

16. Schadendorf D, Nestle FO, Broecker E-B et al. Dacarbazine (DTIC) versus vaccination with autologous peptide-pulsed dendritic cells (DC) as first-line treatment of patients with metastatic melanoma: Results of a prospective-randomized phase III study. ASCO Annual Meeting Proceedings 2004, 7508.
17. Holtl L, Zelle-Rieser C, Gander H et al. Immunotherapy of metastatic renal cell carcinoma with tumor lysate-pulsed autologous dendritic cells. Clin Cancer Res 2002;8:3369-76.
18. Fong L, Hou Y, Rivas A et al. Altered peptide ligand vaccination with Flt3 ligand expanded dendritic cells for tumor immunotherapy. Proc Natl Acad Sci U S A 2001;98:8809-14.
19. Maier T, Tun-Kyi A, Tassis A et al. Vaccination of patients with cutaneous T-cell lymphoma using intranodal injection of autologous tumor-lysate-pulsed dendritic cells. Blood 2003;102:2338-44.
20. Timmerman JM, Czerwinski DK, Davis TA et al. Idiotype-pulsed dendritic cell vaccination for B-cell lymphoma: clinical and immune responses in 35 patients. Blood 2002;99:1517-26.
21. Schellhammer PF, Herschberg RM. Immunotherapy with autologous antigen presenting cells for the treatment of androgen independent prostate cancer. World J Urol 2005;23:47-9.
22. Krause SW, Neumann C, Soruri A et al. The treatment of patients with disseminated malignant melanoma by vaccination with autologous cell hybrids of tumor cells and dendritic cells. J Immunother 2002;25:421-8.
23. Cranmer LD, Trevor KT, Hersh EM. Clinical applications of dendritic cell vaccination in the treatment of cancer. Cancer Immunol Immunother 2004;53:275-306.
24. Yee C, Greenberg P. Modulating T-cell immunity to tumours: new strategies for monitoring T-cell responses. Nat Rev Cancer 2002;2:409-19.
25. Slingluff CL, Jr., Petroni GR, Yamshchikov GV et al. Immunologic and clinical outcomes of vaccination with a multiepitope melanoma peptide vaccine plus low-dose interleukin-2 administered either concurrently or on a delayed schedule. J Clin Oncol 2004;22:4474-85.
26. Kammula US, Lee KH, Riker AI et al. Functional analysis of antigen-specific T lymphocytes by serial measurement of gene expression in peripheral blood mononuclear cells and tumor specimens. J Immunol 1999;163:6867-75.
27. Ribas A, Glaspy JA, Lee Y et al. Role of dendritic cell phenotype, determinant spreading, and negative costimulatory blockade in dendritic cell-based melanoma immunotherapy. J Immunother 2004;27:354-67.
28. Rosenberg SA, Dudley ME. Cancer regression in patients with metastatic melanoma after the transfer of autologous antitumor lymphocytes. Proc Natl Acad Sci U S A 2004;101(suppl 2):14639-45.
29. Svane IM, Pedersen AE, Johnsen HE et al. Vaccination with p53-peptide-pulsed dendritic cells, of patients with advanced breast cancer: report from a phase I study. Cancer Immunol Immunother. 2004;53:633-41.
30. Svane IM, Pedersen AE, Johnsen HE et al. Vaccination with wild-type p53 peptide-pulsed dendritic cells in patients with advanced breast cancer. Results from a phase II study. Breast Cancer Res Treat 2004;88:S246.
31. Andersen MH, Pedersen LO, Becker JC et al. Identification of a cytotoxic T lymphocyte response to the apoptosis inhibitor protein survivin in cancer patients. Cancer Res 2001;61:869-72.
32. Vonderheide RH, Domchek SM, Schultze JL et al. Vaccination of cancer patients against telomerase induces functional antitumor CD8+ T lymphocytes. Clin Cancer Res 2004;10:828-39.
33. Eralp Y, Wang X, Wang JP et al. Doxorubicin and paclitaxel enhance the antitumor efficacy of vaccines directed against HER 2/neu in a murine mammary carcinoma model. Breast Cancer Res 2004;6:R275-R283.
34. Holtl L, Ramoner R, Zelle-Rieser C et al. Allogeneic dendritic cell vaccination against metastatic renal cell carcinoma with or without cyclophosphamide. Cancer Immunol Immunother 2004.
35. Von Boehmer H. Mechanisms of suppression by suppressor T cells. Nat Immunol 2005;6:338-44.
36. Hatfield P, Merrick A, Harrington K et al. Radiation-induced cell death and dendritic cells: potential for cancer immunotherapy? Clin Oncol R Coll Radiol 2005;17:1-11.
37. Chen Z, Xia D, Bi X et al. Combined radiation therapy and dendritic cell vaccine for treating solid tumors with liver micro-metastasis. J Gene Med 2005;7:506-17.
38. Vieweg J, Su Z, Dannull J. Enhancement of antitumor immunity following depletion of CD4+CD25+ regulatory T cells. ASCO Annual Meeting Proceedings 2004;23:164.
39. Abruzzese E, Bocchia M, Trawinska M et al. Peptide-vaccine treatment associated with imatinib in patients with residual CML disease is able to induce both immunologic response and molecular remission. ASCO Annual Meeting Proceedings 2005;23:167.
40. Koc ON, Redfern C, Wiernik P et al. Successful anti-Id T-cell responses to Id-KLH immunotherapy in B-cell depleted patients with follicular lymphoma (FL) may prolong TTP after rituximab: Phase II trial of Favld. ASCO Annual Meeting Proceedings 2005;23:168.

Dendritcellebaseret cancertvaccine

Stud.med. Stefan K. Burgdorf, professor Mogens H. Claësson & professor Jacob Rosenberg

Amtssygehuset i Gentofte, Kirurgisk Gastroenterologisk Afdeling D, og Københavns Universitet, Panum Institutet, Medicinsk-anatomisk Institut

Ud over at der i dag er kommet flere behandlingsmuligheder til cancerpatienter, er de eksisterende, både inden for kirurgien og inden for onkologien, blevet mere raffinerede. Immunoterapi af cancer har en mere end 100-årig historie bag sig, først og fremmest med anvendelse af uspecifik immunostimulation af cancerpatienter med bakterieekstrakter som Coleys ekstrakt, BCG, IFN- α og IL-2 [1]. Siden 1960'erne er der blevet publiceret resultater fra over hundrede fase I- og fase II-

undersøgelser med specifik immunoterapi, hvor der som immunogener er anvendt dræbte tumorceller, tumorcellelysater, tumorderiverede antigener eller peptider [1]. En af de nyeste behandlingsmuligheder i den specifikke immunoterapi af cancer er injektion af autologe dendritceller, der ex vivo er blevet opformeret og udsat for tumor-antigen/peptid [2].

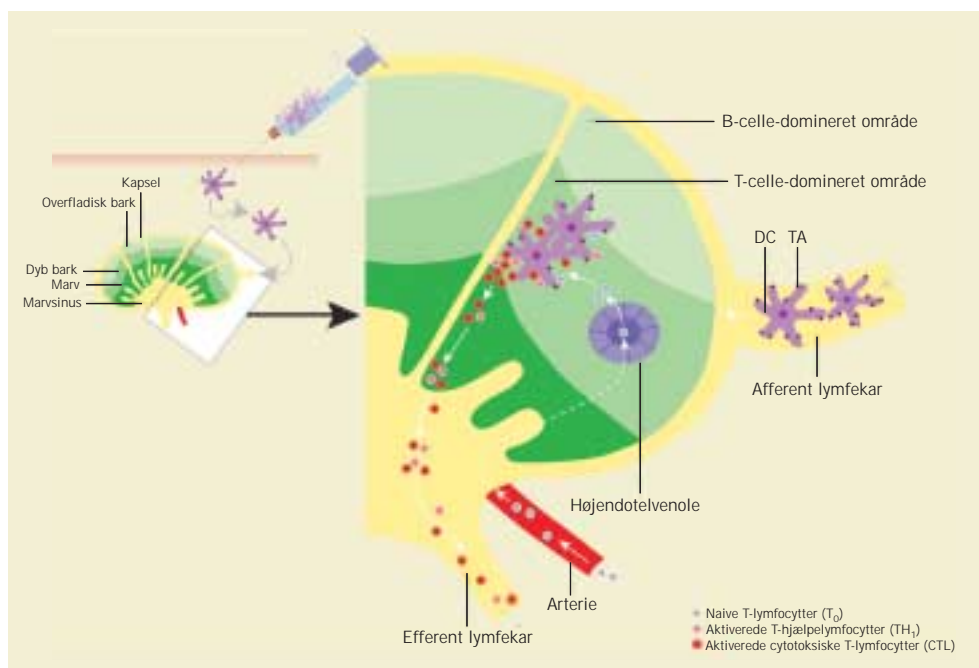
Formålet med nærværende statusartikel er at beskrive mulighederne for cancerimmunoterapi med dendritceller og perspektiverne i dette.

Historisk overblik

Dendritcellen blev første gang beskrevet og navngivet i 1973 af *Steinman & Cohn* [3]. Cellen blev beskrevet som en stor stellat celle med et cytoplasma, der bestod af mange pseudopodier af varierende størrelse og form. Celleformen strakte sig fra bipolar til stellat, og cellen ændrede konstant form og størrelse. Derfor valgte man at kalde cellen for »dendritcelle«.

VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

Figur 1. Immunologiske mekanismer i lymfeknuden efter f.eks. intrakutan injektion af DC. Den antigenpræsenterende DC migrerer til de drænerende lymfeknuder og præsenterer her TA for immunsystemets effektorceller. De nu aktiverede T-lymfocytter forlader lymfeknuden for at udføre deres effekt. DC = dendritceller, TA = tumorantigener.



I dag ved man, at der findes flere forskellige celler af denne type [4, 5]. Disse cellyper går nu alle under betegnelsen dendritceller (DC).

DC kan karakteriseres inden for to typer: myeloide DC (CD11c⁺ CD123^{lo}) og plasmacytoide DC (CD11c⁻ CD123^{hi}). De myeloide DC udgøres af de antigenpræsenterende celler (APC), der findes subepiteltalt og submukøst på hhv. kroppens ydre og indre overflader. De er især vigtige, når kroppens cellulære immunitet skal aktiveres. De plasmacytoide DC er derimod vigtige for det humorale immunrespons [5]. In vitro kan man ved anvendelse af forskellige cytokincocktails generere de to typer af DC fra CD34⁺-hæmopoetiske celler og fra mononukleære celler i perifert blod.

Immunologiske mekanismer

DC præsenterer antigener som peptidfragmenter på cellens vævstype klasse I- og II-antigener (*major histocompatibility complex* (MHC)) for immunsystemets effektorceller [6]. Den antigenbærende DC migrerer til den drænerende lymfeknude eller til milten, hvor DC præsenterer peptidet for T-cellens antigenreceptor (TCR), og det immunologiske respons, humoralt eller cellulært, initieres. DC har den unikke egenskab, at de kan præsenterer og processere eksogent optaget protein som peptider bundet til både MHC klasse I- og klasse II-molekyler [6].

I forbindelse med DC-baseret vaccination af cancerpatienter kan man pulse in vitro-genererede autologe DC med tumorantigen (se nedenfor), som DC så præsenterer for T-cellerne, når DC fra injektionsstedet migrerer ind i de drænerende lymfeknuder (**Figur 1**). Når DC præsenterer antigenet,

kan den via kostimulatoriske molekyler aktivere cytotoksiske T-lymfocytter (CTL), der forårsager celledødeligheden af lige netop de tumorceller, der udtrykker de specifikke antigener. Det er sandsynligvis også nødvendigt, at CD4⁺ T-hjælperceller aktiveres via MHC klasse II-molekyler, for at CTL kan initieres og opretholde deres cytotoksiske effekt.

Tumorantigener

Tumorantigener (TA) kan være muterede proteiner, kaldet tumorspecifikke antigener, eller normale opregulerede proteiner i cancercellerne, kaldet tumorassocierede antigener (TAA) [7]. Der er identificeret mange forskellige TA og TAA, som inddeles i fire kategorier: 1) tumorspecifikke antigener: er specifikke for den enkelte tumor og er bl.a. et resultat af muta-

Forkortelser

| | |
|-------------|---|
| BCG: | <i>Bacillus Calmette-Guerin</i> |
| IFN: | interferon |
| IL: | interleukin |
| DC: | dendritcelle |
| APC: | antigenpræsenterende celle |
| MHC: | <i>major histocompatibility complex</i> |
| TCR: | T-celle-receptor |
| CTL: | cytotoksisk T-celle |
| TA: | tumorantigen |
| TAA: | tumorassocieret antigen |
| CT-antigen: | cancer testis-antigen |
| HLA: | human leukocyt-antigen |

VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

Tabel 1. Klinisk responsrate i 53 studier med dendritbaserede cancervacciner [8]. Responsraten er defineret som et komplet eller partielt respons.

| Tumortype | Responsrate for brug af modne/umodne dendritceller, n (%) | Samlet klinisk responsrate n (%) |
|---------------------------------------|---|----------------------------------|
| Maligne melanomer (15 studier) | Modne DC: 24/93 (26) Umodne DC: 14/105 (13) | 38/198 (19) |
| Hæmatologiske tumorer (7 studier) | Modne DC: 13/51 (26) Umodne DC: 0/8 (0) | 13/59 (22) |
| Uro-genitale tumorer (15 studier) | Modne DC: 12/103 (12) Umodne DC: 29/107 (27) | 41/210 (20) |
| Gastrointestinale tumorer (5 studier) | Modne DC: 2/12 (17) Umodne DC: 0/47 (0) | 2/59 (3) |
| Andre tumorer (11 studier) | Modne DC: 9/63 (14) Umodne DC: 1/26 (4) | 10/89 (11) |

DC = dendritceller.

tioner i tumorcellernes DNA. Eksempler på disse er muteret p53 og RAS, 2) vævs-specifikke antigener: udtrykkes både på det væv, tumoren er derivet fra og på tumoren selv. Eksempler på disse er melanocyt-derivet gp-100 og MART-1, 3) cancer testis-antigener (CT-antigener) udtrykkes på flere forskellige tumortyper og på testisvæv. Eksempler på disse antigener er MAGE-A-, B- og C-grupperne og GAGE-gruppen. 4) opregulerede antigener er antigener, der kan findes i normale vævs- og organceller, men som på tumorerne er stærkt opregulerede. Eksempler på disse er CEA, HER-2, telomerase og survivin [7]. Det ideelle TA til cancervacciner er et antigen, der udtrykkes på samtlige cancerceller, er nødvendig for cancercellens proliferation og overlevelse og ikke findes udtrykt i normale celler.

Vaccinationsprocedure

DC skal aktivere tumorspecifikke T-lymfocytter inde i lymfeknudeparenkymet, hvorfor det er oplagt at injicere DC direkte i lymfeknuderne (ultralydvejledt). I studier er det imidlertid påvist, at responset sandsynligvis er lige så effektivt, når injektionerne gives intradermalt, hvorefter DC migrerer til de drænerende lymfeknuder (jf. Figur 1) [8]. Der er også forsøgt med intravenøs og subkutan administration, men det ser ud til, at disse injektionsveje er mindre effektive.

Da de antigener, man benytter, er relativt svage, vil CTL-hukommelsen være svag og kortlivet, hvorfor vaccinationerne må administreres over en længere tidsperiode. I studier har man vist, at antallet af antigenspecifikke CTL, når deres maksimum omkring dag syv efter vaccinen og vender tilbage til prævaccineniveauet omkring dag 28 [9]. Man vaccinerer derfor typisk med 1-4 ugers intervaller.

Forskellige vaccinetyper

DC kan pulses med TA og TAA på forskellige måder og her ved fremstå som DC-vaccinetyper med forskellige karakterer

og egenskaber. Pulser man DC med et enkelt TA-peptid, kan man med rimelig stor sikkerhed eliminere risikoen for autoimmunitet fra vaccinen. Pulser man derimod DC med multiple TAA-antigenepitoper, vil man formentlig ramme et bredere udvalg af tumorceller og eventuelt stadig kunne ramme tumorceller, som man har vanskeligt ved at detektere immunologisk. Denne strategi medfører dog også en større risiko for vaccineinduceret autoimmunitet, da nogle af kroppens normale celler kan udtrykke antigener, der er homologe med TAA [10].

TAA kan lades på DC som autologt tumorlysat til individuel vaccination eller allogent tumorlysat til vaccination af forskellige patienter, hvis tumorer indeholder de samme tumorantigener som lysatet. Denne vaccinetype, der potentielt rammer en bred vifte af TAA, har vist sig at være effektiv i flere forsøg med både dyr og mennesker [10].

Den mest undersøgte metode er DC pulset med TAA-deriverede peptider, hvor peptiderne syntetiseres fra tumorantigenens aminosyresekvens. Den væsentligste ulempe er, at peptiderne skal matche patientens HLA-type. I studier har man påvist både immunologiske, vævstyperestricerede og klinisk respons med denne vaccinationstype [10].

For at omgå problemet med HLA-restriktion ved anvendelsen af TAA-proteiner, kan man, som ovenfor nævnt, lade umodne DC med hele TAA-proteiner og lade DC om at udvælge de repræsentative peptidfragmenter af TAA. Proteinet kan fremstilles rekombinant og pulses på DC, som så fagocytterer, processerer og præsenterer de relevante peptider [10].

Hvor er vi nu?

Status for cancervacciner baseret på dendritceller er, at den kliniske afprøvning er i fuld gang med over 50 kliniske fase I- og fase II-studier siden 1995. Der har været store fremskridt i forståelsen af de immunologiske mekanismer, der ligger til grund for vaccinerne. I adskillige studier er det vist, at DC-vacciner i mange tilfælde aktiverer et immunologisk respons, mens den kliniske effekt i form af tumorsvind har været mindre udtalt. *Cramer et al* har samlet resultaterne fra 53 kliniske forsøg, hvor i alt 679 cancerpatienter blev vaccineret med DC. Der er mange ukontrollerede variable i studierne, bl.a. antallet af vacciner, antallet af celler i hver vaccine, administrationsvej og -frekvens, brugen af forskellige antigener og evt. brugen af adjuvant, men i alle studierne har man benyttet ex vivo-genererede DC, der er pulset med antigener før injektion. Forfatterne grupperede resultaterne efter tumortype og udregnede en samlet klinisk responsrate for hvert enkelt studie. Klinisk respons var defineret som komplet eller partielt respons [8], og data for de forskellige cancertyper fremgår af **Tabel 1**. Det skal her bemærkes, at resultaterne i Tabel 1 er opnået hos patienter med dissemineret cancersygdom, hvor konventionel onkologisk behandling i mange tilfælde var opgivet. Det er bemærkelsesværdigt, at 29 af de 679 patienter opnåede komplet remission af deres cancersygdom. Det var overvejende

VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

patienter med malignt melanom og non-Hodgkins lymfom, der oplevede komplet remission. Opfølgningstiden varierede fra 12 måneder til 56 måneder.

Selv om det endnu er for tidligt at vurdere den terapeutiske effekt af DC-baserede vacciner, tyder både resultaterne fra dyreforsøg og de opnåede kliniske resultater på, at denne vaccinationsform er de tidligere former overlegen. Årsagerne hertil er bl.a. at tidligere problemer med den afferente del af immunresponsen, dvs. primingen af cancerellespecifikke T-celler med TA, delvis er bragt under kontrol, når DC opmodnes og pulses med TA in vitro. Desuden genereres der ved DC-baseret vaccination primært et inflammatorisk respons med Th1/CTL-overvægt. Endelig vil anvendelsen af flere forskellige TA i en DC-baseret vaccine kunne resultere i, at cancercellen angribes gennem mere end et enkelt afstødningsepitop.

Resultater tyder dog på, at vaccinationen i sig selv sjældent er tilstrækkelig. Det skyldes bl.a., at mange cancerpatienter, især med dissemineret sygdom, formentlig har en vis grad af immunologisk inkompetence. Dyreeksperimentelle undersøgelser viser, at vaccinen skal kombineres med andre typer af immunterapi.

Denne terapi skal rettes mod patientens immunhomeostase f.eks. ved blokering af regulatoriske, immunsupprimerende T-celler, styrkelse af dræber T-lymfocytternes aktivering og proliferation, forskellige immunstimulerende cytokiner og antiangiogenetiske stoffer. Endelig vil det være afgørende for cancertvaccinens succes, at man på forhånd bliver i stand til at identificere de immunologiske forhold hos patienten, der er nødvendige for et optimalt immunologisk respons. Her tænkes på identifikation af de mest optimale tumorantigener og immunprofiler for vaccination og kombinationsbehandling. Der savnes stadig større randomiserede undersøgelser, hvor effekten af dendritcellevaccination over for konventionelle behandlingsmetoder eller i visse tilfælde over for placebo bliver estimeret.

Behandlingen med dendritcellevacciner foretages p.t. på patienter med dissemineret cancersygdom. Nogle af disse patienter har en tumormasse, der er så stor, at selv et optimalt immunrespons sandsynligvis ikke vil være tilstrækkeligt til at kunne påvise tumorregression. Effekten af behandlingen kan derfor først vurderes retfærdigt, når der er udført undersøgelser på patienter med cancer i mindre avancerede stadier.

I Danmark kører der p.t. protokollerede DC-studier på to sygehuse. På amtssygehuset i Herlev har man igangværende peptid- og tumorlysatbaserede DC fase I- og fase II-vaccinationsprotokoller for patienter med dissemineret cancer mammae, metastaserende renalcellecarcinom og malignt melanom.

På amtssygehuset i Gentofte undersøger man patienter med metastaserende kolorektal cancer med en tumorlysatbaseret DC-vaccine, hvor lysatet er præselekeret for sit høje indhold af cancer testis-antigener.

Konklusion

Fremtidsperspektiverne i DC-baserede cancertvacciner er meget spændende. Det er stadig uvist, hvor stor effekt man kan forvente af vaccinerne, og der er fortsat en række uafklarede problemstillinger vedr. fremstilling og administration af vaccinerne, hvilket bør undersøges videnskabeligt. DC-vacciner vil i fremtiden i kombination med immunregulerende behandling måske kunne indgå enten alene eller sammen med kirurgi, kemo- og stråleterapi til cancerpatienter, men den endelige plads i behandlingen afventer resultaterne af igangværende og planlagte kliniske undersøgelser.

Korrespondance: *Stefan K. Burgdorf*, Kirurgisk Gastroenterologisk Afdeling D, Amtssygehuset i Gentofte, DK- 2900 Hellerup.
E-mail: stebur01@gentoftehosp.kbhamt.dk

Antaget: 11. juli 2005

Interessekonflikter: *Mogens H. Claësson* og *Jacob Rosenberg* er medlemmer af bestyrelsen i firmaet DanDrit Biotech A/S, der fremstiller og forsker i dendritcellebaserede cancertvacciner.

Litteratur

1. Huber CH, Wolfel T. Immunotherapy of cancer: from vision to standard clinical practice. *J Cancer Res Clin Oncol* 2004;130:367-74.
2. Vieweg J, Jackson A. Modulation of antitumor responses by dendritic cells. *Springer Semin Immunopathol* 2005;26:329-41.
3. Steinman RM, Cohn ZA. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution. *J Exp Med* 1973;137:1142-62.
4. Banchereau J, Palucka AK. Dendritic cells as therapeutic vaccines against cancer. *Nat Rev Immunol* 2005;5:296-306.
5. Shortman K, Liu YJ. Mouse and human dendritic cell subtypes. *Nat Rev Immunol* 2002;2:151-61.
6. Rodriguez A, Regnault A, Kleijmeer M et al. Selective transport of internalized antigens to the cytosol for MHC class I presentation in dendritic cells. *Nat Cell Biol* 1999;1:362-8.
7. Mocellin S, Rossi CR, Lise M et al. Colorectal Cancer Vaccines: Principles, Results, and Perspectives. *Gastroenterology* 2004;127:1821-37.
8. Cranmer LD, Trevor KT, Hersh EM. Clinical applications of dendritic cell vaccination in the treatment of cancer. *Cancer Immunol Immunother* 2004; 53:275-306.
9. Chakraborty NG, Chattopadhyay S, Mehrotra S et al. Regulatory T-cell response and tumor vaccine-induced cytotoxic T lymphocytes in human melanoma. *Hum Immunol* 2004;65:794-802.
10. Markiewicz MA, Kast WM. Progress in the development of immunotherapy of cancer using ex vivo-generated dendritic cells expressing multiple tumor antigen epitopes. *Cancer Invest* 2004;22:417-34.