

Trots lång väg kvar till fullgod behandling och prevention

# ÖKADE KUNSKAPER OM LUNGCANCERBIOLOGI

**Förbättrade behandlingsresultat och effektiv prevention har ännu inte slagit igenom för lungcancer. Man kan dock börja ana vilka genetiska och cellulära händelser som är involverade i sjukdomens utveckling. De senaste 15 åren har medfört en exponentiellt ökad kunskap om lungcancers tumör- och molekylärbiologi.**

**Här beskrivs vilka genetica/molekylärbiologiska förändringar som kan påvisas under och efter den maligna transformationen samt vilka resistensfaktorer som förhindrar en framgångsrik behandling med dagens terapiarsenal.**

För 100 år sedan var lungcancer en mycket ovanlig malign tumör i västvärlden. Några decennier efter ökade rökvanor har man i alla länder kunnat registrera ett klart ökat antal lungcancerfall.

Tobaksrök innehåller ett stort antal väl definierade karcinogener, men det tar i allmänhet flera decennier innan en lungcancer har uppstått och progredierat så långt att den kliniskt kan diagnostiseras med de metoder vi idag använder oss av. Det förtjänar att påpekas att det är utomordentligt anmärkningsvärt att i stort sett bara ungefär var tionde storrökare utvecklar lungcancer med tanke på tobaksrökens innehåll av ett stort antal potenta karcinogener. Detta belyser hur utvecklade skydds- och reparativa mekanismer som slemhinnorna i luftvägarna måste ha.

Ännu har tyvärr preventionsåtgärder och behandling av lungcancer inte varit

framgångsrika, men man kan å andra sidan notera markerade framsteg vad det gäller kunskapen om lungcancerbiologin. Man kan nästan beskriva de senaste femton årens utveckling som explosionsartad.

De första tio åren etablerades humana cellinjer, i huvudsak från patienter med avancerad småcellig lungcancer. Med dessa etablerade humana cellinjer har man i detalj kunnat kartlägga olika geno- och fenotypiska egenskaper som karakteriserar lungcancer. Inom parentes kan man nog säga att dessa studier har varit en av orsakerna till att man nu i allmänhet använder sig av termen icke-småcellig lungcancer (non-SCLC), för att kollektivt beteckna gruppen av skivepitelcancer, adenokarcinom och storcellig lungcancer. Motivet till denna nya terminologi är att dessa undergrupper av icke-småcellig lungcancer uppvisar i princip samma typ av markörprofil och att de kliniskt behandlas på ett relativt enhetligt sätt. Dock bör man notera att speciellt inom gruppen adenokarcinom finns det ett påtagligt spann i malignitetspotentialen. Man bör alltså fortfarande i sin histopatologiska klassifikation typa tumören som icke-småcellig lungcancer samt också ange histopatologisk undergrupp och differentieringsgrad som tumören uppvisar.

## Humana cellinjer

Det är även fortsättningsvis viktigt att studera humana cellinjer från lungcancerpatienter. Det är nämligen svårt att få tillräckligt med tumörmaterial för direkta biopsistudier från framförallt patienter med småcellig lungcancer, eftersom dessa patienter i princip alltid erhåller primär polykemoterapi och strålbehandling med en initialt mycket god effekt på tumören.

Trots ovanstående svårigheter har man de sista fem åren i detta femtonåriga perspektiv också börjat kunna studera biopsier direkt från patienter med de olika lungcancertyperna. Motivet till denna successiva övergång till komplementära biopsistudier är givetvis att humana cellinjer delvis uppvisar en artificiell anpassning och därigenom möjligen också förändrade geno- och fenotypiska egenskaper.



**SERIE** Lungcancer

Vidare är det ju så att i cellkulturer studerar man i allmänhet bara den epiteliala delkomponenten av tumören där omgivande maligna stromaceller och kärlnät ej ingår, in vivo är dessa faktorer sannolikt mycket viktiga för dynamiken i tumören.

Fortsatta experimentella och biologiska studier av human lungcancer är utomordentligt viktigt. Det kan ge ingående kunskaper om tumörprogression innefattande den sekventiella »felaktiga» aktiveringen av olika onkgener och tillväxtfaktorer parallellt med inaktivering av olika tumörsuppressorgener. Information om vilken sekvens dessa händelser inträffar i är sannolikt av stor principiell betydelse eftersom flera andra solida tumörer uppvisar likartade genetiska förändringar som lungcancer.

Lungcancer av skivepiteltyp har definierade förstadier från metaplastiskt skivepitel till invasiv icke-småcellig lungcancer. Dessutom känner man vid denna lungcancertyp till vilka karcinogener som sannolikt är involverade i tumörutvecklingen. Fortsatt forskning kan möjligen avslöja vilka typer av karcinogener som ger specifika genetiska förändringar och i vilken sekvens dessa genetiska förändringar måste inträffa för att man skall få den fulla maligna transformationen resulterande i en tumör med metastatisk potential. Denna typ av detaljkunnande skulle kunna utgöra basen för mer rationella terapikoncept.

Nedanstående sammanfattning över lungcancerbiologi kommer i huvudsak att fokusera sig kring huvudområdena genetik, onkgener, tumörsuppressorge-

## Författare

JONAS BERGH

cancerforskare, Cancerfonden, bas-tjänst som docent, överläkare, kliniken för allmän onkologi, Akademiska sjukhuset, Uppsala.

ner, tillväxtfaktorer och cytostatikaresistens.

## Genetik

Konventionella kromosomundersökningar av human lungcancer visar en mycket komplex bild med aneuploidi, olika markörkromosomer och en påtaglig heterogenitet. Kromosomundersökningar av främst humana småcelliga cellinjer visade frekventa strukturella abnormiteter främst avseende kromosomerna 1, 2, 3, 5, 6, 9, 10, 11, 13, 14, 17 och X [1].

1983 påvisades vid studium av humana cellinjer etablerade från patienter med småcellig lungcancer i så gott som samtliga fall en homozygot deletion av den korta armen på kromosom 3, en så kallad 3p-deletion [2]. Denna deletion förmodades initialt vara en exklusiv molekylär markör för den småcelliga lungcancer. Uppföljande studier av pleuraexsudat från patienter med icke-småcellig lungcancer och primärbiopsier från patienter med opererad icke-småcellig lungcancer kunde sedermera avslöja att en stor del av patienterna med icke-småcellig lungcancer också hade en deletion på motsvarande ställe på den korta armen av kromosom 3 [3, 4].

Ytterligare studier av den korta armen av kromosom 3 har givit upphov till stark misstanke att denna kromosom sannolikt är bärare av en eller flera tumörsuppressorgener. Ett av områdena som anses potentiellt intressant är band 3p12–14. Anledningen till detta intresse är att en cellinje (U-2020) från en patient med småcellig lungcancer uppvisade en homozygot deletion av detta område [5].

Nyligen publicerades en undersökning som visade att FHIT-genen, som är belägen på 3p14.2, är abnorm i 11/14 tumörer från patienter med småcellig lungcancer och 18/45 lungcancer av icke-småcellig typ [6]. Förändringar i denna FHIT-gen anses av dessa författare vara ett kritiskt steg för utvecklingen av lungcancer [6].

Ytterligare två områden har tilldragit sig stort intresse på kromosom nr 3, 3p21:3 och 3p25 [7]. Det sistnämnda området har befunnits vara platsen för von Hippel–Lindau-genen [7, 8]. Förhållanden av denna gen har setts i association med njurcancer, och undersökningar pågår för närvarande för att påvisa huruvida kromosom 3p-förändringar är gemensamma för lungcancer och njurcancer.

Förutom vid lung- och njurcancer har man även påvisat kromosom 3p-förändringar vid cervix-, endometrie- och bröstcancer, vilket sammantaget med ovanstående information ytterligare stärker misstanken om närvaron av en

eller flera tumörsuppressorgener på kromosom 3 [9].

Den potentiella betydelsen av kromosom 3p-förändringar tidigt i sjukdomsutvecklingen styrks av små studier av preneoplastiska förändringar i bronkialslemhinnan, som redan då uppvisar kromosom 3-förändringar [10].

De molekylärbiologiska studierna av human lungcancer har nyligen visat att förlust av genetiskt material från korta armen på kromosom 9 är den vanligaste genetiska förändringen i icke-småcellig lungcancer och även i andra typer av humana maligniteter [11–14]. Deletioner av delar av den korta armen på kromosom nr 9 har också påvisats för andra tumörformer såsom hals-/huvudcancer, blåscancer, familjärt malignt melanom och akut lymfoblastleukemi [14–17]. Den del av kromosom nr 9 som ofta beskrivits förändrad är bandet 9p21.

Betydelsen av skador på 9p21 understyks av att denna typ av förändringar också demonstrerats i preneoplastiska områden hos patienter med lungcancer [18]. Detta har tidigare demonstrerats för patienter med »tidig» blåscancer och hals-/huvudcancer [14, 16, 17]. Kartläggning av 9p21-förändringar har visat att genen p16 var belägen inom ovanstående region. p16 är en potent inhibitor av cyklin/cyklinberoende kinas, cyklin-cdk. Cyklin-cdk-inhibition är av betydelse för kontrollen av cellcykeln, närmare bestämt övergången från G1-till S-fas.

## Onkgener

I normala celler har proto-onkgener stor betydelse för tillväxtstimulering. Aktiveringen av dessa onkgener är strikt reglerad i tiden och till cellulär lokalisation. Proteinprodukterna från onkgenerna är nukleära fosfoproteiner, transkriptionsfaktorer, tillväxtfaktorer, receptorer och proteinkinaser. Onkgener kan bland annat aktiveras via mutationer, translokationer, DNA-amplifiering och ett ökat uttryck av RNA och via så kallad retroviral insertion [9]. För ungefär 15 år sedan identifierades de första onkgenerna i humana tumörer. I dagsläget känner vi till ett 50–100-tal onkgener i humana tumörer. I tumörceller är kontrollen av onkgenernas uttryck ofta defekt.

Cellinjer från lungcancerpatienter, främst från patienter med småcellig lungcancer, har varit föremål för omfattande studier vad det gäller förändringar i uttrycket av olika onkgener. Ett mycket stort antal onkgener har beskrivits vara förändrade med ökad mRNA-expression och i vissa fall DNA-amplifiering. Som ett exempel kan nämnas att 30–40 procent av de småcelliga lungcancerlinjerna har beskrivits ha amplifi-

ering av en av myc-familjens onkgener [1]. Vid studier av biopsier från patienter med småcellig cancer och icke-småcellig cancer var frekvensen av amplifiering av c-, N- och L-myc betydligt lägre [1]. Enskilda studier har också använt onkgenundersökningar för att ge prognostisk information i fråga om patienter med lungcancer, men inga definitiva och helt säkert konklusiva studier finns ännu.

## Tumörsuppressorgener

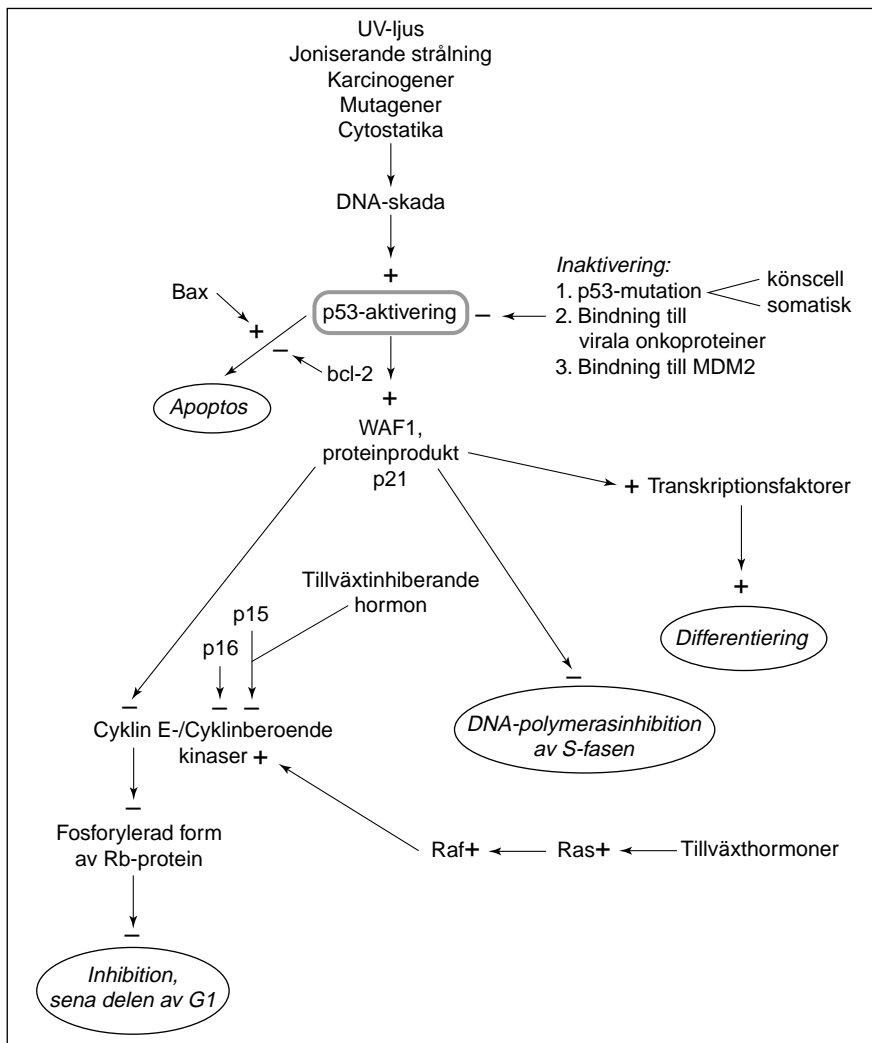
Effekten av onkgener kan modereras och delvis motverkas med så kallade antionkgener, ett synonymt begrepp är tumörsuppressorgen eller recessiv cancergen. Antalet tumörsuppressorgener är betydligt mindre än antalet onkgener. De vanligaste tumörsuppressorgenerna är Rb, p53, DCC, FPC, WT-1 och NF-1 [19].

Tumörsuppressorgen p53 identifierades initialt som en onkgen. Proteinprodukten från p53 har beskrivits ha betydelse för differentiering, proliferation och kontroll av så kallad programmerad celledöd eller apoptos. På grund av p53:s mycket viktiga funktioner har den benämnts »guardian of the genome» [20]. p53-förändringar anses vara de vanligaste genetiska förändringarna i humana maligniteter, inklusive lungcancer.

p53-genen aktiveras normalt av joniserande strålning, cytostatika, UV-ljus, karcinogener och mutagener. Denna aktivering av p53 kan hämmas om man har mutationer i p53 eller via bindning till virala onkproteiner eller bindning till MDM2. Den normala aktivering av p53 kan leda antingen till apoptos genom nedreglering av bcl-2 och uppreglering av bax eller till G1-arrest genom induktion av p21. p21 är proteinprodukten från genen WAF1/Cip1. p21 är en generell inhibitor av cyklin/cyklinberoende kinaskomplexet (cyklin-cdk) men kan även inhibera DNA-polymeras (Figur 1) [21–24]. Genom inhibition av cyklinD1-cdk4/6- och cyklinE-cdk2-komplexen förhindras fosforyleringen av Rb-proteinet. Det hypofosforylerade Rb binder transkriptionsfaktorer, framförallt av E2F-typ, och hindrar övergången från G1 till S-fas. Cellcykeln stannar i sen G1- [21, 25].

Rökning har beskrivits ge ett DNA-basparbyte i p53 från guanin-cytosinpar till tymidin-adenin-par hos patienter med esofagus-, hals-/huvud- och lungcancer [22, 26, 27].

Studier finns gjorda på p53-uttrycket i dysplastiskt skivepitel i bronkialslemhinnan. Man hittar förändrade proteinnivåer i det dysplastiska epitelet men ej i den normala bronkialslemhinnan [10]. Detta är möjligen ett indirekt bevis för att p53-förändringar är relativt tidiga förändringar i omvandlingen från



**Figur 1.** Schematisk beskrivning av p53:s centrala roll som regulator av celledöd, differentiering och kontroll av proliferation, som svar på DNA-skada. Modifierad av Stinchcomb [21], Chang [22], Bergh [23], och översatt från Norberg och medarbetare [24].

normalt bronkialepitel till invasiv skiv-epitelcancer. Ett möjligt problem med dessa studier är att man har använt immunhistokemiska tekniker för påvisande av proteinförändringar. Problemet med flera p53-antikroppar är att de ej förmår att skilja muterat p53-protein från ett ökat uttryck av en helt normal p53 [28].

### Tillväxtfaktorer

Det är ett välkänt och väldokumenterat faktum att patienter med småcellig lungcancer ej helt sällan uppvisar paraneoplastiska endokrina syndrom. Helt i linje med detta har man visat att humana cellinjer som etablerats från patienter med småcellig lungcancer uppvisar ett uttryck av ett stort antal neuroendokrina markörer såsom bradykinin, L-DOPA-dekarboxylas, kromogranin, kreatinkinas BB, »gastrin-releasing peptide» (bombesin), »neural cell adhesion molecule», nervspecifikt enolas, synaptofysin, somatostatinreceptorer med mera [7].

Dessa neuroendokrina markörer ansågs tidigare exklusivt förekommande i den småcelliga gruppen i jämförelse med den icke-småcelliga gruppen. Stu-

dier av humana cellinjer från den sistnämnda gruppen och i enstaka fall också undersökningar av biopsimaterial från patienter med icke-småcellig lungcancer har visat att dessa tumörer i princip också kan uttrycka låga nivåer av dessa neuroendokrina markörer. Sannolunda ansåg man tidigare att icke-småcellig lungcancer kännetecknades av ett antal epiteliala markörer såsom cytokeratinfilament och receptorer för epidermal tillväxtfaktor. Även här komplicerades bilden och det är idag ett etablerat faktum att småcellig cancer förutom sina neuroendokrina markörer även uttrycker epiteliala markörer [29].

Sammantaget finns det dock en klart kvantitativ skillnad i marköruttrycket mellan småcellig cancer och icke-småcellig lungcancer. Detta är ett av många indicier på att dessa tumörer är histogenetiskt besläktade och utgår från bronkialslemhinnans celler. Tidigare ansåg man att småcellig lungcancer (oatcell-

cancer) var neuroektodermalt deriverad men idag anses det att båda huvudgrupperna av lungcancer utgår från malignt transformerat bronkialepitel där respektive ursprungscell har olika differentieringsriktning.

Gastrinfrisättande peptid, bombesin, ansågs tidigare vara en exklusiv och mycket viktig tillväxtfaktor för småcellig lungcancer; initiala studier visade att specifika monoklonala antikroppar helt kunde kontrollera tillväxten i en human cellinje av småcellig lungcancer. Ytterligare undersökningar av studier har visat en betydande heterogenitet och en mycket större komplexitet vad det gäller tillväxtkontrollen, och ett stort antal neuropeptider kan vara av betydelse för tillväxtregleringen av småcellig lungcancer [30-32].

### Cytostatikaresistens

Ett av de största hindren för framgångsrik behandling av de vanliga solida tumörerna inklusive lungcancer är primär (utan tidigare behandling) och/eller förvärvad (efter cytostatikabehandling) resistens mot cytostatika [33]. Lungcancergruppen är ett bra exempel på en tumörgrupp med markerad resistens mot de idag använda onkologiska behandlingsmetoderna.

Gruppen av småcelliga cancer typer uppvisar ju initialt en mycket imponerande respons på given polykemoterapi och strålbehandling, men tyvärr får nästan alla dessa patienter recidiv/progression av primärt resistent tumörkloner, vilka i allmänhet ej är behandlingsbara. Detta är ett bra exempel på så kallad sekundär eller förvärvad resistens. Gruppen av icke-småcellig lungcancer kännetecknas ofta av så kallad primär resistens.

Resistensen mot cytostatika är komplex och heterogen. Några av de principiella huvudmekanismerna är resistens associerad med **membranproteinförändringar, multidrogresistens** av olika typer, **detoxifieringsmekanismer** och **DNA-relaterade faktorer**.

Innan vi går in och mer i detalj beskriver dessa cellulära mekanismer så är det viktigt att komma ihåg att den cellulära resistensen är klart skild från den kliniska bedömningen av så kallad cytostatikaresistens. Den sistnämnda entiteten innehåller ju faktorer av typen försämrad/bristfällig cirkulation i tumörområdet. Vidare är det relativt välkänt att våra vanliga cytostatika, trots intravenös administration och dosering i mg/m<sup>2</sup>, har en påtaglig interindividuell variation. Beräknar man arean under kurvan så varierar den med en faktor 3 till 10 [34]. Vissa anatomiska lokaler som testiklar och CNS har en sämre tillgänglighet för vissa använda cytostatika. Sammantaget är detta tre exempel

på icke-cellulär resistens, var och en för sig möjliga förklaringar till så kallad klinisk resistens. I faktarutan finns exempel på cellulära resistensfaktorer.

### Multidrogresistens

Resistens associerad med ökat uttryck av permeabilitetsglykoprotein (P-gp) definieras fenotypiskt av korsresistens mellan antracyklingruppens (doxorubicin, epirubicin, daunorubicin med flera) preparat, vinca-alkaloider (vin-kristin, vindesin, vinblastin) och podofyllotoxingruppens (teniposid, etoposid) cytotatika [35, 36].

Vid ökat uttryck av P-gp får man en ökad uttransport av cytotatika från tumörcellerna; resistensen kan reverseras med bland annat kalciumantagonister och cyklosporiner [33, 36]. Det sistnämnda går utmärkt in vitro men hittills gjorda studier in vivo har ej varit framgångsrika eftersom de droger som använts inte kunnat användas in vivo med optimal/tillräckligt hög koncentration beroende på biverkningar av den reverserande drogen.

Studier av i huvudsak humana cellinjer från lungcancer har givit vid handen att man anser att multidrogresistens av P-gp-typ ej är en viktig faktor för cytotatikaresistens vid lungcancerbehandling [37]. Däremot har man i humana småcelliga lungcancer cellinjer hittat ett ökat uttryck av ett protein som är något större än P-gp och som benämns »multidrug resistance associated protein» (MRP) [38]. MRP har liknande egenskaper som P-gp. Uttrycket av MRP-relaterad resistens i småcellig lungcancer och icke-småcellig lungcancer före och efter terapi är idag ej helt fullt utrett. MRP skulle kunna vara en möjlig förklaringsmodell till den förvärvade resistensen hos patienter som behandlats med polykemoterapi för småcellig lungcancer och som fått återfall. Nyligen har en tredje möjlig resistensfaktor av denna typ beskrivits: »lung cancer resistance protein» (LRP).

En intressant koppling mellan cytotatikaresistens och aktivering av ras-onkigenen och c-erbB-2-linjen finns noterad för en subpopulation av cellinjer från icke-småcellig lungcancer. Ökat uttryck av c-erbB-2 var kopplat till multidrogresistens i dessa icke-småcelliga lungcancer cellinjer [39].

### Detoxifieringsmekanismer

Tripeptiden glutation /GSH) har en viktig funktion att detoxifiera exogena och endogena toxiska substanser i cellcytoplasman. Konjugeringen med glutation sker via glutationtransferaser, som finns av fyra huvudgrupper (alfa, pi, my, theta) [40]. Resistens mot glutation har beskrivits vara associerad med resistens mot alkylerande cytotatika.

## Cellulära resistenser av potentiell betydelse

### Membranproteinförändringar

- Permeabilitetsglykoprotein (P-gp)
- »Multidrug resistance associated protein» (MRP)
- »Lung resistance protein» (LRP)

### Detoxifieringsmekanismer

- Glutation (GSH)
- Glutationtransferaser (GST)

### DNA-relaterade faktorer

- Topoisomeras I/II ( $\alpha$ ,  $\beta$ )-resistens
- Genamplifiering – förändrade enzymnivåer
- DNA-reparerande faktorer O<sup>6</sup>-metylguanin-DNA-metyltransferas)
- Onkgen, tumörsuppressorgenförändringar, t ex p53-mutationer

Studier finns gjorda såväl på cellinjer som på biopsier. Man fann bland annat ett påtagligt heterogent uttryck av glutation. Skivepitelcancerbiopsier hade fem till tio gånger högre värden än motsvarande lungvävnad [41]. Glutationnivåerna är möjliga att påverka bland annat genom att använda butioninsulfoximin som inhiberar syntesen av GSH; kliniska försök med detta pågår.

### DNA-relaterade faktorer

Resistens mot metotrexat och 5-FU (fluorouracil) har i experimentella system beskrivits bero på amplifiering av dihydrofolatreduktasgenen och tymidylatsyntetasgenen [42, 43]. Resistens mot 5-FU i kliniska biopsier visar sig dock vara mycket mer komplex [44].

Till denna grupp av resistensfaktorer brukar man även föra förändringar i DNA-topoisomeras II-nivåerna. Topoisomerasenzymerna har bland annat betydelse för DNAs tredimensionella struktur och transkriptionskontroll. Cytostatika som doxorubicin, mitoxantron och podofyllotoxiner är inhibitorer av enzymet topoisomeras II. Vid resistens ser man nedreglering av topoisomerasnivåerna. Denna typ av resistens har vi funnit i humana cellinjer från småcellig lungcancer som in vitro gjorts multidrogresistenta. Tumörceller med låg S-fas tenderar att uttrycka lägre nivåer av topoisomeras II. Detta skulle kunna vara en av många anledningar till att långsamt progredierande tumörer tenderar att svara sämre på kemoterapi.

\*

Artikeln är skriven med stöd från Cancerfonden.

### Referenser

1. Bergh J. Gene amplification in human lung cancer. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142: 20-6.
2. Whang-Peng J, Kao-Shan CS, Lee EC, Bunn PA Jr, Carney DN, Gazdar AF et al.

- Specific chromosome defect associated with human small-cell lung cancer. Deletions 3p (14-23). *Science* 1982; 215: 181-2.
3. Zech L, Bergh J, Nilsson K. Karyotypic characterizations of established cell lines and short-term cultures of human lung cancers. *Cancer Genet Cytogenet* 1985; 15: 335-47.
4. Rabbitts P, Douglas J, Daly M, Sundaresan V, Fox B, Hasleton P et al. Frequency and extent of chromosome 3p allelic loss in non small cell lung cancer. *Genes Chromosom Cancer* 1989; 1: 95-105.
5. Daly MC, Douglas JB, Bleehe NM, Hasleton P, Twentyman PR, Sundaresan V et al. An unusually proximal deletion on the short arm of chromosome 3 in a patient with small cell lung cancer. *Genomics* 1991; 9: 113-9.
6. Sozzi G, Veronese ML, Negrini M, Baffa R, Cotticelli MG, Inoue H et al. The FHIT gene at 3p14.2 is abnormal in lung cancer. *Cell* 1996; 85: 17-26.
7. Kalemkerian GP. Biology of lung cancer. *Curr Opin Oncol* 1994; 6: 147-55.
8. Latif F, Tory K, Gnarr J, Yao M, Duh FM, Orcutt ML et al. Identification of the Von Hippel-Lindau disease tumor suppressor gene. *Science* 1993; 260: 1317-20.
10. Sundaresan V, Ganly P, Hasleton P, Rudd R, Sinha G, Bleehe NM et al. p53 and chromosome 3 abnormalities, characteristic of malignant lung tumours, are detectable in preinvasive lesions of the bronchus. *Oncogene* 1992; 7: 1989-97.
14. Sidransky D. Importance of chromosome 9p loss in human lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 1201-2.
18. Kishimoto Y, Sugio K, Hung JY, Virmani AK, McIntire DD, Minna JD et al. Allele-specific loss in chromosome 9p loci in preneoplastic lesions accompanying non-small-cell lung cancers. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 1224-9.
19. Weinberg RA. Tumor suppressor genes. *Science* 1991; 254: 1138-46.
21. Stinchcomb DT. Constraining the cell cycle: Regulating cell division and differentiation by gene therapy. *Nature Medicine* 1995; 1: 1004-6.
22. Chang F, Syrjänen S, Syrjänen K. Implications of the p53 tumor suppressor gene in clinical oncology. *J Clin Oncol* 1995; 13: 1009-22.
32. Bunn PA, Chan D, Stewart J, Gera L, Tolley R, Jewett P et al. Effects of neuropeptide analogues on calcium flux and proliferation in lung cancer cell lines. *Cancer Res* 1994; 54: 3602-10.
36. Beck WT. The cell biology of multiple drug resistance. *Biochem Pharmacol* 1987; 36: 2879-87.
37. Goldstein LJ, Galski H, Fojo A, Willingham M, Lai SL, Gazdar A et al. Expression of a multidrug resistance gene in human cancers. *J Natl Cancer Inst* 1989; 81: 116-24.
38. Cole SPC, Bhardwaj G, Gerlach JH, Macci JE, Grant CE, Almquist KC et al. Overexpression of a transporter gene in a multidrug-resistant human lung cancer cell line. *Science* 1992; 258: 1650-4.
39. Tsai CM, Chan KT, Perng RP, Mitsudomi T, Chen MH, Kadoyama C et al. Correlation of intrinsic chemoresistance of non-small-cell lung cancer cell lines with HER-2/neu gene expression but not with ras gene mutations. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 897-901.
40. Mannervik B, Danielsson U. Glutathione transferase: Structure and catalytic activity. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 1988; 23: 283-337.

Se även Medicinsk kommentar i detta nummer.