

Spezifische Immunstimulation gegen Tumoren

Ein Erfolg versprechender Ansatz

Das Immunsystem reagiert auf vielfältige Weise auf einen Tumor. Trotzdem reicht die körpereigene Abwehr häufig nicht aus, um die Krebszellen zu vernichten oder zumindest in Schach zu halten. Impfungen mit inaktivierten Tumorzellen oder aufgereinigten Tumorantigenen stimulieren eine tumorspezifische Immunantwort, die man therapeutisch nutzen kann. Wir sprachen mit Professor Alexander Knuth, Direktor der Klinik und Poliklinik für Onkologie am Universitätsspital Zürich, über die Perspektiven einer breiten Anwendung von Tumorzellen in der Krebstherapie und den aktuellen Stand der Forschung.



Professor Alexander Knuth

Professor Alexander Knuth ist seit fünf Jahren am USZ und war zuvor in Mainz, Seattle und Frankfurt am Main tätig. Seit vielen Jahren befasst er sich mit der Identifizierung und Charakterisierung von Tumorantigenen und der Entwicklung von Tumorzellenimpfungsstrategien. Er zählt auf diesem Gebiet zu den international führenden klinischen Forschern – und er war Mitglied des Mainzer Teams, das in den Achtzigerjahren aus den Melanomzellen einer Hautkrebspatientin eine Zelllinie etablierte, mit deren Hilfe man die Patientin nicht nur erfolgreich gegen ihren eigenen Tumor immunisierte, sondern aus der man später auch eines der prominentesten Tumorantigene gewann, das MAGE-1 (siehe *Infokasten*).

The Medical Journal: Herr Professor Knuth, wie viele Patienten werden zurzeit weltweit mit Tumorzellenimpfungen behandelt?

Professor Alexander Knuth: Diese Therapien erfolgen zurzeit noch im Rahmen von Studien, und die genauen Zahlen kenne ich nicht. Die für die breitere Anwendung am weitesten fortgeschrittene Immuntherapie erfolgt mit dem Tumorantigen MAGE-A3. Ein grosses internationales Pharmaunternehmen hat kürzlich die bisher grösste randomisierte und plazebokontrollierte Studie zur Behandlung von Lungenkrebspatienten gestartet, und zwar bei Patienten mit nicht kleinzelligem Bronchialkarzinom in einem adjuvanten Setting, also nach entsprechender Operation und Chemotherapie

plus/minus Vakzinierung mit MAGE-A3. Über 2000 Patienten werden in diese Studie eingeschlossen. Sie sehen also, die Immuntherapie ist zwar noch Gegenstand klinischer Forschung, aber mittlerweile läuft bereits eine grosse Phase-III-Studie bei einer wichtigen Tumorentität.

Also ist die Sorge unbegründet, dass diese Therapien für die breite Anwendung zu kompliziert

und unwirtschaftlich seien und im experimentellen Stadium stecken zu bleiben drohten?

Knuth: Ich glaube, Dinge werden immer erst dann richtig wahrgenommen, wenn sie durch das Marketing grosser Firmen auch in die Praxen der niedergelassenen Kolleginnen und Kollegen gelangt sind. Das Interesse an der Tumorummunologie ist bei den grossen Pharmaunternehmen schon seit vielen Jahren sehr lebhaft. Wenn Sie einmal daran denken, wie lange es gedauert hat, bis der erste monoklonale Antikörper in die Klinik gekommen ist, dann sind 20 Jahre eine konservative Schätzung. Mittlerweile ist zum Beispiel der gegen CD20 gerichtete Antikörper einer grossen Schweizer Firma gar nicht mehr aus der Therapie bei Lymphomen wegzudenken. In der Entwicklung der Impf- und Immuntherapie, die darauf abzielt, eine spezifische T-Lymphozyten-Aktivität zu induzieren, ist noch gar nicht so viel Zeit seit der Identifikation der ersten Antigene vergangen, die als Targets infrage kommen. Zum Beispiel wurde die Entdeckung der MAGE-Genfamilie 1991 publiziert. Dann hat es fast 10 Jahre gedauert, bis man den Wert dieser Moleküle für die Tumorbiologie und die Tumorummunologie erkannt hat. Jetzt sind wir im Jahr 2008, also 17 Jahre nach der Klonie-

Infokasten: MAGE

MAGE steht für «Melanoma Associated Genes», eine Genfamilie, die aus einer humanen Melanomzelllinie kloniert wurde. Später entdeckte man, dass die MAGE-Genfamilie von vielen verschiedenen Tumoren exprimiert wird, nicht aber von normalen Zellen, mit Ausnahme von Keimzellen im Hoden. Die physiologische Funktion der MAGE-Gene oder der MAGE-kodierten Proteinantigene kennt man bis anhin nicht.

Die MAGE-Antigenfamilie gehört zu der Gruppe der «Cancer/Testis-Antigens» (CT-Antigene), die charakteristischerweise auf dem X-Chromosom kodiert sind und ausser in bestimmten Tumoren in keinem anderen Normalgewebe zu finden sind ausser in Keimzellen. CT-Antigene sind intrazelluläre Antigene, die aufgrund ihres tumortypischen Expressionsmusters exzellente Kandidaten für eine spezifische Stimulation des Immunsystems sind. Die CT-Antigenexpression nimmt mit fortschreitender Tumorerkrankung in der Regel zu, und eine CT-Antigen-spezifische Immunantwort könnte somit auch protektiv wirken. Heute sind fast 100 CT-Antigene bekannt.

MAGE-A3-ASCI ist der Name eines Impfstoffs, der zurzeit in einer randomisierten und plazebokontrollierten Phase-III-Studie bei über 2000 Patienten mit nicht kleinzelligem Bronchialkarzinom (NSCLC) postoperativ getestet wird. Am ASCO-Kongress 2007 wurden die Resultate der entsprechenden Phase-II-Studie vorgestellt: 182 MAGE-A3-positive Patienten mit komplett reseziertem NSCLC der Stadien IB oder II hatten als adjuvante Therapie entweder MAGE-A3-ASCI (n = 122) oder Plazebo (n = 60) erhalten. Nach 28 Monaten trat bei 41 der 122 Patienten unter MAGE-A3-ASCI ein Rezidiv auf (30,6%), unter Plazebo waren es 26 von 60 Patienten (43,3%). Demnach konnte durch die postoperative Therapie mit MAGE-A3-ASCI das relative Rezidivrisiko um 27 Prozent gegenüber Plazebo gesenkt werden (p = 0,107).

rung der ersten MAGE-Gene, und es gibt bereits eine grosse Phase-III-Studie. Wir sind also gar nicht so spät dran, sondern das ist völlig konkordant mit der Zeit, die wir brauchten, um die ersten monoklonalen Antikörper in die Klinik zu bringen. Ich bin optimistisch und denke, dass bald auch andere Tumorentitäten als Zielgruppe für spezifische Immuntherapien oder Vakzinierungen infrage kommen.

Man kennt mittlerweile sicher einige tausend Tumorantigene. Wie viele davon sind bereits in der Pipeline für eine potenzielle klinische Anwendung?

Knuth: Es sind vielleicht gut 100 Tumorantigene, die bisher in ersten Pilotstudien bei verschiedenen Krankheiten getestet wurden. Das ist aber kein Indikator dafür, welches nun das beste oder aussichtsreichste Tumorantigen ist. Auch unter den vielen tausend monoklonalen

„Gut 100 Tumorantigene wurden bisher in ersten Pilotstudien bei verschiedenen Krankheiten getestet.“

Antikörpern befinden sich nicht wenige mit einer Spezifität für Differenzierungsantigene, von denen man anfangs nicht ahnte, dass sie später in der Klinik einmal bedeutsam sein könnten, wie zum Beispiel das B-Lymphozyten-Differenzierungsantigen CD20. Und das sind heute die umsatzstarken Medikamente oder Blockbuster. So wird es sich auch bei den Vakzinetherapien herauskristalisieren, welcher Ansatz der aussichtsreichste ist. Wir wissen aber schon heute, dass bestimmte Antigene ganz besonders immunogen sind und eine besondere biologische Bedeutung für den Tumor haben. An solchen Antigenen arbeiten wir zurzeit als Zielstrukturen für Vakzinierungsstudien oder auch für integrierte Immuntherapiekonzepte, bei denen spezifische Antikörper plus Tumorantigen zur T-Lymphozyten-Stimulierung verabreicht werden. Aufgrund unserer bisherigen Erfahrungen und der anderer Forscher beurteilen wir die therapeutischen Aussichten als günstig.

Gibt es neben MAGE noch andere Tumorantigene, für die sich die pharmazeutische Industrie bereits interessiert?

Knuth: Ja, es gibt eine ganze Batterie von Tumorantigenen, zu denen von verschiedenen Firmen Forschungsprogramme aufgelegt werden. Ich bin sicher, dass ein grosses Pharmaunternehmen nur dann Geld ausgibt, wenn es ein erfolgreiches Produkt erwartet, und ich persönlich bin ganz zuversichtlich, dass dies der Fall sein wird.

Wie viele Patienten behandeln Sie hier in Zürich mit der Vakzinierung von Tumorantigenen?

Knuth: Wir nehmen auch an der bereits erwähnten grossen Phase-III-Studie mit dem MAGE-A3-Antigen teil, konzentrieren uns hier im Hause aber auf Phase-I/II-Studien mit neueren Tumorantigenen innerhalb unserer Forschungsprogramme. Für diese Phase-I/II-Studien sind kleine Patientenzahlen vorgesehen, nicht mehr als 30 bis 40 Patienten pro Studie. Die Anforderungen an unser Forschungslabor hinsichtlich der Aufarbeitung zu jedem einzelnen Patienten sind hierbei so umfangreich, dass grössere Studien in diesem Rahmen auch gar nicht machbar wären.

In Deutschland stöhnen Forscher über den bürokratischen Overkill beim Genehmigungsverfahren für solche Studien. Wie sieht das in der Schweiz aus?

Knuth: Die Schweiz ist auf diesem Sektor vorbildlich. Hier gibt es beste Forschungsmöglichkeiten. Das wissenschaftliche Umfeld ist exzellent. Davon konnte ich zu früheren Zeiten nur träumen. Die Bedingungen für behördliche Genehmigungsverfahren sind transparent, und die Forschungsunterstützung ist grosszügig bemessen, sodass wir diese Arbeiten hier in Zürich in optimaler Weise voranbringen können.

Bei den ersten Vakzinierungen hat man die Tumorzellen des Patienten verarbeitet, bestrahlt und zurückgeimpft. Macht man das auch heute noch so, oder setzt man nur noch auf definierte Tumorantigene?

Knuth: Mit dem Konzept der Vakzinierung mit autologen Tumorzellen sind wir gestartet. In

„Das Milieu, in dem die Tumorzelle entsteht und sich teilt, beeinflusst das Tumorwachstum, und umgekehrt beeinflusst auch der Tumor seine Umgebung. Dieses Zusammenspiel steht zu Beginn in einem gewissen Gleichgewicht und kippt dann in die eine oder die andere Richtung.“

den Siebzigerjahren nahm man an, dadurch würden in erster Linie tumorspezifische Antikörper im Patienten induziert. Erst später haben wir gelernt, dass die T-Lymphozyten-Antwort viel bedeutender ist. So wurde beispielsweise die MAGE-Genfamilie aus der Melanomzelllinie einer Patientin kloniert, die mit diesen, also ihren eigenen, bestrahlten Melanomzellen über lange Zeit wiederholt immunisiert wurde und in der Folge eine starke T-Lymphozyten-Antwort gegen ihre Tumorzellen entwickelte. Das zeigt, dass die Vakzinierung mit autologen Tumorzellen durchaus sinnvoll sein kann. Diese Patientin hatte eine

schlechte klinische Ausgangslage, doch sie hat die Krankheit überwunden. Erst kürzlich hatte ich wieder mit ihr Kontakt. Sie ist in der Literatur als «Frau H.» oder «Patient MZ2» verewigt. Sie war damals Patientin unserer Klinik in Mainz, und aus unserem Labor heraus ist die Entwicklung bis hin zur MAGE-Genklonierung durch Thierry Boon und seine Arbeitsgruppe am Ludwig-Institut in Brüssel auf den Weg gebracht worden. Es gibt noch einige weitere Patienten aus dieser Zeit, die ähnlich berühmt wurden. Alle bekamen zunächst eigene Tumorzellen als Impfstoff. Über diese Patienten haben wir gelernt, die immunologisch relevanten Antigene der Tumorzelle durch Klonierungstechniken zu identifizieren. Heute ist man etwas weiter und möchte gezielter impfen als mit ganzen Tumorzellen, auch weil wir genauer messen wollen, was wir bei immunisierten Patienten induzieren. Aus diesem Grund verwenden wir heute fast nur noch gereinigte Tumorantigene für die Impfung.

Woran liegt es eigentlich, wenn die spontane Immunreaktion des Organismus nicht ausreicht, um die Krebszellen zu vernichten oder zumindest in Schach zu halten?

Knuth: Es gibt sowohl experimentelle als auch klinische Beobachtungen, dass das Immunsystem eine spezifische Antwort gegen Tumorzellen generieren kann, dass sich diese Antwort im Verlauf der Erkrankung ändert, und dass sie beeinflussbar ist. Man kann diese Vorgänge mit dem Konzept der drei «E» beschreiben, die für Elimination, Equilibrium und Escape stehen (siehe Abbildung). Die experimentellen Untersuchungen bei Versuchstieren haben gezeigt, dass unter dem Einfluss bestimmter Botenstof-

fe oder Zytokine die Immunantwort auf einen Tumor zunächst auf die Elimination des genetisch veränderten Fremden ausgerichtet ist. Sie kann vehement sein, aber unter bestimmten Einflüssen auch abgeschwächt werden. Das Milieu, in dem die Tumorzelle entsteht und sich teilt, beeinflusst das Tumorwachstum, und umgekehrt beeinflusst auch der Tumor seine Umgebung. Dieses Zusammenspiel steht zu Beginn in einem gewissen Gleichgewicht und kippt dann in die eine oder die andere Richtung. Der Versuch, den Tumor als fremd zu eliminieren, steht am Anfang der Immunreaktionen. Einige Tumorzellen können aber resistent

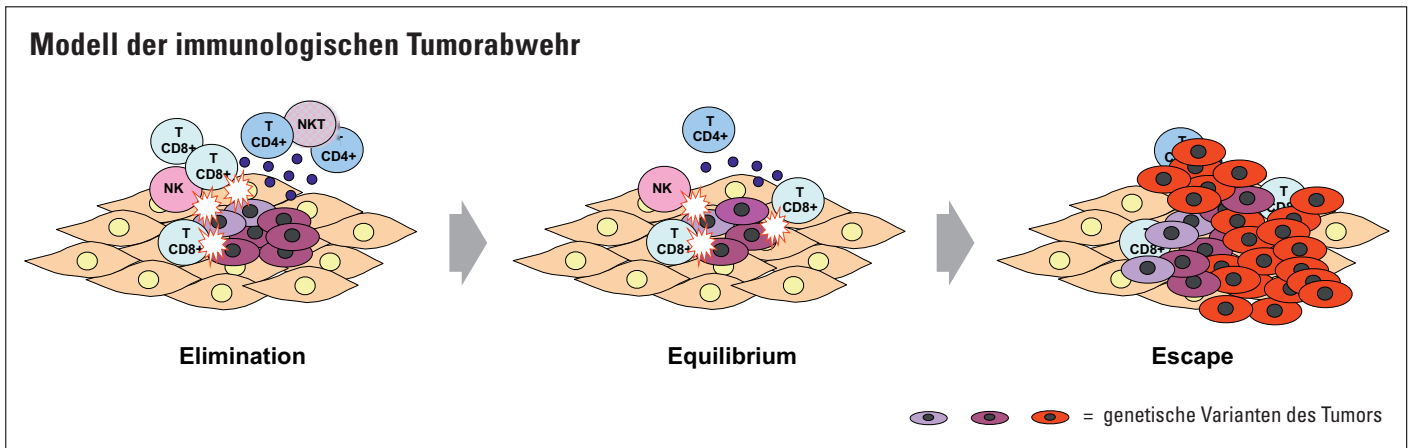


Abbildung: In den Stadien «Elimination» und «Equilibrium» wird der Tumor immunologisch kontrolliert, es entstehen genetische Varianten des Tumors. Im Stadium des «Escape» setzen sich neue Tumorvarianten durch (rot) und durchbrechen die immunologische Kontrolle (nach Dunn G.P. et al., Nature Immunol 2002; 3: 991–998); T CD8⁺: zytotoxische T-Lymphozyten; NK: natürliche Killerzellen, T CD4⁺: T-Helferzellen; NKT: natürliche Killerzellen mit T-Zell-Charakter; blaue Punkte: Zytokine.

werden und überleben. Dann folgt eine Phase des Gleichgewichts oder «Equilibrium». In dieser Phase ist ein Stillstand des Tumorzustands erreicht, der mitunter lange anhalten kann. Mit zunehmenden genetischen Aberrationen in den Tumorzellen gelingt es bestimmten «Escape-Varianten» des Tumors, die Oberhand zu gewinnen und der Immunkontrolle zu entweichen. Das geschieht meistens auf genetischer Basis, aber auch durch Umgebungseinflüsse. Jeder sich neu absiedelnde, metastatische Tumor findet natürlich wieder eine neue Umgebung, in der es zunächst wieder eine Reaktion mit dem zellulären Milieu gibt, wiederum von beiden Seiten – der Organismus reagiert auf die Metastase, die metastatischen Zellen reagieren auf den Organismus. Es läuft also wieder der gleiche Prozess ab, diesmal für die metastatische Absiedelung und ihre Kontrolle durch das Immunsystem.

Gibt es Anhaltspunkte dafür, dass dieses Modell tatsächlich bei Tumorpatienten zutrifft?

Knuth: Ja, die gibt es. Unter Immunsuppression entstehen gehäuft Tumoren. Ferner werden Sie häufig Patienten sehen, die ein ungleiches Ansprechen oder eine ungleiche Entwicklung ihrer Metastasen haben, wenn Sie die klinische Entwicklung bei einem Patienten mit metastasierter Krebserkrankung beobachten. Bei demselben Patienten finden sich mitunter gleichzeitig Metastasen, die relativ schnell wachsen, während andere stillstehen oder sogar zurückgehen. Diese sogenannten «mixed responses» sehen wir relativ häufig. Dieses Erkenntnis hat durchaus therapeutische Konsequenzen. Es hat beispielsweise ein Umdenken hinsichtlich der Metastasen Chirurgie eingesetzt. Wir haben Patienten behandelt, bei denen multiple Metastasen gut kontrolliert schie-

nen und entweder rückläufig waren oder sich nicht weiter vergrößerten, bis auf eine oder zwei Metastasen. Nur diese eine oder zwei Metastasen zeigten eine rasche Größenzunahme, die zur chirurgischen Exstirpation Anlass gab. Früher hätte man auf eine Operation angesichts der fortgeschrittenen Erkrankung vielleicht eher verzichtet. Heute aber operiert man

“Es hat ein Umdenken hinsichtlich der Metastasen Chirurgie eingesetzt. Heute operiert man durchaus auch nur eine einzige grössenprogrediente Metastase.”

durchaus auch nur eine einzige grössenprogrediente Metastase, zum Beispiel wenn diese Beschwerden verursacht. Dabei hat man festgestellt, dass die Tumorantigenexpression in einer solchen progredienten Metastase verloren gegangen sein kann, es war also eine «Escape-Variante». Danach kann ein Patient durchaus wieder in eine längere Phase des Tumorstillstandes oder der weiteren Rückbildung der verbliebenen Metastasen eintreten. Speziell beobachtet wurden diese Phänomene zum Beispiel bei Melanompatienten mit starker humoraler und zellulärer Immunantwort gegen spezielle Tumorantigene als indirektes Zeichen einer wirksamen Immunkontrolle.

Was hat es mit der Hypothese auf sich, wonach es eine Tumorstammzelle geben soll, die quasi unangreifbar immer wieder auswachsen kann?

Knuth: Das Konzept einer Tumorstammzelle verträgt sich ganz gut mit dem Modell der drei «E». Allerdings ist die Tumorstammzelle als solche heute immer noch ein Punkt lebhafter

wissenschaftlicher Diskussionen. Selbst ihre Existenz ist noch umstritten. Die Tumorstammzelle ist ja nicht zweifelsfrei definiert, jedenfalls für die Mehrzahl der malignen Erkrankungen. Natürlich wäre es ideal, die Tumorstammzelle im Visier zu haben, mit einem Marker, an dem man sie zweifelsfrei erkennen kann. Das wäre tatsächlich das Packen des Übels an der Wurzel. Es gibt viele Arbeitsgruppen, die sich sehr intensiv damit beschäftigen, wir tun das unter anderem auch. Es gibt einige Tumorstammzellmarker, die relativ akzeptiert erscheinen, und es kommen ständig neue Marker hinzu, an denen wir Forscher natürlich besonders interessiert sind. Ich hoffe, dass es hier Fortschritte geben wird und wir tatsächlich im Konzept der Tumorthherapie einen Strategiewechsel vollziehen können, indem wir ganz gezielt gegen die Tumorstammzelle vorgehen. Im Moment aber bewirken wir mit unserer Tumorthapie eher eine Tumormassenreduktion, bei der die Tumorstammzelle unbehelligt zurückbleibt und zu einem gegebenen Zeitpunkt den Tumor wieder wachsen lässt. So können zum Beispiel Metastasen auch erst nach vielen Jahren wieder auftreten, und es ist in Einzelfällen molekular nachgewiesen, dass es sich tatsächlich um Abkömmlinge des ursprünglichen Tumors handelt.

Gibt es dafür Beispiele?

Knuth: Bekannte Beispiele sind Organtransplantate von Patienten, die einmal eine Tumorerkrankung überwunden haben. Für das Melanom sind zweifelsfrei Fälle dokumentiert, bei denen im Organempfänger unter der unvermeidlichen Immunsuppression nach der Transplantation ruhende, mittransplantierte Tumorzellen vom Spenderphänotyp wieder zu wachsen begannen.

Die zelluläre immunologische Antwort eines Patienten auf seinen Tumor wird im Labor häufig als zytotoxische Reaktivität seiner T-Lymphozyten gegenüber den Tumorzellen *in vitro* gemessen. Wie übertragbar sind diese Befunde auf das tatsächliche Geschehen im Organismus?

Knuth: Wir messen ja nicht nur *in vitro*, sondern auch *ex vivo*. Das heisst, wir nehmen das Blut des Patienten und suchen direkt, ohne zusätzliche Stimulierungsmassnahmen *in vitro*, nach zirkulierenden Lymphozyten beziehungsweise Killerzellen, die Tumorzellen er-

“Ich glaube nicht, dass wir allein mit einer Immuntherapie ein Krebsleiden besiegen können. Aber ich glaube, dass viele unserer therapeutischen Massnahmen auch eine immunologische Dimension haben, die wir nutzen können.”

kennen und töten. Diese Killerzellen sind unter bestimmten Bedingungen tatsächlich nachweisbar. Der zytotoxische T-Lymphozyt ist überdies nicht das einzige Element des Immunsystems, das sich mit dem Tumor auseinandersetzt. Es gibt T-Helferzellen, die eine zytotoxische Immunantwort gegen den Tumor unterstützen, und regulatorische T-Lymphozyten, die eine zelluläre Immunantwort steuern. Dann gibt es T-Zellen, die gar nicht zirkulieren, sondern sich beispielsweise im Tumor selbst befinden. Auch dort können diese verschiedenen Typen von T-Zellen – Helfer, Regulatoren und Killer – vorhanden sein. Welche Funktion sie dort im Tumor haben, ist Gegenstand der Forschung. Es gibt aber noch einen weiteren wichtigen Punkt: Neben den Helferzellen für die zytotoxische T-Lymphozytenantwort gibt es auch Helferzellen, die die Antikörperantwort, also die B-Lymphozyten, beeinflussen. Es kommt zu einer Induktion spezifischer Antikörper, die wir bei einigen Tumoren für bekannte Tumorantigene im Patienten nachweisen. Dieses ist ein Beispiel für eine komplexe, integrierte Immunreaktion gegen den Tumor mit gleichzeitiger Antikörper- und Killerzellinduktion. Wir möchten lernen, diese Immunreaktion besser zu steuern.

Erlauben all diese Messungen Aussagen über die Prognose der Patienten?

Knuth: Das ist noch eine Frage der Forschung. Die breite klinische Anwendung setzt zunächst einmal voraus, dass wir verstehen, wie die Komponenten des Immunsystems interagieren und wie diese Interaktionen mit anderen Behandlungsmodalitäten zusammenwirken, um

sie dann vielleicht gemeinsam einsetzen zu können. Eine starke spontane tumorspezifische Immunreaktion scheint sich bei einigen Krebserkrankungen als prognostisch günstig herauszukristallisieren.

Sollte man die Immuntherapie gegen einen Tumor mit anderen Methoden kombinieren?

Knuth: Ich glaube nicht, dass wir allein mit einer Immuntherapie ein Krebsleiden besiegen können. Es wäre zu optimistisch, das anzunehmen. Aber ich glaube, dass viele unserer therapeutischen Massnahmen auch eine immunologische Dimension haben, die wir nutzen können. Beispielsweise gehen bei einer Strahlentherapie Tumorzellen zugrunde. Die Reste dieser Zellen werden abgeräumt. Die Antigene, die dadurch frei werden, werden dem Immunsystem neu präsentiert, und es entsteht eine sekundäre Immunantwort. Der zweite Punkt ist, dass die Strahlentherapie möglicherweise etwas an der genetischen Information in der Tumorzelle ändern und dazu führen kann, dass bestimmte Tumorantigene hoch- oder herunterreguliert werden und damit den weiteren Verlauf der immunologischen Reak-

tion beeinflussen. Das kann vielleicht zum Erfolg der Strahlentherapie beitragen. Das Gleiche gilt für die Chemotherapie. Diese hat einen direkten Einfluss auf das Immunsystem. Es kann zum Beispiel sein – dafür gibt es Hinweise –, dass unter einer Chemotherapie auch regulatorische T-Lymphozyten beeinflusst werden. Das Immunsystem kann durch stimulierende oder hemmende Einflüsse gesteuert werden. Das macht man sich heutzutage bereits zunutze, indem Zytokine, Antikörper und Chemotherapeutika gezielt zur Immunmodulation eingesetzt werden. Es gibt also viele Facetten, wie die Immuntherapie als integraler Bestandteil eines multimodalen Therapieprinzips zum Tragen kommen kann. ♦

Das Interview führte Dr. Renate Bonifer.

Weiterführende Literatur:

Dunn G.P. et al.: Cancer immunoeediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nature Immunol* 2002; 3 (11): 991–998.

Smyth M.J. et al.: New aspects of natural-killer-cell surveillance and therapy of cancer. *Nature Rev Cancer* 2002; 2: 850–861.