

Kreftvaksiner

Sammendrag

Immunterapi av kreft er prinsipielt attraktivt fordi behandlingsformen kan utnytte immunsystemets spesifisitet og systemiske rekkevidde. Tumorceller uttrykker en rekke muterte eller overuttrykte antigener, noe som gjør det mulig for immunsystemet å skille mellom tumorceller og normale celler. Ved kreftvaksiner benytter man tumorassosierte antigener til å stimulere pasientens immunceller. I klinisk sammenheng vil individuelle forskjeller være av sentral betydning. Det hevdes at majoriteten av tumorantigener er unike for den enkelte pasient. Genetiske forskjeller i pasientenes immunsystem medfører også at vaksinerterapi i stor grad må individtilpasses.

Denne artikkelen gir en kort innføring i sentrale prinsipper for tumorimmunologi og utvikling av kreftvaksiner. Videre omtales resultatene som per i dag er oppnådd i kliniske utprøvinger, med vekt på studier av peptidvaksiner og vaksiner med dendrittiske celler. Det diskuteres også aktuelle perspektiver for videre utvikling av kreftvaksiner. En rekke studier har vist at det er mulig å generere tumorspesifikke immunresponser, og bivirkningsprofilen er generelt lite problematisk. Imidlertid foreligger det begrenset dokumentasjon på klinisk effekt. Det er viktig å avklare hvorfor noen immunresponser synes å gi tumorregresjon, mens andre responser er uten klinisk betydning.

Engelsk sammendrag finnes i artikkelen på www.tidsskriftet.no

Oppgitte interessekonflikter: Ingen

Jon Amund Kyte

j.a.kyte@medisin.uio.no
Seksjon for immunterapi
Avdeling for immunologi
Institutt for kreftforskning
Rikshospitalet-Radiumhospitalet
Montebello
0310 Oslo
og
Universitetet i Oslo

De fleste kreftformer kan bare kureres i lokalt stadium, og det er derfor et sterkt behov for nye behandlingsformer med systemisk rekkevidde. Kirurgisk behandling og stråleterapi er av natur kun rettet mot lokalisert sykdom, mens cellegiftbehandling har begrenset spesifisitet. Immunterapi er prinsipielt attraktivt fordi behandlingsformen kan kombinere spesifisitet og systemisk rekkevidde. Det har i over 30 år vært antatt at immunsystemet beskytter mot utvikling av kreft (1). Ifølge teorien om immunovervåking blir tumorceller eliminert i tidlig fase, slik at mange krefttilløp aldri blir klinisk erkjennbare. Dette innebærer at immunsystemet er i stand til å skille tumorceller fra normale celler, hvilket er en forutsetning for spesifikk immunterapi. På den annen side vil tumorcellene i en erkjennbar svulst være immunologisk selektert (2). Ved klinisk immunterapi er man dermed stilt overfor en vanskelig utfordring: Hvordan kan man generere en effektiv immunrespons mot tumorceller som alt har unnsloppet angrepet fra immunsystemet? Svaret kan ligge i å utnytte basal immunologisk kunnskap for å oppnå optimal immunstimulering og motvirke tumorcellenes overlevelsesteknikker. Denne artikkelen gir en innføring i sentrale strategier for immunterapi av kreft.

Ved infeksjonsprofylakse skilles det mellom passiv immunisering med injiserte antistoffer og aktiv immunisering (vaksinasjon) som stimulerer vertens immunforsvar. I kreftbehandling har man de senere år oppnådd lovende resultater med flere antistoffpreparater (3). Denne artikkelen omhandler vaksiner som skal stimulere vertens immunforsvar til spesifikk antitumorrespons. Forebyggende kreftvaksiner er i dag kun aktuelt ved et fåtall kreftformer, i hovedsak virusinduserte krefttyper som leverkreft (hepatitt B) og livmorkreft (humant papillomvirus type 16 og 18). Terapeutiske kreftvaksiner, som gis etter at kreft er diagnostisert, er derimot under utprøving mot en rekke krefttyper. En del

av de terapeutiske vaksinerne kan også tenkes anvendt profylaktisk, spesielt hos pasienter med høy arvelig kreftdisposisjon.

Hvordan kan immunsystemet gjenkjenne en kreftcelle?

I utviklingen fra en normal celle til en tumorcelle vil det oppstå en rekke mutasjoner. Mutasjonene gir opphav til nye peptider som ikke finnes i normale celler. De tumorspesifikke peptidene blir vist frem på HLA-molekylene på tumorcellenes overflate, og T-cellene kan gjenkjenne tumorcellen ved at T-cellereceptor binder til komplekset av HLA og peptid (fig 1a). Dermed kan T-cellene skille mellom kreftceller og normale celler. Mutasjonene kan også føre til overuttrykk av normale proteiner.

CD4-positive T-celler stimuleres av peptid bundet til HLA klasse II, mens CD8-positive T-celler stimuleres av peptid bundet til HLA klasse I. Kun et fåtall cellyper uttrykker HLA klasse II, og tumorceller uttrykker sjelden dette molekylet. Stimulering av CD4-positive T-celler er imidlertid sentralt for igangsetting og utvikling av immunresponser. Det er derfor avgjørende at tumorproteiner blir tatt av celler som uttrykker HLA klasse II, såkalte profesjonelle antigenpresenterende celler (dendrittiske celler, makrofager, B-celler). Den antigenpresenterende cellen kan da aktivere en tumorspesifikk CD4-positiv T-celle, som i sin tur kan medvirke i aktivering av tumorspesifikke B-celler og CD8-positive T-celler. Figur 1b viser hvordan en dendrittisk celle kan ta opp tumorproteiner og stimulere tumorspesifikke CD4-positive og CD8-positive T-celler.

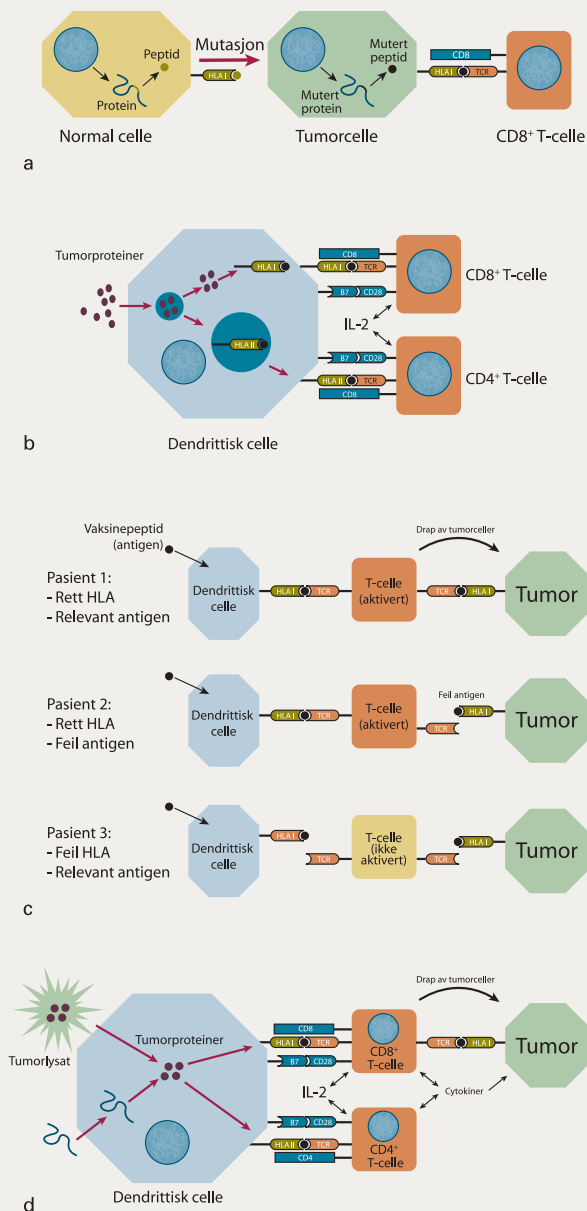
Hvordan kan immunsystemet drepe en kreftcelle?

CD8-positive T-celler kan drepe tumorceller, bl.a. ved utskilling av perforiner eller signalering gjennom binding til overflate-

! Hovedbudskap

- Kreftvaksiner gir spesifikke immunresponser mot tumorantigener, men klinisk effekt er uavklart
- Kreftvaksiner har systemisk virkning, høy spesifisitet og lite bivirkninger
- Kreftvaksiner må tilpasses individuelle forskjeller i pasientenes tumorantigener og immunsystem

Figur 1



a) Mutasjoner under utvikling av tumor fører til uttrykk av muterte proteiner. Både normale og muterte proteiner blir prosessert til peptider og presentert på tumorcellenes HLA-molekyler (klasse I). Pasientens repertoar av T-celler reagerer vanligvis ikke på kroppens egne peptider, men oppfatter de muterte peptider som fremmede. CD8-positive T-celler kan derfor gjenkjenne tumorceller ved interaksjon mellom T-cellerreseptor (TCR) og peptid/HLA-kompleks. b) Dendritiske celler kan stimulere tumorspesifikke T-celler. Dendritiske celler tar opp tumorproteiner. Prosesserte tumorpeptider blir presentert til CD4-positive T-celler på HLA klasse II (HLA II) og til CD8-positive T-celler på HLA klasse I (HLA I). T-cellene stimuleres gjennom binding av HLA/peptid til T-cellerreseptor. Naive T-celler (tidligere ustimulerte) er også avhengig av to andre signaler for å bli fullverdig aktivert: 1) Signalering gjennom kostimulatoriske molekyler (bl.a. B7/CD28 som vist på figuren). 2) Interleukin-2 (IL-2)-stimulering. HLA II og kostimulatoriske molekyler uttrykkes i hovedsak kun av dendritiske celler og andre profesjonelle antigenpresenterende celler. Disse cellene er derfor avgjørende for igangsetting av immunresponser. Ved stimulering begynner T-cellene selv å produsere store mengder IL-2. c) Peptidvaksiner er avhengig av individuelle forskjeller i HLA-ekspresjon og antigenekspresjon i tumor. I figur c) kan kun pasient I respondere på vaksinen med antitumorrespon. Pasient II har rett HLA-molekyl, slik at T-celler kan aktiveres, men vaksineantigenet er ikke uttrykt i tumor. Pasient III mangler et passende HLA-molekyl og får ingen T-celle aktivering. d) Individualisert kreftvaksine med dendritiske celler. Dendritiske celler lastes opp ex vivo med tumorantigener, f.eks. i form av tumorlysat eller tumor-mRNA. Tumorpeptidene blir presentert til CD8-positive T-celler på HLA klasse I og til CD4 positive T-celler på HLA klasse II. Det benyttes autologe dendritiske celler, og HLA-repertoaret er derfor individtilpasset. Hvis cellene lastes opp med lysat/mRNA fra pasientens egen tumor, vil alle vaksineantigener være uttrykt i pasientens tumorvev. Vaksinen er da fullstendig individualisert

molekyler på målcellen (Fas-Fas-ligand). Spesifisiteten sikres ved at T-cellene bare binder til celler som presenterer det relevante tumorpeptidet på sine HLA-molekyler. B-cellene kan produsere antistoffer som binder til antigener på tumorcellenes overflatemembran. Antistoffbinding kan bl.a. stimulere komplimentsystemet eller fasilitere tumordrap via naturlige drepeceller som uttrykker antistoffreseptor (Fc-reseptor). Ved immunologisk aktivering vil både makrofager, dendritiske celler, CD4-positive T-celler og CD8-positive T-celler produsere en rekke cytokiner som driver immunresponnen videre. Enkelte cytokiner, som TNF- α og interferon- γ , kan også ha direkte toksisk effekt på tumorcellene.

Hvordan unnslipper kreftcellene immunsystemet?

Tumorceller kan på ulike måter unnslipe immunforsvaret. For det første er tumorceller genetisk ustabile, og mutasjoner kan føre til at de slutter å uttrykke de tumorantigenene som gjenkjennes av T-celle reseptor/antistoff. Som nevnt uttrykker tumorceller vanligvis ikke HLA klasse II, og de gjenkjennes derfor ikke direkte av CD4-positive T-celler.

Tumorceller kan dessuten slutte å uttrykke HLA klasse I og dermed bli «usynlige» også for CD8-positive T-celler. Selv om bare et fåtall tumorceller gjennomgår slike mutasjoner, vil disse cellene få en seleksjonsfordel. Videre kan tumorcellene aktivt undertrykke immunforsvaret ved produksjon av suppressjonsytokiner (f.eks. TGF- β) og aktivering av regulatoriske T-celler. Tumorcellene kan dessuten passivisere spesifikke T-celler ved at tumorpeptider (+HLA I) binder til T-cellerreseptor på naive (tidligere ustimulerte) T-celler. Ved første binding til antigen trenger nemlig naive T-celler kostimulering for ikke å miste sin evne til senere å bli aktivert (fig 1b).

Tumorantigener

Det er identifisert en rekke tumorassosierte antigener (4). Tabell 1 viser et utvalg av antigener som er aktuelle i kliniske studier.

Det ideelle vaksineantigenet bør være immunstimulerende og bredt uttrykt i tumorceller, men ikke uttrykt i normale celler. Enkelte antigener er tilnærmet tumorspesifikke. Andre antigener er svakt uttrykt i normalt vev, men betydelig overuttrykt i tumorvev. De såkalte cancer-germline-antigener er høyt uttrykt i mange kreftformer, men ikke i normalvev, med unntak av placenta og testikkel. Videre kan ulike differensieringsantigener være gode vaksinekandidater, ettersom de er vevsspesifikke. Dette gjelder i første rekke kreftformer der sykdom i det aktuelle organ ikke vil ha alvorlig klinisk betydning. Eksempelvis kan prostata- og vitiligo være akseptable bivirkninger for pasienter med henholdsvis prostatakreft og malignt melanom. Tumor kan som nevnt unnslipe immun-

responsen ved at enkelte tumorceller slutter å uttrykke vaksineantigenet. Dette er ikke mulig hvis vaksineproteinene er nødvendig for videre vekst av tumor. Telomeraseproteinene antas å være uttrykt i over 85 % av solide svulster og er nødvendig for kreftcellenes evne til stadig nye celledelinger (5). Dette proteinet er således en interessant kandidat for en universell kreftvaksine, selv om proteinet også i noen grad er uttrykt i normale stamceller.

Individtilpassede vaksiner

Valg av kreftvaksine kan ikke kun foretas ut fra diagnosen, men må tilpasses individuelle forskjeller. For det første må vaksineantigenet være uttrykt i pasientens tumor (fig 1c). De kjente tumorantigener er kun uttrykt hos en viss andel av pasientene. Videre er T-cellenes spesifisitet ikke kun knyttet til antigenet, men også til HLA-molekylet. Det er stor variasjon i HLA-molekylene fra menneske til menneske, og et vaksinepeptid kan bare stimulere T-celler hos de pasientene som har matchende HLA-type (fig 1c).

Pasienter med samme kreftform kan altså ha behov for forskjellige vaksinepeptider på bakgrunn av individuell ekspressjon av tumorantigener og HLA-molekyler. På den annen side er mange tumorantigener uttrykt i flere kreftformer, slik at samme vaksinepeptid kan anvendes på pasienter med ulike diagnoser. Ved kreftvaksiner blir betydningen av individuelle forskjeller lett å se fordi virkningsmekanismene er godt klarlagt. Situasjonen er oftest annerledes ved behandling med cytostatika. I mange tilfeller kjenner man da kun effekten i diagnosegruppen som helhet og har små muligheter til å forutsi hvilke enkeltindivider som vil ha nytte av behandlingen.

Kliniske studier med peptidvaksiner

Den første studien med peptidvaksinasjon av kreftpasienter ble utført på Rikshospitalet i 1995 (6), og det er nå rapportert flere hundre kliniske studier. Peptidene injiseres oftest intradermalt. For å imøtegå HLA-variasjon i pasientpopulasjonen, søker man å finne frem til peptider som kan presenteres effektivt på flere ulike HLA-molekyler. Generelt observeres lite bivirkninger, og mange studier påviser spesifikke immunresponser hos en stor andel av pasientene (7–9). De kliniske responser er ofte mindre overbevisende. Det er også vanskelig å trekke konklusjoner mht. klinisk effekt fordi det i hovedsak er utført mindre og ikke-randomiserte utprøvinger (fase I og II). Likevel observeres i flere studier en assosiasjon mellom immunrespons og tumorrespons og/eller overlevelse (8–10). Dette innebærer at pasientene som får immunrespons, synes å ha en mer fordelaktig klinisk utvikling. En slik assosiasjon er oppløftende, men beviser ingen årsakssammenheng. Det er ikke mulig å utelukke at pasientene som utviklet immun-

Tabell 1 Et utvalg av tumorantigener som anvendes i kreftvaksiner. Vanligvis benyttes ikke hele proteinet, men peptider som inneholder aminosyresekvenser som lett gjenkjennes av T-cellerreseptor. Cancer-germline-antigener er uttrykt i en rekke kreftformer samt i normalt testikkel- og placentavev

		Kreftform
MAGE-1	Cancer-germline	
MAGE-3	Cancer-germline	Melanom, sarkom, lunge, prostata, mamma
NY-ESO-1	Cancer-germline	
K-ras (mutert)	~ Tumorspesifikt	Pancreas, colon
MUC-1 (endret glykosylering)	~ Tumorspesifikt	Adenokarsinomer
p53	Mutert/overuttrykt	~ Alle krefttyper
HER 2/neu	Overuttrykt	Ovarie, mamma
hTERT	Overuttrykt	~ Alle krefttyper
Survivin	Overuttrykt	~ Alle krefttyper
PSMA	Overuttrykt	Prostata
CEA	Overuttrykt	Colon, mamma, pancreas, lunge
Melan A/MART-1	Vevsspesifikt	Melanom
Tyrosinase	Vevsspesifikt	Melanom
gp100	Vevsspesifikt	Melanom
PSA	Vevsspesifikt	Prostata

respons, ville ha fått et gunstigere klinisk forløp også uten vaksinasjon.

Generelt indikerer resultatene at det er langt lettere å utløse en immunologisk respons enn å oppnå betydelige kliniske effekter (11). Dette kan delvis skyldes at de fleste studier er utført på pasienter med svært avansert sykdom. Muligheten for klinisk effekt vil trolig være bedre hvis vaksiner gis til pasienter med liten tumormasse, for eksempel som adjuvant terapi etter stråling eller kirurgiske inngrep. I denne sammenheng viser en fersk studie fra Radiumhospitalet og Ullevål universitetssykehus interessante resultater. Her ble 20 pasienter med bukspyttkjertelkreft operert og samtidig behandlet med en peptidvaksine (mutert ras). Ved langtidsoppfølging har man nå funnet at fem av 20 pasienter er i live etter 8–10 år. Videre er det påvist at to av pasientene fortsatt har spesifikke immunresponser mot vaksinepeptidet (upubliserte data; Gustav Gaudernack, personlig meddelelse).

Det arbeides med ulike strategier for å oppnå forsterket vaksinerespons. Tumorpeptider kan bl.a. lastes opp på dendritiske celler ex vivo, som beskrevet nedenfor, eller kombineres med cytokiner eller andre adjuvantia (12). Av særlig interesse er substanser som kan stimulere dendritiske celler in vivo, til økt peptidopptak, migrasjon til lymfeknuter og forsterket T-celleaktivering. Dendritiske celler kan bl.a. stimuleres via membranbundne og intracellulære toll-liknende reseptorer (TLR). Speiser og medarbeidere rapporterte i 2005 lovende vaksineresponser ved bruk av en TLR-9-agonist (CpG) (13). Ved Radiumhospitalet evalueres nå i pågående studier effekten av en TLR-7-agonist (imiquimod).

Vaksiner med dendritiske celler

Dendritiske celler regnes som de mest potente antigenpresenterende cellene og har en

avgjørende rolle ved igangsetting av immunresponser (14, 15). De senere år er det utviklet teknikker for å generere store mengder autologe dendritiske celler ex vivo, fra pasientens monocytter (16) eller CD34-positive beinmargceller (10). Videre er det etablert effektive metoder for å laste opp dendritiske celler med antigen. Dermed kan man i laboratoriet produsere dendritiske celler som effektivt presenterer tumorantigener (fig 1d). Tanken er at vaksinasjon med slike celler vil gi en kraftigere immunstimulering enn bruk av vaksinepeptider alene.

De første vaksinstudiene med dendritiske celler viste interessante resultater (16, 17). Nestle og medarbeidere behandlet melanompasienter med dendritiske celler lastet opp med tumorlysat eller en cocktail av flere peptider. Studien påviste spesifikke immunresponser mot vaksineantigener i 11 av 16 pasienter og objektiv tumorregresjon hos fem pasienter. Senere er det påvist immunologiske responser i en lang rekke kliniske studier (11), og bivirkningsprofilen er generelt lite problematisk. Flere undersøkelser indikerer dessuten en assosiasjon mellom immunrespons og klinisk respons (10, 18, 19). Slike assosiasjoner er som nevnt ikke ensbetydende med årsakssammenheng, og det er behov for større randomiserte studier for å bedømme de kliniske effekter.

Dendritiske celler for vaksiner må produseres individuelt for hver pasient, ettersom HLA-variasjonene medfører at kun pasientens egne celler vil fungere in vivo. Produksjonsprosessen blir dermed mer omstendelig. På den annen side kan man benytte vaksineantigener som blir naturlig prosessert i cellene (f.eks. proteiner eller mRNA). Da kan hele pasientens HLA-repertoar utnyttes til rekruttering av T-celler, og det vil ikke være behov for HLA-screening (fig 1d). Tumorantigenene kan bli presentert på både HLA klasse I og HLA klasse II (20), og så

vel CD4-positive som CD8-positive T-celler kan bli stimulert (19, 21). Dette antas å være av stor betydning for en effektiv immunrespons (15).

Det arbeides med å optimalisere fenotypen av dendrittske celler for vaksineformål. Mens de første kreftstudiene brukte såkalt umodne dendrittske celler (16), benyttes nå ulike stimulatoriske agenser for å «modne» cellene slik at de får større uttrykk av HLA og kostimulatoriske molekyler (14). Modne dendrittske celler gir en kraftigere T-cellestimulering og bidrar til gunstigere differensiering av de stimulerede T-celle. Ved tumorrespons er det ønskelig at differensiering styres i retning av en cytotoksisk T-cellerespons, og at man unngår utvikling av regulatoriske T-celler. Dendrittske celler kan imidlertid også tenkes anvendt i vaksiner mot autoimmune sykdommer. Til dette formål utvikler man dendrittske celler som er egnet til å dempe de aktuelle immunresponsen.

De fleste studier har benyttet dendrittske celler lastet opp med peptider, proteiner eller tumorlysater. Et annet interessant alternativ er fusjon av dendrittske celler med tumorceller (22). Dendrittske celler kan også lastes opp med antigen i form av DNA, men dette er foreløpig mindre aktuelt i pasientbehandling, bl.a. fordi DNA-integrasjon i vertens genom kan forårsake varige genetiske forandringer. RNA blir raskt nedbrutt og anses som tryggere for klinisk bruk. De senere år har forbedrede transfeksjonsmetoder aktualisert bruk av RNA (23). Ved Radiumhospitalet anvendte vi nylig dendrittske celler transfektert med tumor-mRNA i to kliniske studier, utført på pasienter med prostatakreft eller malignt melanom (19, 24). Totalt er det nå rapportert ni vaksinstudier med RNA-transfektete dendrittske celler (25).

Det utvikles også metoder for å laste opp dendrittske celler med tumorantigener in vivo (26). Dette kan eksempelvis gjøres med målstyrte antistoffer som inneholder T-celle-epitoper og spesifikt binder til overflatemolekyler på antigenpresenterende celler (27). Alternativt kan tenkes elektropermeabilisering in vivo etter injeksjon av antigen (28).

Aktuelle perspektiver

Valg av vaksineantigen

Som nevnt har man identifisert en rekke tumorassosierte antigener, og disse kan benyttes både i form av peptider, proteiner og RNA. En kreftsvulst er imidlertid ofte genetisk ustabil og derfor heterogen mht. antigenekspresjon. Ved vaksiner mot definerte tumorantigener risikerer man at tumor unnslipper fordi enkelte kreftceller ikke uttrykker det anvendte vaksineantigen. Spekteret av vaksineantigener kan økes ved kombinasjon av flere peptider (10) eller utvides kraftig ved bruk av totalt tumormateriale fra allogene kreftcellerlinjer (19, 29) eller autolog tumor (24, 30).

Pasientens egen tumor synes å representere en særlig attraktiv antigenkilde. Det hevdes at majoriteten av tumorantigener er unike for hver enkelt pasient (31–33). De individuelle antigener antas å oppstå som følge av tilfeldige mutasjoner under utvikling av tumor. Siden flertallet av mutasjoner ikke har avgjørende betydning for kreftutviklingen, er det rimelig å anta at mange muterte antigener ikke vil gjenfinnes hos andre pasienter. Hvis man transfekterer pasientens egne dendrittske celler med pasientens eget tumormateriale, vil vaksinen være fullstendig individualisert (fig 1d). Det er da verken behov for å undersøke antigenekspresjon i tumor eller HLA-ekspresjon. I prinsippet er en slik vaksine både unik for hver pasient og anvendbar for enhver kreftform. På Radiumhospitalet benyttet vi autolog tumor som antigenkilde i den nevnte vaksinstudien på melanompasienter (24).

Autologt tumorvev av god kvalitet kan imidlertid være vanskelig tilgjengelig, og det er også andre ulemper knyttet til bruk av totalt tumormateriale i vaksiner. De fleste inkluderte antigener vil være ukjente, til forskjell fra vaksiner som baseres på definerte tumorantigener. Den immunologiske responsen kan derfor ikke karakteriseres like inngående. Dessuten inkluderes er stort antall autoantigener, noe som kan medføre økt risiko for autoimmun sykdom. Erfaring fra en rekke kliniske studier indikerer likevel at bivirkninger i liten grad forekommer (25).

Mottrekk mot tumortoleranse

Et velfungerende immunsystem er avhengig av balanse mellom aktiverende og dempende mekanismer, og immunologisk toleranse er avgjørende for beskyttelse mot autoimmunitet. Ved de fleste kreftvaksiner er imidlertid bivirkningsprofilen uproblematisk. Utfordringen ligger i å forsterke responsene slik at det oppnås klinisk effekt. I kreftforskningen er det derfor stor interesse for metoder som kan motvirke tumortoleranse.

Regulatoriske CD25-positive CD4positive T-celler (Treg) antas å undertrykke den immunologiske respons mot tumor (34, 35). Det kan derfor være gunstig å bruke spesifikke agenser for å fjerne Treg forut for vaksinasjon. I en nylig publisert vaksinstudie ble det anvendt et immuntoksin som binder til Treg (IL-2-toksinkonjugat). Behandlingen resulterte både i effektiv eliminering av regulatoriske T-celler og forsterkede T-cellerespons mot vaksinen (30). Konvensjonell cellegiftbehandling kan også tenkes å motvirke effekten av Treg. Ved Radiumhospitalet undersøker vi nå dette spørsmålet i pågående studier hvor kreftvaksiner kombineres med cytostatika. Videre kan dendrittske celler med en «tolerogen» cytokinprofil (økt IL-10-nivå, økt TGF- β -nivå og redusert IL-12-nivå) rekruttere cytokinproduserende Treg. Ved vaksiner basert på dendrittske celler søker man å forhindre dette ved å optimalisere vak-

sinecellenes fenotype, bl.a. ved å stimulere cellene med ulike cytokiner og TLR-agonister (14).

Balansen mellom immunaktivering og immunsuppresjon er ikke bare avhengig av regulatoriske T-celler. I en fysiologisk immunrespons vil aktiverte T-celler oppregulere sitt uttrykk av membranmolekylet CTLA-4, og signalering via CTLA-4 bidrar vesentlig til at immunresponsen blir terminert. Data fra musestudier indikerer at antistoffer mot CTLA-4 kan forlenge og forsterke T-celleresponsen. I klinisk sammenheng ble det nylig påvist tumorregresjon hos melanompasienter etter monoterapi med et antistoff mot CTLA-4 (36). Trolig kan anti-CTLA-4-terapi være særlig effektivt i kombinasjon med kreftvaksiner (37, 38).

Uavklarte spørsmål

Det er i dag en lang rekke uavklarte spørsmål med hensyn til optimalisering av kreftvaksiner. Det er behov for å bestemme hvordan vaksinene bør injiseres (intradermalt, intravenøst, intranodalt), samt dosering, frekvens og varighet av behandling. Ved vaksiner med dendrittske celler arbeider man også med å definere ideell cellulær fenotype, antigenform og transfeksjonsmetode. Det kan synes overraskende at slike grunnleggende spørsmål ikke er avklart, til tross for at flere hundre kliniske studier er utført. Faktorer som cellulær fenotype, antigenform og transfeksjonsmetode kan undersøkes hver for seg i elegante musemodeller, men resultater fra innavlede modellmus er ikke direkte overførbare til pasienter. Translasjon til klinisk medisin viser seg å være meget komplisert. Pasientpopulasjonen er svært heterogen, og det er sjelden mulig å begrense variasjonen til en enkelt faktor.

Poenget kan illustreres med et eksempel fra våre vaksinstudier med RNA-transfektete dendrittske celler ved Radiumhospitalet (19, 24). Vi inkluderte der en sammenlikning av to former for vaksineinjeksjon, intradermal og intranodal (ultralydveiledet i ingvinal lymfeknute). Resultatene viste en signifikant høyere responsrate i pasientgruppen som ble vaksinert intradermalt ($p = 0,01$). Denne gruppen viste seg imidlertid også å ha en gunstigere fenotype av de dendrittske celler (høyere uttrykk av CD83), noe som kunne tenkes å forklare responsforskjellen. Selv om slike forstyrrende faktorer ikke observeres, er det i mindre studier alltid en fare for at ukjente faktorer spiller inn. De ulike spørsmål kan derfor bare avklares gjennom store randomiserte studier. Slike studier er svært kostnadskrevenne og vanskelige å gjennomføre. Dessuten må det først dokumenteres gjennom mindre undersøkelser at behandlingen ikke er forbundet med alvorlige bivirkninger. Dette gjør det nyttig å sammenholde data fra mange mindre studier. For å muliggjøre gode sammenlikninger er det viktig at «forstyrrende» individuelle variasjoner, bl.a. i forhold til

cellulær fenotype, rapporteres detaljert når studiene publiseres. Det er også behov for å standardisere kriteriene for positiv immunrespons (39).

Hva skiller respondere fra ikke-respondere?

Noen pasienter synes å få en immunrespons med klinisk effekt, andre pasienter får ineffektive immunrespons og atter andre reagerer ikke immunologisk overhodet. Hvis vi kan forklare hvordan diversiteten i respons oppstår, vil det ha betydning både for hvordan kreftvaksiner bør designes og for hvilke pasienter som bør få hvilke vaksiner.

For det første kan det antas at sykdomsgrad og allmenntilstand påvirker pasientens immunstatus og evne til vaksinerespons. Dessuten vil den individuelle ekspresjon av tumorantigener og HLA-molekyler være av betydning. Trolig spiller også mindre karakteriserte genetiske variasjoner en sentral rolle. Det er stor interesse for polymorfismer innen immunologiske nøkkelgener, f.eks. med hensyn til CTLA-4, toll-liknende reseptorer og diverse cytokiner. Immunsystemets kompleksitet tilsier likevel at det kan bli vanskelig å påvise sikre årsakssammenhenger mellom en genetisk variant og en immunologisk respons. I vaksinstudiene er det videre behov for å forbedre metodene for evaluering av immunrespons. Trolig vil en nærmere karakterisering av de responderende T-cellers cytokinprofil og vandringmønster *in vivo* kunne belyse hvorfor noen immunrespons leder til tumorregresjon, mens andre responder synes klinisk irrelevante.

Konklusjoner

En rekke vaksinstudier viser at det er mulig å stimulere immunsystemet til spesifikk respons mot tumorceller. Bivirkningsprofilen er generelt lite problematisk, men det foreligger så langt begrenset dokumentasjon på klinisk effekt. De fleste studier er utført på pasienter med svært avansert sykdom. Trolig vil pasienter med mindre avansert sykdom ha bedre forutsetninger for å respondere klinisk på immunterapi, på grunn av et mer intakt immunsystem og mindre tumor masse. Kreftvaksiner kan være særlig aktuelt som adjuvant terapi etter kirurgisk behandling og/eller stråling. Vaksiner har systemisk virkning og kan derfor ramme påvisbare og skjulte fjernmetastaser.

Det arbeides med en rekke strategier for å forbedre kreftvaksinene. Ny viten innen basal tumorimmunologi frembringer stadig nye muligheter, men translasjon til klinisk medisin er meget komplisert. Individuelle forskjeller i pasientpopulasjonen representerer en særlig utfordring og vil trolig medføre at terapien i økende grad blir bestemt ut fra individuelle faktorer. Samlet sett gir kreftvaksineforskningen grunnlag for optimisme, men viser også at det er behov for tålmodighet og langsiktighet når klinisk terapi skal utvikles fra basal biologisk kunnskap.

Litteratur

1. Burnet FM. The concept of immunological surveillance. *Prog Exp Tumor Res* 1970; 13: 1–27.
2. Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H et al. Cancer immunoevasion: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol* 2002; 3: 991–8.
3. Ross JS, Gray K, Gray GS et al. Anticancer antibodies. *Am J Clin Pathol* 2003; 119: 472–85.
4. Renkvist N, Castelli C, Robbins PF et al. A listing of human tumor antigens recognized by T cells. *Cancer Immunol Immunother* 2001; 50: 3–15.
5. Shay JW, Bacchetti S. A survey of telomerase activity in human cancer. *Eur J Cancer* 1997; 33: 787–91.
6. Gjertsen MK, Bakka A, Breivik J et al. Vaccination with mutant ras peptides and induction of T-cell responsiveness in pancreatic carcinoma patients carrying the corresponding RAS mutation. *Lancet* 1995; 346: 1399–400.
7. Rosenberg SA, Yang JC, Schwartzentruber DJ et al. Immunologic and therapeutic evaluation of a synthetic peptide vaccine for the treatment of patients with metastatic melanoma. *Nat Med* 1998; 4: 321–7.
8. Gjertsen MK, Buanes T, Rosseland AR et al. Intra-dermal ras peptide vaccination with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor as adjuvant: clinical and immunological responses in patients with pancreatic adenocarcinoma. *Int J Cancer* 2001; 92: 441–50.
9. Carbone DP, Ciernik IF, Kelley MJ et al. Immunization with mutant p53- and K-ras-derived peptides in cancer patients: immune response and clinical outcome. *J Clin Oncol* 2005; 23: 5099–107.
10. Banichereau J, Palucka AK, Dhodapkar M et al. Immune and clinical responses in patients with metastatic melanoma to CD34(+) progenitor-derived dendritic cell vaccine. *Cancer Res* 2001; 61: 6451–8.
11. Berzofsky JA, Terabe M, Oh S et al. Progress on new vaccine strategies for the immunotherapy and prevention of cancer. *J Clin Invest* 2004; 113: 1515–25.
12. Schaed SG, Klimek VM, Panageas KS et al. T-cell responses against tyrosinase 368–376(370D) peptide in HLA*A0201+ melanoma patients: randomized trial comparing incomplete Freund's adjuvant, granulocyte macrophage colony-stimulating factor, and QS-21 as immunological adjuvants. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 967–72.
13. Speiser DE, Liénard D, Rufer N et al. Rapid and strong human CD8+ T cell responses to vaccination with peptide, IFA, and CpG oligodeoxynucleotide 7909. *J Clin Invest* 2005; 115: 739–46.
14. O'Neill DW, Adams S, Bhardwaj N. Manipulating dendritic cell biology for the active immunotherapy of cancer. *Blood* 2004; 104: 2235–46.
15. Banichereau J, Palucka AK. Dendritic cells as therapeutic vaccines against cancer. *Nat Rev Cancer* 2005; 5: 296–306.
16. Nestle FO, Aljagic S, Gilliet M et al. Vaccination of melanoma patients with peptide- or tumor lysate-pulsed dendritic cells. *Nat Med* 1998; 4: 328–32.
17. Hsu FJ, Benike C, Fagnoni F et al. Vaccination of patients with B-cell lymphoma using autologous antigen-pulsed dendritic cells. *Nat Med* 1996; 2: 52–8.
18. Heiser A, Coleman D, Dannull J et al. Autologous dendritic cells transfected with prostate-specific antigen RNA stimulate CTL responses against metastatic prostate tumors. *J Clin Invest* 2002; 109: 409–17.
19. Mu LJ, Kyte JA, Kvalheim G et al. Immunotherapy with allotumor mRNA-transfected dendritic cells in androgen-resistant prostate cancer patients. *Br J Cancer* 2005; 93: 749–56.
20. Dengjel J, Schoor O, Fischer R et al. Autophagy promotes MHC class II presentation of peptides from intracellular source proteins. *PNAS* 2005; 102: 7922–7.
21. Kyte JA, Kvalheim G, Aamdal S et al. Preclinical full-scale evaluation of dendritic cells transfected with autologous tumor-mRNA for melanoma vaccination. *Cancer Gene Ther* 2005; 12: 579–91.
22. Gong J, Nikrui N, Chen D et al. Fusions of human ovarian carcinoma cells with autologous or allogeneic dendritic cells induce antitumor immunity. *J Immunol* 2000; 165: 1705–11.
23. Sæbøe-Larssen S, Fossberg E, Gaudernack G. mRNA-based electrotransfection of human dendritic cells and induction of cytotoxic T lymphocyte responses against the telomerase catalytic subunit (hTERT). *J Immunol Methods* 2002; 259: 191–203.
24. Kyte JA, Mu LJ, Aamdal S et al. Phase I/II trial of melanoma therapy with dendritic cells transfected with autologous tumor-mRNA. *Cancer Gene Ther* 2006; 13: 905–18. E-publiseret 5.5.2006.
25. Kyte JA and Gaudernack G. Immuno-gene therapy of cancer with tumour-mRNA transfected dendritic cells. *Cancer Immunol Immunother* 2006; 55: 1432–42. E-publiseret 16.4.2006.
26. Boscardin SB, Hafalla JC, Masilamani RF et al. Antigen targeting to dendritic cells elicits long-lived T cell help for antibody responses. *J Exp Med* 2006; 203: 599–606.
27. Lunde E, Munthe LA, Vabø A et al. Antibodies engineered with IgD specificity efficiently deliver integrated T-cell epitopes for antigen presentation by B cells. *Nat Biotechnol* 1999; 17: 670–5.
28. Larkin J, Soden D, Collins C et al. Combined electric field and ultrasound therapy as a novel antitumor treatment. *Eur J Cancer* 2005; 41: 1339–48.
29. Hirschowitz EA, Foody T, Kryscio R et al. Autologous dendritic cell vaccines for non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2004; 22: 2808–15.
30. Dannull J, Su Z, Rizzieri D et al. Enhancement of vaccine-mediated antitumor immunity in cancer patients after depletion of regulatory T cells. *J Clin Invest* 2005; 115: 3623–33.
31. Boczkowski D, Nair SK, Nam JH et al. Induction of tumor immunity and cytotoxic T lymphocyte responses using dendritic cells transfected with messenger RNA amplified from tumor cells. *Cancer Res* 2000; 60: 1028–34.
32. Slingluff CL. Targeting unique tumor antigens and modulating the cytokine environment may improve immunotherapy for tumors with immune escape mechanisms. *Cancer Immunol Immunother* 1999; 48: 371–3.
33. Srivastava PK. Do human cancers express shared protective antigens? or the necessity of remembrance of things past. *Semin Immunol* 1996; 8: 295–302.
34. Curiel TJ, Coukos G, Zou L et al. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival. *Nat Med* 2004; 10: 942–9.
35. Sakaguchi S, Sakaguchi N, Shimizu J et al. Immunologic tolerance maintained by CD25+ CD4+ regulatory T cells: their common role in controlling autoimmunity, tumor immunity, and transplantation tolerance. *Immunological Reviews* 2001; 182: 18–32.
36. Ribas A, Camacho LH, Lopez-Berestein G et al. Antitumor activity in melanoma and anti-self responses in a phase I trial with the anti-cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 monoclonal antibody CP-675,206. *J Clin Oncol* 2005; 23: 8968–77.
37. 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 Immunotherapy* 2004; 27: 354–67.
38. Hodi FS, Mihm MC, Soiffer RJ et al. Biologic activity of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 antibody blockade in previously vaccinated metastatic melanoma and ovarian carcinoma patients. *PNAS* 2003; 100: 4712–7.
39. Figdor CG, De Vries IJ, Lesterhuis WJ et al. Dendritic cell immunotherapy: mapping the way. *Nat Med* 2004; 10: 475–80.

Manuskriptet ble mottatt 27.6.2006 og godkjent 21.9.2006. Medisinsk redaktør Petter Gjersvik.