

[文章编号] 1007-385X(2006)03-0230-05

大肠癌靶向治疗临床试验的研究进展

Clinical advances on targeted therapies for colorectal cancers

陈亮¹综述, 张思河², 张青³, 田蓉⁴审阅(1. 第四军医大学口腔医学系; 2. 第四军医大学细胞工程研究中心; 3. 第四军医大学唐都医院检验科, 西安 710032; 4. 空军总医院, 北京 100036)

[摘要] 针对大肠癌不同分子靶标的治疗方案已相继进入临床试验阶段, 有些已显示出较好疗效。靶向抑制 EGFR 单抗 C225、ABX-EGF 和 EMD7200 是迄今最有治疗前景的药物, 前者 FDA 已批准上市, 后两者正处在临床 I、II 期阶段; 靶向抑制 EGFR 表达的小分子药物 EKB569、ZD1839、CI-1033 等的初期临床疗效还不明确, 其与化疗药物联用的疗效均需进一步观察。靶向阻断 Ras/Raf/细胞周期信号通路的小分子药物 R115777、BAY43-9006、Flavopiridol 等的单药疗效均不明显, 其与化疗药物联用疗效还在观察之中。靶向抑制 VEGF 的 Bevacizumab 是 FDA 批准上市的另一个治疗大肠癌的单抗药物; 靶向抑制 VEGF 或 VEGFR 的小分子化合物 PTK/ZK、Thalidomide、SU5416 等单药临床疗效一般, 但其与化疗药物联用的疗效值得期待。其他针对 MMPs、COX-2、mTOR、泛素-蛋白酶等靶点的小分子药物的单药治疗或联合治疗的疗效还在观察之中, 现在难以定论。

[关键词] 肠癌; 靶向治疗; 临床试验

[中图分类号] R735 [文献标识码] A

大肠癌包括结肠癌和直肠癌, 是临床上最常见的恶性肿瘤之一。手术切除是治疗大肠癌最有效的首选手段, 但手术并不能完全避免复发的危险。30%~40% 的患者复发转移并最终死亡, 故术后辅助放、化疗作为防治复发、转移的有力手段。近年来, 随着各种分子靶标的不断发现, 大肠癌靶向治疗方案相继进入临床试验阶段, 有些已显示出较好疗效, 成为继手术、化疗、放疗后的第四种治疗手段。本文就目前大肠癌靶向治疗临床试验进展作一综述。

1 抑制 EGFR 过表达的靶向治疗

表皮生长因子受体(EGFR)在 25%~75% 的大肠癌中过表达。EGF、TGF- α 与 EGFR 胞外域相结合, 引起其二聚化和磷酸化, 通过 Ras/Raf/MEK/ERK 或 PI3K/AKT 信号途径的级联反应, 引起大肠癌细胞的增殖、永生化、血管生成, 导致肿瘤侵袭和转移。目前以 EGFR 为靶点的临床试验药物多是通过竞争性抑制 EGF 及其配体所诱导的 PTK(蛋白酪氨酸激酶)系统的活化, 抑制大肠癌细胞的增殖和转移。

靶向抑制 EGFR 的单抗是大肠癌临床试验中最有治疗前景的药物之一。其中, 最受重视的是人鼠嵌合单抗 C225 (Cetuximab/Erbix /IMC-225)。尽管临床应用 C225 产生少数不良反应, 但由于其在 3 个独立的 II 期临床试验中的显著效果(C225 单药治疗: 11% PR, 35% SD/MR; C225/CPT-11 联合治疗: 18% PR, 31% SD/MR; C225 +/-CPT-11 联合治疗: 18% PR 对 10% PR, 表 1), 美国 FDA 2004 年已批准其上市, 与 CPT-11 联用治疗 CPT-11 化疗难以控制的 EGFR 表达阳性的转移性大肠癌患者, 或单用于不宜接受 CPT-11 化疗的 EGFR 阳性的转移性大肠癌患者^[1-3]。ABX-EGF 是一株高亲和性的、完全人源化的抗 EGFR 单抗, 与 Irinotecan、Oxali-

platin、5-Fluorouracil/Leucovorin 化疗药物联用的具体疗效尚在临床观察之中, II 期临床试验中单药对化疗失败转移性大肠癌患者的治疗结果(10% PR, 36% SD, 表 1)表明其具有良好的应用前景^[2,4]。另一株完全人源化的抗 EGFR 单抗 EMD7200 的 I 期单药治疗初步结果(18% PR, 表 1)更令人鼓舞, 进一步的扩大临床试验正在进行之中^[5]。

靶向抑制 EGFR 表达的小分子化合物类药物的疗效现在还难以定论。两个 EGFR 小分子抑制剂 EKB569 和 OSI-774 (erlotinib) 单药治疗的初期临床试验的结果还不明确, 两者分别与其它化疗药物(如 Irinotecan/5-FU/LV、oxaliplatin/5-FU/LV、capecitabine/oxaliplatin)联用虽然显示出一定的治疗效果(表 1)^[2], 但仍须进一步的临床观察。另一个 EGFR 小分子抑制剂 ZD1839 (iressa) 在 I-II 期临床试验中与 5-FU/LV 联用的疗效(22% RR, 表 1), 及其在 II 期临床试验中与 oxaliplatin/5-FU/LV 联用的疗效(78% RR, 表 1)给患者带来了很大的希望^[6,7]。其它两个 EGFR 小分子抑制化合药 CI-1033 和 GW572016 的初期临床试验结果还未见公布。

2 阻断细胞信号转导通路的靶向治疗

靶向阻断 Ras/Raf 信号通路中突变激活蛋白可抑制肿瘤细胞大量增殖。作为细胞信号转导中 GDP/GTP 的调节开关, 激活的 Ras 蛋白使 Ras-GDP 复合物增加, 引起 RAF-1 激酶被激活。激活 RAF-1 激活 MAPKK, MEK1 和 MEK2, 后者反过来激活 ERK1 和 ERK2, 导致大量转录因子激活。50%

[基金项目] 国家自然科学基金项目(No. 30400246)

[作者简介] 陈亮(1984-), 男, 本科, 主要从事肿瘤的生物治疗方面的研究

[通讯作者] 张思河, Email: chcer8@fmmu.edu.cn

的大肠癌及息肉组织存在 *K-RAS* 基因持续激活。过表达 *K-Ras* 蛋白不但促进细胞增殖,而且上调蛋白水解酶的产生促使血管生成,从而促进大肠癌侵袭和转移。法尼基转移酶抑制剂 R115777 (Tipifarnib) 和 SCH66336 (Lonafarnib) 可特异性干扰 *Ras* 蛋白的法尼基化修饰,体外实验表明可使 *Ras* 基因激活的大肠癌细胞生长受到抑制,且对正常细胞无明显毒性。然而,两者 I 期临床试验单药治疗的结果并不令人满意 (9% SD 或 MR, 表 2), R115777 在大规模 III 期临床试验中对转移性大肠癌患者的单药疗效与安慰剂并无显著差异 (OS

均为 6 个月左右,表 2)^[2,8]。R115777 与 5-FU/LV、CPT-11、Capecitabine 联合治疗大肠癌的 I 期临床试验还在进行之中,法尼基转移酶抑制剂对化疗药物是否有增效作用还值得进一步期待。最近发现 BAY 43-9006 不仅是 *Raf* 激酶的抑制剂,还可抑制 VEGFR-2、Flt3、*c-Kit* 激酶活性。体外实验证明 BAY 43-9006 可抑制大肠癌细胞的增殖和 BRAF 激活突变细胞中 ERK 的磷酸化。BAY 43-9006 单药治疗大肠癌在 I 期临床试验中表现出一定的疗效 (21% SD, 2% MR, 表 2), 其与 oxaliplatin 联合治疗的疗效还在观察之中^[9]。

表 1 靶向 EGFR 治疗大肠癌的临床试验

| 药物名称与用药方案 | 大肠癌病例 | 试验阶段 | 治疗效果 | 不良反应 |
|--|-------------------------------|----------|---------------------|--------------------|
| 单药治疗 | | | | |
| C225 | 57 例 CPT-11 难控的 RGFR 阳性患者 | II 期 | 6 例 PR, 20 例 SD/MR | 皮疹、乏力 |
| ABX-EGF | 148 例化疗失败患者 | II 期 | 10% PR, 36% SD | 皮疹、疲乏、贫血 |
| ABX-EGF | 7 例患者 | I 期 | 1 例 SD 4 个月 | 皮疹 |
| EMD7200 | 11 例 RGFR 阳性患者 | I 期 | 2 例 PR | 皮疹 |
| EKB569 | 12 例患者 | I 期 | 病例数不详 | 皮疹、腹泻 |
| OSI-774 | 9 例患者 | I 期 | 1 例 MR, 2 例 SD | 皮疹、腹泻 |
| CI-1033 | 病例数不详 | I 期 | 病例数不详 | 恶心、疲乏、皮疹 |
| GW572016 | 病例数不详 | I 期 | 病例数不详 | 腹泻 |
| 联合用药治疗 | | | | |
| C225/CPT-11 | 120 例 RGFR 阳性患者 | II 期 | 21 例 PR, 37 例 SD/MR | 皮疹 |
| C225/CPT-11/5-FU/LV | 25 例 RGFR 阳性患者 | II 期 | 11 例 PR, 5 例 MR | 皮疹、白细胞减少、腹泻 |
| C225/CPT-11/5-FU/LV | 13 例 RGFR 阳性患者 | II 期 | 4 例 PR, 1 例 SD | 皮疹 |
| ZD1839/5-FU/LV | 23 例患者 | I - II 期 | 1 例 CR, 4 例 PR | 白细胞减少、腹泻 |
| ZD1839/Oxaliplatin/5-FU/ LV (FOLFOX4) | 27 例无治疗史, 22 例 有治疗史患者 | II 期 | 21 例 PR, 8 例 PR | 腹泻、恶心、皮肤过敏 |
| EKB569//Irinotecan/ 5-FU/LV (FOLFIRI) | 19 例患者 | II 期 | 病例数不详 | 疲乏、腹泻 |
| EKB569/Oxaliplatin/ 5-FU/LV (FOLFOX4) | 29 例患者 | II a 期 | 4 例 PR, 6 例 SD | 腹泻、恶心、皮肤过敏 |
| C225/Irinotecan/5-FU/LV (FOLFIRI) | 28 例 RGFR 阳性患者 | II 期 | 19 例 PR, 6 例 SD | 皮疹、白细胞减少、过敏、 腹泻 |
| C225/Oxaliplatin/5-FU/LV (FOLFOX4) | 43 例患者 | II 期 | 30 例 PR, 11 例 SD | 腹泻 |
| C225 +/-CPT-11 | 329 例 CPT-11 难控的 RGFR 阳性患者 | II 期 | 59 例 PR, 33 例 SD | 气短气促、腹泻 |
| OSI-774/Capecitabine/ Oxaliplatin | 23 例患者 | I B 期 | 5 例 PR, 14 例 SD | 腹泻、皮疹 |

注: CR: 完全缓解; PR: 部分缓解; MR: 好转; SD: 稳定; RR: 有效率; MST: 中位生存期; OS: 总生存期

表 2 靶向信号转导分子治疗大肠癌的临床试验

| 药物名称与用药方案 | 大肠癌病例 | 试验阶段 | 治疗效果 | 不良反应 |
|-------------------------|-------------------|------|-------------------------------|--------------|
| 靶向细胞增殖信号 | | | | |
| 单药治疗 | | | | |
| R115777 | 11 例患者 | I 期 | 1 例 SD | 恶心、乏力 |
| R115777 | 11 例患者 | I 期 | 1 例好转 | 恶心、乏力 |
| R115777/SCH66366 | 22 例患者 | I 期 | 2 例 SD | 血细胞减少、乏力 |
| R115777 | 368 例复发患者 | Ⅲ期 | OS 治疗组 5.7 个月, 安慰剂组 6.1 个月 | 不详 |
| BAY 43-9006 | 74 例患者 | I 期 | 4 例 MR, 38 例 SD | 腹泻、皮疹、恶心、高血压 |
| 联合用药治疗 | | | | |
| R115777/5-FU/LV | 5 例患者 | I 期 | 病例数不详 | 血细胞减少、乏力 |
| R115777/5-FU/LV | 18 例患者 | I 期 | 病例数不详 | 白细胞减少、乏力 |
| R115777/CPT-11 | 23 例患者 | I 期 | 病例数不详 | 恶心、血细胞减少 |
| BAY 43-9006 oxaliplatin | 5 例患者 | I 期 | 病例数不详 | 腹泻、感觉性神经病、乏力 |
| 靶向细胞周期信号 | | | | |
| 单药治疗 | | | | |
| UCN-01(72 h 灌输) | 4 例患者 | I 期 | 病例数不详 | 轻度肺病变、恶心 |
| Flavopiridol | 13 例患者 | I 期 | 1 例 SD(11 个月) | 血细胞减少、高血糖、腹泻 |
| UCN-01(1-3 h 灌输) | 5 例患者 | I 期 | 病例数不详 | 血压过低、恶心、乏力 |
| Flavopiridol | 6 例患者 | I 期 | 病例数不详 | 腹痛、偶见结肠溃疡 |
| Flavopiridol | 14 例患者 | Ⅱ期 | 0 例 CR/PR | 腹泻、呕吐、厌食、疲乏 |
| 联合用药治疗 | | | | |
| Flavopiridol/5-FU/LV | 11 例患者 | I 期 | 1 例 PR, 3 例 SD | 腹泻 |
| Flavopiridol/CPT-11 | 25 例 CPT-11 难控的患者 | I 期 | 1 例 PR | 白细胞减少、腹泻 |

靶向阻断细胞周期调控蛋白可抑制肿瘤细胞大量增殖。Cyclin, CDK, pRb, E2F 转录因子家族分子等均不同程度参与调控细胞周期, 促使细胞越过 G₁ 期的 Cyclin D1 蛋白, 在三分之一的大肠癌患者中的表达明显上调。由于 CDK2 表达上调同时 p21 和 p27 表达下调, 使大肠癌组织中 Cyclin E 和 CDK2 复合物的激酶活性显著增加。Cyclin B1 和 CDK1 复合物作为细胞有丝分裂的关键起始因子^[10], 在 57% ~ 88% 的大肠癌组织中过表达。Flavopiridol 是细胞中 CDK1、2、4 的抑制剂, 可使细胞周期停滞在 G₁ 和 G₂ 期。Flavopiridol I 期临床试验单药治疗的结果对大肠癌患者并无疗效(表 2), 但其与 5-FU/LV、CPT-11 联合治疗化疗失败患者的结果(4% ~

9% PR, 表 2) 却让人重拾信心^[11-13]。UCN-01 不仅可以直接阻断 CDK1、2 活性, 还可间接上调 p21 和 p27 的表达水平, 引发大肠癌细胞周期停滞, 但 UCN-01 I 期临床试验单药治疗的疗效却让人失望^[14]。其它针对大肠癌细胞周期调控蛋白的小分子抑制剂目前还处在临床前阶段。

3 抑制肿瘤血管生成的靶向治疗

癌细胞在转移灶处形成肿瘤, 很大程度上依赖于新生血管的形成。因此, 血管生成促进因子和抑制因子成为抗肿瘤血管生成的重要靶点。VEGF 和 VEGFR 结合信号的过度活化导致血管内皮细胞持续增殖、新生血管形成, 从而促进肿

瘤增生和转移。无论是血清分析,还是组化检测,VEGF在62%的黏液型、100%浸润型大肠癌组织中均高表达。过表达的VEGFR-3常常与大肠癌患者的预后紧密相关。Bevacizumab是FDA 2004年批准的抗VEGF人源化单抗,其与化疗药物联用作为治疗转移性大肠癌的一线药物。Beverizumab单药治疗并无明显疗效,而联用5-FU/LV、IFL对于晚期转移性结肠癌患者的生存期有明显的改善作用(Ⅱ期临床试验:24%~40% RR;Ⅲ期临床试验:45% RR,20.3个月OS,表3)^[2,15-16]。另外,Bevacizumab与FOLFOX4和XE2LOX等联合用于其他化疗方案的大肠癌初期临床试验也在进行之中。

许多抑制VEGF或VEGFR的小分子化合物类药物也都先后进入了大肠癌临床试验阶段。VEGFR抑制剂PTK/ZK(PTK 787/ZK 222584)单药治疗大肠癌疗效一般,但其与化疗药物联合治疗的Ⅰ~Ⅱ期临床结果却让人振奋(联用

FOLFIRI:33% PR,42% SD;联用FOLFOX:4CR,50% PR,32% SD,表3)^[2,17]。Thalidomide是一个作用机制不甚明确的小分子抑制剂,有证据表明其通过干扰VEGF、bFGF和TNF- α 信号途径抑制肿瘤血管生成。Ⅱ期临床试验的结果表明,Thalidomide联用CPT-11治疗大肠癌的疗效一般(23% RR),但中位生存期比对照组显著延长(16个月,表3)^[18]。其它两个抑制VEGFR的小分子化合物类药物SU5416和SU11248也正处于临床试验观察中。SU5416是作用于VEGFR的酪氨酸激酶系统,动物实验显示SU5416能抑制大肠癌转移、微血管形成和细胞增殖。临床Ⅰ/Ⅱ期试验显示SU5416对大肠癌有较好疗效,但在Ⅲ期临床试验中SU5416联合IFL治疗的结果却差强人意^[19]。SU11248在Ⅰ期临床试验中也显示出较好的应用前景^[20],由于对肿瘤血管信号转导PTK系统的多条通路均有阻断作用,其Ⅱ期临床试验疗效结果值得期待。

表3 靶向血管生成相关因子治疗大肠癌的临床试验

| 药剂名称与用药方案 | 大肠癌病例 | 试验阶段 | 治疗效果 | 不良反应 |
|-------------------------|----------------|------|--|----------------|
| 靶向 VEGF 和 VEGFR | | | | |
| Bevacizumab + IFL | 813 例患者 | Ⅲ期 | 治疗组:45% RR,20.3个月 OS;对照组(IFL+安慰剂):35% RR,15.6个月 OS | 血栓症、高血压 |
| Bevacizumab + 5-FU/LV | 104 例患者 | Ⅱ期 | 高剂量治疗组:40% RR;低剂量治疗组:24% RR;对照组(5-FU/LV):17% RR | 血栓症、鼻出血 |
| PTK/ZK + FOLFIRI | 16 例患者 | Ⅰ期 | 33% PR,42% SD | 疲乏、高血压 |
| PTK/ZK | 23 例患者 | Ⅰ期 | 52% SD,MST 4.3 个月 | 高血压、共济失调、头昏 |
| PTK/ZK/FOLFOX4 | 35 例患者 | Ⅰ/Ⅱ期 | 4% CR,50% PR,32% SD | 头昏、白细胞减少 |
| Angiozyme + IFL | 83 例患者 | Ⅱ期 | 41% RR | 血栓症 |
| 其它靶向血管生成治疗 | | | | |
| Thalidomide + CPT-11 | 30 例 5-FU 难控患者 | Ⅱ期 | 3 例 CR,4 例 PR,11 例 SD, MST 16 个月 | 不详 |
| NM-3 | 18 例患者 | Ⅰ期 | 6 例 SD | 不详 |
| ABT-510 | 36 例患者 | Ⅰ期 | 14 例 SD,1 例 PR | 恶心、气促、骨疼 |
| Tetrathiomolydate | 18 例患者 | Ⅰ期 | 6 例 SD | 轻度贫血 |
| Tetrathiomolydate + IFL | 16 例患者 | Ⅰ期 | 2 例 PR,7 例 SD | 腹泻、血栓症、呕吐、排尿困难 |

4 其它分子靶向治疗

MMPs(基质金属蛋白酶)不但在许多肿瘤细胞上过表达,而且在肿瘤周围组织激活的间质细胞上也大量表达。MMPs家族分子功能复杂,既能降解细胞外基质促进癌细胞侵袭和转移,又可以抑制癌细胞凋亡、促进新生血管生成。

临床试验表明,MMPs的抑制剂(如marimastat、prinostat和tanomastat)对许多恶性肿瘤并无疗效,这些抑制剂也未能改善大肠癌患者的生存状态,仅表现为CEA水平的下降^[21-22]。MMPs抑制剂临床治疗失败的教训提示人们,也许需要对大肠癌中过表达的MMP-1、2、7和9进行单独靶向抑制,才能确定每一种MMP在大肠癌病情进展中的具体功能。然而,

MMPs 家族分子之间结构与功能上的交叉特异性,使得问题复杂化。也许制备针对每一种 MMP 分子特异性单抗药物比现在“广谱”的 MMPs 小分子抑制剂更值得期待。

COX-2(环氧化酶-2)是前列腺素合成过程中一个重要的限速酶,可以将花生四烯酸代谢成各种前列腺素产物。大肠癌组织常见有前列腺素 E 2 和 COX-2 的表达增高。COX-2 的过表达影响体内抗肿瘤免疫抑制效应、细胞丝裂原信号、凋亡及转移潜能。尽管临床使用 COX-2 抑制剂对心血管的危险还存在很大的争论,FDA 还是批准了 Celecoxib 作为选择性 COX-2 抑制剂,用以治疗家族腺瘤息肉肉患者^[2]。现有数个 III 期临床试验正在观察 Celecoxib 对大肠癌发生的化学预防疗效。Celecoxib 与 IFL/IFL/glutamine 联合治疗大肠癌的 II 期临床试验疗效较好(前者 28% PR,56% SD;后者 42% PR/CR,29% SD)^[23]。另一个 COX-2 抑制剂 Rofecoxib 与 CPT-11/5-FU 联用的 II 期临床结果也取得了不错的疗效(35% PR,53% SD)^[24]。

mTOR(雷帕霉素靶)激酶抑制剂 CCI-779、RAD-001、AP23573 和泛素-蛋白酶抑制剂 bortezomib 是另外两类比较有潜力的小分子靶向肿瘤药物,它们在荷大肠癌小鼠模型和其它肿瘤临床试验中均表现出较好疗效^[25]。目前,两者与其它化疗药物的联合治疗大肠癌方案正在进入临床试验阶段。另外,负责肿瘤关键蛋白(如细胞增殖、凋亡)折叠、转运功能的分子伴侣 HSP-90 近来也成为新的大肠癌治疗分子靶标^[26]。HSP-90 的小分子抑制剂 17-AAG 单药治疗,及其与双氟脱氧胞苷、顺铂、紫杉醇等其它化疗药物联合治疗的 I 期临床试验正在进行。

5 结语

大肠癌临床靶向治疗药物主要有单抗和小分子化合物。前者通过和肿瘤细胞、血管表面的受体或抗原结合抑制其下游信号转导发挥作用,后者由于分子量小、可以直接进入肿瘤细胞阻断信号通路上各种酶的活化而发挥抗肿瘤作用。与传统化疗药物相比,大肠癌靶向药物多为特异性抑制剂,常需要和化疗药物联合应用。如何选择合适适应证患者、如何设计最佳的联合用药方案、如何降低药物不良反应及耐药现象仍是目前亟待解决的问题。另外,从目前大肠癌临床靶向治疗成功的方案来看,多靶点联合阻断肿瘤血管生成或肿瘤细胞表面信号转导通路将是今后主要的发展方向。

[参考文献]

[1] Nygren P, Sorbye H, Osterlund P, *et al.* Targeted drugs in metastatic colorectal cancer with special emphasis on guidelines for the use of bevacizumab and cetuximab: An acta oncologica expert report [J]. *Acta Oncol*, 2005, 44(3): 203-217.

[2] <http://www.fda.gov/cder/cancer/druglistframe.htm>

[3] Chua YJ, Cunningham D. Recent data with anti-epidermal growth factor receptor antibodies and irinotecan in colon cancer [J]. *Clin Colorectal Cancer*, 2005, Suppl 2: S81-88.

[4] Tyagi P. Recent results and ongoing trials with panitumumab

(ABX-EGF), a fully human anti-epidermal growth factor receptor antibody, in metastatic colorectal cancer [J]. *Clin Colorectal Cancer*, 2005, 5(1): 21-23.

- [5] Vanhoef U, Tewes M, Rojo F, *et al.* Phase I study of the humanized anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody EMD72000 in patients with advanced solid tumors that express the epidermal growth factor receptor [J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22(1): 175-184.
- [6] Hammond L, Figueroa J, Schwartzberg L, *et al.* Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor (EGFR-TKI), ZD1839 (Iressa), in combination with 5-fluorouracil (5-FU) and leucovorin (LV), in advanced colorectal cancer (ACRC) [J]. *Eur J Cancer*, 2001, 37(Suppl 6):S18-19.
- [7] Fisher GA, Kuo T, Cho CD, *et al.* A phase II study of gefitinib in combination with FOLFOX-4 (IFOX) in patients with metastatic colorectal cancer [J]. *Program/Proc Am Soc Clin Oncol*, 2004, 22(14S): 248s.
- [8] Cunningham D, Gramont A, Scheithauer W, *et al.* Randomized double-blind placebo-controlled trial of the farnesyltransferase inhibitor R115777 (Zarnestra) in advanced refractory colorectal cancer [J]. *Program/Proc Am Soc Clin Oncol*, 2002, 21: 126a.
- [9] Kupsch P, Passarge K, Richly H, *et al.* Results of a phase I trial of BAY 43-9006 in combination with oxaliplatin in patients with refractory solid tumors [J]. *Program/Proc Am Soc Clin Oncol*, 2004, 22(14S): 209s.
- [10] Jackman M, Lindon C, Nigg EA, *et al.* Active cyclin B1-Cdk1 first appears on centrosomes in prophase [J]. *Nat Cell Biol*, 2003, 5(2): 143-148.
- [11] Sasaki Y, Sasaki T, Minami H, *et al.* A phase I pharmacokinetic (PK)-pharmacodynamic (PD) study of flavopiridol by 24 hours continuous infusion (CI) repeating every week [J]. *Program/Proc Am Soc Clin Oncol*, 2002, 21: 93a.
- [12] Bible KC, Lensing JL, Nelson SA, *et al.* A phase I trial of flavopiridol combined with 5-fluorouracil (5-FU) and leucovorin (CF) in patients with advanced malignancies [J]. *Program/Proc Am Soc Clin Oncol*, 2003, 22: 218.
- [13] Shah MA, Kortmansky J, Gonen M, *et al.* Mature results of a phase I study of irinotecan (CPT) and flavopiridol (F): a clinically and biologically active regimen [J]. *Program/Proc Am Soc Clin Oncol*, 2003, 22:262.
- [14] Sausville EA, Arbus SG, Messmann R, *et al.* Phase I trial of 72-hour continuous infusion UCN-01 in patients with refractory neoplasms [J]. *J Clin Oncol*, 2001, 19(8): 2319-2333.
- [15] Goffin JR, Talavera JR. Overstated conclusions of a pooled analysis of bevacizumab in colon cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(3): 528-529.
- [16] Nygren P, Sorbye H, Osterlund P, *et al.* Targeted drugs in metastatic colorectal cancer with special emphasis on guidelines for the use of bevacizumab and cetuximab: An acta oncologica expert report [J]. *Acta Oncol*, 2005, 44(3): 203-217.
- [17] Steward WP, Thomas A, Morgan B, *et al.* Expanded phase I/II

[文章编号] 1007-385X(2006)03-0235-04

肝脏树突状细胞与肝细胞癌

Hepatic dendritic cells and hepatocellular carcinoma

居旻杰 综述; 邱双健, 黄晓武 审阅 (复旦大学附属中山医院 肝癌研究所, 上海 200032)

[摘要] 近年来随着对肝脏 DC 免疫生物学研究的不断深入, 人们更深入地了解了肝脏 DC 的免疫学特性及其与肝脏疾病尤其是肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的关系, 并据此设计有针对性的治疗策略。在肝脏微环境的作用下, 肝脏 DC 处于非成熟状态, 具有数量相对不足、显著的异质性、抗原摄取能力及 T 细胞活化能力低下等特点, 它可表达特殊的 CC 和 CCR。上述因素使肝脏 DC 在肝脏免疫调节中起重要作用, 主要体现在大量肝脏非成熟 DC 无法活化 T 细胞, 尤其在肝细胞癌的状态下, 非成熟肝脏 DC 进一步增加, 伴随着免疫活化因子 IL-12 分泌的减少, 不利于机体抗肿瘤免疫的产生, 而肝细胞癌自身可通过 AFP、IL-10、IL-8 及 HBV/HCV 的作用抑制肝脏 DC。但也有观点认为, 肝脏 DC 为成熟状态, 可通过调节 T 细胞活化的途径最终引起肝脏免疫耐受的产生。

[关键词] 肝脏树突状细胞; 肝细胞癌; 免疫调节

[中图分类号] R392.24 [文献标识码] A

肝脏作为免疫特惠器官具有独特的免疫系统, 参与机体的免疫调节。肝癌的局部免疫微环境在肝癌的转移复发中发挥了重要作用。DC 是目前已知最强的专职抗原提呈细胞, 其功能状态决定了免疫反应的最终走向。因此, 肝脏 DC 的功能决定了肝脏局部免疫反应走向。对于肝脏 DC 的认识仍较少。目前认为, 鼠肝脏 DC 散在于鼠肝脏的门脉周围及肝小叶实质中, 高表达 CD1a 抗原, 缺乏吞噬活性、胞质溶酶体和非特异性酯酶染色为阴性, 表面有 FcR 表达等^[1]。人肝脏 DC 则多数为 CD1a 阴性^[2], 表达 MHC II 类抗原强于库普弗细胞, 具有较强的体外增殖和向次级淋巴组织定向迁移能力, 但刺激初始型同种异体 T 细胞增殖和分化能力较弱^[1]。为了更好地研究肝脏 DC, 本文就肝脏微环境对肝脏 DC 的影响、肝脏 DC 的特性、肝脏 DC 与趋化因子、肝脏 DC 的免疫调节功能及肝脏 DC 与肝细胞癌的关系作一综述。

1 肝脏微环境对肝脏 DC 的影响

将肝脏 DC 置于肝脏来源的可溶性组织因子中培育, DC 的 T 细胞活化能力和成熟度都明显降低, 且这种现象与 DC 的凋亡无关。研究提示这与 DC 成熟度降低有关, 原因为新分离的肝脏 DC 主要是不成熟 DC^[3], 它们表达 MHC 分子, 但几乎不表达共刺激分子(包括 CD40、CD80、CD86、MHCII 等), 由此说明肝脏局部微环境中存在抑制 DC 成熟和功能的诸多因素。研究证实^[3,4]库普弗细胞和肝血窦内皮细胞能表达抗炎细胞因子 IL-10 和 TGF- β ; 肝细胞在自分泌和旁分泌的 TGF- β 作用下也分泌 IL-10; 肝脏的储脂细胞包括星形细胞在应激状态下也能分泌大量 TGF- β 。最近 Lee 等^[5]研究发现: 肝星形细胞也能通过分泌免疫抑制性细胞因子 IL-10 抑制骨髓 DC 表达共刺激分子和同种异体 T 细胞活化的能力。上述细胞因子所构成的微环境, 不仅使 DC 诱导 Th0 向 Th2 方向分化, 而且通过抑制肝 DC 和其它抗原提呈细胞的成熟及其 T 细胞刺激能力, 从而使它们具有致耐受性。

2 肝脏 DC 的特性

2.1 相对数量不足

就绝对数量而言, 肝脏的 DC 含量数倍于其他实质性脏器, 如脾脏; 但就 DC 密度而言, 肝脏则是实质性器官中最低的。就各型 DC 的比例而言, 髓系和淋巴系 DC 在肝脏 DC 中所占的比例较在其他器官中所占的比例低, 均只占肝脏非实质细胞的 1% 左右^[3]。因此, 虽然肝脏 DC 的绝对数量不低, 但其相对数量较少, 尤其髓系或淋巴系 DC 的数量更少, 这不利于免疫应答的产生。

2.2 膜受体缺陷

已知 TLRs[IL-1 receptor (IL-1R)/Toll-like receptor]-脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)是 DC 活化的重要传导通道, 但 De 等^[6]发现肝脏 DC 的 TLR4 mRNA 的表达较脾脏 DC 低, 因此即使肝脏 DC 能接触大量消化道来源的外源性 LPS, 仍不能被充分活化。在体内实验中, 由 LPS 激活的肝脏 DC 在功能上也不如脾脏 DC, 由其激活的 Th0 更易引起 Th2 反应。所以, TLR4 mRNA 的低表达和功能缺陷可能是限制肝脏 DC 功能的原因之一。

2.3 摄取抗原能力不强

一般而言, 外周 DC 的抗原摄取能力随其成熟度的提高而下降。但研究显示, 虽然脾脏 DC 较肝脏 DC 成熟, 但肝脏 DC 通过胞饮摄取抗原的能力仍较脾脏 DC 弱^[7]。缺少了足够的抗原刺激, DC 的 T 细胞活化功能将受到抑制。

2.4 T 细胞活化能力弱

进一步的研究提示^[7], 肝脏 DC 活化同种异体 T 细胞的能力是脾脏 DC 的 1/3, 且易于激活 Th2; 而在混合淋巴细胞反应中, 脾脏 DC 能产生更多的 IFN- α 和 IL-2, 使更多的 T 细

[作者简介] 居旻杰 (1980-), 男, 上海嘉定人, 硕士生, 主要从事肝肿瘤外科及相关免疫学方面的研究

[通讯作者] 邱双健, E-mail: qiusj68@zshospital.com

胞向 Th1 活化。

2.5 高度异质性

肝脏 DC 与外周血 DC 有不同的显著异质性。肝脏 DC 主要为 CD11c⁺, 占肝脏 DC 的 95% 左右^[8], 多表现为 CD1a⁻, 而外周 DC 多为 CD1a⁺^[2]。近期研究表明^[7] 肝脏 CD11c⁺ DC 可进一步分成 CD8 α ⁺ CD11b⁻ (约 11%)、CD8 α ^{low/-} CD11b^{low/-} (约 28%)、CD8 α ⁻ CD11b⁺ (约 11%)、CD8 α ⁻ CD11b⁻ (约 35%) 4 种, 而脾脏中存在两种主要的 DC 即 CD8 α ⁺ CD11b⁺ (约 63%) 和 CD8 α ⁺ CD11b^{low/-} (约 20%); 肝脏 CD8 α ⁺ CD11b⁻ 和 CD8 α ⁻ CD11b⁺ DC 激活 T 细胞的程度和脾脏 DC 相同, 但其数量仅占 20% 左右; 余下两种占主要地位的肝脏 DC 激活 T 细胞的能力则较弱, 故总体上肝脏 DC 的 T 细胞活化能力较弱。肝脏 CD8 α ⁺ DC 能表达 FasL, 诱导 T 细胞凋亡并抑制 CD8⁺ T 细胞分泌 IL-2。肝脏 DC 中, 有大约 25% 是类浆细胞 DC (plasmacytoid DC, pDC), 而脾脏 pDC 仅占 5% 左右, 肝脏 pDC 多是非成熟 DC^[7-8], 并能促进 CD4⁺ T 细胞无能^[7]。肝脏 pDC 的抗病毒免疫作用也弱于脾脏或外周 pDC, 因为在相同 CpG 和 GM-CSF 作用下, 肝脏 pDC 分泌的 IFN- α 明显少于脾脏 DC 分泌的 IFN- α ^[7]。另一种存在于肝脏特殊的 DC 是 DEC205⁺ B220⁺ CD19⁻ DC, 它们具有 DC 的形态和标志 (DEC205), 也有 B 细胞标志 B220, 但缺乏 B 细胞抗原 CD19; 在活化 T 细胞的同时诱导 T 细胞凋亡; 这些 DC 活化的 T 细胞倾向于 T_{reg} I 型细胞, 高分泌 IL-10, 不分泌 IL-4、IL-2, 而已知 T_{reg} I 在免疫耐受的建立和维持中起一定作用。

2.6 肝脏 DC 的转运

库普弗细胞可以通过细胞因子和 N-乙酰半乳糖胺介导肝脏 DC 的转运, 这有利于 DC 快速转运及肝脏和全身免疫反应的建立。而在缺乏库普弗细胞的小鼠体内, DC 既不能在肝内富集, 也不能黏附于肝血窦内皮, 无法建立有效的免疫应答。肝脏 DC 也能依赖于骨髓微血管表达的血管细胞黏附分子 1 和内皮选择蛋白回巢入骨髓^[9], 激活骨髓内记忆 T 细胞的回忆应答。故对于调节全身免疫反应, 肝脏 DC 可能也有一定作用, 尚待进一步研究。

3 肝脏 DC 与趋化因子

DC 表达的趋化因子及其受体对于 DC 的运输、定位、富集及移行, 和建立良好免疫反应是不可缺少的。目前研究多集中于肝脏 DC 的 CC 细胞因子受体 (CC chemokines receptor, CCR) 和 CC 细胞因子。肝脏 DC 的 CC 和 CCR 有其特殊之处。首先, 肝脏 DC 虽然表达 CCR2 和 CCR5 mRNA, 但不炎症及次级淋巴组织相关的 CC 细胞因子 (CCL3、CCL5、CCL20 及 CCL19、CCL21) 产生应答, 而骨髓 DC 能在 CCL5 作用下迁移^[10]。因此, 在炎症等病理状态下肝脏 DC 向次级淋巴组织富集的能力较弱, 不利于免疫防御反应的建立。其次, CCR7 mRNA 的表达在肝脏 DC 成熟过程中逐渐增加^[2,10], 并对 CCL19/21 发生反应, CCR2 和 CCR5 mRNA 表达则下降, 因此成熟肝脏 DC 与外周或脾脏 DC 类似, 其向次级淋巴组织的富集可能受 CCR7 - CCL19/21 相互作用的影

响。再次, 肝脏 DC 表达最多的趋化因子是 CCL5; 而 CCL3 则在成熟肝脏 DC 表达增加, 并引起成熟肝脏 DC 的趋向性运动。由于成熟肝脏 DC 数量较少, 故 CCR7 和 CCL3 介导的肝脏 DC 的移行不能满足建立有效免疫防御的要求。最后, Shields 等^[11] 发现 CCR5 能促进 T 细胞在正常或感染肝脏中的富集。这种作用可能是通过 T 细胞表面的 CCR5 与 DC 表面的 CCL3 介导的 DC - T 细胞的相互作用而产生的。肝脏 DC 与同系 T 细胞共同培育或在 LPS 刺激后, 其 CCL3 表达增加, 后在 CCL3 介导下迁移, 且这种迁移作用是剂量依赖性的^[12]。因此, CCL3 和其他的趋化因子对于肝脏 DC 的功能调节和肝脏 DC-T 细胞的相互作用起调节作用。T 细胞使肝脏 DC 的 CCL3 表达增加, 有利于肝脏 DC 的转运; 另一方面, 肝脏 DC 通过增加的 CCL3 和 T 细胞表面的 CCR5 的作用, 促进 T 细胞向肝脏局部的聚集。CCL3 还能吸引外周血中的 DC 前体细胞进入肝血窦, 在感染时形成肉芽肿, 随后 DC 前体细胞在次级淋巴器官趋化因子 (secondary lymphoid organ chemokine, SLC) 作用下进入肝门相关淋巴组织 (portal tract associated lymphoid tissue, PALT) 中并与 T 细胞相互作用。

4 肝脏 DC 的免疫调节功能

肝脏 DC 既具有提呈抗原、激活 T 细胞的功能, 又具有倾向于产生肝脏局部免疫耐受的特性。作为肝内主要的抗原提呈细胞, 肝脏 DC 对于肝脏的免疫调节是十分重要的, 具体表现在以下几个方面: (1) 肝脏有较多不成熟的 DC。未成熟 DC 虽然表达 MHC II 分子, 但由于缺乏 B7 等共刺激分子表达, 不能活化 T 细胞, 反而诱导 T 细胞无能^[3,7]。(2) 肝脏 DC 存在所谓致耐受性 DC (tolerogenic DC, Tol-DC), 肝脏 Tol-DC 通过自分泌 IL-10 等途径^[2,13], 活化 T_{reg} 细胞, 形成了 DC - T_{reg} 细胞反馈抑制环, 下调 DC 表面的 MHC II 分子和共刺激分子。(3) 研究提示^[14] 肝脏淋巴结 MDC 的数量和成熟度与其他组织的淋巴结如腹腔沟淋巴结的 MDC 无明显差异, 因而认为肝脏 MDC 为成熟 DC。它们可能主要通过激活 Th2 反应而引起肝脏免疫耐受。(4) 研究提示 DC 在 LPS 和 IL-10 的共同作用下, CCR7 表达降低, CCR1、CCR2、CCR5 表达增加, 导致趋化因子无法介导其迁移。由于体内肝脏持续的暴露于 LPS, 且局部 IL-10 含量较高, 故这样的微环境不利于趋化因子介导的肝脏 DC 的迁移反应^[10]。

5 肝脏 DC 与肝细胞癌

肝细胞癌 (HCC) 的发生、发展及预后与肝脏 DC 有着密切关系。肝癌加剧了肝脏 DC 的功能缺陷, 肝脏 DC 的功能缺陷又促进了肝癌的进展。

首先, 肝脏 DC 对肝细胞癌 (HCC) 的影响: (1) 正常肝组织中成熟 DC 量很少, 在 HCC 癌旁组织中成熟 DC 数量更低, 在 HCC 癌组织中则没有成熟 DC^[15]。而成熟和有活性的 DC 对于肿瘤特异淋巴细胞的募集是必须的, 所以肝癌组织无法募集足够的肿瘤特异淋巴细胞, 不能产生有效的抗肿瘤

反应。(2)HCC 患者肝脏及外周非成熟 DC 数量增加,尤其在癌组织中,共刺激分子和 HLA-I 的表达明显降低,且非成熟 DC 数量与肿瘤分化程度成负相关^[16]。但非成熟 DC 作为抗原提呈型 DC,其数量的增加是否可以更好地摄取处理肿瘤抗原是一个有待证实的课题。(3)肝癌患者 DC 的 IL-12 分泌减少。IL-12 可以通过 NK 或 NKT 细胞产生抗肿瘤作用。IL-12 的减少,将引起这些细胞功能缺陷。(4)肝癌结节中 DC 浸润多者记忆 T 细胞数目多,无瘤生存率高,提示 DC 是肝癌患者的一个重要预后指标^[17]。

其次,HCC 对肝脏 DC 也存在明显的抑制作用。正常时能诱导 DC 成熟的各种刺激不能使肝癌患者肝脏 DC 成熟,且 DC 与肝癌细胞株共同培育后,其共刺激分子的表达、活化 T 细胞的能力都显著下降^[18]。这些说明肝癌患者体内存在影响肝脏 DC 的因素:(1)AFP: AFP 能下调 DC 表达 CD40、CD86,降低同种异体 T 细胞活化能力。同时能显著增加 DC 的凋亡,降低 DC 分泌 IL-12 和 TNF- α ,使 HCC 逃避免疫监视^[19]。AFP 对 DC 作用是浓度依赖性的,只有达到一定剂量才能影响 DC 的功能。(2)IL-8: HCC 肿瘤细胞能大量分泌 IL-8,IL-8 不仅与肿瘤血管新生和转移有关,还可以通过与其配体 CXCR1、CXCR2 的相互作用,使 DC 局限在肿瘤组织中,限制了 DC 向次级淋巴组织的迁移,造成免疫逃逸^[20]。(3)IL-10:IL-10 作为抑制性细胞因子,已经证实能抑制宿主的抗肿瘤免疫功能。HCC 患者全身及局部 IL-10 含量明显增加,且肝癌细胞主要通过分泌 IL-10 来抑制 DC 的成熟和 T 细胞活化功能^[18],更使被抑制的 DC 所活化的 T 细胞倾向于分泌 Th2 细胞因子 IL-10,而 Th1 细胞因子 IFN- γ 分泌则减少,最终破坏了宿主的抗肿瘤免疫机能。(4)HBV/HCV 背景:大多数 HCC 患者都有 HBV/HCV 感染背景,所以 HBV/HCV 感染患者中的抑制 DC 的机制在 HCC 患者中同样存在,而且可能随着病情的加重而加重。Wang 等^[21]发现乙肝患者 DC 的功能低下及表型不成熟,主要表现为分泌 IL-12 和抗原提呈能力下降、DC 数量明显减少和 HLA-DR、CD80、CD86 表达降低。Hasebe^[8]等发现 HBV 转基因小鼠肝脏 DC 无论在特异性 T 细胞活化能力还是在细胞因子 IL-12p70、TNF- α 、IFN- γ 、IL-6 分泌能力上都弱于正常肝脏 DC。活动性 HCV 患者外周 DC 数量也显著减少、功能低下。最近 Jinushi 等^[22]研究发现,在丙型肝炎感染时,NK 细胞活化 DC 的能力下降。这与 HCV - NK 高表达 CD94/NKG2A 有关,CD94/NKG2A 与其配体 HLA-E 相互作用后,使 NK 分泌大量 IL-10 和 TGF- β ,导致 DC 不能充分活化。

总之,肝脏 DC 有着不同于外周 DC 的众多特点,与肝脏微环境关系紧密,并通过各种途径影响肝癌的发生、发展和预后。针对肝脏 DC 的研究,为我们提供了治疗肝脏疾病尤其是肝癌的新思路。目前已有多种以 DC 为基础的肿瘤疫苗问世,通过药物增加内源性肝脏 DC 的数量,提高其活性的研究也在进行中。相信通过进一步的研

究,以肝脏 DC 为基础的治疗方案一定能为攻克肝脏疾病尤其是肝癌提供帮助。

[参考文献]

- [1] 卿德科,杨永胜,李亚兰. 肝脏树突状细胞的研究近况[J]. 免疫学杂志,2001,17(3): 122-124.
- [2] Goddard S, Youster J, Morgan E, *et al.* Interleukin-10 secretion differentiates dendritic cells from human liver and skin[J]. *Am J Pathol*, 2004, 164(2): 511-519.
- [3] O'Connell PJ, Morelli AE, Logar AJ, *et al.* Phenotypic and functional characterization of mouse hepatic CD8 α^+ lymphoid-related dendritic cells[J]. *J Immunol*, 2000, 165(2): 795-803.
- [4] Thomson A W, Lu L. Are dendritic cells the key to liver transplant tolerance[J]? *Immunol Today*, 1999, 20(1): 27-32.
- [5] Lee WC, Yu MC, Chiang YJ, *et al.* Liver stellate cells suppress dendritic cells through IL-10[J]. *Transplant Proc*, 2005, 37(1): 10-11.
- [6] De Creus A, Abe M, Lau AH, *et al.* Low TLR4 expression by liver dendritic cells correlates with reduced capacity to activate allogeneic T cells in response to endotoxin[J]. *J Immunol*, 2005, 174(4): 2037-2045.
- [7] Pillarisetty VG, Shah AB, Miller G, *et al.* Liver dendritic cells are less immunogenic than spleen dendritic cells because of differences in subtype composition[J]. *J Immunol*, 2004, 172(2): 1009-1017.
- [8] Hasebe A, Akbar SM, Furukwa S, *et al.* Impaired functional capacities of liver dendritic cells from murine hepatitis B virus (HBV) carriers: Relevance to low HBV-specific immune responses[J]. *Clin Exp Immunol*, 2005, 139(1): 35-42.
- [9] Cavanagh LL, Bonasio R, Mazo IB, *et al.* Activation of bone marrow-resident memory T cells by circulating, antigen-bearing dendritic cells[J]. *Nature Immunol*, 2005, 6(10): 1029-1037.
- [10] Abe M, Zahorchak AF, Colvin BL, *et al.* Migratory responses of murine hepatic myeloid, lymphoid-related, and plasmacytoid dendritic cells to CC chemokines[J]. *Transplantation*, 2004, 78(5): 762-765.
- [11] Shields PL, Morland CM, Salmon M, *et al.* Chemokine and chemokine receptor interactions provide a mechanism for selective T cell recruitment to specific liver compartments within hepatitis C-infected liver[J]. *J Immunol*, 1999, 163(11): 6236-6243.
- [12] Drakes ML, Zahorchak AF, Takayama T, *et al.* Chemokine and chemokine receptor expression by liver-derived dendritic cells: MIP-1 α production is induced by bacterial lipopolysaccharide and interaction with allogeneic T cells[J]. *Transplant Immunol*, 2000, 8(1): 17-29.
- [13] Min WP, Zhou D, Ichim TE, *et al.* Inhibitory feedback loop between tolerogenic dendritic cells and regulatory T cells in transplant tolerance[J]. *J Immunol*, 2003, 170(3): 1304-1312.
- [14] Kwekkeboom J, Boor PP, Sen E, *et al.* Human liver myeloid dendritic cells mature *in vivo* into effector DC with a poor allogeneic T-cell stimulatory capacity[J]. *Transplant Proc*, 2005, 37(1): 15-16.

[15] Chen S, Akbar SM, Tanimoto K, *et al.* Absence of CD83-positive mature and activated dendritic cells at cancer nodules from patients with hepatocellular carcinoma: Relevance to hepatocarcinogenesis [J]. *Cancer Lett*, 2000, 148(1): 49-57.

[16] Fujiwara K, Higashi T, Nouse K, *et al.* Decreased expression of B7 costimulatory molecules and major histocompatibility complex class-I in human hepatocellular carcinoma [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2004, 19(10): 1121-1127.

[17] Yin XY, Lu MD, Liang LJ, *et al.* Prognostic significances of tumor-infiltrating S-100 positive dendritic cells and lymphocytes in patients with hepatocellular carcinoma [J]. *Hepato-gastroenterol*, 2003, 50 (53) : 1281-1284.

[18] Lee WC, Chiang YJ, Wang HC, *et al.* Functional impairment of dendritic cells caused by murine hepatocellular carcinoma [J]. *J Clin Immunol*, 2004, 24(2): 145-154.

[19] Um SH, Mulhall C, Alisa A, *et al.* Alpha-fetoprotein impairs APC function and induces their apoptosis [J]. *J Immunol*, 2004, 173 (3): 1772-1778.

[20] Feijoo E, Alfaro C, Mazzolini G, *et al.* Dendritic cells delivered inside human carcinomas are sequestered by interleukin-8 [J]. *Int J Cancer*, 2005, 116(2): 275-281.

[21] Wang FS, Xing LH, Liu MX, *et al.* Dysfunction of peripheral blood dendritic cells from patients with chronic hepatitis B virus infection [J]. *World J Gastroenterol*, 2001, 7(4): 537-541

[22] Jinushi M, Takehara T, Tatsumi T, *et al.* Negative regulation of NK cell activities by inhibitory receptor CD94/NKG2A leads to altered NK cell-induced modulation of dendritic cell functions in chronic hepatitis C virus infection [J]. *J Immunol*, 2004, 173 (10): 6072-6081

[收稿日期] 2006 - 03 - 10 [修回日期] 2006 - 06 - 10

[本文编辑] 王 莹

(上接 234 页)

study of PTK787/ZK 222584 (PTK/ZK), a novel, oral angiogenesis inhibitor, in combination with FOLFOX-4 as first-line treatment for patients with metastatic colorectal cancer [J]. *Program/Proc Am Soc Clin Oncol*, 2004, 22(14S): 259s.

[18] Govindarajan R, Safar AM, Maddox AM, *et al.* Irinotecan and thalidomide prolong disease free and overall survival in 5-FU refractory metastatic colorectal cancer [J]. *Program/Proc Am Soc Clin Oncol*, 2003, 22: 249.

[19] Ellis LM. A targeted approach for antiangiogenic therapy of metastatic human colon cancer [J]. *Am Surg*, 2003, 69(1): 3-10.

[20] Raymond E, Faivre S, Vera K, *et al.* Final results of a phase I and pharmacokinetic study of SU11248, a novel multi-target tyrosine kinase inhibitor, in patients with advanced cancers [J]. *Program/Proc Am Soc Clin Oncol*, 2003, 22: 192.

[21] Brown PD. Ongoing trials with matrix metalloproteinase inhibitors [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2000, 9(9): 2167-2177.

[22] Primrose JN, Bleiberg H, Daniel F, *et al.* Marimastat in recurrent colorectal cancer: exploratory evaluation of biological activity by measurement of carcinoembryonic antigen [J]. *Br J Cancer*, 1999, 79(3-4): 509-514.

[23] Pan C, Loehrer P, Juliar B, *et al.* A phase II trial of irinotecan (I), 5-fluorouracil (F), leucovorin (L) (IFL), celecoxib and glutamine as first line therapy for advanced colorectal cancer (CRC): A hoosier oncology group study [J]. *Program/Proc Am Soc Clin Oncol*, 2003, 22: 335.

[24] Gasparini G, Gattuso D, Morabito A, *et al.* Rofecoxib associated with weekly irinotecan and infusional 5-fluorouracil as second-line treatment for metastatic colorectal cancer [J]. *Program/Proc Am Soc Clin Oncol*, 2004, 22 (No 14S): 290s.

[25] O'Donnell A, Faivre S, Judson I, *et al.* A phase I study of the oral mTOR inhibitor RAD001 as monotherapy to identify the optimal biologically effective dose using toxicity, pharmacokinetic (PK) and pharmacodynamic (PD) endpoints in patients with solid tumours [J]. *Program/Proc Am Soc Clin Oncol*, 2003, 22: 200.

[26] Richardson P, Hideshima T, Anderson K. Thalidomide: Emerging role in cancer medicine [J]. *Annu Rev Med*, 2002, 53: 629-657.

[收稿日期] 2006 - 03 - 14 [修回日期] 2006 - 05 - 10

[本文编辑] 韩 丹

· 读者 · 作者 · 编者 ·

文稿中统计学符号规范化书写的要求

本刊严格遵守国家标准 GB3358 - 82《统计学名词及符号》的有关规定。为此,请作者书写统计学符号时注意以下要求: (1) 样本的算术平均数用英文小写 \bar{x} , 不用大写 X, 也不用 Mean 或 M; (2) 标准差用英文小写 s , 不用 SD; (3) 标准误用英文小写 s_x , 不用 SE; (4) t 检验用英文小写 t ; (5) F 检验用英文大写 F ; (6) 卡方检验用希腊文小写 χ^2 ; (7) 相关系数用英文小写 r ; (8) 自由度用希腊文小写 ν ; (9) 样本数用英文小写 n ; (10) 概率用英文大写 P ; (11) 以上符号 \bar{x} 、 s 、 s_x 、 t 、 F 、 χ^2 、 r 、 ν 、 n 、 P 均为斜体。请作者注意遵照执行。

(本刊编辑部)