

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2012.01.001

· 述 评 ·

树突状细胞肿瘤疫苗:全球临床试验巡礼

陈虎,唐晓义,张斌(军事医学科学院附属医院造血干细胞移植科暨细胞与基因治疗中心,北京 100071)



[作者简介] 陈虎,医学博士、主任医师、博士生导师,现任中国人民解放军 307 医院造血干细胞移植科主任,全军造血干细胞移植中心主任;兼任国家基本医药目录血液组副组长,中国红十字会中华骨髓库专家委员会副主任委员,中国免疫学会移植免疫分会副主任委员,中华血液学会委员,中华医学会放射医学与防护医学委员会常委,中国抗癌协会肿瘤生物治疗专业委员会常委和血液肿瘤专业委员会常委,中国医药生物技术协会再生医学专业委员会委员,中国医师协会血液科医师分会常委及全军血液专业委员会副主任委员。先后获军队科技进步一等奖 1 项、二等奖 4 项,负责多项国家科技部、军队医学科研重点课题和北京市重点课题。在 *Blood/Leukemia* 等杂志上发表学术论文 100 余篇,主编或参编学术专著 9 部。E-mail:chenhu217@yahoo.com.cn

[摘要] 自 2011 年度的诺贝尔生理学或医学奖获得者 Ralph M. Steinman 发现树突状细胞(dendritic cell, DC)及其在获得性免疫应答中的关键作用以来,全球范围的 DC 肿瘤疫苗研究持续进行了数十年,一系列临床试验正在进行或已经完成,目前已经有 3 种 DC 肿瘤疫苗获得了上市批准:Sipuleucel-T, CreaVax RCC 和 Hybricell,但基于 DC 的免疫治疗方法尚未成为肿瘤治疗的一种标准方法。为了让国内同行深入了解全球范围内开展 DC 肿瘤疫苗临床试验的现状,本文基于国际医学期刊编辑委员会认可的临床试验注册网站和 PubMed 网站数据库对全球 DC 肿瘤疫苗临床试验概况(地区和国家分布、涉及的肿瘤类型、开展年份和试验分期)作了介绍,重点对 43 项已经有论文发表的临床试验情况(受试者选择、DC 培养方法、疫苗接种方案、疗效评估方法和试验结果)进行了总结,着重分析了当前 DC 肿瘤疫苗临床研究的发展趋势和存在问题,提出了加强 DC 肿瘤疫苗临床试验工作的若干建议:健全我国 DC 肿瘤疫苗临床试验相关的监管政策;密切关注国际“体内 DC 靶向”策略的新动向;抓紧建立 DC 培养方法、疫苗接种方案和疗效评估的标准;加强对 DC 肿瘤疫苗的质量监控;重视 DC 肿瘤疫苗的基础研究和临床试验注册;提高临床试验方案的质量;慎重选择受试患者和疗效评估时间点;治疗时应同步开展免疫监测等。抛砖引玉,以期引起国内同行的重视和讨论,并尽可能在将来的工作中加以研究和得到解决。

[关键词] 树突状细胞;肿瘤疫苗;临床试验;体内 DC 靶向

[中图分类号] R392.1; R730.51

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2012)01-0001-10

Dendritic cell-based cancer vaccines: Current status of global clinical trials

CHEN Hu, TANG Xiao-yi, ZHANG Bin (Department of Hematopoietic Stem Cell Transplantation & Cell and Gene Therapy Center, Affiliated Hospital of Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071, China)

[Abstract] Dendritic cell (DC)-based cancer vaccines have been studied for several decades and a line of clinical trials has been completed or in process since Ralph M. Steinman, a Nobel Prize winner in Physiology or Medicine 2011, found DCs and their crucial role in adaptive immunity. Although three DC-based cancer vaccines (Sipuleucel-T, CreaVax RCC and Hybricell) have been so far approved for marketing, the DC-based immunotherapy has not yet been approved as a standard treatment for cancer. In order to make domestic peers comprehensively understood the current status of global clinical trials of DC vaccines in cancer, the general situation (regional and country distribution, involved cancer type, start year and clinical trial phase) of these clinical trials is introduced and 43 completed and published clinical trials (selecting subject, DC culturing method, vaccination schedule, effectiveness assessment method and trial result) are summarized on the basis of clinical trial registry websites accepted by International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) and PubMed web databases. Then the current development trend and existing problems of clinical trials using DC-based cancer vaccines are emphatically analyzed. Finally, several proposals to improve the clinical studies with DC

[基金项目] 国家“十一五”计划新药创制重大专项(No. 2009zx09503-23)。Project supported by the Key New Drug Creation and Manufacturing Program of the “Eleventh Five-year Plan” of China(No. 2009zx09503-23)

[网络出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20120109.1715.010.html>

vaccines against cancer are put forward as follows: perfection and refinement of our regulatory policy on clinical trials of DC-based cancer vaccines; close concern of international “*in vivo* DC targeting” strategy; grasping to establish DC culturing method, vaccination schedule and effect assessment standard; strengthening quality monitoring of DC-based cancer vaccines; attention to basic research and clinical trial registry of DC-based vaccines for cancer; improving the clinical trial protocols of DC-based cancer vaccines; and careful selection of subjects, effect assessment time points and synchronous application of immune monitoring during cancer treatment. The authors wish to arouse domestic peers’ attention and stimulate discussion between them, and these problems will be studied and addressed as possible as we can in the future.

[**Key words**] dendritic cell; cancer vaccine; clinical trial; *in vivo* DC targeting

[Chin J Cancer Biother, 2012, 19(1): 01-10]

树突状细胞(dendritic cell, DC)为一种骨髓来源的抗原提呈细胞(antigen-presenting cell, APC),它在免疫反应的诱导和调控中发挥重要作用,为T和B细胞免疫反应的关键调控者。在肿瘤疫苗的研究中,DC常作为一种天然佐剂来诱导肿瘤抗原特异性效应和记忆性细胞^[1-2]。自从1996年美国斯坦福大学医学中心Hsu等^[3]在*Nature Medicine*上报道了全球首项DC肿瘤疫苗临床试验以来,基于DC的肿瘤免疫治疗方法一直处于研究中,一系列临床试验正在进行中或已经完成。然而,这种治疗方法一直未能成为治疗肿瘤的一种标准方法。2010年4月美国FDA批准了第一个自体细胞免疫治疗药物Sipuleucel-T^[4],才出现了治疗性肿瘤疫苗和前列腺癌治疗方法的重大突破^[5-6]。目前,国内有相当多的同行正在临床上应用基于DC的免疫治疗方法,但其中存在着种种问题(如无标准化的DC培养方法、疫苗接种方案以及疗效评估方法等),然而这些问题并没有得到应有的重视和改进,导致多数临床医生对DC疗法的“质疑”。为了加深我国肿瘤防治人员对目前全球开展的DC肿瘤疫苗临床试验现状的认识,使国内致力于研发DC肿瘤疫苗的同行人重视并改进DC肿瘤疫苗临床试验中存在的问题,笔者将就以下几个方面作一探讨。

1 全球 DC 肿瘤疫苗临床试验的概况

在国际医学期刊编辑委员会认可的临床试验注册网站(美国:www.clinicaltrial.gov;英国:www.controlledtrials.com;日本:www.umin.ac.jp/ctr;中国:www.chictr.org/en/;澳大利亚:www.anzctr.org.au和世界卫生组织:www.who.int/ictrp/en/)中的检索结果表明,目前全球有关DC的临床试验共424项(截止2011年7月16日),其中主要涉及DC疫苗(包括肿瘤疫苗和抗艾滋病病毒、乙肝病毒或流感病毒的疫苗等)、自身免疫疾病(包括1型糖尿病、哮喘、红斑狼疮、银屑病、风湿性关节炎、花粉过敏

症、动脉硬化症以及原发性胆汁淤积性肝硬化等)和移植(包括移植物抗宿主病、肝移植以及肾移植等),有关DC肿瘤疫苗的临床试验为274项。

1.1 开展临床试验的地区和国家

全球274项DC肿瘤疫苗临床试验主要分布于北美、东亚、欧洲和太平洋地区(图1),其中美国165项、日本34项、荷兰14项、澳大利亚9项、加拿大7项、丹麦7项、中国6项(含台湾3项)、德国5项、比利时5项、法国4项、挪威4项、以色列4项、西班牙3项、韩国3项、波兰2项、阿根廷1项、巴西1项、奥地利1项、伊朗1项、新加坡1项和新西兰1项,有4项多中心DC肿瘤疫苗临床试验同时在美国和加拿大开展。

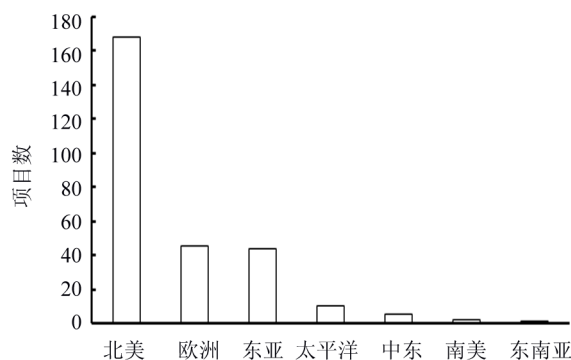


图1 全球 DC 肿瘤疫苗临床试验的地区分布

由上分析可以看出,欧美开展的DC肿瘤疫苗临床试验占全球总数的76.6%,而中国大陆地区开展的仅占总数的1%(仅3项:ChiCTR-TRC-00000146、NCT00862303和NCT01235845)。这主要是由于我国相关专业人士的临床试验注册意识淡薄,也与国内的管理制度有关联。在国内倾向于按照第三类医疗技术对DC肿瘤疫苗进行管理,而在欧美则是按照药品进行管理。

1.2 临床试验涉及的肿瘤类型

274项DC肿瘤疫苗临床试验涉及两大类别肿

瘤: 非实体瘤和实体瘤。在非实体瘤(10项以上)中, 主要包括白血病和骨髓瘤; 在实体瘤(10项以上)中, 主要包括黑素瘤、前列腺癌、肾细胞癌、乳腺癌、肺癌、大肠癌、脑癌、肝细胞癌、胰腺癌、卵巢癌和头颈部鳞癌(图2)。

其中有关黑素瘤的 DC 肿瘤疫苗临床试验占 23.7%, 究其原因主要有: (1) 在欧美, 过去的 30 年中转移性黑素瘤发病率增加, 其病死率的上升要快于其他大多数肿瘤^[7]; (2) 治疗手段较缺乏; (3) 肿瘤抗原相对较为明确; (4) 黑素瘤为免疫原性肿瘤, 对 DC 肿瘤疫苗反应良好。

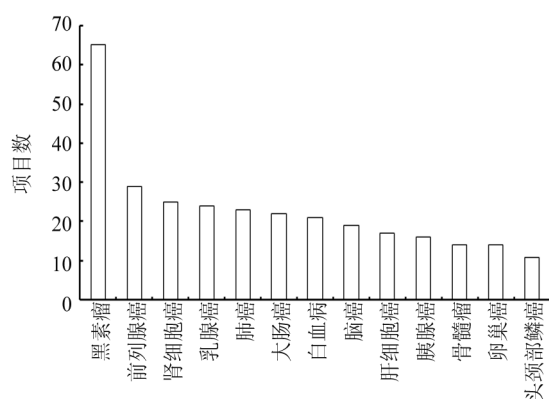


图2 全球 DC 肿瘤疫苗临床试验所涉及的肿瘤类型 (涉及多种肿瘤的研究在每种肿瘤中分别纳入统计)

1.3 临床试验所开展的年份及试验分期情况

从 1999 至 2011 年, 如果以每 4 年为一个阶段, DC 肿瘤疫苗临床试验大体有 4 个发展阶段: (1) 开始阶段(1999 至 2002 年), 每年开展约 10 项; (2) 稳步增长阶段(2003 至 2006 年), 每年开展约 19 项; (3) 大幅增长阶段(2007 至 2010 年): 每年开展约 35 项; (4) “回落”阶段(2011 年 1 月至 7 月): 开展 17 项(图3)。

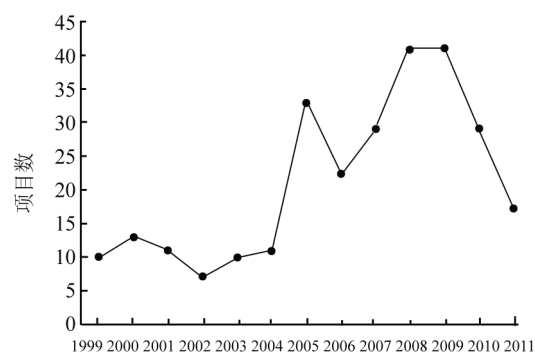


图3 DC 肿瘤疫苗临床试验开展的年份和项数

从试验分期来看, 处于 III 期的 DC 肿瘤临床试验仅为 8 项(表 1), 其中有 4 项已经完成, 其余临床试验(约 97%)均处于 I 期或 II 期。

表 1 DC 肿瘤疫苗 III 期临床试验的信息

发起单位	开始年	肿瘤类型	试验状态	标志符
Dendreon 公司(美国)	1999	转移性去势抵抗性前列腺癌	已完成	NCT00005947
	2000	转移性去势抵抗性前列腺癌	已完成	NCT01133704
	2001	转移性激素敏感性前列腺癌	进行中但不招募	NCT00779402
	2003	转移性去势抵抗性前列腺癌	已完成	NCT00065442
国家研究资源中心(美国)	2000	非霍奇金淋巴瘤	已完成	NCT00006434
Northwest Biotherapeutics 公司(美国)	2001	转移性去势抵抗性前列腺癌	已终止	NCT00043212
昆士兰医学研究所(澳大利亚)	2004	III B/C 期黑素瘤	已终止	ACTRN12605000590662
CreaGene 公司(韩国)	2008	转移性肾细胞癌	招募中	KCT0000101

目前国际上至少有 12 家公司(如 Dendreon、CreaGene、Genoa Biotecnologia、ImmunoCellular Therapeutics、Northwest Biotherapeutics、Introgen Therapeutics、Quantum Immunologics、Celldex Therapeutics、Argos Therapeutics、Geron Corporation、Prima Biomed、Immuno-Designed Molecules 等)正在研发 DC 肿瘤疫

苗, Sipuleucel-T 的成功上市势必会促进这些公司的临床研究, 可以预见, 今后 DC 肿瘤疫苗研究必将迎来一个新的高潮。

2 已完成 DC 疫苗临床试验的回顾和分析

目前全球范围内已经完成的 DC 肿瘤疫苗临床

试验共有 86 项(约占总数的 31.4%)。为了能从整体上了解这 86 项临床试验的结果,笔者在 PubMed 中以检索式“(dendritic cell) AND name of investigator[Author]”对上述已完成临床试验的学术论文进行了检索。检索结果显示,43 项临床试验已经通过论文发表公布了研究结果。下面将从受试者的选择、DC 的培养方法、疫苗接种的方案、疗效评估方法和临床试验的结果等方面对这些 DC 肿瘤疫苗临床试验作一分析。

2.1 受试者的选择

从所入选的肿瘤患者来看,基本都是肿瘤已经处于晚期或已经转移的患者,而这些患者往往由于长期的放化疗或者肿瘤负荷较大导致免疫功能受到抑制,这不利于 DC 疫苗效应的发挥。目前已经有越来越多的随机临床试验数据证实如下观点:治疗性疫苗对肿瘤早期和负荷较小的患者最有效。另外,还应该选择那些进展较缓慢的肿瘤类型(如前列腺癌、成胶质细胞瘤等)进行研究,因为由疫苗诱导的免疫细胞所介导临床上可测量的抗肿瘤效应需要数周或数月时间方能显现^[8-10]。

受试者的恰当选择也可以从 Sipuleucel-T 临床试验的成功中得到充分体现。Dendreon 公司选择满足如下入组标准的前列腺癌患者进行临床研究:(1)无症状或轻微症状的转移性去势抵抗性前列腺癌患者;(2)预计生存期不小于 6 个月;(3)血清 PSA 水平不小于 5 ng/ml;(4)血清睾酮水平不大于 500 ng/L(17 nmol/L)。排除标准:(1)体能状况评分不小于 2(ECOG);(2)有内脏转移瘤;(3)病理长骨骨折;(4)脊髓压迫;(5)治疗前 28 d 使用了糖皮质激素、外放射治疗、手术或全身治疗(药物或手术去势除外);(6)在治疗前 28 d 内已经开始或停止双膦酸盐治疗;(7)之前已经接受超过 2 个化疗方案;(8)治疗前 3 个月内已接受化疗^[11]。因此,可以说合适的病例选择已经为 Sipuleucel-T 后来的成功上市打开了半扇胜利之门。目前 Dendreon 公司正在对较早期(转移性激素敏感性)前列腺癌患者进行临床 III 期研究(表 1)。

2.2 DC 的培养方法

DC 的培养过程大体上可以分为:前体细胞的获取,分化,促成熟和抗原负载。由于在已开展的各项临床试验中这些步骤中的处理方式各不相同,导致培养出来的 DC 质量千差万别(有些临床试验甚至无 DC 表型的任何信息^[12]),这也导致试验结果在一定程度上无法进行比较,所以很有必要对这些步骤进行优化和标准化。

2.2.1 DC 前体细胞的获取 从上述已经完成的 43 项试验中所采用的 DC 类型来看,有自体单核细胞来源的 DC(monocyte-derived DC, MoDC)、异体 MoDC、自体 CD34⁺造血干细胞来源的和富集的自体血液 DC(如 Sipuleucel-T),其中 79% 的临床试验采用自体 MoDC(共 34 项)。虽然由于 CD34⁺造血干细胞分选的复杂性致使临床中较少应用(仅占 6.9%),但有研究^[13]表明,与 MoDC 相比,CD34⁺造血干细胞来源的 DC 有更强的免疫原性,并能在体外更高效地诱导抗原特异性细胞毒性 T 淋巴细胞。另外,即使都是采用 MoDC,但是获取单核细胞的方法也有很大的不同,大部分临床试验均采用贴壁分离方法,也有少数临床试验则采用 CD14 单抗磁珠分选方法^[14]。有项 Meta 分析^[15]表明,在 17 项前列腺癌临床试验(共 720 例患者)中,血液富集的 DC 疫苗优于 MoDC 疫苗,甚至优于成熟的 MoDC 疫苗。那么是否终产品中 DC 纯度“较杂”的 CD34⁺造血干细胞来源的或富集的自体血液 DC 疫苗较 DC 纯度相对单一的 MoDC 疫苗更有优势呢?这些需要进一步进行比较性研究后才能明了。

2.2.2 DC 的分化 目前临床试验中所采用的 MoDC 基本都是通过 GM-CSF 和 IL-4 诱导获得的,但也有研究^[16]表明,用 GM-CSF 和 IL-15 诱导所获得的 DC 在负载黑素瘤来源多肽后,其诱导抗原特异性细胞毒性 T 淋巴细胞的能力要比 IL-4-DC 更高效,但两者刺激 CD4⁺T 细胞的能力相当。有一项临床试验(NCT00700167)^[17]表明,朗格汉斯细胞(一种 CD34⁺造血干细胞来源的 DC)疫苗刺激酪氨酸酶-HLA-A*0201 四聚体反应的能力要显著强于 MoDC 疫苗。与 MoDC 相比,朗格汉斯细胞能合成更多的 IL-15,它甚至能在无外源性 IL-15 的情况下显著刺激更多的抗原特异性淋巴细胞,而 MoDC 需要外源性 IL-15 刺激来发挥疗效。这些研究结果均提示,传统的 DC 分化方法可以进一步进行优化。

2.2.3 DC 的促成熟 DC 的成熟状态是决定 DC 疫苗有效性的一个关键因素。因为未成熟 DC 致敏 T 细胞的能力有限,并且它还可能诱导 T 细胞耐受。另外,与黏附性较强的未成熟 DC 相比,成熟 DC 的迁移能力更强,它能更加有效地迁移至淋巴结的 T 细胞区,进而有效诱导免疫反应^[18-19]。前述的 Meta 分析^[15]表明,DC 的成熟状态显著影响前列腺癌患者的临床受益率(CR、PR、MR 或 SD 的患者比例)。分析上述 43 项临床试验发现,其中所采用的 DC 疫苗促成熟试剂组合有多种方式,如 TNF- α 、TNF- α /

IL-1 β /IL-6/PGE2、巨噬细胞条件培养基/PGE2/TNF- α 、PGE2/TNF- α 等,然而这些组合的促成熟作用是不相同的,并影响DC诱导的免疫反应类型,如LPS能在体外诱导耐受性的MoDC。对促成熟试剂的进一步合理选择有赖于对DC成熟机制更为详细的阐明^[13]。

2.2.4 抗原负载方式 虽然目前DC肿瘤疫苗负载抗原的方式有多种,但目标均在于将外源性肿瘤抗原提呈给DC,进而通过DC内源性MHC I类分子的加工和提呈途径来“交叉致敏”CD8⁺T细胞^[20]。从已经报道的43项临床试验来看,所采用的抗原类型有全肿瘤细胞抗原(自体肿瘤细胞:冻融^[21],照射^[22],凋亡^[23]和融合^[24];凋亡或坏死的肿瘤细胞系^[25-26];约占34.8%),肿瘤多肽抗原^[27](约占32.5%),肿瘤蛋白抗原^[28](约占16.2%),肿瘤细胞总RNA(电穿孔^[29];约占2.3%),编码特异性肿瘤抗原的mRNA(电穿孔^[30];约占11.6%),编码特异性肿瘤抗原的DNA(重组病毒转导,如腺病毒^[31];约占4.6%)。这些肿瘤抗原之间的优缺点比较见表2。为了提高DC负载抗原的效能,同样需要对不同负载方式进行比较性研究。如有研究^[32]表明:在大肠癌患者中,CEA mRNA转染的DC诱导的抗肿瘤特异性免疫反应与多肽负载的DC相比并无优势;在黑素瘤患者中,自体肿瘤组织裂解物负载方式比黑素瘤多肽负载方式更有效^[33]。

2.3 DC肿瘤疫苗的接种方案

DC肿瘤疫苗详细接种方案应包括如下信息:单次剂量、注射途径、注射次数、每次间隔时间以及如何与其他方法联合。但目前关于这些方面的标准尚未建立,这些均需要在临床试验中进行研究,以便于对接种方案进行改进。

2.3.1 回输途径 从已经完成的临床试验来看,DC肿瘤疫苗的回输途径有静脉、皮内、皮下、淋巴结内(共5项)和黏膜注射(仅1项)。虽然现在一致认为皮内和皮下回输优于静脉回输,但仍有19项已经完成的临床试验采用单独或联合静脉注射。静脉注射的锝放射性标记DC在到达脾、肝和骨髓之前暂时积聚在肺部,但未能到达淋巴结处;然而,皮内注射的一小部分DC(不足1%)能到达局部淋巴结(皮内注射所迁移至淋巴结的DC数量是皮下注射的3倍)。所有静脉、皮下和皮内注射途径均能诱导免疫反应,但是反应的质量有所不同,皮下或皮内注射能有更好的Th1细胞分化,而静脉注射诱导非极化T细胞和抗体反应^[34-36]。还有研究^[37-38]表明,淋巴结注射与皮内注射相比无优势,即使有更多的

DC迁移至T细胞区,但淋巴结注射DC诱导的抗原特异性免疫反应与皮内注射相似,少于 5×10^5 个DC迁移至T细胞区即足以诱导免疫反应^[39]。

表2 已经完成的DC肿瘤疫苗临床试验中
所用抗原类型的比较

抗原类型	优势	劣势
全肿瘤细胞抗原	无需已知肿瘤特异性抗原表位 提供大量肿瘤抗原表位 减少肿瘤细胞逃逸 无MHC限制性 存在CD8 ⁺ /CD4 ⁺ T细胞	费时 难以进行免疫监测
多肽抗原	肿瘤抗原表位明确 无需肿瘤组织或细胞 易于控制原料 对免疫反应的监测更为精确	需已知肿瘤抗原表位 无CD4 ⁺ T细胞协助 存在MHC限制性 肿瘤细胞易于逃逸
蛋白抗原	无MHC限制性 存在CD8 ⁺ /CD4 ⁺ T细胞 提供大量肿瘤抗原表位	难以进行免疫监测
肿瘤RNA	所需肿瘤组织的量很少 蛋白强表达 无MHC限制性 不整合入受体基因组	RNA不稳定 技术要求高
肿瘤DNA	在细胞内表达肿瘤抗原 无MHC限制性	运送效率不稳定 蛋白表达

2.3.2 单次剂量、间隔时间及接种次数 有效的DC肿瘤疫苗不仅需要强烈的初始免疫反应,而且依赖于持久的T细胞活性和能预防肿瘤复发的记忆性T细胞。DC疫苗的最小剂量、重复回输及最佳间隔时间对诱导和维持效应和记忆性T细胞是必要的。从已经完成的临床试验来看,DC肿瘤疫苗的单次注射剂量范围为 $1 \times 10^6 \sim 100 \times 10^6$ 。与皮内、皮下或淋巴结注射途径相比,静脉回输的剂量水平一般要高一个数量级(1×10^7 水平),而自体血液来源DC的静脉回输剂量更高,甚至达 1×10^9 水平,这主要是由于自体血液来源的DC疫苗中还含有其他有核细胞。就DC肿瘤疫苗的接种次数和每次间隔时间来看,两者范围分别为2~10次和1~12周,这是由于不同临床试验采用了不同的接种方案,如有些试验仅一个“致敏”阶段,DC疫苗接种次数较少;间隔时间多数为2周,这是因为DC在体内的“寿命”约为2周^[40]。现在有很多试验已经开始采用类似于传染病疫苗接种的“致敏”和“加强”方案,

即先进行常规的“致敏”接种,过一段时间后再进行“加强”接种。这种方法值得我们国内同行借鉴。

2.3.3 联合治疗 从已经完成的临床试验方案来看,DC疫苗与以下治疗方法进行联合:化疗^[41-42]、靶向治疗(细胞毒性T淋巴细胞相关抗原-4^[43]、贝伐单抗^[44]、抗CD25单抗^[45])、细胞因子^[14]和NKT细胞治疗^[46]。因为晚期肿瘤患者的大部分治疗方案都是不同化疗药物之间或者放疗和化疗之间的组合,所以肿瘤免疫治疗(如DC肿瘤疫苗)需要与常规治疗方法结合起来使患者受益达到最大。而且许多常规治疗对免疫反应有利,甚至那些一般被看作有免疫抑制作用的化疗也可能在一定程度上增强抗肿瘤反应^[9]。在联合治疗过程,这些常规治疗的剂量和时间安排很关键,需要我们进一步进行探索。

2.4 临床试验效果的评估方法

2.4.1 免疫学检测评估 DC肿瘤疫苗临床试验中,免疫学检测方法主要分为DTH、ELISPOT和MHC-肽复合物四聚体法。但是,由于不同实验室的检测结果显示存在较大的差异,影响了试验数据的重复性和可比性。美国癌症研究所的癌症免疫治疗联盟(Cancer Immunotherapy Consortium of the Cancer Research Institute, CIC-CRI)和癌症免疫治疗协会(Association for Cancer Immunotherapy, C-IMT)于2005年发起了2项大规模国际性免疫反应检测质控计划,其目的是为临床试验中免疫反应检测提供质量保证,以减小试验差异,这有助于最终建立肿瘤免疫治疗的评价指标^[47]。

2.4.2 临床评估 关于实体瘤的DC肿瘤疫苗临床试验对患者临床反应的判断基本还是基于传统的化疗药物评价体系如WHO或RECIST标准。随着对肿瘤免疫反应的了解,人们已经意识到免疫治疗的作用机制与化疗有本质上的区别。因为化疗直接作用于肿瘤细胞,而免疫治疗作用于免疫系统,它的特征为一种细胞免疫反应建立的新的动力学,随后是肿瘤负荷或患者生存期的变化,这期间的跨度需要数月^[47]。因此,国际上已经提出了实体肿瘤免疫治疗新的疗效标准——免疫相关疗效标准(immune-related response criteria, irRC)^[10],这对肿瘤免疫治疗的发展和临床应用具有重要意义,但同时也带来一个问题,对于采用与化疗联合的免疫治疗方案该如何进行疗效评估?

2.5 临床试验的结果

2.5.1 43项临床试验结果总体分析 总体上,从I/II期临床试验(40项,约占93%)结果来看,接种DC肿瘤疫苗的安全性和可行性已经得到确认,

仅在个别病例中有一些轻微和自限性的不良反应;DC肿瘤疫苗能在患者体内诱导特异性免疫反应,但所诱导的临床反应仍有限,这在一定程度上与所采用的WHO或RECIST疗效评估标准有关。在临床反应与特异性免疫反应相关性方面,有些研究^[30,48-49]表明两者间存在正相关性;而也有研究^[50-52]表明两者无相关性;还有研究^[53-54]表明,患者的生存期和(或)疾病进展时间与特异性免疫反应之间存在正相关。从III期临床试验(3项,约占7%)结果来看,DC肿瘤疫苗能影响无症状或轻微症状转移性去势抵抗性前列腺癌患者的总体生存期,而不能影响患者的疾病进展时间^[11,28-55]。

2.5.2 疗效良好的临床试验的结果 虽然DC肿瘤疫苗总体上诱导的临床反应有限,但仍有治疗成功甚至有令人惊叹的疗效的报道。如Van Tendeloo等^[30]采用全长WT1 mRNA-电穿孔的自体MoDC疫苗治疗10例急性髓细胞性白血病患者,其接种方案为间隔2周的4次皮内注射,剂量范围为 $5 \times 10^6 \sim 20 \times 10^6$ 个;2例化疗后PR的患者在疫苗接种后达到CR,这2例患者和另外3例CR的患者在疫苗接种后体内与急性髓细胞性白血病相关的肿瘤标志物转为正常水平,这与分子缓解的诱导结果相一致。Schwaab等^[14]采用自体肿瘤细胞裂解物负载的自体MoDC疫苗联合IL-2和IFN- α 2a治疗18例转移性肾细胞癌患者,其接种方案为间隔2周的2次诱导治疗和间隔4周的3次维持治疗(诱导治疗和维持治疗之间间隔19d),淋巴结注射,每次剂量为 1×10^7 个;疫苗接种后患者总体客观临床反应率为50%,包括3例CR。Dillman等^[22]采用负载经照射自体肿瘤细胞的MoDC疫苗治疗54例转移性黑色素瘤患者,其接种方案为8次皮下注射(前3次间隔1周,后5次间隔1个月),剂量为 $1 \times 10^7 \sim 2 \times 10^7$ 个,中位随访4.5年,30例存活患者的预计5年生存率达到令人印象深刻的54%;这30例患者的生存期要优于之前48例接种受照射肿瘤细胞疫苗的黑素瘤患者的生存期(64 vs 31个月, $P=0.016$)。

2.5.3 已上市DC疫苗的临床试验的结果 目前全球范围内已经有3种DC肿瘤疫苗获得了上市批准:Hybricell(Genoa Biotecnologia,巴西)、CreaVax RCC(CreaGene,韩国)和Sipuleucel-T(Dendreon,美国)^[56]。早在2005年5月,巴西ANVISA就批准了异体DC肿瘤疫苗Hybricell用于晚期黑色素瘤和肾细胞癌治疗,其由健康无关供者的MoDC与患者自体肿瘤细胞融合制备而成。Hybricell临床研究共招募了35例负荷较大和疾病进展的肿瘤患者(13例转

移性黑素瘤患者和 22 例肾细胞癌患者),所有患者接受了至少 2 次的 Hybricell 治疗(每次间隔 6 周,皮内或淋巴结注射),71% 患者的疾病稳定,持续时间长达 19 个月;在肾细胞癌患者中,3/22(14%)患者产生了客观反应;黑素瘤患者和肾细胞癌患者的中位疾病进展时间分别为 4.0 和 5.7 个月,且无显著不良反应^[57]。

2007 年 5 月,韩国 FDA 批准了称为 CreaVax RCC 的自体 MoDC 疫苗用于转移性肾细胞癌的治疗,其由患者的体外诱导的未成熟 MoDC 负载自体肿瘤组织裂解物制备而成。临床研究共招募了 9 例转移性肾细胞癌患者,所有患者接受 2 个疗程的 CreaVax RCC 治疗(每个疗程由 4 次间隔 2 周的 DC 皮下注射构成),结果为 1 例 PR、5 例 SD、3 例 PD(根据 RECIST 标准),中位疾病进展时间和总体生存期分别为 5.2 和 29.0 个月;CreaVax RCC 的耐受性良好,无严重毒性作用^[58]。目前,CreaGene 公司正在进行 CreaVax RCC 与甲苯磺酸索拉非尼(sorafenib tosylate)的开放、随机、多中心 III 期研究(表 1)。

以上两种 DC 肿瘤疫苗的临床研究病例数较少,所取得的数据也许还不足令人完全信服,那么 2010 年美国 FDA 批准 Sipuleucel-T 上市就相当于宣布了 DC 肿瘤疫苗的合法化^[59-60]。Dendreon 公司为了 Sipuleucel-T 的成功上市,共开展了 3 项 III 期试验(表 1)。一项对于 Sipuleucel-T 成功上市至关重要的 III 期临床试验(NCT00065442)共入组了 512 例去势抵抗性前列腺癌患者(Sipuleucel-T 组 341 例,安慰剂组 171 例),结果表明,与安慰剂组相比,Sipuleucel-T 组的死亡风险下降了 22%,中位生存期延长了 4.1 个月(Sipuleucel-T 组和安慰剂组分别为 25.8 和 21.7 个月),3 年生存率提高了 8.7%;两组的客观疾病进展时间无差异;Sipuleucel-T 组多见的不良反应有寒颤、发烧和头痛^[11]。正是基于这项试验结果,美国 FDA 批准了 Sipuleucel-T 作为第一个自体细胞免疫治疗药物投入临床使用,这也成为治疗性肿瘤疫苗领域和前列腺癌治疗方法的里程碑式的事件。

3 全球 DC 疫苗临床试验对我们的启示

3.1 关注国际发展趋势

由于 DC 肿瘤疫苗经体外制备,这种制备方法费时、费力和成本昂贵。目前国际上有种倾向采用“体内 DC 靶向(*In vivo* DC targeting)”策略,即直接注射一种靶向体内特定 DC 亚群的肿瘤抗原-抗体

复合物,复合物中的抗体针对 DC 表面的 C 型凝集素受体(如 DEC-205、TLRs 等)抗原^[61],以试图代替常规的 DC 肿瘤疫苗体外制备方法,从而促进基于 DC 免疫治疗方法的大规模应用^[2]。但这种方法还未进入临床试验阶段,远不如体外制备 DC 肿瘤疫苗方法研究得普遍和深入,而且“体内 DC 靶向”策略相关参数的确定仍依赖于体外制备 DC 肿瘤疫苗方法的研究。体外制备的 DC 肿瘤疫苗具有异质性,由多种 DC 亚群组成,而每种亚群将针对一种特定的免疫效应,这有利于对体内 DC 亚群的研究^[62]。所以,当前国际上还是以体外制备 DC 肿瘤疫苗的研究为主。

3.2 亟需建立相关标准

体外制备的 DC 肿瘤疫苗要想最终成为一种用于肿瘤治疗的标准选项,必须依赖于以下几个方面标准的建立:DC 培养方法(前体细胞选择及分离方法、抗原负载方式、细胞诱导所用耗材及试剂等)标准、DC 疫苗接种方案(单次剂量、注射途径、注射次数、每次隔间时间及与其他治疗方法联合)标准和效果评估(免疫学检测评估和临床评估)标准。这些标准的建立有利于提高和保证临床试验的整体质量,有利于各项临床试验效果的评估和比较,进而提高 DC 肿瘤疫苗的疗效^[63],使其早日成为一种肿瘤治疗的标准手段。也许 DC 亚群研究中尚有诸多未知之处,但我们可以围绕体外研究较为深入的 MoDC 疫苗逐步建立上述标准。

3.3 着力改进几个问题

除了上述的标准化问题,DC 肿瘤疫苗临床研究今后还应重视和改进以下几个方面的不足:(1)试验方案中选择的受试者和疗效评估时间点不合适。过去的临床试验大多在那些晚期患者中开展,而所选择的患者由于大量放疗、化疗或者大肿瘤负荷导致免疫功能受到抑制。同时,绝大多数临床试验疗效仍然套用化疗药物疗效的评估方式,即在治疗结束时评估 DC 肿瘤疫苗的近期疗效,这显然不够客观和科学。因为 DC 肿瘤疫苗疗效的产生完全不同于化疗药物,从 T 细胞的活化到临床上可测量的抗肿瘤效应往往需要数月甚至更长的时间。例如 Sipuleucel-T 组和安慰剂组的生存曲线在治疗 8 个月后才开始分离,产生了延迟效应^[64]。(2)DC 疫苗迁移效率较低。有研究表明,DC 疫苗注射后,大约只有 1% 能迁移到引流淋巴组织中,所以需要改进注射方法以提高 DC 的迁移效率,比如在疫苗注射部位注射 TNF 等。(3)对 DC 疫苗的质量控制不够。很多临床试验未对 DC 疫苗以下两方面能力进

行质量检测:①诱导产生肿瘤抗原高亲和力的辅助性或细胞毒性 T 细胞的能力;②抑制 Treg 细胞产生的能力。(4)所负载的肿瘤抗原种类有限。许多 DC 疫苗仅负载了一种或几种肿瘤抗原,结果不能有效抑制肿瘤细胞的免疫逃逸。(5)未同步开展免疫监测。因为保护性淋巴细胞的产生与肿瘤退化和生存改善相关,因此 DC 疫苗治疗需要与免疫监测同步进行,以检测其保护性淋巴细胞的水平。(6)企业界和学术界合作不够。为了制备用于临床的 DC 疫苗和有助于研究者系统地评估与疗效相关的多种变量,需要企业界和学术界通力合作^[65]。(7)WHO 和 RECIST 疗效评估标准不合适 DC 肿瘤疫苗评估。为了对 DC 疫苗临床疗效进行合理评价,应引入适合肿瘤免疫治疗的疗效评估标准,如 irRC^[10]。总之,只有在临床研究中真正改进以上多方面的不足,方能加速 DC 肿瘤疫苗的临床研究。

3.4 国内同行任重道远

除了上述存在的问题和不足之外,还有以下几个方面的问题需要引起国内同行的重视:(1)国内 DC 肿瘤疫苗研发的监管政策尚不够明确。目前我国的 DC 肿瘤疫苗是按照第三类医疗技术(归口卫生部)监管还是按照药品(归口 SFDA)监管的政策尚未出台,因而无法对国内开展的 DC 肿瘤疫苗临床研究进行有效监管和准入,不利于 DC 肿瘤疫苗临床研究的开展。(2)缺乏高质量的临床试验方案。我国学者的 DC 肿瘤疫苗临床试验注册意识淡薄,由大陆地区实施的临床研究仅 3 项(占全球总数的 1%),绝大部分开展的临床研究均未进行有效注册;在 DC 肿瘤疫苗的临床研究过程中,大部分临床研究缺乏高质量的临床试验方案,导致无法获得令人信服的临床数据或解决一些具体的临床应用问题(如接种方案等)。(3)大量临床数据未以论文形式发表。由于 DC 肿瘤疫苗临床试验方案的缺失或临床医生的忽视等原因,导致国内大量临床治疗病例没有及时以学术论文的形式予以发表(尤其是在英文刊物上),无法在国际上形成良好影响力。(4)基础研究重视不够。由于 DC 肿瘤疫苗还是一个发展中的新生事物,还有诸多基础性问题需要加强研究,如对 DC 亚群的研究等,因为 DC 的可塑性和亚群是影响所诱导免疫反应质量的决定性因素,而国内在这方面的研究则是相对比较欠缺。上述种种问题如果得不到国内管理部门、学术界和企业界的有效解决,我国的 DC 肿瘤疫苗临床研究将无法得以持续、健康发展,更无法在国际舞台上取得应有的地位。

作为免疫反应的关键“决策细胞”,DC 是对免疫系统进行调控以增强肿瘤抗原特异性免疫应答的理想靶点之一。目前全球范围内注册的 DC 肿瘤疫苗临床试验有 274 项,涉及大多数常见肿瘤类型。一系列 I、II 和 III 期临床试验已经完成,DC 肿瘤疫苗的可行性和安全性以及对部分患者的有效性得以证实,全球已经有 3 种 DC 肿瘤疫苗获得了上市批准。但是,在前期临床研究中暴露出一些亟待解决的问题(如 MoDC 疫苗的优化和标准化等),这些问题的有效解决将有利于我国 DC 肿瘤疫苗临床研究的规范化和临床研究整体质量的提高,而这些问题的解决依赖于 DC 肿瘤疫苗研究专业人才的培养和素质的提高,以及研究团队的建设。希望我国广大肿瘤防治工作者本着科学、严谨的学术精神,不断解决 DC 肿瘤疫苗研发过程中发现的问题,探索新的发展方向,促进基于 DC 的免疫治疗方法早日成为一种个体化肿瘤治疗手段,造福于广大肿瘤患者!

[参考文献]

- [1] O'Neill DW, Adams S, Bhardwaj N. Manipulating dendritic cell biology for the active immunotherapy of cancer [J]. *Blood*, 2004, 104(8): 2235-2246.
- [2] Tacken PJ, de Vries IJ, Torensma R, et al. Dendritic-cell immunotherapy: From *ex vivo* loading to *in vivo* targeting [J]. *Nat Rev Immunol*, 2007, 7(10): 790-802.
- [3] Hsu FJ, Benike C, Fagnoni F, et al. Vaccination of patients with B-cell lymphoma using autologous antigen-pulsed dendritic cells [J]. *Nat Med*, 1996, 2(1): 52-58.
- [4] DeFrancesco L. Landmark approval for Dendreon's cancer vaccine [J]. *Nat Biotechnol*, 2010, 28(6): 531-532.
- [5] Higano CS, Small EJ, Schellhammer P, et al. Sipuleucel-T [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2010, 9(7): 513-514.
- [6] Ledford H. A shot in the arm for cancer vaccines? [J]. *Nature*, 2010, 464(7292): 1110-1111.
- [7] Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma [J]. *N Engl J Med*, 2010, 363(8): 711-723.
- [8] Gulley JL, Madan RA, Schlom J. Impact of tumour volume on the potential efficacy of therapeutic vaccines [J]. *Curr Oncol*, 2011, 18(3): e150-157.
- [9] Drake CG. Prostate cancer as a model for tumour immunotherapy [J]. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10(8): 580-593.
- [10] Wolchok JD, Hoos A, O'Day S, et al. Guidelines for the evaluation of immune therapy activity in solid tumors: Immune-related response criteria [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(23): 7412-7420.
- [11] Kantoff PW, Higano CS, Shore ND, et al. Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer [J]. *N Engl J Med*, 2010, 363(5): 411-422.
- [12] Burgdorf SK, Fischer A, Myschetzky PS, et al. Clinical responses

- in patients with advanced colorectal cancer to a dendritic cell based vaccine [J]. *Oncol Rep*, 2008, 20(6): 1305-1311.
- [13] Simon T, Fonteneau JF, Grégoire M. Dendritic cell preparation for immunotherapeutic interventions [J]. *Immunotherapy*, 2009, 1(2): 289-302.
- [14] Schwaab T, Schwarzer A, Wolf B, et al. Clinical and immunologic effects of intranodal autologous tumor lysate-dendritic cell vaccine with aldesleukin (interleukin 2) and IFN-alpha 2a therapy in metastatic renal cell carcinoma patients [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(15): 4986-4992.
- [15] Draube A, Klein-González N, Mattheus S, et al. Dendritic cell based tumor vaccination in prostate and renal cell cancer: A systematic review and meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2011, 6(4): e18801.
- [16] Banchereau J, Palucka AK. Dendritic cells as therapeutic vaccines against cancer [J]. *Nat Rev Immunol*, 2005, 5(4): 296-306.
- [17] Romano E, Rossi M, Ratzinger G, et al. Peptide-loaded langerhans cells, despite increased IL-15 secretion and T-cell activation *in vitro*, elicit antitumor T-cell responses comparable to peptide-loaded monocyte-derived dendritic cells *in vivo* [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(7): 1984-1997.
- [18] De Vries IJ, Krooshoop DJ, Scharenborg NM, et al. Effective migration of antigen-pulsed dendritic cells to lymph nodes in melanoma patients is determined by their maturation state [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(1): 12-17.
- [19] de Vries IJ, Lesterhuis WJ, Scharenborg NM, et al. Maturation of dendritic cells is a prerequisite for inducing immune responses in advanced melanoma patients [J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(14): 5091-5100.
- [20] Bhardwaj N. Processing and presentation of antigens by dendritic cells: Implications for vaccines [J]. *Trends Mol Med*, 2001, 7(9): 388-394.
- [21] Gitlitz BJ, Beldegrun AS, Zisman A, et al. A pilot trial of tumor lysate-loaded dendritic cells for the treatment of metastatic renal cell carcinoma [J]. *J Immunother*, 2003, 26(5): 412-419.
- [22] Dillman RO, Selvan SR, Schiltz PM, et al. Phase II trial of dendritic cells loaded with antigens from self-renewing, proliferating autologous tumor cells as patient-specific antitumor vaccines in patients with metastatic melanoma: Final report [J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2009, 24(3): 311-319.
- [23] Kitawaki T, Kadowaki N, Fukunaga K. Cross-priming of CD8 (+) T cells *in vivo* by dendritic cells pulsed with autologous apoptotic leukemic cells in immunotherapy for elderly patients with acute myeloid leukemia [J]. *Exp Hematol*, 2011, 39(4): 424-433.
- [24] Avigan DE, Vasir B, George DJ, et al. Phase I / II study of vaccination with electrofused allogeneic dendritic cells/autologous tumor-derived cells in patients with stage IV renal cell carcinoma [J]. *J Immunother*, 2007, 30(7): 749-761.
- [25] Frank MO, Kaufman J, Tian S, et al. Harnessing naturally occurring tumor immunity: A clinical vaccine trial in prostate cancer [J]. *PLoS One*, 2010, 5(9): e12367.
- [26] von Euw EM, Barrio MM, Furman D, et al. A phase I clinical study of vaccination of melanoma patients with dendritic cells loaded with allogeneic apoptotic/necrotic melanoma cells. Analysis of toxicity and immune response to the vaccine and of IL-10-1082 promoter genotype as predictor of disease progression [J]. *J Transl Med*, 2008, 6: 6.
- [27] Butterfield LH, Ribas A, Dissette VB, et al. A phase I / II trial testing immunization of hepatocellular carcinoma patients with dendritic cells pulsed with four alpha-fetoprotein peptides [J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(9): 2817-2825.
- [28] Small EJ, Schellhammer PF, Higano CS, et al. Placebo-controlled phase III trial of immunologic therapy with sipuleucel-T (APC8015) in patients with metastatic, asymptomatic hormone refractory prostate cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(19): 3089-3094.
- [29] Amin A, Dudek A, Logan T, et al. A phase II study testing the safety and activity of AGS-003 as an immunotherapeutic in subjects with newly diagnosed advanced stage renal cell carcinoma (RCC) in combination with sunitinib [J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(15): 4588.
- [30] Van Tendeloo VF, Van de Velde A, Van Driessche A, et al. Induction of complete and molecular remissions in acute myeloid leukemia by Wilms' tumor 1 antigen-targeted dendritic cell vaccination [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(31): 13824-13829.
- [31] Butterfield LH, Comin-Anduix B, Vujanovic L, et al. Adenovirus MART-1-engineered autologous dendritic cell vaccine for metastatic melanoma [J]. *J Immunother*, 2008, 31(3): 294-309.
- [32] Lesterhuis WJ, De Vries IJ, Schreiber G, et al. Immunogenicity of dendritic cells pulsed with CEA peptide or transfected with CEA mRNA for vaccination of colorectal cancer patients [J]. *Anticancer Res*, 2010, 30(12): 5091-5097.
- [33] Hersey P, Menzies SW, Halliday GM, et al. Phase I / II study of treatment with dendritic cell vaccines in patients with disseminated melanoma [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2004, 53(2): 125-134.
- [34] Morse MA, Coleman RE, Akabani G, et al. Migration of human dendritic cells after injection in patients with metastatic malignancies [J]. *Cancer Res*, 1999, 59(1): 56-58.
- [35] Ridolfi R, Riccobon A, Galassi R, et al. Evaluation of *in vivo* labelled dendritic cell migration in cancer patients [J]. *J Transl Med*, 2004, 2(1): 27.
- [36] Fong L, Brockstedt D, Benike C, et al. Dendritic cells injected via different routes induce immunity in cancer patients [J]. *J Immunol*, 2001, 166(6): 4254-4259.
- [37] Kyte JA, Mu L, Aamdal S, et al. Phase I / II trial of melanoma therapy with dendritic cells transfected with autologous tumor-mRNA [J]. *Cancer Gene Ther*, 2006, 13(10): 905-918.
- [38] Lesterhuis WJ, de Vries IJ, Schreiber G, et al. Route of administration modulates the induction of dendritic cell vaccine-induced antigen-specific T cells in advanced melanoma patients [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(17): 5725-5735.
- [39] Verdijk P, Aarntzen EH, Lesterhuis WJ, et al. Limited amounts of dendritic cells migrate into the T-cell area of lymph nodes but have

- high immune activating potential in melanoma patients [J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(7): 2531-2540.
- [40] Figdor CG, de Vries IJ, Lesterhuis WJ, et al. Dendritic cell immunotherapy: Mapping the way [J]. Nat Med, 2004, 10(5): 475-480.
- [41] Walker DG, Laherty R, Tomlinson FH, et al. Results of a phase I dendritic cell vaccine trial for malignant astrocytoma: Potential interaction with adjuvant chemotherapy [J]. J Clin Neurosci, 2008, 15(2): 114-121.
- [42] Fadul CE, Fisher JL, Hampton TH, et al. Immune response in patients with newly diagnosed glioblastoma multiforme treated with intranodal autologous tumor lysate-dendritic cell vaccination after radiation chemotherapy [J]. J Immunother, 2011, 34(4): 382-389.
- [43] Ribas A, Comin-Anduix B, Chmielowski B, et al. Dendritic cell vaccination combined with CTLA4 blockade in patients with metastatic melanoma [J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(19): 6267-6276.
- [44] Rini BI, Weinberg V, Fong L, et al. Combination immunotherapy with prostatic acid phosphatase pulsed antigen-presenting cells (provege) plus bevacizumab in patients with serologic progression of prostate cancer after definitive local therapy [J]. Cancer, 2006, 107(1): 67-74.
- [45] Jacobs JF, Punt CJ, Lesterhuis WJ, et al. Dendritic cell vaccination in combination with anti-CD25 monoclonal antibody treatment: A phase I/II study in metastatic melanoma patients [J]. Clin Cancer Res, 2010, 16(20): 5067-5078.
- [46] Kunii N, Horiguchi S, Motohashi S, et al. Combination therapy of *in vitro*-expanded natural killer T cells and alpha-galactosylceramide-pulsed antigen-presenting cells in patients with recurrent head and neck carcinoma [J]. Cancer Sci, 2009, 100(6): 1092-1098.
- [47] Hoos A, Eggermont AM, Janetzki S, et al. Improved endpoints for cancer immunotherapy trials [J]. J Natl Cancer Inst, 2010, 102(18): 1388-1397.
- [48] de Vries IJ, Bernsen MR, Lesterhuis WJ, et al. Immunomonitoring tumor-specific T cells in delayed-type hypersensitivity skin biopsies after dendritic cell vaccination correlates with clinical outcome [J]. J Clin Oncol, 2005, 23(24): 5779-5787.
- [49] Hersey P, Menzies SW, Halliday GM, et al. Phase I/II study of treatment with dendritic cell vaccines in patients with disseminated melanoma [J]. Cancer Immunol Immunother, 2004, 53(2): 125-134.
- [50] Trepakos R, Berntsen A, Hadrup SR, et al. Vaccination with autologous dendritic cells pulsed with multiple tumor antigens for treatment of patients with malignant melanoma: Results from a phase I/II trial [J]. Cytotherapy, 2010, 12(6): 721-734.
- [51] Ribas A, Comin-Anduix B, Chmielowski B, et al. Dendritic cell vaccination combined with CTLA4 blockade in patients with metastatic melanoma [J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(19): 6267-6276.
- [52] Butterfield LH, Ribas A, Disette VB, et al. Determinant spreading associated with clinical response in dendritic cell-based immunotherapy for malignant melanoma [J]. Clin Cancer Res, 2003, 9(3): 998-1008.
- [53] Wheeler CJ, Black KL, Liu G, et al. Vaccination elicits correlated immune and clinical responses in glioblastoma multiforme patients [J]. Cancer Res, 2008, 68(14): 5955-5964.
- [54] Fadul CE, Fisher JL, Hampton TH, et al. Immune response in patients with newly diagnosed glioblastoma multiforme treated with intranodal autologous tumor lysate-dendritic cell vaccination after radiation chemotherapy [J]. J Immunother, 2011, 34(4): 382-389.
- [55] Higano CS, Schellhammer PF, Small EJ, et al. Integrated data from 2 randomized, double-blind, placebo-controlled, phase III trials of active cellular immunotherapy with sipuleucel-T in advanced prostate cancer [J]. Cancer, 2009, 115(16): 3670-3679.
- [56] Goldman B, De Francesco L. The cancer vaccine roller coaster [J]. Nat Biotechnol, 2009, 27(2): 129-139.
- [57] Barbuto JA, Ensina LF, Neves AR, et al. Dendritic cell-tumor cell hybrid vaccination for metastatic cancer [J]. Cancer Immunol Immunother, 2004, 53(12): 1111-1118.
- [58] Kim JH, Lee Y, Bae YS, et al. Phase I/II study of immunotherapy using autologous tumor lysate-pulsed dendritic cells in patients with metastatic renal cell carcinoma [J]. Clin Immunol, 2007, 125(3): 257-267.
- [59] Ledford H. A shot in the arm for cancer vaccines? [J]. Nature, 2010, 464(7292): 1110-1111.
- [60] 唐晓义, 张斌, 陈虎. 美国 FDA 批准的首个自体细胞免疫药物 Sipuleucel-T 的转化之旅 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2011, 18(6): 672-677.
- [61] Schuler G. Dendritic cells indispensable? [J]. Cancer J, 2011, 17(5): 337-342.
- [62] Lutz MB, Romani N, Steinkasserer A. Handbook of dendritic cells [M]. Weinheim: VCH-Wiley, 2006: 1107-1107.
- [63] Welles LC. Dendritic cells types, life cycles and biological functions [M]. New York: Nova Science Publishers Inc, 2010: 21-23.
- [64] Hoos A, Eggermont AM, Janetzki S, et al. Improved endpoints for cancer immunotherapy trials [J]. J Natl Cancer Inst, 2010, 102(18): 1388-1397.
- [65] Steinman RM, Banchereau J. Taking dendritic cells into medicine [J]. Nature, 2007, 449(7161): 419-426.

[收稿日期] 2011 - 12 - 20 [修回日期] 2012 - 01 - 22

[本文编辑] 韩丹