, R., Cole, J.L., Kennedy, D., Hidaka, N., Zsisa, M., Buchwald, M., Riordan, J. R., Tsui, L.-C. and Collins, F.C. Identification of the cystic fibrosis gene : chromosome walking and jumping. *Science* 1986; 245, 1059-1065.
  109. Rowley, J.D. A new consistent chromosome abnormality in chronic myelogenous leukemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa banding. *Nature*, 243, 290-293.
  110. Saiki, R.T., Gelfand, D.H., Stoffel, S., Scharf, S.J., Higuchi, R., Horn, G.T., Mullis, K.T. and Ehrlich, H. A. Primer directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 1988; 239, 487-491.
  111. Sandberg, A. A., Turc-Carel, C. and

- Gemmill, R. M. Chromosomes in solid tumors and beyond. *Cancer Res.* 1988; 48, 1049-1059.
112. Sanger, F., Niklen, S. and Coulson, A. R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1977; 74, 5463-5467.
113. Smith, K. A. Interleukin-inception, impact and implications. *Science.* 1988, 240, 1169-1176.
114. Squire, J., Dryja, T. P., Dunn, J., Goddard, A., Hofmann, T., Musarella, M., Willard, H. F., Becker, A. J., Gallie, B. L. and Phillips, R. A. Cloning of the esterase D gene: a polymorphic gene probe closely linked to the retinoblastoma locus on chromosome 13. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1986; 83, 6573-6577.
115. Stanbridge, E. J. Genetic regulation of tumorigenic expression in somatic cell hybrids. *Adv. Viral Oncol.* 1987; 6, 83-101.
116. Stein, C. A., and Cohen, J. S. Oligodeoxynucleotides as inhibitors of gene expression: a review. *Cancer Res.* 1988; 48, 2659-2668.
117. Stiefel, E. I. The technological promise of biological sciences-Biotechnology applications in the chemical industry, etc. *Chem. Eng. Prog.* 1987; 83, 21-34.
118. Taylor, J. A. Epidemiology studies of molecular genetics of cancer. In: Bloom, A. D., Spetz, L. and Paul, N. W. (Eds.), *Genetic Susceptibility to Environmental Mutagens and Carcinogens (Monograph 2)*, Birth Defects, 1989; 25, 83-93.
119. Toma, A. E. Use of biotechnology in mining and metallurgy *Biotech. Adv.* 1983; 6, 1-8.
120. Tomatis, L. Environmental cancer risk factors. *Acta Oncol.* 27(Fasc. 5), 1988; 465-472.
121. Verwilghen, R. L. and Boogaerts, M. A. The myelodysplastic syndromes. *Blood Rev.* 1987; 1, 34-43.
122. Vitetta, E. S., Fulton, R. J., May, R. D., Till, M. and Uhr, J. W. Redesigning nature's poison to create anti-tumor reagents. *Science* 1987; 238, 1098-1104.
123. Vogelstein, B., Fearon, E. R., Kern, S. E., Rreisinger, A. C., Leppert, M., Nakamura, Y., White, R., Smits, A. M. M. and Bos, J. L. Genetic alterations during colorectal tumor development. *New Engl. J. Med.* 1988; 319, 525-532.
124. Wada, A. Automated high-speed DNA sequencing. *Nature* 1987; 325, 771-772.
125. Weber, W. W. and Hein, D. W. N-acetylation pharmacogenetics. *Pharmacol. Rev.* 1984; 37, 25-79.
126. Weinberg, R. A. Oncogenes, antioncogenes and the molecular basis of multistep carcinogenesis. *Cancer Res.* 1989; 49, 3713-3721.
127. Weinstein, I. B. Cell culture studies on the mechanism of action of chemical carcinogens and tumor promoters. *Carcinogenesis* 1985; 10, 177-187.
128. Weissman, B. E., Saxon, P. J., Pasquale, S. R., Jones, G. R., Geiser, A. G. and Stanbridge, E. J. Introduction of a normal human chromosome 11 into a Wilms' tumor cell line controls its tumorigenic expression. *Science* 1987; 236, 176-180.
129. White, R. and Caskey, C. T. The human as an experimental system in molecular genetics. *Science* 1980; 240, 1433-1438.
130. Whitlock, J. P. The regulation of cytochrome P-450 gene expression. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1986; 26, 333-369.
131. Wiggs, J., Nordenskjöld, M., Yandem, D., Rapaport, J., Grondin, V., Janson, M., Werelius, B., Peterseu, R., Craft, A., Riedel, C., Lieberfarb, R., Walton, D., Wilson, W. and Dryja, T. Prediction of the risk of the hereditary retinoblastoma, using DNA polymorphisms within the retinoblastoma gene. *New Engl. J. Med.* 1988; 318, 151-157.
132. Zimmerman, M. R. An experimental study of mummification pertinent to the antiquity of cancer. *Cancer* 1977; 40, 1358-1362.