

# Tumorantigener presentert for T-hjelpelymfocytter – kreftvaksinens kritiske komponenter

Kreftsvulsters ervervede mutasjoner innebærer at deres proteinsammensetning er distinkt forskjellig fra normale celler, som immunsystemet er tolerant overfor. Mobilisering av pasientens immunsystem mot maligne celler som gjenstår etter konvensjonell behandling er en attraktiv terapeutisk mulighet, fordi lymfocytter responderer med høy sensitivitet og spesifisitet mot fremmed vev.

Potensialet til kreftvaksiner rettet mot T-hjelpelymfocytter diskuteres i lys av publiserte data, inkludert forfatterens egne studier.

T-hjelpelymfocytter dreper cancer-celler ved direkte celle-til-celle-kontakt, stimulerer andre cytotoxiske effektorceller og responderer mot autologe tumorantigener som HER-2/neu (mamma- og ovarialcancer), tyrosinase (malignt melanom), p21 ras (kolorektal- og pancreascancer), BCR-ABL (kronisk myelogen leukemi) og immunoglobulin (B-cellelymfom). HER-2/neu og tyrosinase er ikke mutert, p21 ras og BCR-ABL representerer et begrenset sett mutasjoner, og genetiske varianter av immunoglobulin kan karakteriseres ved hjelp av hybridomteknologi.

Målrettet screening kan derfor hos et stort antall kreftpasienter identifisere peptidsekvenser som er aktuelle for terapeutisk immunisering. Peptider kan syntetiseres slik at de forener immunogenisitet i det enkelte individ med resistens mot enzymatisk nedbrytning, og blir nå prøvd ut som kreftvaksiner.

Kreftsykdommene dreper halvparten av sine ofre (1). De fleste dødsfallene skyldes lokale residiv eller ekspansjon av metastaser som er utilgjengelige for kirurgi og resistente mot bestråling og cytostatika. Disse behandlingsformenes utilstrekkelighet innebærer at nye terapeutiske prinsipper må utvikles, rettet mot cancerceller som gjenstår etter konvensjonell tumorreduktiv terapi. Mobilise-

Kristian Bartnes

kirkrb@rito.no

Avdeling for hjerte-/lunge-/karkirurgi

Regionsykehuset i Tromsø

9038 Tromsø

Bartnes K.

**Tumour antigens presented to T helper lymphocytes – critical components of the cancer vaccine.**

*Tidsskr Nor Lægeforen 2001; 121: 2941–5.*

**Background.** Due to acquired mutations, the protein composition of malignant tumours is distinct from that of normal cells to which the immune system is tolerant. Mobilisation of the patient's immune system against malignant cells remaining after conventional treatment is an attractive therapeutic option since lymphocytes respond with high sensitivity and specificity to non-self.

**Material and methods.** The potential of cancer vaccines targeted to T helper cells is discussed on the basis of published data including the author's studies.

**Results.** T helper cells kill cancer cells by direct cell-cell contact, stimulate other cytotoxic effector cells and respond to autologous tumour antigens like HER-2/neu (mammary and ovary cancer), tyrosinase (malignant melanoma), p21 ras (colorectal and pancreatic cancer), BCR-ABL (chronic myeloid leukaemia) and immunoglobulin (B-cell lymphoma). HER-2/neu and tyrosinase are not mutated, p21 ras and BCR-ABL represent a restricted set of mutations, and genetic variants of immunoglobulin can be characterised by hybridoma technology.

**Interpretation.** Targeted screening can, in a large number of cancer patients, identify peptide sequences potentially useful for therapeutic immunisation. Peptides can be designed to combine immunogenicity in the individual patient with proteolytic resistance, and are presently being tested as cancer vaccines.

Omarbeidet prøveforelesning for den medisinske doktorgrad, Det medisinske fakultet, Universitetet i Tromsø, 1998

ring av pasientens immunsystem representerer en attraktiv mulighet, av flere grunner:

Immunresponsen er *spesifikk*, idet den effektivt skiller individets egne molekyler fra fremmede selv ved høy grad av strukturlikhet. Eksempelvis erfarte man i diabetikerbehandlingen at antistoffer produsert etter substitusjon med svineinsulin ikke kryssreagerer med humant insulin, på tross av at de to

variantene er identiske i 98% av aminosyreposisjonene. I skarp kontrast til dette står den ufullstendige diskriminering mellom normalt og patologisk vev som er et hovedproblem ved konvensjonell kreftbehandling: Risikoen for uopprettelig å skade friske organer er dosebegrensende for cellegifter så vel som for ioniserende stråling.

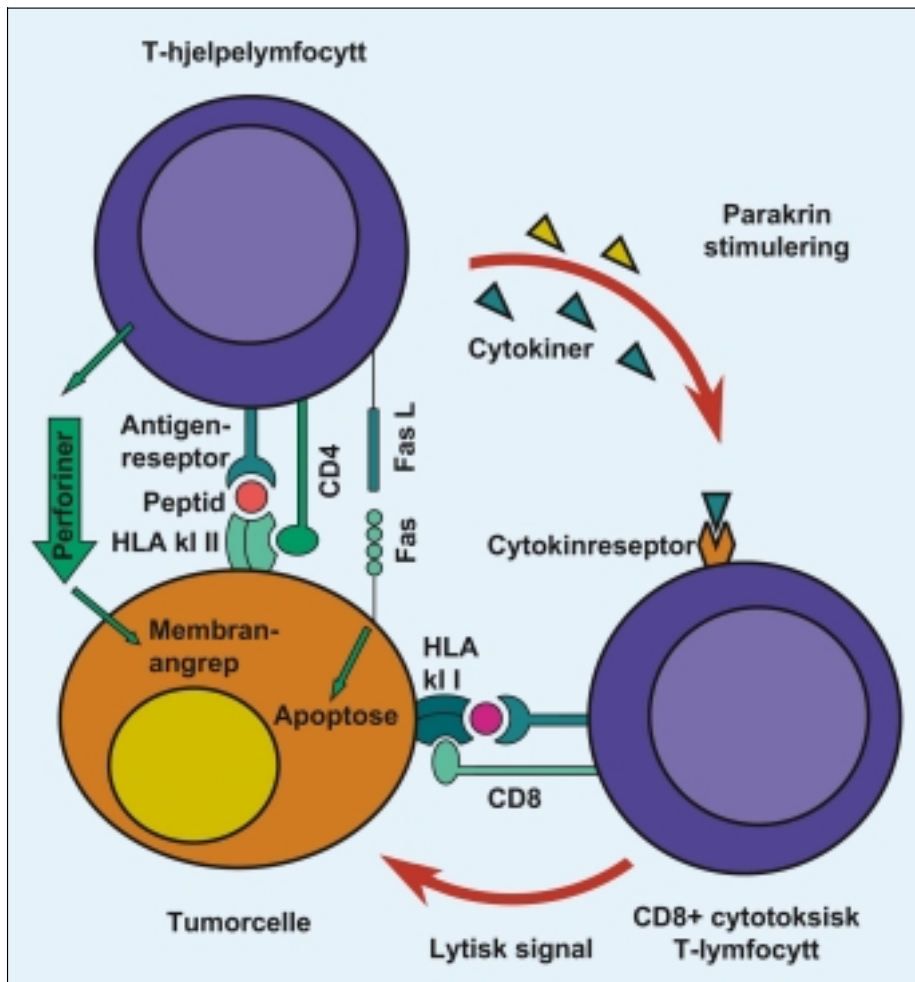
Immunresponsen er *sensitiv*. Cytotoksiske T-lymfocytter kan detektere selv ett enkelt antigenmolekyl på overflaten av en målcelle, som dermed blinkes ut for drap (2).

Immunsystemet har *varig hukommelse*, hvilket innebærer at forsvarsresponsen er kraftigere og inntreter raskere ved gjentatt eksposisjon selv mange tiår etter det første møtet med antigenet. Hvordan dette medfører langvarig, effektiv beskyttelse er godtgjort av kong Christian VIIIs sendemann til Færøyene, hvor en meslingepidemi i 1781 hadde desimert befolkningen. Da et skip i 1846 på ny brakte smitten til øygruppen, ble ingen over 64 år rammet (3) – de var immune etter å ha gjennomgått infeksjonen i tidligere barneår.

*Lymfocytrepertoarets størrelse* innebærer evne til å mobilisere en spesifikk immunrespons mot nærmest ethvert makromolekyl, idet det enkelte individ besitter minimum flere titalls millioner lymfocyttkloner som hver uttrykker en unik antigenreseptor (4). Repertoaret er i praksis bare begrenset av barrieren mot autoimmunitet: Toleransemekanismer eliminerer umodne T- og B-lymfocytter som bærer antigenreseptorer med affinitet for kroppsegne molekyler.

Immunsystemet har stor *slagkraft* mot celler som er genetisk fremmede, jevnfør den fullstendige vevsødeleggelse som er fullbyrdet kort tid etter transplantasjon til en ikke-immunsupprimert mottaker.

I likhet med et allotransplantat består en kreftsvulst av celler som for vertsorganismen er genetisk fremmede, idet mutasjoner både er en nødvendig forutsetning for og en typisk følge av malign transformasjon. Til forskjell fra normale genprodukter, som induserer toleranse via eliminering av forbudte lymfocyttkloner i beinmarg og thymus, uttrykkes proteiner kodet av muterte tumorgener først etter at modne, immunkompetente lymfocytter har inntatt perifere lymfoide organer. Gitt det enorme lymfocytrepertoaret inneholder disse derfor kloner med anti-



**Figur 1** Stilt overfor en HLA-klasse II-positiv kreftcelle kan T-hjelpelymfocytter som gjenkjenner tumorantigenpeptid/klasse II-komplekser lysere kreftcellen ved å frigjøre perforin, som ødelegger plasmamembranen, og inducere apoptose (programmert celledød) via interaksjon mellom Fas ligand og Fas. Dersom tumor også uttrykker HLA-klasse I, kan angrepet forsterkes ytterligere ved at cytokiner fra aktiverte T-hjelpelymfocytter stimulerer CD8-positiv cytotoxiske T-celler. CD8-positiv T-celler har reseptor for peptid/klasse I-komplekser og råder over et cytotoxiske armamentarium som inkluderer perforin, Fas ligand og granzym (proteaser). Via slik parakrin stimulering av CD8-positiv T-celler (mediert av lokalt virkende cytokiner, bl.a. interleukin-2) kan T-hjelpeceller bidra til drap også av klasse II-negative tumorer

genreseptorer rettet mot tumorproteiner. Terapeutisk immunisering med tumorspesifikke proteinsekvenser sikrer mot å aktivere kreftpasientens tumorreaktive lymfocytter. Målet er å oppnå selektiv og komplett utryddelse av kreftceller etterlatt av konvensjonell behandling, mens friskt vev bevares uskadet og hukommelsesceller utvikles som en livslang barriere mot residiv.

### Aktivering av tumorspesifikke T-hjelpelymfocytter

En optimal antitumorrespons krever etter alt å dømme aktivering av CD4-positiv T-lymfocytter (T-hjelpeceller), da disse dirigerer alle immunsvaret rettet mot proteinantigener og fremmer humorale så vel som cellulære effektorfunksjoner ved å stimulere makrofager, B-lymfocytter og CD8-positiv cytotoxiske T-celler. Tumorinfiltrerende T-hjelpeceller gjenkjenner unike tumorantigener i

maligne melanomer (5), B-cellelymfomer (6) samt karsinomer utgående fra mamma (7), colon (8) og ovarium (9). T-lymfocytter aktiveres initialt i lymfeknuter og andre perifere lymfoide organer. At kreftsvulster utvikler seg på tross av en viss spontan T-celleaktivering, kan skyldes at utilstrekkelige mengder tumorantigen når lymfeknutene før svulsten ekspanderer utover immunresponsens rekkevidde. Følgende strategi for utvikling av kreftvaksiner peker seg ut:

- Tumorspesifikke antigener må identifiseres og renfremstilles.
- Vaksinen må inneholde komponenter som aktiverer T-hjelpeceller.
- Immunisering må forutgå av maksimal konvensjonell tumorreduksjon.

### T-hjelpeceller medierer tumordrap

T-hjelpecelleaktivering starter med at en klonalt distribuert reseptor engasjerer pep-

tidfragmenter av antigenet i kompleks med HLA-klasse II (HLA-DP, -DQ og -DR)-molekyler på overflaten av en antigenpresenterende celle (10). T-hjelpeceller kan derfor ikke direkte angripe tumorer som ikke uttrykker HLA-klasse II-molekyler, men kan indirekte mediere tumordrap ved å stimulere cytotoxiske CD8-positiv T-lymfocytter og makrofager. Stilt overfor HLA-klasse II-bærende svulster vil T-hjelpecellene selv kunne ha eksekutørens rolle (11) (fig 1): Etter at antigenreseptor har bundet peptid/HLA-klasse II-kompleks, induseres tumorapoptose ved at T-cellens Fas ligand engasjerer kreftcellens Fas. Alternativt kan T-hjelpeceller lysere maligne tumorer ved å frigjøre det komplementliknende proteinet perforin, som ødelegger målcellens plasmamembran (12). Mens HLA-klasse I finnes på de fleste kjerneholdige celler, er klasse II-ekspressjon normalt begrenset til hovedsakelig lymfocytter, dendritiske celler og makrofager. Med hensyn til T-hjelpecellemediert cytotoxicitet er det derfor vesentlig at mange karsinomer uttrykker HLA-klasse II (13, 14, tab 1 (13–15)), selv om de utgår fra klasse II-negativt epitel. Dette åpner for at terapeutisk immunisering kan mobilisere cytotoxiske T-hjelpeceller mot flere hyppig forekommende krefttyper. Man er nå i ferd med å vinne klinisk erfaring med dette behandlingsprinsippet, idet en rekke tumorantigener som presenteres for T-hjelpeceller, som peptid/HLA-klasse II-komplekser, nylig er identifisert og definert på molekylært nivå.

### Tumorantigener som presenteres for T-hjelpelymfocytter

#### Mutert p21 ras

Mutasjoner i p21 ras-protoonkogenet medfører at proliferasjonsfremmende signaler vedvarende formidles til cellekjernen, og mutasjonene bidrar slik til malign transformasjon (16). Hvert år får 2 100–2 900 nordmenn en kreftsvulst som uttrykker én blant et høyst begrenset antall punktmutasjoner i dette genet (1, 17–22), idet enkeltstående nukleotidsubstitusjoner i kodon 12, 13 eller 61 finnes i 90 % av pancreasadenokarsinomer (17), i 60 % av follikulære thyreoideakarsinomer (18), i 39–65 % av kolorektale adenokarsinomer (19), i 50 % av gallegangskarsinomer (20), i 30 % av bronkiale adenokarsinomer (21) og i 20 % av maligne melanomer (22). Peptider fra mutert p21 ras presenteres av en rekke HLA-klasse II-varianter og stimulerer T-hjelpelymfocytter fra kreftpasienter (23, 24). Ansporet av disse funn har norske forskere oppnådd aktivering av spesifikke, cytotoxiske T-hjelpeceller ved å immunisere pancreascancerpasienter med mutert p21 ras-peptid (25).

#### p210<sup>BCR-ABL</sup> fusjonsprotein

80–90 % av kroniske myelogene leukemier bærer Philadelphia-kromosomet, som dannes ved utveksling av DNA mellom kromosomene 9 og 22 (26). Denne genetiske rear-

rangeringen resulterer i et nytt gen ved at c-ABL-protoonkogenet fra kromosom 9 bringes inn til BCR-genet ved bruddstedet i kromosom 22. I naboposisjon transkriberes ABL og BCR som ett funksjonelt gen, som uttrykkes i form av et fusjonsprotein, p210<sup>BCR-ABL</sup>. Dette har abnorm tyrosinkina-seaktivitet og interfererer med signalveier som regulerer celledeling (27). Bruddsted-peptidet, som representerer den aminosyre-sekvens som fremkommer ved sammenføyning av de to genelementene, er en tumorspesifikk struktur. Dette har potensial i vaksinasjonsøyemed, idet leukemiske blaster gjenkjennes av HLA-DR4-restrikte T-hjelpeceller drevet frem ved immunisering med bruddstedpeptidet in vitro (28). Immunologisk toleranse er ikke til hinder for denne responsen: Mens sensuren i thymus eliminerer kloner som gjenkjenner henholdsvis BCR- og ABL-genproduktene, etableres ikke toleranse for sammenføyingsstedet i p210<sup>BCR-ABL</sup> fordi fusjonsproteinene først oppstår etter at et komplett T-lymfocytrepertoar er modnet.

#### Tyrosinase

T-hjelpeceller som inntar maligne melanomer, responderer mot peptider fra tyrosinase (5), et enzym som er involvert i melaninsyntesen og uttrykt utelukkende i melanocyttene. Noe overraskende er tyrosinasegenet ikke mutert, altså er melanominfiltrerende T-hjelpeceller spesifikt rettet mot et normalt, kroppseget protein. Fravær av toleranse tilskrives den vevsspesifikke ekspresjonen, som hindrer at T-lymfocytter møter tyrosinasepeptider mens de fremdeles er i thymus og følsomme for toleranseinduksjon. Normale melanocyttene unngår angrep fra T-hjelpeceller fordi de ikke uttrykker HLA-klasse II. 25% av maligne melanomer, derimot, bærer HLA-klasse II-molekyler (15) og er dermed mulige mål for tyrosinasespesifikke T-hjelpeceller. Noen melanompasienter utvikler vitiligo i forløpet av immunterapi (29). Dette illustrerer at immunresponsen retter seg mot antigener som er felles for melanocytter og normale melanocyttene, og viser at brudd på toleransen for normalt vev kan være en bivirkning ved immunologisk behandling.

#### HER-2/neu

Maligne cellers ukontrollerte proliferasjon er ofte assosiert med aberrant aktivering av gener som er involvert i cellevekstregulering. HER-2/neu-genet antas å tilhøre denne kategorien, da det koder for et protein som har likhetstrekk med epidermal vekstfaktorreseptor (30) og er overuttrykt i mange adenokarsinomer, bl.a. 30% av maligne mamma- og ovarialtumorer (31). Hos brystkreftpasienter forekommer T-hjelpeceller så vel som antistoffer spesifikt rettet mot onkoproteinene HER-2/neu (32). Dette synes paradoksal, på bakgrunn av at HER-2/neu-genet, i likhet med genet for tyrosinase, ikke er mu-

**Tabell 1** HLA-klasse II-ekspresjon i maligne svulster (13–15)

Vev	Tumor	Andel pasienter med tumor som uttrykker HLA-DR (%)
Bryst	Duktalt karsinom	21
	Lobulært karsinom	26
Hud	Malignt melanom	25
	Adenokarsinom	90
Livmorhals	Plateepitelkarsinom	83
	Bronkialcancer, samlet	18
Magesekk	Adenokarsinom	53
Strupe	Plateepitelkarsinom	12
	Adenokarsinom	32
Tykktarm	Mucinøst karsinom	63

tert. Forklaringen på at genproduktet ikke inducerer toleranse er sannsynligvis den beskjedne mengden som produseres etter at lymfocytmodningen begynner å skyte fart.

Cancerassosiert ekspresjon, presentasjon i form av peptid/HLA-klasse II-komplekser og fravær av toleranse gjør HER-2/neu til et mulig mål for T-hjelpecellebasert aktiv immunisering (33). Også passiv immunisering er aktuelt: Et monoklonalt antistoff (trastuzumab) mot HER-2/neu ble godkjent av Food and Drug Administration i 1998 og har siden vært et etablert behandlingstilbud for amerikanske kvinner med metastaserende mammacancer (34).

#### Immunglobulin

Immunglobulin er et tumorspesifikt antigen på B-celleneoplasmer, idet B-lymfocytters variable immunglobulindomener konstituerer en unik, klonotypisk antigenprofil («idiotype») (35). Dyreforsk har vist at B-cellelymfomer presenterer sitt klonotypiske immunglobulin i form av peptid/H-2 (tilsvarende HLA) klasse II-komplekser (36) og dermed kan gjenkjennes av idiotypespesifikke T-hjelpeceller som effektivt angriper tumorcellene (37). Immunglobuliner har altså ikke alltid rollen som immunresponsens våpen, men kan selv være skyteskive. Dette utnyttes nå klinisk. Ved hjelp av hybridomteknologi produseres tumors immunglobulinvariant med utgangspunkt i maligne B-celler fra biopsier. Immunisering med konjugater av rensede tumorimmunglobulin og det sterke immunogene fremmedprotein hemocyanin etter avsluttet kjemoterapi resulterte i spesifikk immunrespons hos 20 og komplett tumorregresjon hos to av 41 pasienter med

follikulært, lavgradig non-Hodgkins lymfom (38). Perioden uten tumorprogresjon var i respondergruppen 7,9 år (median), men bare 1,3 år blant ikke-responderne. Randomiserte, prospektive studier er imidlertid nødvendige for å avklare verdien av slik behandling. Formodentlig kan metoden forbedres ved å kombinere T-hjelpecellerrettede vaksiner med administrasjon av spesifikke antistoffer, idet våre studier viser at antistoffer mot immunglobulin inducerer kraftig økt ekspresjon av immunglobulinpeptid/klasse II-komplekser på lymfocelleoverflaten (39).

#### Kombinasjon av HLA-klasse I- og -II-bindende vaksinekomponenter

De T-hjelpecelledefinerte tumorantigenene HER-2/neu, tyrosinase, mutert p21 ras, p210<sup>BCR-ABL</sup> og immunglobulin er utførlig karakterisert på molekylært nivå (5, 23, 24, 28, 32, 40). Også CD8-positive cytotoxiciske T-lymfocytter, som gjenkjenner tumorantigenpeptider i kompleks med HLA-klasse I, er vist å respondere mot disse antigenene: Mutert p21 ras presenteres av HLA-A2 (41), -B12 (42) og -B35 (43), tyrosinase av HLA-A2 (44), -A24 (45), -B35 (46) og -B44 (47), p210<sup>BCR-ABL</sup> av HLA-A3, -A11 og -B8 (48), HER-2/neu på HLA-A2 (49) og immunglobulin på den murine analog til HLA-B (50). Vaksiner satt sammen av både HLA-klasse I- og -klasse II-bindende peptider og derfor aktiverer både CD4- og CD8-positive T-lymfocytter, trer dermed frem som en attraktiv mulighet, idet interaksjoner mellom disse celletypene er grunnlag for et optimalt cellulært immunangrep.

#### Utfordringer ved utvikling av peptidvaksiner

En hemsko for utnyttelse av peptider som vaksiner er den betydelige HLA-polymorfismen. Til de 314 kjente allele gener for HLA-klasse II svarer det samme antall varianter av klasse II-proteiner med unike peptidbindingsegenskaper. Peptider som kan binde en gitt HLA-variant, har visse strukturelle fellesstrekk – motiver – typisk representert ved en sekvens som spenner over ni aminosyreposisjoner (10). Ulike peptidbindingsmotiver kan være delvis overlappende, og mange antigene tumorpeptider presenteres av flere ulike HLA-klasse II-varianter (eksempelvis presenteres p21 ras-peptid med mutasjonen glycin→arginin i posisjon 12 på så vidt ulike klasse II-molekyler som HLA-DP3, -DQ7 og -DR2 (51)). Likevel vil et tumorderivert peptid som hos én pasient effektivt presenteres for T-hjelpeceller, hos en annen kunne mangle immunogenisitet fordi peptidet ikke går i kompleks med dennes HLA-variant. Den raskt voksende kunnskap om de ulike HLA-varianters peptidbindingsmotiver åpner for at dette problemet kan angripes med peptidsyntesestrategier som sikter mot å øke affiniteten mellom HLA-molekyl og peptid. På dette vis lyktes man ved hjelp

av en enkeltstående aminosyresubstitusjon å bedre affiniteten mellom tyrosinasepeptidet 448–462 og HLA-DR4 slik at antigenisiteten økte nær 1 000 ganger (52). Resultater fra eget laboratorium viser at man kan øke et peptids affinitet for HLA-klasse II betydelig også ved modifikasjoner utenfor den ni aminosyrer lange sekvensen som bestemmer allelisk spesifisitet, idet en forlengelse med én aminosyre tre posisjoner N-terminalt for selve motivsekvensen medførte en 15-folds økning av affiniteten mellom et immunglobulinpeptid og HLA-DR1 (53).

Peptider er sårbare for enzymatisk nedbrytning. Effektiv beskyttelse mot proteaser vil derfor øke peptiders anvendelighet som vaksiner. Proteolytisk resistens kan oppnås ved å erstatte de naturlige (L-)aminosyrene med korresponderende stereoisomere D-aminosyrer (inverso-modifikasjon), da proteolytiske enzymer spesifikt angriper L-aminosyrer. Imidlertid eliminerer inverso-modifikasjonen den biologiske aktivitet ved å endre orienteringen til aminosyrenes sidekjeder. De funksjonelle egenskapene til det naturlige peptidet kan likevel etterliknes ved samtidig å reversere peptidbindingene (retro-modifikasjon; -COCHRNH- istedenfor -NHCHRCO-) (54). I eksperimenter basert på immunglobulinspesifikke T-hjelpeseller fant vi at en retro-inverso-analog av immunglobulinpeptidet i høye konsentrasjoner frembrakte maksimal cytokinproduksjon (55). Også B-lymfocytter og cytotoxiske CD8-positive T-celler er vist å respondere mot retro-inverso-modifiserte antigenanaloger (56, 57). Dette åpner for at denne typen pseudopeptider kan finne universell anvendelse som vaksiner.

### Immunologisk kreftbehandling – fra anekdotisk suksess til rasjonell peptidsyntese

Et hundreår er gått siden William Coley helbredet sarkompasienter ved inokulering av patogene streptokokker og dermed frembrakte holdepunkter for at immunaktivering har et terapeutisk potensial ved kreft (58). Coleys empiriske tilnærming er i den molekylærbiologiske æra erstattet med systematisk utprøving av rasjonelt syntetiserte kreftvaksiner basert på ny viten innenfor immunologi, tumorgenetik og peptidkjemi. Blant de fundamentale observasjoner er at HLA-klasse II-restrikte T-hjelpelymfocytter kan drepe kreftceller og at peptider derivert fra de strukturelt veldefinerte tumorantigenene HER-2/neu, tyrosinase, mutert p21 ras, p21<sup>BCR-ABL</sup> og immunglobulin presenteres effektivt på HLA-klasse II-molekyler. Ett eller flere av disse antigenene er uttrykt hos ca. 5 000 av dem som årlig diagnostiseres med kreftsykdom i Norge (1, 15, 17–22, 26, 32). Potensielle terapeutiske immunogener vil raskt kunne bli identifisert hos den enkelte pasient ved hjelp av screening – komplett genetisk karakterisering av den enkelte tumor er ikke nødvendig fordi de nevnte tu-

moreptidene enten representerer et begrenset antall typiske mutasjoner (punktmutasjoner i K-ras er begrenset til tre kodoner, BCR og ABL fuserer på ett av to steder), lett isolerbare klonale varianter (immunglobulin) eller er produkt av ikke-muterte gener (tyrosinase, HER-2/neu). Den stadig økende kunnskap om HLA-molekylenes peptidbindingsmotiver muliggjør fremstilling av peptidvaksiner tilpasset pasientens HLA-varianter, med økt immunogenisitet som følge, og retro-inverso synteseteknologi kan utnyttes for å tilføre peptider proteolytisk resistens.

### Litteratur

1. Kreftregisteret. <http://www.kreftregisteret.no> (28.12.2000).
2. Sykulev Y, Joo M, Vturina I, Tsomides TJ, Eisen HN. Evidence that a single peptide-MHC complex on a target cell can elicit a cytolytic T cell response. *Immunity* 1996; 6: 565–71.
3. Panum PL. Observations made during the epidemic of measles on the Faroe Islands in the year 1846. *Med Classics* 1939; 3: 839–86.
4. Arstila TP, Casrouge A, Baron V, Even J, Kanellopoulos J, Kourilsky P. A direct estimate of the human alphabet T cell receptor diversity. *Science* 1999; 286: 958–61.
5. Topalian SL, Rivoltini L, Mancini M, Markus NR, Robbins PF, Kawakami Y et al. Human CD4+ T cells specifically recognize a shared melanoma-associated antigen encoded by the tyrosinase gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 9461–5.
6. Schwartzentruber DJ, Stetler-Stevenson M, Rosenberg SA, Topalian SL. Tumor-infiltrating lymphocytes derived from select B-cell lymphomas secrete granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and tumor necrosis factor- $\alpha$  in response to autologous tumor stimulation. *Blood* 1993; 82: 1204–11.
7. Schwartzentruber DJ, Topalian SL, Mancini M, Rosenberg SA. Specific release of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, tumor necrosis factor- $\alpha$ , and IFN- $\gamma$  by human tumor-infiltrating lymphocytes after autologous tumor stimulation. *J Immunol* 1991; 146: 3674–81.
8. Hom SS, Rosenberg SA, Topalian SL. Specific immune recognition of autologous tumor by lymphocytes infiltrating colon carcinomas: analysis by cytokine secretion. *Cancer Immunol Immunother* 1993; 36: 1–8.
9. Dadmarz RD, Ordoubadi A, Mixon A, Thompson CO, Barracchini KC, Hijazi YM et al. Tumor-infiltrating lymphocytes from human ovarian cancer patients recognize autologous tumor in an MHC class II-restricted fashion. *Cancer J Sci Am* 1996; 2: 263.
10. Engelhard VH. Structure of peptides associated with class I and class II MHC molecules. *Annu Rev Immunol* 1994; 12: 181–207.
11. Hahn S, Erb P. The immunomodulatory role of CD4-positive cytotoxic T-lymphocytes in health and disease. *Int Rev Immunol* 1999; 18: 449–64.
12. Yasukawa M, Ohminami H, Yakushijin Y, Arai J, Hasegawa A, Ishida Y et al. Fas-independent cytotoxicity mediated by human CD4+ CTL directed against herpes simplex virus-infected cells. *J Immunol* 1999; 162: 6100–6.
13. Garrido F, Cabrera T, Concha A, Glew S, Ruiz-Cabello F, Stern PL. Natural history of HLA expression during tumor development. *Immunol Today* 1993; 14: 491–9.
14. Cabrera T, Ruiz-Cabello F, Garrido F. Biological implications of HLA-DR expression in tumours. *Scand J Immunol* 1995; 41: 398–406.
15. Konstadoulakis MM, Zezeridis M, Hatziyi-

16. Scharovsky OG, Rozados VR, Gervasoni SI, Matar P. Inhibition of ras oncogene: a novel approach to antineoplastic therapy. *J Biomed Sci* 2000; 7: 292–8.
17. Almoguera C, Shibata D, Forrester K, Martin J, Arnheim N, Perucho M. Most human carcinomas of the exocrine pancreas contain mutant c-K-ras genes. *Cell* 1988; 53: 549–54.
18. Lemoine NR, Mayall ES, Wyllie FS, Williams ED, Goyns M, Stringer B et al. High frequency of ras oncogene activation in all stages of human thyroid tumorigenesis. *Oncogene* 1989; 4: 159–64.
19. Capella G, Cronauer-Mitra S, Peinado MA, Perucho M. Frequency and spectrum of mutations at codons 12 and 13 of the c-K-ras gene in human tumors. *Environ Health Perspect* 1991; 93: 125–31.
20. Ohashi K, Tsutsumi M, Nakajima Y, Nakano H, Konishi Y. Ki-ras point mutations and proliferation activity in biliary tract carcinomas. *Br J Cancer* 1996; 74: 930–5.
21. Rodenhuis S, Slebos RJ. Clinical significance of ras oncogene activation in human lung cancer. *Cancer Res* 1992; 52: 2665–9.
22. Albino AP, Nanus DM, Mentle IR, Cordon-Cardo C, McNutt NS, Bressler J et al. Analysis of ras oncogenes in malignant melanoma and precursor lesions: correlation of point mutations with differentiation phenotype. *Oncogene* 1989; 4: 1363–74.
23. Gedde-Dahl T, Spurkland A, Eriksen JA, Thorsby E, Gaudernack G. Memory T cells of a patient with follicular thyroid carcinoma recognize peptides derived from mutated p21 ras (Gln→Leu61). *Int Immunol* 1992; 4: 1331–7.
24. Fossum B, Breivik J, Meling GI, Gedde-Dahl T, Hansen T, Knutsen I et al. A K-ras 13Gly→Asp mutation is recognized by HLA-DQ7 restricted T cells in a patient with colorectal cancer. Modifying effect of DQ7 on established cancers harbouring this mutation? *Int J Cancer* 1994; 58: 506–11.
25. Gjertsen MK, Sæterdal I, Thorsby E, Gaudernack G. Characterisation of immune responses in pancreatic carcinoma patients after mutant p21 ras peptide vaccination. *Br J Cancer* 1996; 74: 1828–33.
26. Melo JV. The molecular biology of chronic myeloid leukaemia. *Leukemia* 1996; 10: 751–6.
27. Warmuth M, Danhauser-Riedl S, Hallek M. Molecular pathogenesis of chronic myeloid leukemia: implications for new therapeutic strategies. *Ann Hematol* 1999; 78: 49–64.
28. Bosch GJ, Joosten AM, Kessler JH, Melief CJ, Leeksa OC. Recognition of BCR-ABL positive leukemic blasts by human CD4+ T cells elicited by primary in vitro immunization with a BCR-ABL breakpoint peptide. *Blood* 1996; 88: 3522–7.
29. Rosenberg SA, White DE. Vitiligo in patients with melanoma: normal tissue antigens can be targets for cancer immunotherapy. *J Immunother Emphasis Tumor Immunol* 1996; 19: 81–4.
30. Hung MC, Lau YK. Basic science of HER-2 neu: a review. *Semin Oncol* 1999; 26: 51–9.
31. Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, Holt JA, Wong SG, Keith DE et al. Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. *Science* 1989; 244: 707–12.
32. Disis ML, Calenoff E, McLaughlin G, Murphy AE, Chen W, Groner B. Existing T-cell and antibody immunity to HER-2/neu protein in patients with breast cancer. *Cancer Res* 1994; 54: 16–20.
33. Disis ML, Grabstein KH, Sleath PR, Cheever MA. Generation of immunity to the HER-2/neu oncogenic protein in patients with breast and ovarian cancer using a peptide-based vaccine. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 1289–97.

34. Shak S. Overview of the trastuzumab (Herceptin) anti-HER2 monoclonal antibody clinical program in HER2-overexpressing metastatic breast cancer. *Herceptin Multinational Investigator Study Group. Semin Oncol* 1999; 26: 71–7.

35. Lynch RG, Graff RJ, Sirisinha S, Simms ES, Eisen HN. Myeloma proteins as tumor-specific transplantation antigens. *Proc Natl Acad Sci USA* 1972; 69: 1540–4.

36. Weiss S, Bogen B. B-lymphoma cells process and present their endogenous immunoglobulin to major histocompatibility complex-restricted T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 282–6.

37. Lauritzsen GF, Weiss S, Dembic Z, Bogen B. Naive idiotype-specific CD4+ T cells and immunosurveillance of B-cell tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 5700–4.

38. Hsu FJ, Caspar CB, Czerwinski D, Kwak LW, Liles TM, Syrengelas A. Tumor-specific idiotype vaccines in the treatment of patients with B-cell lymphoma – long-term results of a clinical trial. *Blood* 1997; 89: 3129–35.

39. Bartnes K, Hannestad K. Engagement of the B lymphocyte antigen receptor induces presentation of intrinsic immunoglobulin peptides on major histocompatibility complex class II molecules. *Eur J Immunol* 1997; 27: 1124–30.

40. Hannestad K, Kristoffersen G, Briand JP. The T lymphocyte response to syngeneic  $\lambda$ 2 light chain idiotopes. Significance of individual amino acids revealed by variant  $\lambda$ 2 chains and idiotope-mimicking chemically synthesized peptides. *Eur J Immunol* 1986; 16: 889–93.

41. Abrams SI, Khleif SN, Bergmann-Leitner ES, Kantor JA, Chung Y, Hamilton JM et al. Generation of stable CD4+ and CD8+ T cell lines from patients immunized with ras oncogene-derived peptides reflecting codon 12 mutations. *Cellular Immunol* 1997; 182: 137–51.

42. Fossum B, Olsen AC, Thorsby E, Gaudernack G. CD8+ T cells from a patient with colon carcinoma, specific for a mutant p21-Ras-derived peptide (Gly13→Asp), are cytotoxic towards a carcinoma cell line harbouring the same mutation. *Cancer Immunol Immunother* 1995; 40: 165–72.

43. Gjertsen MK, Bjørheim J, Sæterdal I, Myklebust J, Gaudernack G. Cytotoxic CD4+ and CD8+ T lymphocytes, generated by mutant p21-ras (12Val) peptide vaccination of a patient, recognize 12-Val dependent nested epitopes present within the vaccine peptide and kill autologous tumour cells carrying this mutation. *Int J Cancer* 1997; 72: 784–90.

44. Wolfel T, Van Pel A, Brichard V, Schneider J, Seliger B, Meyer zum Buschenfelde KH et al. Two tyrosinase nonapeptides recognized on HLA-A2 melanomas by autologous cytolytic T lymphocytes. *Eur J Immunol* 1994; 24: 759–64.

45. Kang X, Kawakami Y, el-Gamil M, Wang R, Sakaguchi K, Yannelli JR et al. Identification of a tyrosinase epitope recognized by HLA-A24-restricted, tumor-infiltrating lymphocytes. *J Immunol* 1995; 155: 1343–8.

46. Morel S, Ooms A, Van Pel A, Wolfel T, Brichard VG, van der Bruggen P et al. A tyrosinase peptide presented by HLA-35 is recognized on a human melanoma by autologous cytotoxic T lymphocytes. *Int J Cancer* 1999; 83: 755–9.

47. Brichard VG, Herman J, Van Pel A, Wildmann C, Gaugler B, Wolfel T et al. A tyrosinase nonapeptide presented by HLA-B44 is recognized on a human melanoma by autologous cytolytic T lymphocytes. *Eur J Immunol* 1996; 26: 224–30.

48. Bocchia M, Wentworth PA, Southwood S, Sidney J, McGraw K, Scheinberg DA et al. Specific binding of leukemia oncogene fusion protein peptides to HLA class I molecules. *Blood* 1995; 85: 2680–4.

49. Brossart P, Stuhler G, Flad T, Stevanovic S, Rammensee HG, Kanz L et al. Her-2/neu-derived peptides are tumor-associated antigens expressed by human renal cell and colon carcinoma lines

and are recognized by in vitro induced specific cytotoxic T lymphocytes. *Cancer Res* 1998; 58: 732–6.

50. Cao W, Myers-Powell BA, Braciale TJ. Recognition of an immunoglobulin VH epitope by influenza virus-specific class I major histocompatibility complex-restricted cytolytic T lymphocytes. *J Exp Med* 1994; 179: 195–202.

51. Fossum B, Gedde-Dahl T, Hansen T, Eriksen JA, Thorsby E, Gaudernack G. Overlapping epitopes encompassing a point mutation (12 Gly→Arg) in p21 ras can be recognized by HLA-DR, -DP and -DQ restricted T cells. *Eur J Immunol* 1993; 23: 2687–91.

52. Topalian SL, Gonzales MI, Parkhurst M, Li YF, Southwood S, Sette A et al. Melanoma-specific CD4+ T cells recognize nonmutated HLA-DR-restricted tyrosinase epitopes. *J Exp Med* 1996; 183: 1965–71.

53. Bartnes K, Leon F, Briand J-P, Travers PJ, Hannestad K. N-terminal elongation of a peptide determinant beyond the first primary anchor improves binding to H-2 I-A<sup>d</sup> and HLA-DR1 by backbone-dependent and aromatic side chain-dependent interactions, respectively. *Eur J Immunol* 1999; 29: 189–95.

54. Chorev M, Goodman M. A dozen years of retro-inverso peptidomimetics. *Acc Chem Res* 1993; 26: 266–73.

55. Bartnes K, Hannestad K, Guichard G, Briand JP. A *retro-inverso* analog mimics the cognate peptide epitope of a CD4+ T cell clone. *Eur J Immunol* 1997; 27: 1387–91.

56. Van Regenmortel MH, Guichard G, Benkirane N, Briand JP, Muller S, Brown F. The potential of retro-inverso peptides as synthetic vaccines. *Dev Biol Stand* 1998; 92: 139–43.

57. Ostankovitch M, Guichard G, Connan F, Muller S, Chaboissier A, Hoebeke J et al. A partially retro-inverso pseudopeptide modulates the cytokine profile of CTL specific for an influenza virus epitope. *J Immunol* 1998; 161: 200–8.

58. Wiemann B, Starnes CO. Coley's toxins, tumor necrosis factor and cancer research: a historical perspective. *Pharmacol Ther* 1994; 64: 529–64.

○

## Annonse

### Bokomtaler



**2977** Dotevall G  
**Stress och psykosomatisk  
sjukdom**

**2977** Klein G  
**Sources of power**

**2978** Karterud S, Urnes Ø,  
Pedersen G, red  
**Personlighetsforstyrrelser**

**2978** Lyngstam O, Medin LO,  
Sahlqvist M  
**PM Praktisk medicin**