Hat die Vakzination von Tumorpatienten eine Zukunft in der klinischen Onkologie?

D. Schadendorf

Klinische Kooperationseinheit für Dermatoonkologie (DKFZ) an der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Universitätsklinikum Mannheim

Solide Tumoren sind in ihrem fortgeschrittenen Krankheitsstadium zumeist durch eine hohe Resistenz gegenüber konventionellen Therapiestrategien gekennzeichnet und konsekutiv mit einer hohen Mortalität belastet. Daher ist es besonders wichtig, Krebserkrankungen zu verhindern («Prävention») bzw. früh zu diagnostizieren («Früherkennung») und chirurgisch zu eliminieren. Darüber hinaus ist sowohl die Entwicklung neuer Substanzen als auch neuer Therapieansätze von besonderer Wichtigkeit. Hierzu zählen Strategien zur Hemmung der Neoangiogenese oder der Signaltransduktion. Ein anderer neuer Therapieansatz basiert auf tumorimmunologischen Grundlagen und hat das Ziel eine Tumervakzine zu entwickeln.

Ziel ist dabei, mit der destruktiven Kraft des Immunsystems Tumorzellen selektiv zu vernichten. Nachdem noch in den 1980er Jahren humane Tumoren eher als wenig immunogen eingestuft wurden bzw. der Nachweis antigener Strukturen auf humanen Tumorzellen in Frage gestellt wurde, ist heute klar, dass sowohl der humorale als auch der zelluläre Arm des Immunsystems Tumorzellen sehr gut zu erkennen vermag und auch in der Lage ist, Tumorzellen selektiv zu vernichten (Abb. 1). Exemplarisch wurden dabei insbesondere Arbeiten auf dem Gebiet der Melanomforschung vorangetrieben, da klinische Beobachtungen bei Melanompatienten auf eine besonders heftige, gegen den Tumor gerichtete, immunologische Abwehrreaktion hindeuten. Basierend auf diesen Beobachtungen, wurde das Konzept, das maligne Melanom in seinem Krankheitsverlauf durch immunologische Therapieansätze zu beeinflussen, entwickelt.

Während eine unspezifische Immunstimulation z.B. durch Interferon-alpha offensichtlich ausreichend ist, um bei chronisch-myeloischer Leukämie zytogenetische Remissionen zu erreichen und langfristig zu erhalten, ist dies bei soliden Tumoren zumeist nicht möglich. Sowohl beim Nierenzellkarzinom als auch beim Melanom ist der Wert der adjuvanten

Interferontherapie begrenzt, und im Stadium der Metastasierung sind klinische Remissionen selten. Heute ist aus prospektiv-randomisierten Studien klar, dass eine *unspezifische* Immunstimulation mit BCG (Bacille bilié de Calmette-Guérin) beim Melanom keinen signifikanten Effekt auf Rezidiventwicklung und Gesamtüberlebenszeit hat. Auf langjährige Bemühungen, das Immunsystem mit (autologen) Tumorzellen zu stimulieren – auch bekannt als aktive Stimulation des Immunsystems (ASI) –, wird in diesem Bericht nicht eingegangen, da hierzu bislang kein klarer Wirkungsnachweis vorliegt. Auch auf den zusätzliche Transfer von Zytokin-Genen oder anderen Genen zur Steigerung der Immunogenität in die Tumorzellen soll nicht eingegangen werden. Diese Ergebnisse sind vor kurzem durch Sun et al. (1999) zusammengefasst worden.

Vielmehr soll in diesem Bericht der Schwerpunkt auf die Entwicklung von Vakzinationsverfahren gelegt werden, die das Ziel haben, eine definierte, tumorspezifische Immunantwort zu induzieren. Voraussetzung hierfür ist die Identifikation und Charakterisierung definierter, vom Immunsystem erkannter Antigene. Anfang der 1990er Jahre gelang der Brüsseler Arbeitsgruppe um Thierry Boon beim Melanom erstmals der Nachweis und die Identifikation eines tumorassoziierten Antigens, MAGE-1, das durch spezifische CD8+ T-Zellen erkannt wurde. Insbesondere der Nachweis von tumorspezifischen T-Zellen sowie die Rückbildung von Metastasen durch Interleukin-2 (IL-2) in-vitro-expandierter und dann applizierter TIL («tumor-infiltrating lymphocytes») machten tumorspezifische T-Zellen zu einer interessanten Waffe im Kampf gegen Tumoren. Mit Hilfe dieser TIL oder aus dem Blut gewonnener zytotoxischer T-Lymphozyten (CTL) als Werkzeuge gelang es in den letzten Jahren, Antigene und T-Zell-erkannte Peptidpeptide zu identifizieren – ein Prinzip, das mittlerweile auf eine Reihe anderer solider Tumoren übertragen werden konnte. Die Spezifität der Erkennung wird auf Seiten des T-Lymphozyten durch seinen T-Zell-Rezeptor gewährleistet und auf Sei-

Abb. 1. Primäres Melanom mit Regressionszone. Regressionszonen entstehen durch zytolytische Wirkung von tumorspezifischen T-Lymphozyten.

ten der Tumorzelle durch die einzelnen HLA-Moleküle an der Zelloberfläche, die jeweils verschiedene Peptide «geladen» haben. Nur wenn ein HLA-Peptid-Komplex auf einen T-Lymphozyten mit dem passenden T-Zell-Rezeptor trifft (Schlüssel-Schloss-Prinzip), kommt es zur Erkennung und zur Zytolyse. Die Verfügbarkeit spezieller tumorspezifischer T-Zell-Klone in vitro, die aus Metastasen oder aus dem Blut von Tumorpatienten gewonnen wurden, führte in den letzten Jahren zur Identifizierung verschiedener Tumorantigene, d.h. der Moleküle, von denen Peptide durch die HLA-Moleküle an der Oberfläche präsentiert werden und die für eine Erkennung und Zytolyse von Tumorzellen verantwortlich sind.

Vakzination mit Peptiden oder Proteinen

In den letzten 10 Jahren gelang es, mehr als 50 tumorassoziierte Antigene zu identifizieren. Herkömmlicherweise werden die gefundenen tumorassoziierten Antigene in mehrere Kategorien unterteilt:

1. Cancer-Testis-Antigene (Prototyp MAGE-1) – Expression in verschiedenen Tumorentitäten, aber nicht in Normalgeweben mit Ausnahme des Testis,
2. Differenzierungsantigene (Prototyp PSA) – Expression sowohl in benignen als auch malignen Zellen eines Organes,
3. Punktmutationen (Prototyp β -Catenin-Mutation) – oftmals tumorspezifisch bzw. individualspezifisch,
4. Überexprimierte Selbstantigene (Prototyp her-2/neu) sowie
5. Inkomplette bzw. aberrante Splicing-Produkte (Prototyp TRP-2-INT) oder
6. Virusassoziierte Antigene (Prototyp HPV).

Insbesondere die Gruppen 1, 2 und 6 eignen sich für die Vakzinentwicklung, da derartige Antigene in verschiedenen neuroektodermalen, epithelialen und hämatologischen Tumoren zu finden sind. Weiterhin wurden für manche tumorspezifische Marker wie CEA, PSA, her2/neu, G250 auch T-Zell-erkannte Peptidepitope identifiziert (aktualisierte Übersicht unter www.cancerimmunity.org/peptidedatabase/Tcellepitopes.htm). Für die meisten der oben erwähnten Antigene konnten bislang ein oder zwei Peptide identifiziert werden, die durch spezifische vornehmlich CD8⁺ T-Zellen in Abhängigkeit vom HLA-Molekül erkannt werden. CD8⁺ T-Lymphozyten erkennen physiologischerweise kurze acht bis zehn Aminosäuren lange Peptide, die im Rahmen der intrazellulären Proteolyse in jeder Zelle von jedem Protein entstehen und dann in Assoziation mit einem HLA-Molekül – einem Fahrstuhl ähnlich – an die Zelloberfläche gelangen. Diese HLA-Klasse-I-bindenden Peptide lassen sich relativ einfach synthetisch herstellen und können ohne Antigenprozessierung direkt an HLA-Klasse-I-Moleküle auf der Zelloberfläche binden. Dies erlaubt eine direkte therapeutische Nutzung dieser Peptide. Ein Nachteil von Peptidimpfstoffen ist allerdings die Abhängigkeit vom HLA-Typ des Patienten («HLA-Restriktion»), bei der Peptide für den individuellen Patienten nur selektiv ausgewählt werden können (siehe auch www.cancerimmunity.org/peptidedatabase/Tcellepitopes.htm), da sie nur an ein definiertes HLA-Allel binden.

Erste klinische Phase-I-Studien mit dem Ziel, Immunogenität und Toxizität einer Peptidvakzinierung zu überprüfen, wurden insbesondere bei Patienten mit metastasiertem Melanom, aber auch bei Patienten mit Pankreas- oder Mammakarzinom durchgeführt. Die Ergebnisse dieser ersten Studien sind viel versprechend, denn bei einzelnen Patienten konnte eine spezifische Immunantwort detektiert werden, und es wurden auch Tumorremissionen beobachtet. So konnte in einer Multizenter-Studie beim Melanom durch Vakzinierung mit dem MAGE-3.A1-Peptid bei 7 von 25 Melanompatienten mit vorwiegend Hautmetastasen eine partielle oder komplette Remission einzelner Metastasen erreicht werden. Auch in anderen Untersuchungen war zu beobachten, dass die messbare spezifische T-Zell-Aktivierung nicht immer mit den klinischen Verläufen zu korrelieren war, wobei sicherlich die zur Zeit gängigen T-Zell-Monitoring-Verfahren einen Teil der Problematik darstellen. Basierend auf dieser Grundlage, erfolgt derzeit die Prüfung von Peptidvakzinen in makroskopisch tumorfreien Melanompatienten mit hohem Rezidivrisiko. Die Wirksamkeit jeder Vakzinierung ist bei Patienten mit metastasiertem Melanom aufgrund der großen Tumorzellzahl und durch eine tumorbedingte Suppression der T-Zell-Antwort aller Wahrscheinlichkeit nach a priori begrenzt. Welche Bedeutung immunologische Adjuvantien zur Steigerung der immunologischen und klinischen Effektivität der Peptidvakzination haben, wurde bislang kaum systematisch untersucht. Unter der Annahme, dass Tumorantigene als körpereigene Proteine relativ schwache Immunogene sind, wurden in den meisten

Studien Adjuvantien eingesetzt, die entweder, wie z.B. GM-CSF, die Antigenpräsentation stimulieren oder die Generierung von zytotoxischen T-Zellen unterstützen sollen. Die häufig beobachteten Nebenwirkungen einer Peptidvakzination in Form von Entzündungsreaktionen an der Einstichstelle und «Grippe-ähnlichen Symptomen» sind vor allem auf die begleitend eingesetzten Adjuvantien zurückzuführen. Klinisch bedeutsame Nebenwirkungen wurden bislang nicht berichtet. Derzeit werden am eigenen Institut eine Reihe von Phase-I/II-Studien zur immunologischen Effektivität von verschiedenen Adjuvantien in Kombination mit Tyrosinase-Peptiden durchgeführt. Dabei zeigen sich in der Verwendung diverser Adjuvantien klare Unterschiede, die eine gute Basis für die Weiterentwicklung dieser Therapieform darstellen können. Auch die Verwendung von rekombinanten Proteinen wie z.B. MAGE-3 zur Vakzination wurde in der klinischen Anwendung getestet. Eine derartige Immunisierung ist nicht durch den individuellen HLA-Typ eingeschränkt und erlaubt zudem auch die Induktion tumorspezifischer CD4+ T-Zellen. Neben rekombinant hergestellten Tumorantigenen hat, z.B. beim multiplen Myelom, die Immunisierung mit sezerniertem und aus dem Serum aufgereinigtem Proteinen schon eine längere Vorgeschichte mit teilweise ermutigenden klinischen Ergebnissen. Allerdings sind die behandelten Patientenkollektive zu klein, so dass weitere Erfahrungen abzuwarten sind.

Vakzination mit dendritischen Zellen

In allen Fällen einer erfolgreichen Vakzination ist es notwendig, dass T-Zellen (naive oder Memory-T-Zellen) in der Zirkulation und im Gewebe aktiviert werden, um immunologisch effektiv zu sein, d.h., T-Lymphozyten müssen lernen, das «richtige» Peptid zu erkennen, um sich als Antwort auf die Antigenerkennung in großer Zahl zu vermehren. Naive T-Zellen sind darauf angewiesen, in einer «helfenden» Umgebung mit dem zu erkennenden Antigen in Kontakt zu kommen, um später eine Zytotoxizität zu entwickeln. Diese Helferfunktion übernehmen in der Regel Adhäsionsmoleküle auf speziellen so genannten professionellen antigenpräsentierenden Zellen oder Zytokine. Antigenpräsentierende Zellen sind in vielen Geweben unter verschiedenen Namen zu finden, unter anderem Mikroglia-Zellen im Hirn, Kupffersche Sternzellen in der Leber oder Langerhans-Zellen in der Haut. Gemeinsam ist diesen Zellen die Morphologie mit vielen Ausläufern, so genannten Dendriten, der sie auch ihre Gruppenbezeichnung – dendritische Zellen – verdanken, sowie ihre Fähigkeit, kleinste Mengen von Fremdstoffen aufzunehmen und dem Immunsystem im Lymphknoten zu präsentieren. Die Tatsache, dass dendritische Zellen monozytischen Ursprungs sind und sich in verhältnismäßig großer Zahl und reproduzierbar aus dem peripheren Blut herstellen lassen, haben sie zu einem hervorragenden Vakzinvehikel gemacht, dessen Funktionalität und Ef-

ektivität derzeit in zahlreichen Phase-I/II-Studien untersucht wird. Basierend auf verschiedenen tierexperimentellen Untersuchungen und auch ersten klinischen Studien, ist die Vakzination mit dendritischen Zellen, d.h. die Injektion antigenbeladener dendritischer Zellen in Patienten, eine besonders vielversprechende Strategie, um die Induktion tumorspezifischer T-Zellen und damit das wesentlichste Ziel der antigenspezifischen Immuntherapie zu erreichen.

Dendritische Zellen in der Peripherie, z.B. in der Haut, können im unreifen Differenzierungszustand Antigene perfekt aufnehmen und diese auf ihrem Weg zum regionären Lymphknoten prozessieren, um dort antigenspezifische T-Zellen zu aktivieren. Der Ansatz, Immunität dadurch zu induzieren, dass man dendritische Zellen ex vivo mit Antigen belädt und dann die beladenen dendritischen Zellen injiziert, ergibt sich als logische Konsequenz aus dieser biologischen Abfolge. Beim Menschen wurden nach vorangegangenen erfolgreichen Arbeiten an der Maus direkt aus dem Blut isolierte, präformierte dendritische Zellen für die erste Vakzination mit dendritischen Zellen eingesetzt. Dabei werden CD14+ Monozyten aus Patientenblut separiert, die sich nach Zusatz von GM-CSF + IL-4 in Kultur in «unreife dendritische Zellen» differenzieren lassen und die durch weitere Reifungsstimuli wie IL-1-beta + IL-6 + Tumornekrosefaktor-alpha + Prostaglandin E2 in «reife dendritische Zellen» überführt werden können. Es konnte gezeigt werden, dass eine *einzige* subkutane Injektion von antigenbeladenen dendritischen Zellen innerhalb von 1–2 Wochen zu einer im Blut nachweisbaren T-Zell-Immunantwort führt.

In einer eigenen klinischen Pilotstudie wurden 16 Melanompatienten mit fortgeschrittener Metastasierung erstmals mit autologen dendritischen Zellen vakziniert. In dieser ersten Untersuchung wie auch in nachfolgenden Behandlungsreihen konnte gezeigt werden, dass zumindest ein Teil dieser Patienten von der Behandlung profitierte und sogar langfristig tumorfrei blieb. Eine mit Unterstützung der Deutschen Krebshilfe zum Jahresanfang 2001 begonnene Studie der Arbeitsgemeinschaft Dermatologische Onkologie (ADO) soll jetzt erstmals weltweit eine Vakzination mit dendritischen Zellen (beladen mit multiplen HLA, Klasse I und II) im prospektiv-randomisierten Vergleich zur wenig effektiven Dacarbacin (DTIC)-Standardtherapie im Sinne einer First-line-Therapie bei Stadium-IV-Melanompatienten prüfen.

Obgleich sicherlich die meisten Erfahrungen zur Anwendung von dendritischen Zellen in der Melanomtherapie gewonnen wurden, wurde dieser Behandlungsansatz auch in der Therapie des Prostatakarzinoms, des multiplen Myeloms und des Schilddrüsenkarzinoms mit gewissen klinischen Erfolgen angewandt. Allerdings handelt es sich zumeist nur um kleinere Fallserien oder Phase-II-Studien.

Allerdings sind die verwendeten Protokolle zur Generierung von dendritischen Zellen ebenso wie die Zahl der zur Immunisierung verwandten dendritischen Zellen, deren Beladungsmodus und viele andere Details nicht standardisiert, so

dass sich die Studien nur schlecht vergleichen lassen. Abschließend bleibt zum jetzigen Zeitpunkt festzustellen, dass die Etablierung von Qualitätskriterien und eine Standardisierung für Vakzinen aus dendritischen Zellen sowie das Immun-Monitoring von besonderer Dringlichkeit sind, um immunologische und klinische Ergebnisse vergleichen zu können und die Vakzineentwicklung voranzubringen.

Genetische Immunisierung – der einfachste Weg

Die Zukunft der spezifischen Vakzination zur Tumorthherapie vorherzusagen, ist schwierig, da die Entwicklung auf diesem Gebiet nach wie vor außerordentlich dynamisch voranschreitet. Eine andere Form der Krebsimpfung beruht z.B. auf der Applikation von *nackter DNA*. Dazu werden molekularbiologische Konstrukte hergestellt, die die genetische Information für die zuvor genannten antigenen Peptide beinhalten. Solche DNA-Impfstoffe enthalten alle regulatorischen und kodierenden Sequenzen, die für die Expression des betreffenden Tumorantigens in einer eukaryotischen Zelle notwendig sind. Die Route der Applikation bestimmt in erster Linie, welche Zellen die DNA-Vakzine aufnehmen können. Bei intradermaler Impfstoffapplikation (z.B. per Nadelinjektion oder per ballistischem Gentransfer, d.h. Bindung der DNA an Goldpartikel, Einbringen dieser Partikel in die Hautzellen durch Gasdruck) wird dieser unter anderem von den Langerhans-Zellen, den dendritischen Zellen der Haut, aufgenommen, die damit zu potenten Stimulatoren einer Immunantwort gegen das tumorrelevante Antigen werden können. Im Falle einer intramuskulären Impfstoffinjektion wird die DNA-Vakzine eher von Myozyten als von professionellen antigenpräsentierenden Zellen aufgenommen, da letztere nur in sehr geringer Zahl im Muskelgewebe anzutreffen sind. Trotzdem sind auch hier die antigenpräsentierenden Zellen für die Induktion einer Immunantwort essentiell, wobei sie das Antigen wahrscheinlich indirekt, nach dessen Synthese und Freisetzung durch die Myozyten erhalten. Unabhängig von der Art der Applikation, konnte in zahlreichen tierexperimentellen Arbeiten die Induktion spezifischer zellulärer und humoraler Immunantworten gegen das Tumorantigen nachgewiesen werden. Der Erfolg in tierexperimentellen Arbeiten führte dazu, dass zu dieser Form der Vakzinierung sehr schnell klinische Phase-I-Studien initiiert wurden. Im Falle des Melanoms wird die Wirksamkeit einer spezifischen DNA-Vakzine, die für das gp100-Melanom-assoziierte Antigen kodiert, in Bezug auf die Induktion einer Immunantwort bereits im Rahmen einer Phase-II-Studie in den USA untersucht.

Die Produktion dieser Vakzineform ist kostengünstig und einfach, da sie von Bakterien übernommen wird. Die bakterielle Vakzineproduktion hat einen weiteren Vorteil: DNA, die aus Bakterien gewonnen wird, weist im Vergleich zu eukaryotischer DNA einen geringeren Methylierungsgrad auf. Es konnte gezeigt werden, dass spezifische unmethylierte Basenabfol-

gen in der DNA-Sequenz (so genannte CpG-Motive) einen adjuvanten Effekt haben, indem sie bei Aufnahme durch professionelle antigenpräsentierende Zellen die Sekretion proinflammatorischer Zytokine induzieren. Nach den Analysen zur Funktionalität dieser Vakzineform konzentrieren sich die experimentellen Arbeiten derzeit darauf, eine Optimierung des Transfer der DNA-Impfstoffe in die Zelle durch den Einsatz spezifischer Verpackungs- oder Vektorsysteme zu erzielen. Der Einschluss der DNA in Liposomen soll zu einer erhöhten Stabilität der Vakzinen nach Applikation sowie zu einer verbesserten Aufnahme durch die Zellen beitragen. Auch die Wirksamkeit attenuierter Bakterien als Vektoren für einen verbesserten Vakzinetransfer wird in experimentellen Arbeiten untersucht. Diese Bakterien (z.B. *Salmonella*, *Listeria*) sind in der Lage, Zellen zu infizieren und dort die DNA freizusetzen, so dass ein Eintritt der Vakzinen in den Zellkern erleichtert wird. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass sich die Strategie der DNA-Immunisierung zu einem bedeutenden immuntherapeutischen Werkzeug zur Behandlung von Krebs entwickeln könnte – und dies besonders im Falle des Melanoms, da eine beträchtliche Zahl an antigenkodierenden Genen bekannt ist, welche die Grundlage für die Entwicklung dieses Impfstoffs darstellen.

Die Perspektive – Gibt es eine Zukunft für die Vakzination in der Onkologie?

Basierend auf den Entwicklungen der letzten Dekade mit einem verbesserten immunologischen Verständnis und der Identifikation von tumorassoziierten Antigenen mittels Antikörper z.B. durch die SEREX-Technologie, aber auch durch spezifische T-Zellen, steht das Tor zur Entwicklung eines grundlegend neuen Therapieansatzes weit offen. Sicherlich wird die onkologische Therapie der Zukunft neben der Chirurgie nicht nur Strahlen- und Chemotherapie umfassen, denn bereits heute hat die unspezifische Immunstimulation mit z.B. Interferonen ihren festen Platz.

Parallel haben die wachsenden Erkenntnisse über die Funktionsweise des Immunsystems Möglichkeiten eröffnet, Strategien zu erarbeiten, um auch spezifisch Tumoren zu bekämpfen. Allerdings steht die Umsetzung in die tägliche klinische Anwendung noch ganz am Anfang. Viele Fragen sind derzeit offen, die es systematisch und koordiniert zu lösen gilt. Hierzu zählt nicht nur die Entwicklung von verbesserten Vakzinen, sondern auch die systematische Analyse der Immunantwort von Patienten, die auf Therapie angesprochen haben bzw. nicht angesprochen haben. Nur die Konzeption von wohl-durchdachten Studien mit klaren Zielparametern wird es in den nächsten Jahren erlauben, Fortschritte zu machen bezüglich einiger der zu lösenden Fragen. Dabei wird zu berücksichtigen sein, dass Tumorzellen «lebende Organismen» sind, die teilweise sehr gut in der Lage sind, eigene Abwehrstrategien gegen das Immunsystem zu entwickeln. Diese Situation ist be-

sonders ausgeprägt in der weit fortgeschrittenen Krankheitssituation. Idealerweise sollten daher Patienten möglichst frühzeitig, z.B. nach Entfernung des Primärtumors, vorbeugend im Sinne einer «Schutzimpfung» behandelt werden. Erstmals erscheint es jetzt realistisch, dass dieser Traum tatsächlich Realität werden könnte. Allerdings wird es noch Jahre dauern, bis klar sein wird, welche Patientengruppe am meisten profitiert. Diese Zeiträume werden um so länger sein, wenn nicht eine koordinierte und gemeinschaftliche Entwicklung auf diesem Forschungsgebiet stattfindet.

Somit ist die eingangs gestellte Frage nach der Zukunft einer Vakzination in der Onkologie zum jetzigen Zeitpunkt nicht si-

cher zu beantworten. Langfristig – da ist sich der Autor sicher – wird es diese geben; allerdings zeichnet sich bereits heute ab, dass es nicht nur eine Form der Vakzination geben wird. Möglicherweise werden zusätzliche unterschiedliche Impfstrategien zur Effektivitätssteigerung verbunden («prime boost»). Auch die Definition profitierender Patientenkollektive, insbesondere in der adjuvanten Situation, wird darüber hinaus mehrere Jahre in Anspruch nehmen, da große Patientenzahlen und lange Nachbeobachtungszeiten notwendig sind. Die Vakzination steht am Anfang, und, wenngleich erste hoffnungsvolle Ansätze sichtbar sind, werden durchaus noch Rückschläge zu verkraften sein.

Weiterführende Literatur

- Bell D, Young JW, Banchereau J: Dendritic cells. *Adv Immunol* 1999;72:255–324.
- Gajewski TF, Fallarino F, Ashikari A, Sherman M: Immunization of HLA-A2+ melanoma patients with MAGE-3 or MelanA peptide-pulsed autologous peripheral blood mononuclear cells plus recombinant human interleukin 12. *Clin Cancer Res* 2001;7 (suppl 3):895s–901s.
- Gjertsen MK, Buanes T, Rosseland AR, Bakka A, Gladhaug I, Soreide O, Eriksen JA, Moller M, Baksaas I, Lothe RA, Saeterdal I, Gaudernack G: Intradermal ras peptide vaccination with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor as adjuvant: Clinical and immunological responses in patients with pancreatic adenocarcinoma. *Int J Cancer* 2001;92:441–450.
- Kaufmann AM, Nieland J, Schinz M, Nonn M, Gabelsberger J, Meissner H, Muller RT, Jochmus I, Gissmann L, Schneider A, Durst M: HPV16 L1E7 chimeric virus-like particles induce specific HLA-restricted T cells in humans after in vitro vaccination. *Int J Cancer* 2001;92:285–293.
- Keilholz U, Scheibenbogen C, Foerster MH, Hofmann U, Nagorsen D, Servetopoulou F, Bechrakis N, Schmittle A, Philipp A, Siehl J, Thiel E, Schadendorf D: Phase I study in high-risk melanoma patients of vaccination with MHC class I-binding tyrosinase peptides comparing various immunological adjuvants. *Int J Cancer* 2002 (in press).
- Knutson KL, Schiffman K, Disis ML: Immunization with a HER-2/neu helper peptide vaccine generates HER-2/neu CD8 T-cell immunity in cancer patients. *J Clin Invest* 2001;107:477–484.
- Krieg AM: Direct immunologic activities of CpG DNA and implications for gene therapy. *J Gene Med* 1999;1:56–63.
- Lewis JJ, Janetzki S, Schaed S, Panageas C, Wang S, Williams L, Myers M, Butterworth L, Livingston P, Chapman P, Houghton A: Evaluation of CD8+ T cell frequencies by the ELISPOT assay in healthy individuals and patients with metastatic melanoma immunized with tyrosinase peptide. *Int J Cancer* 2000;87:391–398.
- Marchand M, van Baren N, Weynants P, Brichard V, Dreno B, Tessier MH, Rankin E, Parmiani G, Arienti F, Humblet Y, Bourlond A, Vanwijck R, Lienard D, Beauduin M, Dietrich PY, Russo V, Kerger J, Masucci G, Jager E, De Greve J, Atzpodien J, Brasseur F, Coulie PG, van der Bruggen P, Boon T: Tumor regressions observed in patients with metastatic melanoma treated with an antigenic peptide encoded by gene MAGE-3 and presented by HLA-A1. *Int J Cancer* 1999;80:219–230.
- Nestle FO, Aljagic S, Gilliet M, Sun Y, Grabbe S, Dummer R, Burg G, Schadendorf D: Vaccination of melanoma patients with peptide- or tumor lysate-pulsed dendritic cells. *Nat Med* 1998;4:328–332.
- Oettgen HF, Old LJ: The history of cancer immunotherapy; in DeVita VT, Helman S, Rosenberg S A (eds): *Biologic Therapy, of Cancer, Principles and Practice*. Philadelphia, Lippincott, 1991, pp 87–97.
- Pardoll DM, Beckerleg AM: Exposing the immunology of naked DNA vaccines. *Immunity* 1995;3:165–169.
- Rosenberg SA, Yang JC, Schwartzentruber DJ, Hwu P, Marincola FM, Topalian SL, Restifo NP, Dudley ME, Schwarz SL, Spiess PJ, Wunderlich JR, Parkhurst MR, Kawakami Y, Seipp CA, Einhorn JH, White DE: Immunologic and therapeutic evaluation of asynthetic peptide vaccine for the treatment of patients with metastatic melanoma *Nat Med* 1998;4:321–327.
- Schadendorf D, Nestle FO: Autologous dendritic cells for treatment of advanced cancer - an update; in Reinhold U, Tilgen W (eds): *Minimal Residual Disease in Melanoma – Biology, Detection and Clinical Relevance*. Recent Results Cancer Res. Heidelberg, Springer, 2000, vol 158, pp 236–248.
- Scheibenbogen C, Schmittle A, Keilholz U, Allgauer T, Hofmann U, Max R, Thiel E, Schadendorf D: Phase II trial of vaccination with tyrosinase peptides and GM-CSF in melanoma. *J Immunother* 2000;23:275–281.
- Schott M, Seissler J, Lettmann M, Fouxon V, Scherbaum WA, Feldkamp J: Immunotherapy for medullary thyroid carcinoma by dendritic cell vaccination. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:4965–4969.
- Sun Y, Paschen A, Schadendorf D: Cell-based vaccination against melanoma – background, preliminary results and perspectives. *J Mol Med* 1999;73: 593–608.
- Wang RF: Human tumor antigens: Implications for cancer vaccine development. *J Mol Med* 1999;77: 640–655.
- Yu JS, Wheeler CJ, Zeltzer PM, Ying H, Finger DN, Lee PK, Yong WH, Incardona F, Thompson RC, Riedinger MS, Zhang W, Prins RM, Black KL: Vaccination of malignant glioma patients with peptide-pulsed dendritic cells elicits systemic cytotoxicity and intracranial T-cell infiltration. *Cancer Res* 2001;61:842–847.