

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2011.02.001

肿瘤休眠细胞:复发根源和治疗靶标

钱其军¹, 刘新垣²(1. 第二军医大学 东方肝胆外科医院, 上海 200438; 2. 中国科学院 上海生物化学及细胞生物学研究所, 上海 200031)



钱其军, 博士、研究员、博士生导师, 第二军医大学东方肝胆外科医院基因-病毒治疗实验室主任, 浙江省基因治疗中心常务副主任; 国家杰出青年基金获得者, 上海市领军人才及优秀学科带头人, 浙江省“新世纪 151 人才工程”重点培养人员; 中国医药生物技术协会医药生物技术临床应用专业委员会常务委员, 中国抗癌协会肿瘤生物治疗专业委员会委员; 中华肿瘤杂志、中国肿瘤生物治疗杂志、癌症等杂志编委。主要从事肿瘤的基因-病毒治疗及免疫细胞过继治疗方面的研究。作为负责人承担国家杰出青年基金项目 1 项、国家自然科学基金国际合作重大项目 1 项、国家自然科学基金重点项目 1 项、国家自然科学基金海外杰出青年项目 1 项(国内负责人)、国家自然科学基金面上项目 3 项、国家 863 项目 2 项及艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治重点专项子项目 1 项, 2 项免疫细胞治疗肿瘤新技术进入临床治疗试验。近年来荣获省部级奖项 5 项, 在 *Cancer Res*、*Clin Cancer Res*、*Mol Ther*、*Plos One* 等杂志发表 SCI-E 论文 40 余篇, 获中国发明专利授权 6 项、美国发明专利 1 项。E-mail: qianqj@sino-gene.cn。

刘新垣, 分子生物学家、中国干扰素研究的开拓者之一, 中国科学院院士、乌克兰科学院外籍院士、第三世界科学院院士, 中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所研究员、博士生导师。1952 年南开大学化学系毕业后, 分配到河北医学院工作, 1957 年至 2000 年工作于中国科学院上海生物化学研究所, 2000 年至今工作于中国科学院生物化学与细胞生物学研究所。1983 年至 1984 年曾作为访问科学家在美国工作。



2005 年曾担任全球干扰素和细胞因子大会的主席; 是超级干扰素(它对病毒性肝炎、恶性肿瘤均有非常好的疗效)的共同发明者; 是全球“癌症靶向基因-病毒治疗”策略的创始人之一, 对癌症治疗产生重大的作用与影响。共发表学术论文 380 多篇, 编著刘新垣论文集 12 册。共获各种科技成果奖励 40 多项, 其中有国家两委一部颁发的突出科学技术贡献奖、国家科技进步二等奖、中科院自然科学一等奖、中国科学院科技进步一等奖和二等奖、香港何梁何利奖等。E-mail: xyliu@sibs.ac.cn

[摘要] 随着肿瘤早期诊断及治疗水平的提高, 肿瘤患者的无病生存率得以提高, 但仍面临着较高的肿瘤复发风险。越来越多的证据显示, 这些长期无病生存的肿瘤患者(甚至某些所谓健康人)的机体内存在着一种肿瘤休眠细胞, 这些细胞被认为是导致肿瘤复发的主要根源。肿瘤休眠细胞是一群存在于患者或健康人群体内的数量极少且难以检测的静止细胞, 目前对其形成的机制及休眠活动的时相规律均不十分清楚。对于患者而言, 骨髓和外周血取材比较容易, 所以人们通常会针对骨髓及外周血中的肿瘤休眠细胞建立相对敏感的检测方法。有证据显示, 免疫抑制、新生血管生成及外科手术等因素可使肿瘤休眠细胞激活, 从而引发肿瘤的复发和转移。肿瘤休眠细胞已成为我们根治肿瘤及预防肿瘤发生或复发的重要靶标。然而, 由于处于休眠期的肿瘤细胞不活跃增殖, 因此传统放、化疗不能将其有效清除, 从而对肿瘤的彻底治愈造成了极大的困难。研究表明, 免疫监控与肿瘤休眠现象高度相关, 因此, 针对肿瘤休眠细胞的肿瘤免疫过继细胞治疗将给肿瘤防治带来根本性的变革。我们相信, 随着对肿瘤休眠细胞研究的不断深入, 将会出现高效清除肿瘤休眠细胞或使肿瘤细胞永远休眠的崭新治疗方案。

[关键词] 肿瘤; 肿瘤休眠细胞; 复发; 转移; 过继细胞治疗; 治疗靶标

[中图分类号] R730.2; R730.51

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2011)02-0115-11

[基金项目] 国家杰出青年科学基金资助项目(No. 30925037); 艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治重大科技专项基金资助项目(No. 2008ZX10002-023)。Project supported by the National Science Foundation for Distinguished Young Scholars of China(No. 30925037), and the Major Project of Ministry of Science and Technology of China(Special Foundation for Prevention and Treatment of “AIDS and Virus Hepatitis” Major Infectious Diseases)(No. 2008ZX10002-023)

[网络出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20110412.1815.006.html>

Dormant tumor cells: Root for recurrence and target for therapy

QIAN Qi-jun¹, LIU Xin-yuan²(1. Shanghai Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200438, China; 2. Institute of Biochemistry and Cell Biology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

[**Abstract**] With the fast development of early diagnosis and treatment for cancers, the survival rates of victims of this deadly disease has been greatly increased. Yet the survivors still face the threat of reoccurrence. More and more evidence documented that these disease-free patients (and even some so-called healthy people) harbor dormant tumor cells, which are now regarded as the main cause for tumor reoccurrence. Dormant tumor cells refer to a group of cells featured by its minimal number and the inconvenience for detection. These cells are caught in cell cycle arrest and can exist in both patients and healthy people. At present, the mechanism of how these cells are formed and dormancy timing patterns are still unknown. As the bone marrow and peripheral blood of patients are easy obtained, sensitive detection method has been established aimed to detect dormant tumor cells from these two sources. Evidence has shown that immunological suppression, angiogenesis in tumor tissues as well as surgery may all play roles in tumor dormancy activation, and thus lead to tumor reoccurrence and metastasis. As a result, dormant tumor cells have become a crucial target for preventing and treating cancers. However, since dormant tumor cells stay in a tranquil state, they are insensitive to traditional clinical therapies including radiation treatment and chemotherapy, and therefore impose great difficulty for the radical cure. According to the latest research, immune surveillance is closely related to the phenomena of tumor dormancy. As a result, adoptive immunotherapy may bring radical revolution in the area of tumor prevention and treatment. We hope that, with the deepening of research on tumor dormancy, clinical options with high efficiency will be available to wipe out tumor cells or induce tumor cells into permanent dormancy.

[**Key words**] neoplasms; dormant tumor cells; recurrence; metastasis; adoptive cell therapy; target for therapy

[Chin J Cancer Biother, 2010, 17(2): 115-125]

我国卫生部 2008 年第三次全国死因调查结果表明,我国城乡居民恶性肿瘤死亡率属于世界较高水平,且呈持续增长趋势;肿瘤死亡率较 70 年代中期增加了 83.1%,较 90 年代初期增加了 22.5%;城市恶性肿瘤死亡率明显高于农村,恶性肿瘤是城市首位死因(占城市死亡总数的 25.0%),在农村则为第二位死因(占 21.0%)。近年来,肺癌、肝癌、结直肠癌、乳腺癌、膀胱癌死亡率及其构成呈明显上升趋势,其中肺癌和乳腺癌在过去的 30 年分别上升了 465% 和 96%^[1]。2011 年 3 月美国《科学》杂志发表“向癌症进军 40 年”特刊,其公布数据显示:从 1971 年开始,仅美国国家癌症研究所在肿瘤的科研、治疗和预防上共花费约 900 亿美元,2010 年该研究所的经费高达 50 亿美元^[2]。虽然在肿瘤研究中取得了一系列似乎是非常重要的进展,并开发出一系列的干扰素、抗体、小分子靶向药物以及去年刚刚上市的第一个细胞治疗药物,但直到今天,癌症仍然是我国和世界导致死亡的主要疾病,多种癌症仍不可治愈。

目前,对于肿瘤治疗仍以手术和放、化疗为主。在临床上,患者最关心的,同时也是临床医生最为关

切的问题,是对于每一例癌症患者进行手术根治性切除的概率有多大?有些患者手术后很快出现多个病灶,是外科手术所致,还是患者本身存在潜伏肿瘤灶?患者能否获得较长的无病生存期?手术前或手术后是否需要放、化疗?放、化疗需要多长时间及多大剂量才足以预防肿瘤的复发?放、化疗给患者带来的利弊是什么?如何才能避免过度治疗?患者常规治疗无瘤生存多年后肿瘤复发的原因是什么?正方兴未艾的免疫细胞治疗究竟能给患者带来多少益处?对于健康人群,同样有许多疑问,特别是因为肿瘤的发生具有一定的遗传倾向,且受环境及生活习惯等因素的影响较大,因此针对具有高危因素的健康人群,我们也需要探索是否需要采取一些预防措施,以及如何对这些人身体内的休眠肿瘤细胞进行检测。上述一系列问题困扰着每一个临床医生和患者,而肿瘤休眠细胞概念的提出并对其进行深入的研究为解决这些问题提供了部分答案。

1 肿瘤休眠细胞的概念及肿瘤休眠现象的普遍性

早在 19 世纪,就有文献使用“肿瘤休眠细胞”这一概念;20 世纪 50 年代在动物体内证实了它的

存在^[3]。肿瘤休眠通常是指临床上原发性肿瘤根治性切除后,患者体内存在微小瘤灶或微量肿瘤细胞,在一定时间范围内既没有被机体清除,也没有增殖生长;但这些肿瘤细胞仍具有增殖潜能,可在数年乃至数十年后再次增殖,导致肿瘤的复发或远处转移^[4]。多年来,人们已在多种肿瘤中发现肿瘤休眠现象,这一现象是导致恶性肿瘤难以根治的首要原因,也是肿瘤逃逸治疗的主要机制。

肿瘤休眠现象在临床上非常普遍,许多癌症患者在原发性肿瘤根治性治疗数年甚至数十年后仍会复发。从表 1 可以看到,某些肿瘤的 15 年与 5 年存活率相差非常大,有些肿瘤其 15 年的存活率仅为 5 年存活率的一半。不同肿瘤复发高峰出现的时机并不相同,例如结肠癌患者的复发 85% 在术后 3 年内发生^[5];而乳腺癌及前列腺癌的患者复发时间较长,20%~45% 的患者在数年甚至数十年后才复发^[6]。利用临床肿瘤复发数据进行数学建模,其结果表明:肿瘤的发展过程应包括肿瘤细胞长期处于静止的状态(即肿瘤休眠期)以及随后的快速活跃增殖的状态,而非肿瘤极其缓慢但稳定地长期生长。多种不同类型的癌症在血液、骨髓、淋巴、腹膜腔及其他部位的小型残余病灶都支持这一假设^[6]。乳腺癌患者进行乳腺切除手术并无瘤生存多年后,仍可从 33% 患者的外周循环血液中分离出循环肿瘤细胞^[7]。前列腺患者进行前列腺切除手术 5 年后,体内前列腺特异性抗原 PSA 水平正常,但患者骨髓内仍可检测到弥散性肿瘤细胞^[8]。这些肿瘤患者在接受初次治疗后,体内已无明显瘤体,但存在着休眠肿瘤细胞。

然而肿瘤休眠细胞并非仅在原发肿瘤行根治性切除后才出现,对于一部分患者而言,在原发灶接受治疗前,肿瘤转移及休眠可能已经发生,由于原发肿瘤可能释放系统抑制因子如新生血管抑制剂等,使其他部位肿瘤细胞进入休眠状态,这在临床上常常表现为原发肿瘤切除不久后其他部位出现转移灶暴发性生长^[9]。对于肝癌而言,某些患者在原发肿瘤切除几个月甚至几周内,整个肝脏即多处出现肿瘤病灶。这种休眠期肿瘤细胞被激活后快速增殖,从而导致病情迅速恶化。因此,临床医生在处理原发肿瘤时,不应只考虑原发灶或主要肿瘤的治疗,还要考虑到对休眠肿瘤细胞的检测及其治疗。只有通盘考虑患者原发灶与肿瘤休眠细胞间的复杂关系,才能制定合理的治疗方案并进行有效的治疗,从而延长患者的生存时间。

从疾病的更早期来看,在一些无明显肿瘤病灶

的所谓健康人群中,休眠肿瘤细胞也并不罕见。有研究表明,20~54 岁的非肿瘤致死女性尸检发现,20%~39% 的女性体内存在微小乳腺癌病灶,而该年龄阶段妇女乳腺癌的诊断率仅为 1%^[10-12]。30%~40% 的男性体内存在前列腺肿瘤细胞,而前列腺癌诊断率仅为 0.6%^[10,13]。3 个月以下死婴尸检显示,微小成神经细胞瘤病灶的发生率是预计发生率的 40~50 倍。绝大多数人体内有甲状腺肿瘤微小病灶,然而人群中甲状腺肿瘤检出率仅为 0.1%^[14]。这些在生前定义为健康无肿瘤人群,死后检测出有肿瘤微小病灶的存在。对于这些机体中已存在休眠肿瘤细胞的人群,如果休眠肿瘤细胞不被激活,绝大多数人可能一生都不会形成传统意义上的肿瘤。而问题的关键在于我们不知道这些休眠的肿瘤细胞会在何时、何种情况下被激活,以及如何监控这些休眠期肿瘤细胞、医生是否需要预防性治疗等问题。上述问题迄今为止还没有明确的答案,也没有任何预防性治疗的循证医学证据。

表 1 美国癌症协会 2006 年统计的多种肿瘤根治术后患者的生存率(%)^[4]

肿瘤类型	5 年	10 年	15 年
胰腺癌	6	4	3
肝癌及肝内胆管癌	14	9	8
肺癌	16	11	9
食管癌	19	12	9
胃癌	27	21	18
脑瘤	36	32	30
卵巢癌	46	38	38
结直肠癌	68	58	54
乳腺癌	90	82	75

2 肿瘤休眠的发生及其可能的激活的机制

肿瘤休眠分为肿瘤组织休眠和肿瘤细胞休眠^[6]。前者可能是转移肿瘤细胞所处的主要状态:该种状态下的细胞增殖与凋亡达到动态平衡,因此肿瘤体积大小不发生改变。其原因可能是由于血液供应有限或受免疫监控所致,这种状态尤其适合使用过继免疫细胞治疗。而后者肿瘤细胞休眠是真正意义上的休眠状态,是指肿瘤细胞进入 $G_0 \sim G_1$ 期,细胞处于静止期,但仍具有增殖的潜能,这类细胞对传统的放、化疗方法都不敏感。肿瘤休眠细胞数量

极少且难以检测, 当一旦被激活, 休眠期的肿瘤细胞即进入大量增殖状态。目前对肿瘤休眠细胞形成的机制及时相规律均不十分清楚。

肿瘤细胞在原发灶被动脱落或侵袭性增强, 经过血液、淋巴液甚至沿神经鞘, 到达骨髓、淋巴结及肺、肝、脑等靶组织及器官, 这些肿瘤细胞绝大多数已在循环途中死亡, 因此在血液、淋巴液检测到的肿瘤细胞并不代表已发生转移的肿瘤细胞。只有小部分细胞能够到达靶组织及器官, 且由于微环境不适合肿瘤生长及免疫监控的作用, 这部分肿瘤细胞也多数凋亡或被免疫清除; 只有少数能够进入休眠状态, 部分由于血液供给不足或免疫监控下进入肿瘤休眠组织(即微转移灶), 只有极少数生成临床上能检测到的转移灶。因此, 这是一个非常低效过程^[4,6]。

从表面上看, 肿瘤休眠细胞都是具有增殖潜能但处于静止状态的细胞, 但它们的形成机制可能完全不同, 因此肿瘤休眠细胞是一群异质细胞的总称。

肿瘤休眠细胞可能来源于放疗、化疗药物或营养缺乏导致的肿瘤细胞自噬水平明显提高, 对癌细胞产生保护作用, 这样的结果是削弱机体免疫系统对肿瘤的杀伤作用; 严重应激的癌细胞已被证明会通过自噬而皱缩到一种可逆的休眠状态。这种生存反应使一些经过强效抗癌剂治疗的晚期肿瘤细胞能够持续存活多年并最终发生再生长^[15-17]。诱导肿瘤细胞进入细胞周期停滞状态的机制尚不清楚, 但肿瘤细胞表面尿激酶纤维蛋白溶酶原激活受体(u-PA)下调能够诱导恶性细胞进入细胞周期停滞。自发的或外界引起的u-PA下调通过抑制ERK信号通路诱导G₀-G₁期停滞。这一信号通路可通过u-PA相互结合及纤维连接蛋白与 $\alpha 5\beta 1$ 整合素结合而上调。肿瘤细胞的关键基质作用变化或失活也会导致弥散肿瘤细胞进入生长停滞期^[18]。细胞外基质对于细胞的分化、激活以及肿瘤细胞的转移均有重要作用。细胞与纤维连接蛋白结合能够诱导PIP₂合成, PLC- γ 水解PIP₂产生生长因子的第二信使; 抑制 $\beta 1$ 整合素介导的肿瘤细胞与细胞外基质的黏附可减少PIP₂水平, 从而导致细胞进入生长周期停滞。因此, 恰当地抑制细胞外基质信号通路可以诱导肿瘤细胞进入休眠状态。最近有文献^[19]显示, 将骨髓细胞与肿瘤细胞通过细胞间隙交换microRNA也可使肿瘤细胞进入休眠状态。

部分肿瘤休眠细胞可能是肿瘤干细胞(CSCs), 在某些不适宜的微环境条件下, 肿瘤干细胞可能会进入休眠期, 直到环境变化允许它们表现出增殖潜能。已有研究表明, 肿瘤休眠与肿瘤干细胞的存在

有关^[20-26]。骨髓中出现散在肿瘤细胞(DTCs)与肿瘤转移性复发的显著相关表明, 复发转移灶中的“干细胞”可能存在于这些弥散性肿瘤细胞中——大部分骨髓中DTCs或外周血循环肿瘤细胞(CTCs)均不具有分裂增殖能力(如Ki-67阴性)且对化疗耐受。而肿瘤干细胞也拥有类似的特点。有学者从骨髓中分离出乳腺癌早期微转移细胞, 发现这些细胞中含有大量CD44⁺CD24⁻/low细胞, 这一分子标记被认为是CSCs的标记物。乳腺癌患者骨髓中的早期弥散肿瘤细胞大多数可能具有乳腺癌干细胞表型, 表明乳腺癌干细胞有能力从原发肿瘤处弥散至远端器官。如果休眠肿瘤细胞就是肿瘤干细胞, 那么干细胞的持久性可能有助于解释为什么通过辐射和多种形式化疗成功消除的实体肿瘤在后期几乎必然复发; 相应地消除患者体内微小残余灶的治疗方案就必须改变。肿瘤已被证明能引起某些形式的肿瘤休眠, 从而使扩散的癌细胞在手术切除或放/化疗后持续休眠几年甚至几十年后突然暴发并危及生命。干细胞具有独特的抵御治疗及免疫耐受机制, 一旦治疗停止就可获得再生肿瘤的能力。目前的传统治疗手段能有效杀伤其他类型的细胞, 但对干细胞则无治疗效果。

癌症的免疫编辑过程包括三个阶段: 消除、平衡和逃逸, 被称为“肿瘤免疫编辑三部曲”^[27-35]。通过免疫系统成功识别并消除肿瘤细胞, 未完全杀灭的肿瘤细胞逃逸、弥散, 肿瘤细胞会进入到一个平衡阶段, 即肿瘤休眠期; 最终肿瘤不再受免疫的监控, 从而进入第三阶段: 肿瘤逃逸。虽然平衡阶段的时间可能非常长, 但休眠的肿瘤细胞数量非常少, 因此对这一过程中免疫细胞与肿瘤细胞的相互作用, 临床及科研人员所知甚少。通常认为, 在这一阶段中, 免疫系统能够控制肿瘤细胞的生长, 但并不能将其完全消除。动物实验表明, 特异性T细胞在肿瘤休眠中起主要作用^[36]。越来越多的临床流行病学研究结果也表明, 在一些人类癌症中存在着抗肿瘤免疫反应。例如病灶中存在CTLs和NK细胞高度渗透的结肠癌和卵巢肿瘤患者比无淋巴细胞浸润的患者预后更好。另外, 一些接受免疫抑制治疗的器官移植患者体内可观察到供体来源的癌症, 这一现象提示在表面上看似无肿瘤的供体中, 实际存在着处于免疫系统控制下的休眠状态的肿瘤细胞。研究表明, 免疫系统能够识别并破坏表达变异结构的肿瘤细胞, 而免疫原性较弱的肿瘤细胞则得以存活。近期研究显示, 免疫系统并非总是彻底根除肿瘤细胞, 而是使部分肿瘤细胞处于休眠状态。一直以来, 肿

瘤细胞微转移灶或休眠状态的存在被认为是免疫系统长时间地细胞杀伤及生长抑制共同作用的结果。与此同时,IFN- γ 和 IL-12 也有抑制血管生成的能力。因此,肿瘤休眠的状态可能是免疫系统对肿瘤细胞的杀伤作用及抑制血管生成作用的协同表现。免疫系统细胞还可激活生长抑制信号通路,从而诱导肿瘤细胞进入细胞周期停滞状态并发生凋亡。

早在 1972 年,Gimbrone 等人发现,肿瘤细胞的生长对新生血管生长的依赖性。肿瘤细胞对血管生成能力受到诸如 P53、突变 RAS 基因等的调控,这些基因能够分别抑制或促进肿瘤的发生。在人类肿瘤中存在数量极大的 RAS 基因点突变及其他突变。不同程度的 RAS 表达及其信号通路也许与不同肿瘤亚克隆的血管生成能力不同有关。血管生成因子如 VEGF 等能够促进肿瘤细胞进入外周血循环。因此,能够诱导血管生成的肿瘤细胞也许能够间接地促进周边肿瘤细胞的转移。转移通常源自于单一的肿瘤细胞,而该肿瘤细胞通常能反映出原发肿瘤的独特表型。同时,扩散肿瘤细胞具有血管生成能力时能够形成可见的扩张性肿瘤转移灶,而无血管生成能力的肿瘤细胞则会形成不含血管的休眠肿瘤细胞团块^[37-40]。

相对于休眠发生机制而言,休眠肿瘤被激活的机制及其影响因素更加不清楚。通常认为免疫抑制、新生血管生成及外科手术可促使休眠的肿瘤细胞激活。大量动物实验证明,免疫缺失小鼠的化学物质诱导或自发肿瘤明显高于免疫正常的小鼠。临床上典型例子是一个已无病生存 16 年的黑素瘤患者作为肾脏供体,受体在接受肾移植后进行抗排斥免疫抑制治疗,出现了来自供体的黑素瘤,显然受体的免疫抑制治疗启动了供体已休眠 16 年的肿瘤细胞^[41]。一个不太容易被人们所接受的观点是,目前常规使用的放、化疗方案可能会促使休眠期肿瘤细胞激活,放、化疗会抑制免疫系统,而肿瘤休眠细胞对放、化疗并不敏感,抑制了免疫反而促使肿瘤休眠细胞逃避免疫的监控而被激活^[42]。外科手术被认为是可以激活休眠肿瘤的因素之一。经典的实验是 50 个 Walker256 肉瘤细胞经大鼠门静脉注射后 5 个月未发生任何肝内肿瘤,而注射后 3 个月时每间隔 7 d 进行开腹肝脏探查手术,数周后即 100% 发生肝内肿瘤^[3]。乳腺癌手术,甚至一些隆胸手术都可激活休眠乳腺癌细胞^[43-44]。临床医生通常会在外科手术或放、化疗后给患者胸腺肽、干扰素等调节免疫的药物,以提高机体的免疫能力及减少休眠肿瘤细胞激活。因此,在外科手术或放、化疗后给予有

效提高免疫能力,如过继免疫细胞治疗,更是值得推荐的措施。

3 休眠期肿瘤的检测方法及其临床意义

目前临床上应用的肿瘤检测方法包括 X 线、超声波、CT、磁共振及放射性核素扫描等,对于肿瘤微转移灶及以极少数数量存在的肿瘤休眠细胞难以有效检测。然而肿瘤休眠细胞的检测不仅对患者预后非常重要,而且对于评估一些治疗如免疫治疗的疗效及治疗的持续时间也十分重要。

首先,我们需要确立检测对象。有证据表明,肿瘤休眠细胞存在于全身各个组织器官,且都会形成转移瘤^[45]。因此,最佳的方法是建立无创性全身肿瘤休眠细胞数量的评估方法。但是肿瘤休眠细胞处于静止期,即使是 PET-CT 也无法检测到它们的存在,目前尚未建立全身肿瘤休眠细胞数量的评估技术。由于骨髓是肿瘤细胞最主要的归巢位点,因此大多数研究者认为骨髓中 DTCs 和外周血 CTCs 的检测可以相对全面地反映患者全身肿瘤休眠细胞的状况,且较易于在临床上开展。当然相对于骨髓样品的检测,外周血的 CTCs 检测更易被患者接受,因而很多研究者正在研究 CTCs 检测的临床应用。传统上认为,血液中存在有肿瘤细胞就是肿瘤发生转移了。最近研究表明,血液中 CTCs 可能处于休眠状态,不是所有的 CTCs 都会导致肿瘤转移复发^[46]。

从取材的部位来看,目前大多数这类工作主要在乳腺癌患者中开展,只有少数几个研究小组比较了同一患者骨髓和外周血样品检测的效果。然而,几乎所有的研究都表明,在乳腺癌患者骨髓检测比血液检测更为可靠^[47-51],可能因为骨髓提供了 DTCs 归巢和存活的条件,因而有利于这类细胞的积聚。相反,CTCs 在循环系统中的半衰期只有 1~2.4 h,许多 CTCs 快速凋亡了。因而,血液样品分析只提供了肿瘤细胞扩散的瞬时情况,而 DTCs 可在骨髓中积聚和延长其时间。然而,还不能完全确定骨髓中 DTCs 一定比血液中 CTCs 的检测更加精确,毕竟肿瘤细胞主要通过外周血运输至各种远端位点(包括脑、肝和肺等),而这些细胞并不一定要归巢到骨髓中,这也部分解释了骨髓检测在预测转移性复发的负相关失效(false-negative)的原因^[52]。目前,可以肯定的是,无论从取材方便性和肿瘤预后相关性而言,骨髓和外周血肿瘤休眠细胞的检测具有重要的临床意义。

其次,需要明确检测的靶标。要分离出特定的肿瘤休眠细胞群需要针对肿瘤休眠细胞表面特异性

表达分子。目前, RT-PCR 检测乳腺癌中 CTCs 主要根据细胞角蛋白 19 mRNA 的表达; 直肠癌患者常用标志是细胞角蛋白 20 和癌胚抗原, 其检出率在 10% ~ 60%; 非小细胞肺癌患者常用标志是细胞角蛋白 19 和癌胚抗原; 前列腺癌患者常用标志是细胞角蛋白和前列腺癌特异性抗原, 其检出率在 14% ~ 100% 间波动^[45]。

事实上, 目前对于肿瘤休眠细胞的认识是十分有限的, 还没有一种表面标志可以特异性地将肿瘤休眠细胞和激活性肿瘤细胞以及正常组织细胞分离开。而肿瘤休眠细胞是否是一群异质性细胞, 是否包含了肿瘤干细胞, 是否存在有动态平衡和转化, 这些问题的存在也决定了目前检测靶标的特异性只是相对的。在这种情况下, 多基因检测是首选, 且可信度比较高的方法。

最后, 我们需要建立有效的检测手段。在骨髓和血液细胞中检测极低数量的 DTCs 和 CTCs 含量分别为 1×10^{-5} 和 1×10^{-6} , 在大多数情况下, 首先使用富集操作会显得更有效。这些富集步骤包括用 Ficoll-hypaque 的梯度离心、免疫磁珠分选、表皮细胞特异抗体(如抗-EpCAM)的阳性筛选或者去除造血细胞的阴性筛选(如针对白细胞抗原 CD45 的抗体)。在正向富集中, 将不同的上皮细胞表面抗原包裹在磁珠表面, 包括 EpCAM、EGFR、HEA、HER2 或 ErbB2, 从而筛选出肿瘤细胞^[53]。基于颗粒大小的 CTCs 富集方法包括 ISET(isolation by size of epithelial tumor cells) 和 MEMS(micro electro-mechanical system) 的微滤等方法。这些富集方法各有优缺点。基于大小的分离受限于肿瘤细胞的大小(DTCs 和 CTCs 的大小)是可变的, 且白细胞会堵塞滤孔; 免疫磁珠阳性筛选会漏选不表达靶向抗原(如 EpCAM)的 DTCs 和 CTCs; 阴性筛选富集所有 DTCs 和 CTCs, 并且通过抗体结合肿瘤细胞避免肿瘤细胞激活, 但会导致后期的表达分析存在问题^[45]。

自 1981 年首次报道使用免疫细胞化学(ICC)法检测骨髓中的肿瘤细胞以来, 已有大量方法被用于检测 CTCs 和 DTCs^[54]。目前检测 DTCs 和 CTCs 的方法主要有基于免疫细胞化学的方法和基于 PCR 技术的方法, 包括 FAST 激发荧光细胞分选法、激光扫描细胞计数法、流式细胞术计数、Cell Search、CTC-chip、EPISPOT、FISH、Ikoniscope@ 成像系统、Ariol@ 系统、RT-PCR、RT-qPCR 等。有关 DTCs 和 CTCs 的富集及检测方法总结见表 2。

单细胞水平的基因组分析表明, 有细胞角蛋白表达的 DTCs 和 CTCs 频繁展现出异质性肿瘤特异

性的丧失, 尤其是在无明显转移患者的早期癌症阶段。Maheswaran 等^[55]在酪氨酸激酶抑制剂治疗过的有 EGFR 突变患者的 CTCs 中检测到 EGFR 的 T790M 突变, 其赋予了肿瘤耐药性。他们的研究表明, 对 DTCs 和 CTCs 的分子分析可检测治疗过程中上皮肿瘤基因表型的改变。

未来研究更需要弄清楚弥散性肿瘤细胞中的一些分子在上皮间质转化中的作用, 以及在弥散性肿瘤细胞中可能存在的肿瘤干细胞。虽然血液中 CTCs 或者骨髓中 DTCs 的存在被证明具有临床意义(会影响复发和预后), 仍有部分患者存在 CTCs 或 DTCs, 但没有形成明显的转移。是否存在一个特殊的分子或表型, 决定了 CTCs 的未来走向? 单细胞比较基因组杂交研究证明, 异质的 DTCs 具有不稳定的基因组。利用多色荧光原位杂交分析, 乳腺癌患者 CTCs 的绝大部分是异倍体。乳腺癌患者的 DTCs 表达特征揭示了 TWIST1 的表达, 它是一个促进上皮间质转化中起主要作用的转录因子, 它的表达与疾病的复发有关。最近, 乳腺癌患者的肿瘤干细胞被证明是存在于 DTCs 中的一个亚群^[53]。因而, 只有真正研究清楚肿瘤休眠细胞的分子表型及其进一步发展的影响因素, 我们才能建立更为有效的检测及全身评估系统。

4 休眠期肿瘤的治疗

目前肿瘤治疗仍以手术、放、化疗及靶向治疗为主, 近几年这些方法对于患者肿瘤负荷明显减少及短时间延长生存期取得了很大进展, 但对于患者长期生存率的进展并不大, 肿瘤的复发与转移仍是临床治疗的难题。休眠期肿瘤是肿瘤复发及不能根治的主要原因。由于休眠肿瘤细胞处于静止期, 通常对常规放、化疗不敏感, 手术也不能清除微小的残留肿瘤灶。因此, 传统的常规治疗方案不能有效清除休眠肿瘤细胞。

目前对肿瘤休眠机制并不完全清楚, 同时缺乏精确评估休眠期肿瘤的方法, CTCs/DTCs 的检测仅能部分反映患者休眠期肿瘤细胞的状态, 因此治疗肿瘤休眠的临床试验设计极富挑战性。目前临床医生采用的主要方法之一是不间断延长肿瘤治疗疗程, 但过度治疗又会影 响患者生活质量、对多个器官产生毒性及发生继发肿瘤, 因此获得低毒性和高靶向性治疗方法至关重要。应用抑制肿瘤组织血管的生成、改变休眠肿瘤的微环境(骨髓)及内分泌辅助治疗取得了一定进展, 但均无法对肿瘤休眠细胞起到决定性的治疗作用。

表 2 DTCs 和 CTCs 的富集与检测方法

操作方法	优点	缺点
富集的操作		
基于细胞大小		
OncoQuick	依赖密度梯度,基于 EpCAM 阳性和阴性肿瘤细胞的筛选,操作性好,交叉污染少	低特异性
密度梯度	简单、经济,基于 EpCAM 阳性和阴性肿瘤细胞的筛选,操作性好,反向筛选可行	低特异性,易与血液单核细胞交叉污染
Rosette Sept	清除造血细胞	可能交叉污染
ISET	简单、经济,基于 EpCAM 阳性和阴性肿瘤细胞的筛选,操作性好	低特异性,小肿瘤细胞易漏筛和大白细胞易富集
基于免疫磁珠		
MASC/Dynal 磁性亲和细胞分选法	灵活多样	假阳性(非肿瘤细胞表达检测抗原)
CellSearch	半自动,阳性(EpCAM)和阴性(CD45)筛选结合,FDA 批准	只针对 EpCAM 阳性肿瘤细胞,有假阳性和假阴性
CTC-Chip	富集细胞 98% 有活性,可供进一步分析	只针对 EpCAM 阳性细胞,还没有临床验证,未上市
AdnaTest	识别固定分子(EpCAM, MUC1),可下游分析(RT-qPCR 检测 MUC1、HER2 和 GA73. 3-2),或可定性干细胞和上皮间质转化	不能变通,假阳性,假阴性
Magnetic Beads/Easy Sep	较好保持细胞完整性	假阴性(肿瘤细胞不表达检测抗原)
检测的操作		
PCR 方法		
RT-PCR	高灵敏性	RNA 易降解,假阳性,不分细胞活性,假阴性
RT-qPCR	高灵敏性,定量	不可可视化,不能进一步分析
细胞计数法		
FAST 荧光细胞分选法	大体积样本扫描分析,细胞损失最小化,快速(可达 300 000 细胞/s)	缺乏临床验证研究
LSC/MAINTRAC@ 激光扫描细胞计数法	快速,特异性高	技术要求高,低灵敏度
流式细胞术计数	特异性高,多参数分析	低灵敏度
CellSearch	半自动化,高灵敏度,定量,可重复,识别固定分子(EpCAM, CKs, CD45);FDA 批准	只检测 EpCAM ⁺ /CK ⁺ /CD45 ⁻ 细胞,主观评判图像,不能进一步分析
CTC-Chip	98% 细胞活性,高检测率,可供进一步分析	仅检测 EpCAM 阳性细胞,无商品化,缺乏临床研究验证
EPISPOT	只分析活细胞,高灵敏度	不可分离细胞,不可进一步分析,技术要求高
FISH	遗传分析	不可进一步分析
Ikoniscope@ 成像系统	多分子组合检测,染色体荧光原位杂交,DAPI 核染	灵敏度低,技术要求高
Ariol@ 系统	多分子正反向筛选,DAPI 核染	灵敏度低

机体的免疫系统原本能非常有效地清除残留微小肿瘤灶及肿瘤干细胞。然而在肿瘤休眠期,免疫监控与肿瘤生长处于平衡阶段。一种可能,免疫系统仍可能会最终消除所有的肿瘤细胞,从而使患者变成一个完全健康的个体;另一种可能,肿瘤与免疫系统长期不断地相互作用也可能最终“编辑”或塑造出“进化”的肿瘤表型,导致残余肿瘤细胞免疫原性降低,肿瘤不再受到免疫监控,从而进入到免疫编辑第三阶段:肿瘤逃逸。这时肿瘤通过直接或间接机制来破坏免疫系统,可能出现很多免疫负调节信号及抑制免疫的因子^[27-28]。在激活的肿瘤微环境中,肿瘤细胞的免疫原性改变和过度生长,刺激成纤维细胞释放细胞因子,抗原提呈细胞传递肿瘤抗原信号,共同招募免疫细胞浸润到肿瘤局部;同时肿瘤细胞的异常增殖引起对邻近细胞的压迫,导致缺血坏死等组织损伤,产生大量的炎性因子,因此肿瘤局部处于非可控性炎症状态,诱导T细胞转化成Treg,同时诱导出现负调控细胞Breg和DCreg的形成。其结果是抑制细胞毒性T细胞(CTL)、自然杀伤细胞(NK)的活性,维持肿瘤局部的免疫耐受状态。只有解除免疫负调控,才能维持肿瘤细胞处于休眠状态或者逆转已激活的肿瘤细胞重新回到休眠状态,就能达到“正本清源”的目的。动物实验表明,应用肿瘤特异性T细胞的肿瘤免疫治疗可能完全消灭休眠期的肿瘤细胞,至少它能建立肿瘤免疫平衡期,从而使肿瘤处于更长的休眠期^[36]。因此个性化自身过继免疫细胞非常适合对肿瘤休眠细胞的治疗,它可能可以彻底消灭残留休眠肿瘤细胞,至少可以使肿瘤细胞更长时间处于休眠期,从而明显延长患者的无病生存期^[56]。

最近几年,过继免疫细胞治疗获得飞速发展。2010年10月美国《科学》杂志专门为此发表评论^[57],认为“经过这么多年的不断尝试,癌症研究人员终于实现了利用机体本身的防御系统来消灭肿瘤了”。在最近的研究中,93个坚持治疗的转移性黑色素瘤患者中,有20个患者经历了癌症痊愈的全过程,有19个患者活了3~8年的无癌症生活,另有32个患者体内的肿瘤明显变小。如此好的治疗效果在全身转移性肿瘤患者中堪称闻所未闻,揭示了肿瘤过继免疫细胞治疗的巨大威力^[57]。2011年2月美国国家癌症研究院药物研发指导委员会免疫治疗工作组发表了《应用肿瘤浸润性淋巴细胞进行癌症过继免疫治疗》的白皮书^[58],该文章认为通过扩增自体肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)和来源于外周血的肿瘤抗原特异性T细胞进行过继性T细胞治疗,该

方法虽较为复杂但对转移性黑色素瘤的免疫治疗效果显著。大量非随机临床试验结果显示,肿瘤浸润性淋巴细胞联合大剂量IL-2治疗转移性黑色素瘤的客观有效率均能高达50%以上,同时伴有长时间疾病无进展生存期。现已建立了从黑色素瘤中高效分离并扩增肿瘤浸润性淋巴细胞的方法。最后文章建议建立细胞生产中心,统一接收肿瘤样本,分离扩增培养肿瘤浸润性淋巴细胞,这种方式能保证治疗用浸润性淋巴细胞的一致性,进而使过继性免疫细胞治疗成为癌症治疗的主要手段。

经国家相关部门批准,笔者医院也已开展了肿瘤过继免疫细胞临床治疗,建立了高效扩增免疫细胞的培养体系及质量控制方案,在符合GMP要求的细胞生产车间可将细胞因子诱导的杀伤细胞(CIK)及肿瘤浸润性淋巴细胞扩增到 1×10^{11} 细胞,初步临床治疗结果显示无明显的毒性作用,其疗效还需更长时间的观察。

过继免疫治疗与常规放、化疗最大的不同在于过继免疫治疗会产生明显的长期效应,即一旦免疫治疗产生疗效,其疗效将会持续较长的时间。有的患者体内依然存有肿瘤,但病情稳定,无需进行进一步治疗。另一个值得关注的特点是过继免疫细胞治疗在患者机体内产生记忆性的长期T细胞克隆,这种患者的疗效尤其明显。这些特异性针对肿瘤细胞的具有干性记忆性的T细胞培养十分重要,这些细胞的表面标志为CD44^{low}、CD62^{high},应用细胞因子IL-7、IL21或两者的联合,或使用通过抑制GSK3从而激活Wnt- β -catenin信号途径的小分子物质进行培养,可获得具有干性记忆性T细胞,这些细胞的产生将对肿瘤治疗有更为明显的疗效^[59-65]。

在临床上,过继免疫细胞治疗通常应在常规手术、放化疗或靶向药物治疗后进行。首先,常规治疗大幅度减少患者肿瘤负荷;其次常规治疗能清除实体瘤中的负调节因素,如调节性T细胞、不成熟的树突状细胞及肿瘤来源成纤维细胞等;再次,放化疗也可以破坏肿瘤细胞,从而释放出肿瘤抗原。因此过继免疫细胞治疗前进行非骨髓性的放化疗预处理,可明显增强过继免疫细胞治疗抗肿瘤效应,从而明显提高过继免疫细胞治疗的疗效^[56,66-67]。

同样,在患者进行常规手术、放化疗或靶向药物治疗后,进行肿瘤过继免疫细胞治疗是非常值得推荐的。过继免疫细胞治疗有利于提高常规手术、放化疗后患者的免疫功能,从而减少这些常规治疗激活肿瘤休眠细胞的可能性;另外,过继免疫细胞治疗可使常规治疗后未能根治的增殖活跃的残留肿瘤病

灶进入持续休眠状态,从而出现长期疾病无进展带瘤生存^[56-57]。

肿瘤过继免疫细胞治疗究竟需要持续多长时间、应用多少次数尚无定论。通常方法为每个月治疗1次,连续6~8次,每次免疫细胞应为 $1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{11}$;也有人认为每2周治疗一次。最好的方法是在免疫治疗时监控外周血或骨髓中残留肿瘤细胞的变化,从而决定过继免疫细胞治疗的持续时间及次数,更多有关肿瘤过继免疫细胞治疗内容见我们先期发表的文章^[68]。

最近有研究表明,肿瘤休眠细胞通过提高表达B7-H1或B7.1来抑制细胞免疫的疗效,因此在进行过继免疫细胞治疗时联合应用抗体以提高肿瘤休眠细胞对免疫应答的敏感性。阻断B7-H1/PD-1或B7.1/CTLA-4的结合能够阻止肿瘤休眠细胞抑制CTL。一些临床试验正使用抗体介导的阻断CTLA4或PD-1治疗肿瘤患者^[34,69-70]。2011年3月针对CTLA4的抗体ipilimumab治疗肿瘤被美国FDA批准上市。对于经治疗彻底痊愈的患者也可使用这些抗体进行巩固治疗,从而稳固疗效,维持患者无瘤生存的健康状态。

5 结 语

肿瘤休眠是肿瘤患者中的一个常见现象,是肿瘤复发的主要根源。虽然目前已建立了CTCs/DTCs的检测方案,且对临床治疗有一定指导意义,但这种方法只能部分反映机体的肿瘤休眠现状,因此还有待建立更为简捷、灵敏的肿瘤休眠细胞检测方法,用于评估治疗疗效及治疗的持续时间。肿瘤细胞如果一直处于休眠状态,可能对患者并无大碍,问题的关键在于休眠期肿瘤细胞的激活条件目前尚不清楚。休眠期肿瘤细胞一旦被激活将会很快增殖,并发展成为临床可见的恶性肿瘤,从而导致病情恶化。高效低毒的预防性治疗值得推荐,但目前适度治疗及过度治疗的界线仍比较模糊,因此尚需进一步设计更为合理的临床方案,为医生及患者带来更多的选择。目前最具吸引力的治疗方法之一是采用免疫治疗手段,通过激活患者自体免疫系统或采用过继免疫细胞疗法达到治疗癌症的目的。我们希望,通过在这一领域的深入研究及实现其临床应用,能够将患者乃至健康人体内隐藏的“定时炸弹”——肿瘤休眠细胞彻底清除,实现真正的无瘤健康人群;抑或寻找到一种方法让这些病魔的种子永远沉睡于襁褓中,处于人体免疫系统的严密监视下,永远不被激活。

[参 考 文 献]

- [1] 卫生部新闻办公室. 第三次全国死因调查主要情况 [J]. 中国肿瘤, 2008, 17(5): 344-345.
- [2] Marshall E. Cancer Research and the \$ 90 Billion Metaphor [J]. Science, 2011, 331(6024): 1540-1541.
- [3] Fisher B, Fisher ER. Experimental evidence in support of the dormant tumor cell [J]. Science, 1959, 130: 918-919.
- [4] Goss PE, Chambers AF. Does tumour dormancy offer a therapeutic target [J]? Nat Rev Cancer, 2010, 10(12): 871-877.
- [5] Sargent DJ, Patiyil S, Yothers G, et al. End points for colon cancer adjuvant trials: Observations and recommendations based on individual patient data from 20 898 patients enrolled onto 18 randomized trials from the ACCENT Group [J]. J Clin Oncol, 2007, 25(29): 4569-4574.
- [6] Aguirre-Ghiso JA. Models, mechanisms and clinical evidence for cancer dormancy [J]. Nat Rev Cancer, 2007, 7(11): 834-846.
- [7] Meng S, Tripathy D, Frenkel EP, et al. Circulating tumor cells in patients with breast cancer dormancy [J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(24): 8152-8162.
- [8] Vessella RL, Pantel K, Mohla S. Tumor cell dormancy: An NCI workshop report [J]. Cancer Biol Ther, 2007, 6(9): 1496-1504.
- [9] Demicheli R, Retsky MW, Hrushesky WJ, et al. The effects of surgery on tumor growth: A century of investigations [J]. Ann Oncol, 2008, 19(11): 1821-1828.
- [10] Black WC, Welch HG. Advances in diagnostic imaging and overestimations of disease prevalence and the benefits of therapy [J]. N Engl J Med, 1993, 328(17): 1237-1243.
- [11] Nielsen M, Thomsen JL, Primdahl S, et al. Breast cancer and atypia among young and middle-aged women: A study of 110 medico-legal autopsies [J]. Br J Cancer, 1987, 56(6): 814-819.
- [12] Feldman AR, Kessler L, Myers MH, et al. The prevalence of cancer. Estimates based on the connecticut tumor registry [J]. N Engl J Med, 1986, 315(22): 1394-1397.
- [13] Montie JE, Wood DP Jr, Pontes JE, et al. Adenocarcinoma of the prostate in cystoprostatectomy specimens removed for bladder cancer [J]. Cancer, 1989, 63(2): 381-385.
- [14] Udagawa T. Tumor dormancy of primary and secondary cancers [J]. APMIS, 2008, 116(7/8): 615-628.
- [15] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: The next generation [J]. Cell, 2011, 144(5): 646-674.
- [16] White E, DiPaola RS. The double-edged sword of autophagy modulation in cancer [J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(17): 5308-5316.
- [17] Lu Z, Luo RZ, Lu Y, et al. The tumor suppressor gene ARHI regulates autophagy and tumor dormancy in human ovarian cancer cells [J]. J Clin Invest, 2008, 118(12): 3917-3929.
- [18] Allgayer H, Aguirre-Ghiso JA. The urokinase receptor (u-PAR)--A link between tumor cell dormancy and minimal residual disease in bone marrow [J]. APMIS, 2008, 116(7/8): 602-614.
- [19] Lim PK, Bliss SA, Patel SA, et al. Gap junction-mediated import of microRNA from bone marrow stromal cells can elicit cell cycle

- quiescence in breast cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(5): 1550-1560.
- [20] Viale A, Pelicci PG. Awakening stem cells from dormancy: Growing old and fighting cancer [J]. *EMBO Mol Med*, 2009, 1(2): 88-91.
- [21] Norkin M, Uberti JP, Schiffer CA. Very late recurrences of leukemia: Why does leukemia awake after many years of dormancy [J]? *Leuk Res*, 2011, 35(2): 139-144.
- [22] Essers MA, Trumpp A. Targeting leukemic stem cells by breaking their dormancy [J]. *Mol Oncol*, 2010, 4(5): 443-450.
- [23] Monteiro J, Fodde R. Cancer stemness and metastasis: Therapeutic consequences and perspectives [J]. *Eur J Cancer*, 2010, 46(7): 1198-1203.
- [24] Vera-Ramirez L, Sanchez-Rovira P, Ramirez-Tortosa CL, et al. Gene-expression profiles, tumor microenvironment, and cancer stem cells in breast cancer: Latest advances towards an integrated approach [J]. *Cancer Treat Rev*, 2010, 36(6): 477-484.
- [25] Trumpp A, Essers M, Wilson A. Awakening dormant haematopoietic stem cells [J]. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10(3): 201-209.
- [26] Kusumbe AP, Bapat SA. Cancer stem cells and aneuploid populations within developing tumors are the major determinants of tumor dormancy [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(24): 9245-9253.
- [27] Teng MW, Swann JB, Koebel CM, et al. Immune-mediated dormancy: An equilibrium with cancer [J]. *J Leukoc Biol*, 2008, 84(4): 988-993.
- [28] Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The three Es of cancer immunoeediting [J]. *Annu Rev Immunol*, 2004, 22: 329-360.
- [29] Sengupta N, MacFie TS, MacDonald TT, et al. Cancer immunoeediting and "spontaneous" tumor regression [J]. *Pathol Res Pract*, 2010, 206(1): 1-8.
- [30] Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The immunobiology of cancer immunosurveillance and immunoeediting [J]. *Immunity*, 2004, 21(2): 137-148.
- [31] Arum CJ, Anderssen E, Viset T, et al. Cancer immunoeediting from immunosurveillance to tumor escape in microvillus-formed niche: A study of syngeneic orthotopic rat bladder cancer model in comparison with human bladder cancer [J]. *Neoplasia*, 2010, 12(6): 434-442.
- [32] Bui JD, Schreiber RD. Cancer immunosurveillance, immunoeediting and inflammation: Independent or interdependent processes [J]. *Curr Opin Immunol*, 2007, 19(2): 203-208.
- [33] Smyth MJ, Dunn GP, Schreiber RD. Cancer immunosurveillance and immunoeediting: The roles of immunity in suppressing tumor development and shaping tumor immunogenicity [J]. *Adv Immunol*, 2006, 90: 1-50.
- [34] Quesnel B. Tumor dormancy and immunoescape [J]. *APMIS*, 2008, 116(7/8): 685-694.
- [35] Kassara K, Moustafid A. Angiogenesis inhibition and tumor-immune interactions with chemotherapy by a control set-valued method [J]. *Math Biosci*, 2011-03-04. [Epub ahead of print].
- [36] Koebel CM, Vermi W, Swann JB, et al. Adaptive immunity maintains occult cancer in an equilibrium state [J]. *Nature*, 2007, 450(7171): 903-907.
- [37] Moserle L, Amadori A, Indraccolo S. The angiogenic switch: Implications in the regulation of tumor dormancy [J]. *Curr Mol Med*, 2009, 9(8): 935-941.
- [38] Almog N, Ma L, Raychowdhury R, et al. Transcriptional switch of dormant tumors to fast-growing angiogenic phenotype [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(3): 836-844.
- [39] Almog N. Molecular mechanisms underlying tumor dormancy [J]. *Cancer Lett*, 2010, 294(2): 139-146.
- [40] Rak J, Milsom C, Yu J. Vascular determinants of cancer stem cell dormancy--do age and coagulation system play a role [J]? *APMIS*, 2008, 116(7/8): 660-676.
- [41] MacKie RM, Reid R, Junor B. Fatal melanoma transferred in a donated kidney 16 years after melanoma surgery [J]. *N Engl J Med*, 2003, 348(6): 567-568.
- [42] Melief CJ. Cancer: Immune pact with the enemy [J]. *Nature*, 2007, 450(7171): 803-804.
- [43] Goldstein MR, Mascitelli L. Surgery and cancer promotion: Are we trading beauty for cancer [J]? *QJM*, 2011-03-12. [Epub ahead of print].
- [44] Retsky MW, Demicheli R, Hrushesky WJ, et al. Dormancy and surgery-driven escape from dormancy help explain some clinical features of breast cancer [J]. *APMIS*, 2008, 116(7/8): 730-741.
- [45] Pantel K, Alix-Panabières C, Riethdorf S. Cancer micrometastases [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2009, 6(6): 339-351.
- [46] Pantel K, Brakenhoff RH, Brandt B. Detection, clinical relevance and specific biological properties of disseminating tumour cells [J]. *Nat Rev Cancer*, 2008, 8(5): 329-340.
- [47] Müller V, Stahmann N, Riethdorf S, et al. Circulating tumor cells in breast cancer: Correlation to bone marrow micrometastases, heterogeneous response to systemic therapy and low proliferative activity [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(10): 3678-3685.
- [48] Wiedswang G, Borgen E, Schirmer C, et al. Comparison of the clinical significance of occult tumor cells in blood and bone marrow in breast cancer [J]. *Int J Cancer*, 2006, 118(8): 2013-2019.
- [49] Bidard FC, Vincent-Salomon A, Sigal-Zafrani B, et al. Prognosis of women with stage IV breast cancer depends on detection of circulating tumor cells rather than disseminated tumor cells [J]. *Ann Oncol*, 2008, 19(3): 496-500.
- [50] Stathopoulou A, Vlachonikolis I, Mavroudis D, et al. Molecular detection of cytokeratin-19-positive cells in the peripheral blood of patients with operable breast cancer: Evaluation of their prognostic significance [J]. *J Clin Oncol*, 2002, 20(16): 3404-3412.
- [51] Pierga JY, Bonneton C, Vincent-Salomon A, et al. Clinical significance of immunocytochemical detection of tumor cells using digital microscopy in peripheral blood and bone marrow of breast cancer patients [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(4): 1392-1400.
- [52] Braun S, Vogl FD, Naume B, et al. A pooled analysis of bone marrow micrometastasis in breast cancer [J]. *N Engl J Med*, 2005, 353(8): 793-802.
- [53] Lin H, Balic M, Zheng S, et al. Disseminated and circulating tumor cells: Role in effective cancer management [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2011, 77(1): 1-11.

- [54] Alunni-Fabbroni M, Sandri MT. Circulating tumour cells in clinical practice: Methods of detection and possible characterization [J]. *Methods*, 2010, 50(4): 289-297.
- [55] Maheswaran S, Sequist LV, Nagrath S, et al. Detection of mutations in EGFR in circulating lung-cancer cells [J]. *N Engl J Med*, 2008, 359(4): 366-377.
- [56] Prendergast GC, Jaffee EM. Cancer immunologists and cancer biologists: Why we didn't talk then but need to now [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(8): 3500-3504.
- [57] Couzin-Frankel J. Immune therapy steps up the attack [J]. *Science*, 2010, 330(6003): 440-443.
- [58] Weber J, Atkins M, Hwu P, et al. White paper on adoptive cell therapy for cancer with tumor-infiltrating lymphocytes: A report of the CTEP subcommittee on adoptive cell therapy [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(7): 1664-1673.
- [59] Gattinoni L, Zhong XS, Palmer DC, et al. Wnt signaling arrests effector T cell differentiation and generates CD8⁺ memory stem cells [J]. *Nat Med*, 2009, 15(7): 808-813.
- [60] Koehn BH, Schoenberger SP. Tumor immunotherapy: Making an immortal army [J]. *Nat Med*, 2009, 15(7): 731-732.
- [61] Kaneko S, Mastaglio S, Bondanza A, et al. IL-7 and IL-15 allow the generation of suicide gene-modified alloreactive self-renewing central memory human T lymphocytes [J]. *Blood*, 2009, 113(5): 1006-1015.
- [62] Markley JC, Sadelain M. IL-7 and IL-21 are superior to IL-2 and IL-15 in promoting human T cell-mediated rejection of systemic lymphoma in immunodeficient mice [J]. *Blood*, 2010, 115(17): 3508-3519.
- [63] Palmer DC, Restifo NP. Suppressors of cytokine signaling (SOCS) in T cell differentiation, maturation, and function [J]. *Trends Immunol*, 2009, 30(12): 592-602.
- [64] Powell DJ Jr, Dudley ME, Robbins PF, et al. Transition of late-stage effector T cells to CD27⁺ CD28⁺ tumor-reactive effector memory T cells in humans after adoptive cell transfer therapy [J]. *Blood*, 2005, 105(1): 241-250.
- [65] Zhou J, Dudley ME, Rosenberg SA, et al. Persistence of multiple tumor-specific T-cell clones is associated with complete tumor regression in a melanoma patient receiving adoptive cell transfer therapy [J]. *J Immunother*, 2005, 28(1): 53-62.
- [66] Rosenberg SA, Dudley ME. Adoptive cell therapy for the treatment of patients with metastatic melanoma [J]. *Curr Opin Immunol*, 2009, 21(2): 233-240.
- [67] Rosenberg SA. Overcoming obstacles to the effective immunotherapy of human cancer [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(35): 12643-12644.
- [68] 钱其军, 吴孟超. 肿瘤过继免疫治疗--老故事新演绎 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2011, 18(1): 1-6.
- [69] Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma [J]. *N Engl J Med*, 2010, 363(8): 711-723.
- [70] Brahmer JR, Drake CG, Wollner I, et al. Phase I study of single-agent anti-programmed death-1 (MDX-1106) in refractory solid tumors: Safety, clinical activity, pharmacodynamics, and immunologic correlates [J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(19): 3167-3175.
- [收稿日期] 2011-03-23 [修回日期] 2011-04-05
[本文编辑] 王莹

· 读者 · 作者 · 编者 ·

《中国肿瘤生物治疗杂志》征稿和征订启事

《中国肿瘤生物治疗杂志》是由中国免疫学会和中国抗癌协会联合主办的国内惟一的肿瘤生物治疗专业高级学术刊物,为中国中文核心期刊、中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)。本刊主编为中国免疫学会理事长曹雪涛教授(院士、973首席科学家),编委会由包括11名院士和9名外籍专家的众多名家大师组成。重点报道我国肿瘤生物治疗领域基础理论与临床应用研究的新成果、新理论、新技术及新经验,宣传我国肿瘤生物治疗的政策和发展策略。主要栏目有述评、院士论坛、专家论坛、论著(基础研究,临床研究)、研究快报、技术方法、文献综述、学术争鸣等。双月刊,国内外公开发行。

本刊已被美国《化学文摘》(CA)、《剑桥科学文摘》(CSA)、《乌利希国际期刊指南》(Ulrich IPD),俄罗斯《文摘杂志》(AJ),荷兰《医学文摘》(EMbase),英国《国际农业和生物科学研究文摘》(CABI)、《公共健康研究数据库》(GH),波兰《哥白尼索引》(IC)等多个国际著名检索系统收录;已被国内所有知名检索系统和专业相关文摘期刊收录。本刊在肿瘤学领域的学术地位和影响力名列前茅,在国际学术界的显示度日益广泛和增强。

热忱欢迎广大肿瘤防治工作者踊跃投稿,请通过本刊网站远程投稿系统,也可通过电子信箱或邮寄投稿。

《中国肿瘤生物治疗杂志》每期定价12.00元,全年定价72.00元。邮发代号:4-576,请通过邮局订阅。若错过,可从本刊编辑部补订,请将72.00元(优惠免邮资)寄编辑部,并注明详细通讯地址及邮政编码,编辑部负责将每期杂志准时寄给您。

联系地址:上海市翔殷路800号第二军医大学免疫楼《中国肿瘤生物治疗杂志》编辑部(邮编200433)

联系人:王莹,韩丹;**联系电话:**021-55620605×22,021-81871002×22;**传真:**021-81871007

网址:www.biother.org; **电子邮箱:**cjcb@biother.org