

树突状细胞疫苗肿瘤抗原负载方式的临床转化研究进展

Research progress of clinical translation on tumor antigen delivery strategies of dendritic cell vaccine

高艳荣, 贾绍昌, 江龙委[△](解放军第81医院肿瘤生物治疗科, 江苏南京210002)

[摘要] 树突状细胞(dendritic cell, DC)是体内功能最强的抗原提呈细胞,能将肿瘤抗原提呈给T细胞,是抗肿瘤免疫的启动者。DC疫苗的肿瘤免疫治疗虽已取得丰硕成果,但在其临床转化过程中还有很多问题需要解决,选择何种抗原负载方式则是其中之一。目前临床试验中常用的有肿瘤细胞裂解物负载DC、重组肿瘤相关抗原负载DC及携带肿瘤相关抗原信息的mRNA转染DC三种方法。本文对此三种方法在临床试验中的应用做一综述,为树突状细胞疫苗的临床应用提供参考。

[关键词] 肿瘤;树突状细胞疫苗;肿瘤抗原;负载

[中图分类号] R979.1; R730.51

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2015)05-0646-05

肿瘤免疫治疗是利用人体免疫系统治疗肿瘤的一种方法,包括非特异性和特异性免疫治疗。肿瘤相关抗原(tumor associated antigen, TAA)构成了特异性免疫治疗的基础。特异性免疫治疗主要包括两种方式:一是体外培养肿瘤抗原特异性T细胞并回输患者体内治疗肿瘤;二是将肿瘤抗原以疫苗的形式注入体内诱导出肿瘤抗原特异性T细胞来治疗肿瘤。树突状细胞(dendritic cell, DC)是体内功能最强的抗原提呈细胞,能将肿瘤抗原提呈给T细胞,是抗肿瘤免疫的启动者^[1-2]。DC用于肿瘤免疫治疗已经有超过10年的历史了,大量研究证明基于DC的肿瘤疫苗是安全而有效的,在恶性黑色素瘤、脑胶质瘤、前列腺癌及肾癌中,DC疫苗均取得了与传统治疗及新的CTLA-4抗体治疗相类似的客观缓解率,且中位生存期有所提高^[3-5]。DC的临床转化无疑是成功的。

在临床转化过程中,DC疫苗的疗效与肿瘤抗原的选择、肿瘤抗原的负载方式、DC数量、DC的成熟度及DC注射方式等多种因素密切相关^[6]。DC在体外负载抗原的方式有多种,目前应用最多的有三种:(1)用肿瘤细胞裂解物负载DC;(2)用重组TAA负载DC;(3)用携带TAA信息的mRNA转染DC。本文对目前国内外临床转化中不同方式负载DC临床研究进展做一综述。

1 肿瘤细胞裂解物负载DC

从DC肿瘤疫苗进入临床应用以来,用肿瘤细胞裂解物负载DC的方法一直应用至今,且涵盖多种肿瘤。笔者对1998年至2014年中已发表的54项肿瘤细胞裂解物负载DC肿瘤疫苗的临床试验进

行了统计,恶性黑色素瘤与肾癌的临床研究最多,各有12项,其次为脑胶质瘤的7项,然后为乳腺癌、肝细胞癌、结直肠癌、肺癌、卵巢癌、前列腺癌、甲状腺癌、B淋巴细胞性白血病和骨肉瘤等各有1到3项研究不等,还有4项研究中包括了各种实体瘤。黑色素瘤是DC疫苗治疗研究最多的一种肿瘤,临床效果相对较好。由于越来越多的黑色素瘤相关肿瘤抗原被发现,近年来利用肿瘤抗原负载DC的较多而用肿瘤细胞裂解物负载DC的临床研究相对较少。2014年一项II期临床研究的结果^[7]显示,肿瘤细胞裂解物负载DC联合免疫调节性的放疗及IFN- α 治疗晚期黑色素瘤临床获益率[部分缓解(partial response, PR)+疾病稳定(stable disease, SD)]为55.5%,且与是否引起特异性免疫反应直接相关;肾癌也是生物治疗效果较好的肿瘤。Flörcken等^[8]用患者自体肿瘤细胞裂解物负载DC治疗7例进展期转移性肾癌,结果显示临床获益率为29%,3例患者体内出现特异性的Th1型免疫反应;Andreas等^[6]综述了肾癌的12项临床试验,其中2项采用多肽负载,7项采用肿瘤细胞裂解物,2项采用RNA负载,1项既有多肽抗原也有肿瘤细胞裂解物负载,统计结

[基金项目] 南京市科技发展计划项目(No. 201303040)。Project supported by the Nanjing Science and Technology Development Project (No. 201303040)

[作者简介] 高艳荣(1982-),女,安徽省宿州市人,学士,住院医师,主要从事肿瘤生物治疗临床研究, E-mail: gaoyanrong1234@163.com

[通信作者] 贾绍昌(Jia Shaochang, corresponding author), E-mail: jiashaochang@sina.com; 江龙委(Jiang Longwei, co-corresponding author), E-mail: jianglw2005@163.com。[△]为共同通信作者

果显示 166 例肾癌患者中客观反应率(objective response, OR)为 12.7%, 临床获益率为 48%。脑胶质瘤应用 DC 疫苗治疗的临床研究也较多, 脑部以前被认为是免疫豁免区, 但近年研究发现, 脑部的免疫豁免是相对的, 脑组织中小胶质细胞、星形胶质细胞等均有提呈抗原的功能, 活化的 T 细胞能通过血脑屏障, 而且病理情况下血脑屏障会受到损伤使免疫细胞更容易进入脑部, 这说明脑胶质瘤的 DC 疫苗治疗是可行的。Shah 等^[9]及 Fadul 等^[10]的研究都证实, 自体肿瘤细胞裂解物负载 DC 能使脑胶质瘤患者出现特异性免疫反应且使生存期延长。除以上肿瘤外, 在乳腺癌、肝细胞癌、结直肠癌、肺癌、卵巢癌、甲状腺癌、B 淋巴细胞性白血病中, 肿瘤细胞裂解物负载 DC 疫苗的治疗也都能使患者获益, 包括临床获益率和/或生存期的延长^[11-17]。

骨肉瘤是一类放化疗皆不敏感的肿瘤, 除手术切除外无特别有效的治疗方法。因此, Himoudi 等^[18]尝试使用自体肿瘤细胞裂解物负载 DC 疫苗对骨肉瘤进行治疗, 结果显示 12 例患者中只有 2 例出现特异性的 T 淋巴细胞反应且无临床获益, 证明骨肉瘤对这种治疗方式不敏感。

2 重组 TAA 负载 DC

目前, 使用重组 TAA 负载 DC 治疗肿瘤的临床试验的数量是最多的, 涉及的肿瘤种类也很多。很显然, 此种方法的疗效很大程度上取决于 TAA 的选择^[19]。理想的 TAA 不仅需要在肿瘤细胞特异性表达或是过度表达(为了避免或减少对正常组织的免疫损伤), 还需要是肿瘤抑制性的抗原(即能引起特异性抗肿瘤反应的抗原)^[20-21]。近年来多种肿瘤抗原被用于免疫治疗靶标, 包括肿瘤睾丸抗原类(cancer-testis antigen, CTA), 如 MAGE 家族、NY-ESO-1 和 SSX 抗原等, 分化抗原类如 MART-1/Melan-A、gp100、酪氨酸酶相关蛋白 2 和酪氨酸酶等, 以及一些在肿瘤细胞中过度表达的抗原如 WT-1 等。Cheever 等^[22]根据前期研究重点推荐了 75 种免疫治疗中前景较好的肿瘤抗原。重组 TAA 根据氨基酸的数量不同分为多肽和重组蛋白质两种, 多肽由于合成简单, 引起的免疫反应较为明确, 故应用于临床试验的较多。

使用重组 TAA 负载 DC 治疗肿瘤最典型的例子就是 Sipuleucel-T 的问世。Sipuleucel-T 是将前列腺酸性磷酸酶融合蛋白负载 DC 治疗无症状或症状轻微的转移性趋势难治性前列腺癌。FDA 是主要依据三项合计包括 737 例患者的 III 期试验数据作出

上述 Sipuleucel-T 批准决定的。其中代号为 IMPACT 研究的关键性 III 期试验属多中心、随机、双盲和安慰剂对照研究, 共包括 512 例无症状或仅具极少症状的转移性激素治疗不应性前列腺癌患者。随访 36.5 个月后发现, Sipuleucel-T 组患者的中值存活期较安慰剂组延长 4.1 个月(分别为 25.8 和 21.7 个月), 即死亡风险减少了 24.1%^[23]。恶性黑色素瘤也是应用重组 TAA 较多的一种肿瘤, 主要是多种 TAA 联合负载 DC 的临床试验。Trepikak 等^[24]用 P53、survivin 和端粒酶多肽联合负载 DC 治疗进展期的恶性黑色素瘤, 24% 的患者为 SD 并获得生存期的延长。Oshita 等^[25]用 gp100、tyrosinase、MAGE-A1, A2, A3 和 MART-1 等多肽联合负载 DC 治疗 24 例转移性黑色素瘤, 结果显示 1 例 PR, 7 例 SD, 16 例 PD, 中位生存期相比无疫苗组显著延长(13.6 vs 7.3 个月)。

在其他肿瘤中应用重组 TAA 负载 DC 也较多。Kondo 等^[26]和 Nakamura 等^[27]都使用 MUC1 多肽负载 DC 疫苗治疗胰腺癌, 前者的结果为 1 例 CR, 14 例 PD, 5 例 SD, 后者证明 OS 有所延长。Mayanagi 等^[28]使用 MUC1 多肽负载 DC 疫苗联合吉西他滨治疗进展期胰腺癌, 结果显示治疗后 SD 的患者总生存期长于 PD 的患者, 但在已有肝转移的患者中无任何临床获益。Tada 等^[29]使用 AFP、glypican-3 和 MAGE-1 三者重组融合蛋白负载 DC 治疗肝细胞癌, 5 例患者中只有 1 例有临床反应, 需进一步优化疫苗。Kobayashi 等^[30]使用 WT1 和 MUC1 多肽联合负载 DC 治疗复发或转移性胆道肿瘤, 证明联合化疗能取得更好的临床反应率。Takahashi 等^[31]使用 WT1 多肽负载 DC 疫苗或不负载抗原的 DC 疫苗治疗 62 例非小细胞肺癌, 总的结果显示 1 例 CR, 4 例 PR, 26 例 SD 和 31 例 PD。上述实验进一步对预后因素进行统计分析发现, 影响 OS 主要有两个影响因素: 一是血红蛋白水平; 二是 WT1 多肽是否负载。因此, 证明多肽负载 DC 是非常必要的。

3 肿瘤 mRNA 负载 DC

最近, mRNA 被认为是一种有前景的肿瘤抗原负载 DC 的载体。mRNA 的优点是能短暂而有效的将高分子蛋白在 DC 体内表达, 并且 mRNA 不会整合到宿主的基因组内, 安全性能有所保证。mRNA 被用作肿瘤抗原载体负载到 DC 上始于 90 年代末期杜克大学 Gilboa 教授的研究^[32], 研究是基于 DC 对 mRNA 的胞吞作用^[33], 但由于 mRNA 本身能激活 DC^[34], 且只有部分 mRNA 片段能通过胞内体转

运到胞质,因此这种方法的效果比较有限,但其研究的意义是开创了一种新的方法,之后各种将 mRNA 转运到胞质的方法逐渐被开发,包括电转染、脂质体转染及最新的微泡转染等。这些方法都能引起特异性效应 T 细胞产生。

目前,已经有几十项关于 mRNA 携带肿瘤抗原负载 DC 疫苗治疗肿瘤的临床研究,涵盖多种肿瘤,包括恶性黑色素瘤^[35-36]、卵巢癌^[37]、血液肿瘤^[38]、前列腺癌^[39]、胰腺癌^[40]、子宫内膜癌^[41]、肾癌^[42]和结肠癌^[43]等。早期的研究多采用肿瘤细胞全 mRNA,其临床效果并不理想。Mu 等^[39]用 3 种肿瘤细胞系全 mRNA 负载 DC 疫苗治疗雄激素耐受的前列腺癌患者,结果显示,19 例患者中 8 例 PD,11 例 SD,13 例患者 PSA 水平下降。Caruso 等^[44]用患者自身肿瘤细胞全 mRNA 负载 DC 疫苗治疗脑部肿瘤,结果显示,7 例患者中 1 例 PR,4 例 SD,2 例 PD。还有部分研究未得到明确的临床反应^[40-43]。之后的研究多采用肿瘤相关抗原的 mRNA 负载 DC 疫苗。Van 等^[38]用 WT1 mRNA 负载 DC 疫苗治疗急性髓白血病,结果显示,10 例患者中 3 例 CR,临床反应与 WT1 特异性的 CD8⁺ T 细胞的增多有相关性。Coosemans 等^[41]也采用 WT1 mRNA 负载 DC 疫苗治疗 1 例晚期子宫内膜癌患者,结果显示,CA125 水平开始下降,WT1 特异性的 CD8⁺ T 细胞上升了 2.5 倍,但患者临床反应还是 PD;进一步用同样的方法治疗 2 例卵巢癌患者,临床反应为 PD,2 者在注射后分别生存了 19 个月和 12 个月^[37]。一项针对脑胶质瘤的临床研究的初步结果^[45]证实,用肿瘤干细胞 mRNA 负载 DC 疫苗能使脑胶质瘤患者 PFS 延长(694 vs 236 d)。而在恶性黑色素瘤的治疗中,肿瘤抗原 mRNA 负载 DC 疫苗取得了更好的疗效。Wilgenhof 等^[35]将 Mage-A3、Mage-C2、tyrosinase 和 gp100 四种 TAA 的 mRNA 负载 DC 疫苗治疗 15 例晚期黑色素瘤,2 例 CR,2 例 PR。Aarntzen 等^[36]将 gp100 及 tyrosinase 两种 TAA 的 mRNA 负载 DC 治疗 26 例 III 期黑色素瘤及 19 例 IV 期黑色素瘤,III 期黑色素瘤中 12 例获得持续性的缓解,IV 期黑色素瘤中 1 例 PR,6 例 SD。1 例在 3 次 DC 注射后出现 PR 使患者得以进行手术切除,手术切除原发灶后继续行 DC 治疗,淋巴结及上颌窦转移灶持续缩小并最终消失,该患者完全状态持续 52 周以上。这些研究中都未观察到严重不良反应的发生。最近研究^[46]发现,DC 负载巨细胞病毒磷蛋白 65 (cytomegalovirus phosphoprotein 65, pp65) 的 RNA 联合破伤风及白喉类毒素能显著提升胶质母细胞瘤的生存期,而破伤

风及白喉类毒素能提升 DC 细胞迁移到淋巴结的能力。以上临床研究证明,肿瘤抗原 mRNA 负载 DC 疫苗安全性好,能在多种肿瘤中取得肯定的临床疗效,即使未发现临床反应也可能使患者获得总生存期的获益。

4 问题和展望

除以上三种抗原负载方式之外,还有肿瘤全细胞与 DC 融合及肿瘤抗原 DNA 转染 DC 这两种方式。肿瘤全细胞与 DC 融合形成融合细胞的操作很繁琐,效果也有待验证。DNA 转染 DC 的方式分为病毒介导和非病毒介导两种,病毒介导的方式效率高,但存在基因污染的危险,非病毒介导的方式效率低且对细胞有损害。目前这两种方式应用于临床试验较少,需要进一步研究优化。除了已发表的临床试验数据外,尚有很多处于 II、III 的 DC 疫苗,如 ICT107、DCVax-L、Cvac 和 GRNVAC1 等。ICT107 的研究目的是为了验证负载 AIM2、MAGE1、TRP2、GP100、HER2 和 IL13RA2 等多肽的 DC 疫苗是否能延长多形性胶质成细胞瘤患者的生存期。在前期的 I 期临床试验中 16 例患者的两年中位生存率为 80.2%,优于仅进行标准治疗的两年中位生存率的历史数据(26.5%); PFS 为 16.9 个月,优于历史中位无进展生存期 6.9 个月。后续的 II 期临床试验显示与未负载多肽的 DC 疫苗相比,ICT107 的 PFS 为 11.2 个月,优于对照组的 9.0 个月,两者差异有统计学意义。DCVax-L 是一种负载多形性胶质成细胞瘤患者自体肿瘤细胞裂解物的 DC 疫苗,在一个小规模、有 20 位脑癌患者参与的早期临床实验中,DCVax-L 治疗组的平均生存期达到 3 年,是采用标准疗法对照组的两倍,目前 DCVax-L 处于 III 期临床试验,预计纳入 300 位患者。Cvac 是一种负载 MUC1 多肽的 DC 疫苗,目前处于 II 期临床试验,评估 Cvac 对于手术后经常化疗处于 CR 状态的上皮性卵巢癌患者的作用。GRNVAC1 是一种治疗急性骨髓性白血病的转染端粒酶反转录酶 mRNA 的 DC 疫苗,目前 II 期临床试验刚刚结束,结果还未公布。

虽然 DC 疫苗的负载方式有多种,但是在以上的这些临床试验中,都未发现严重不良反应,证明这些负载方式都是安全的。在肿瘤 DC 疫苗治疗过程中,选择抗原的负载方式是一个值得考虑的问题。这些方法都有各自的优劣之处,选择肿瘤全细胞裂解物的优点是引起的特异性反应较全面,应用范围广并能制备个体化的疫苗,缺点是所含抗原复杂,也含有能引起免疫抑制的抗原,降低了治疗效果^[47]。重组 TAA 的优点是制备简单,可工业化、流程化生

产,引起的免疫反应具有很好的特异性,缺点是会受到 HLA 限制性的约束,每位患者都需先进行 HLA 多态性检测,同时多肽-HLA 的体内存在时间较短,无法产生持续性免疫反应。选择肿瘤抗原 mRNA 负载 DC 的优点是无 HLA 限制性,能产生长期的反应,缺点在于 mRNA 转染后产生的蛋白只能通过 MHC-I 类分子提呈,诱导 CD8⁺T 细胞的产生^[48]。而已经证实的是抗肿瘤免疫反应不仅需要 CD8⁺T 细胞反应,更需要 CD4⁺T 细胞的参与^[49]。因此,有些方法已被研究用于应对这种缺点,如连接溶酶体相关蛋白或是 MHC-I 类分子的应用等。

对于有明确肿瘤相关抗原的肿瘤,如前列腺癌、恶性黑色素瘤等,选择多肽类抗原或肿瘤抗原 mRNA 负载 DC 的临床研究更多;对于尚未发现肿瘤相关抗原或与现有肿瘤抗原特异性不强的肿瘤,如肾癌、肺癌等选择自体肿瘤细胞裂解物或是肿瘤细胞系裂解物进行负载的临床试验较多。Andreas 等^[6]对前列腺癌及肾癌的 DC 肿瘤的临床试验进行了总结和 Meta 分析,在 17 项前列腺癌的临床试验中,6 项采用了多肽负载,7 项采用了全蛋白负载,1 项采用肿瘤细胞裂解物负载,3 项采用 RNA 负载;在肾癌的 12 项临床试验中,2 项采用多肽负载,7 项采用肿瘤细胞裂解物,2 项采用 RNA 负载,1 项既有多肽抗原也有肿瘤细胞裂解物负载。Prins 等^[50]比较了多肽与自体肿瘤细胞裂解物负载 DC 治疗脑胶质瘤的优劣,但由于入组的病例数不均衡,无法比较生存期的优劣,只能说明自体肿瘤细胞裂解物应用范围较广。

综上,DC 疫苗治疗应根据肿瘤的种类、各种抗原负载方式的优劣选择合适的肿瘤抗原负载方法。除此之外,也可以采用一些策略增加 DC 负载的效率,如将肿瘤抗原偶联纳米颗粒、添加佐剂等方法。随着新的更特异性肿瘤抗原的发现及新技术的开发,DC 肿瘤疫苗将取得更好的疗效,为肿瘤患者带来福音。

[参 考 文 献]

[1] Diamond MS, Kinder M, Matsushita H, et al. Type I interferon is selectively required by dendritic cells for immune rejection of tumors [J]. *J Exp Med*, 2011, 208(10):1989-2003.

[2] Fuertes MB, Kacha AK, Kline J, et al. Host type I IFN signals are required for antitumor CD8⁺T cell responses through CD8 α ⁺ dendritic cells [J]. *J Exp Med*, 2011, 208(10):2005-2016.

[3] Ueno H, Schmitt N, Klechevsky E, et al. Harnessing human dendritic cell subsets for medicine [J]. *Immunol Rev*, 2010, 234(1): 199-212.

[4] Palucka K, Ueno H, Roberts L, et al. Dendritic cells: Are they clinically relevant? [J]. *Cancer J*, 2010, 16(4): 318 - 324.

[5] Anguille S, Smits EL, Lion E, et al. Clinical use of dendritic cells for cancer therapy [J]. *Lancet Oncol*, 2014, 15(7): e257-267.

[6] 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.

[7] de Rosa F, Ridolfi L, Ridolfi R, et al. Vaccination with autologous dendritic cells loaded with autologous tumor lysate or homogenate combined with immunomodulating radiotherapy and/or preleukapheresis IFN- α in patients with metastatic melanoma: a randomised "proof-of-principle" phase II study [J]. *J Transl Med*, 2014, 12: 209.

[8] Flörcken A, Kopp J, van Lessen A, et al. Allogeneic partially HLA-matched dendritic cells pulsed with autologous tumor cell lysate as a vaccine in metastatic renal cell cancer: a clinical phase I/II study [J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2013, 9(6):1217-1227.

[9] Shah AH, Bregy A, Heros DO, et al. Dendritic cell vaccine for recurrent high-grade gliomas in pediatric and adult subjects; clinical trial protocol [J]. *Neurosurgery*, 2013, 73(5): 863-867.

[10] 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.

[11] El Ansary M, Mogawer S, Elhamid SA, et al. Immunotherapy by autologous dendritic cell vaccine in patients with advanced HCC [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2013, 139(1): 39-48.

[12] Kandalaft LE, Chiang CL, Tanyi J, et al. A phase I vaccine trial using dendritic cells pulsed with autologous oxidized lysate for recurrent ovarian cancer [J]. *J Transl Med*, 2013, 11: 149.

[13] Qi CJ, Ning YL, Han YS, et al. Autologous dendritic cell vaccine for estrogen receptor (ER)/progesterin receptor (PR) double-negative breast cancer [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2012 , 61(9): 1415-1424.

[14] Barth RJ Jr, Fisher DA, Wallace PK, et al. A randomized trial of ex vivo CD40L activation of a dendritic cell vaccine in colorectal cancer patients: tumor-specific immune responses are associated with improved survival [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(22): 5548-5556.

[15] Um SJ, Choi YJ, Shin HJ, et al. Phase I study of autologous dendritic cell tumor vaccine in patients with non-small cell lung cancer [J]. *Lung Cancer*, 2010, 70(2): 188-194.

[16] Bachleitner-Hofmann T, Friedl J, Hassler M, et al. Pilot trial of autologous dendritic cells loaded with tumor lysate(s) from allogeneic tumor cell lines in patients with metastatic medullary thyroid carcinoma [J]. *Oncol Rep*, 2009, 21(6): 1585-1592.

[17] Hus I, Schmitt M, Tabarkiewicz J, et al. Vaccination of B-CLL patients with autologous dendritic cells can change the frequency of leukemia antigen-specific CD8⁺T cells as well as CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ regulatory T cells toward an antileukemia response [J]. *Leukemia*, 2008, 22(5):1007-1017.

[18] Himoudi N, Wallace R, Parsley KL, et al. Lack of T-cell responses following autologous tumour lysate pulsed dendritic cell vaccination, in patients with relapsed osteosarcoma [J]. *Clin Transl Oncol*, 2012 , 14(4):271-279.

- [19] Finn OJ. Cancer immunology [J]. *N Engl J Med*, 2008, 358 (25): 2704-2715.
- [20] Li Y, Cozzi PJ, Russell PJ. Promising tumor-associated antigens for future prostate cancer therapy [J]. *Med Res Rev*, 2010, 30 (1): 67-101.
- [21] Buonaguro L, Petrizzo A, Tormesello ML, et al. Translating tumor antigens into cancer vaccines [J]. *Clin Vaccine Immunol*, 2011, 18 (1): 23-34.
- [22] Cheever MA, Allison JP, Ferris AS, et al. The prioritization of cancer antigens: a national cancer institute pilot project for the acceleration of translational research [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15 (17): 5323-5337.
- [23] 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.
- [24] Trepikas 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.
- [25] Oshita C, Takikawa M, Kume A, et al. Dendritic cell-based vaccination in metastatic melanoma patients: Phase II clinical trial [J]. *Oncology Rep*, 2012, 28 (4): 1131-1138.
- [26] Kondo H, Hazama S, Kawaoka T, et al. Adoptive immunotherapy for pancreatic cancer using MUC1 peptide-pulsed dendritic cells and activated T lymphocytes [J]. *Anticancer Res*, 2008, 28 (3): 379-388.
- [27] Nakamura M, Wada J, Suzuki H, et al. Long-term outcome of immunotherapy for patients with refractory pancreatic cancer [J]. *Anticancer research*, 2009, 29 (3): 831-836.
- [28] Mayanagi S, Kitago M, Sakurai T, et al. Phase I pilot study of Wilms tumor gene 1 peptide-pulsed dendritic cell vaccination combined with gemcitabine in pancreatic cancer [J]. *Cancer Sci*, 2015, 106 (4): 397-406.
- [29] Tada F, Abe M, Hirooka M, et al. Phase I/II study of immunotherapy using tumor antigen-pulsed dendritic cells in patients with hepatocellular carcinoma [J]. *Int J Oncol*, 2012, 41 (5): 1601-1609.
- [30] Kobayashi M, Sakabe T, Abe H, et al. Dendritic cell-based immunotherapy targeting synthesized peptides for advanced biliary tract cancer [J]. *J Gastrointest Surg*, 2013, 17 (9): 1609-1617.
- [31] Takahashi H, Okamoto M, Shimodaira S, et al. Impact of dendritic cell vaccines pulsed with Wilms' tumor-1 peptide antigen on the survival of patients with advanced non-small cell lung cancers [J]. *Eur J Cancer*, 2013, 49 (4): 852-859.
- [32] Boczkowski D, Nair SK, Snyder D, et al. Dendritic cells pulsed with RNA are potent antigen-presenting cells in vitro and in vivo [J]. *J Exp Med*, 1996, 184 (2): 465-472.
- [33] Diken M, Kreiter S, Selmi A, et al. Selective uptake of naked vaccine RNA by dendritic cells is driven by macropinocytosis and abrogated upon DC maturation [J]. *Gene Ther*, 2011, 18 (7): 702-708.
- [34] Pascolo S. Vaccination with messenger RNA (mRNA) [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2008, 183 (183): 221-235.
- [35] Wilgenhof S, Van Nuffel AMT, Benteyn D, et al. A phase IB study on intravenous synthetic mRNA electroporated dendritic cell immunotherapy in pretreated advanced melanoma patients [J]. *Ann Oncol*, 2013, 24 (10): 2686-2693.
- [36] Aarntzen EH, Schreiber G, Bol K, et al. Vaccination with mRNA-electroporated dendritic cells induces robust tumor antigen-specific CD4⁺ and CD8⁺ T cells responses in stage III and IV melanoma patients [J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18 (19): 5460-5470.
- [37] Coosemans A, Vanderstraeten A, Tuybaerts S, et al. Immunological response after WT1 mRNA-loaded dendritic cell immunotherapy in ovarian carcinoma and carcinosarcoma [J]. *Anticancer Res*, 2013, 33 (9): 3855-3859.
- [38] 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.
- [39] Mu LJ, Kyte JA, Kvalheim G, et al. Immunotherapy with allotumor mRNA-transfected dendritic cells in androgen-resistant prostate cancer patients [J]. *Br J Cancer*, 2005, 93 (7): 749-756.
- [40] Suso EM, Dueland S, Rasmussen AM, et al. hTERT mRNA dendritic cell vaccination: complete response in a pancreatic cancer patient associated with response against several hTERT epitopes [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2011, 60 (6): 809-818.
- [41] Coosemans A, Wöfl M, Berneman ZN, et al. Immunological response after therapeutic vaccination with WT1 mRNA-loaded dendritic cells in end-stage endometrial carcinoma [J]. *Anticancer Res*, 2010, 30 (9): 3709-3714.
- [42] Benteyn D, Anguille S, Van Lint S, et al. Design of an optimized Wilms' tumor 1 (WT1) mRNA construct for enhanced WT1 expression and improved immunogenicity in vitro and in vivo [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2013, 2: e134.
- [43] Rains N, Cannan RJ, Chen W, et al. Development of a dendritic cell (DC)-based vaccine for patients with advanced colorectal cancer [J]. *Hepatogastroenterology*, 2001, 48 (38): 347-351.
- [44] Caruso DA, Orme LM, Neale AM, et al. Results of a phase 1 study utilizing monocyte-derived dendritic cells pulsed with tumor RNA in children and young adults with brain cancer [J]. *Neuro Oncol*, 2004, 6 (3): 236-246.
- [45] Vik-Mo EO, Nyakas M, Mikkelsen BV, et al. Therapeutic vaccination against autologous cancer stem cells with mRNA-transfected dendritic cells in patients with glioblastoma [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2013, 62 (9): 1499-1509.
- [46] Mitchell DA, Batich KA, Gunn MD, et al. Tetanus toxoid and CCL3 improve dendritic cell vaccines in mice and glioblastoma patients [J]. *Nature*, 2015, 519 (7543): 366-369.
- [47] Appay V, Douek DC, Price DA. CD8⁺ T cell efficacy in vaccination and disease [J]. *Nature Med*, 2008, 14 (6): 623-628.
- [48] Benteyn D, Heirman C, Bonehill A, et al. mRNA-based dendritic cell vaccines [J]. *Expert Rev Vaccines*, 2015, 14 (2): 161-176.
- [49] Bonehill A, Heirman C, Thielemans K. Genetic approaches for the induction of a CD4⁺ T cell response in cancer immunotherapy [J]. *J Gene Med*, 2005, 7 (6): 686-695.
- [50] Prins RM, Wang X, Soto H, et al. Comparison of glioma-associated antigen peptide-loaded versus autologous tumor lysate-loaded dendritic cell vaccination in malignant glioma patients [J]. *J Immunother*, 2013, 36 (2): 152-157.

[收稿日期] 2015 - 04 - 22 [修回日期] 2015 - 08 - 10

[本文编辑] 阮芳铭