

SERIE: AKTUELLE IMMUNOLOGIE (4)

Dendritische Zellen zur Immuntherapie gegen Krebs

Marcus Peters, Bochum

Dendritische Zellen (DCs) werden seit mehr als 20 Jahren in klinischen Studien als Immuntherapeutikum getestet, insbesondere in der Krebsimmuntherapie. In der 1. Generation der klinischen Immuntherapie-Studien wurden hauptsächlich von Patientinnen und Patienten stammende (autologe), unreife DCs verwendet. In der 2. Generation wurden die Zellen zusätzlich mit einem „Reifungscocktail“ behandelt, um sie vor der Injektion auf ihre Hauptfunktion vorzubereiten, nämlich T-Zellen zu aktivieren. In der 3. Generation werden nun DC-Untergruppen verwendet, die durch technische Verfahren wie magnetische Sortierung aus dem Blut von Patientinnen und Patienten isoliert, und den Betroffenen nach ex vivo-Kultur mit spezifischen Wachstumsfaktoren und Beladung mit Tumorantigenen wieder zurückgegeben werden. In diesem Artikel, dem zweiten Teil des Beitrags zu Dendritischen Zellen aus Heft 3/2022, werden die Erkenntnisse aus verschiedenen klinischen Studien und die wichtigsten Erfolge beim therapeutischen Einsatz von DCs zusammengefasst.

Abkürzungen

APC	= Antigenpräsentierende Zelle
cDCs	= konventionelle Dendritische Zellen
FACS	= fluorescence activated cell sorting
GM-CSF	= Granulozyten Makrophagen stimulierender Faktor
IFN	= Interferon
IFN γ	= Interferon gamma
IL	= Interleukin
LPS	= Lipopolysaccharid
MoDCs	= von Monozyten stammende DCs
pDCs	= plasmazytoide DCs
PGE2	= Prostaglandin E2
PolyI:C	= Polinosin: Polycytidylsäure
TAA	= tumorassoziiertes Antigen
TLR	= toll like receptor
TNF α	= Tumor-Nekrose-Faktor alpha

DC-Therapien der 1. Generation

Da das Immunsystem eine entscheidende Rolle bei der Tumorabwehr spielt, ist die Aktivierung der körpereigenen Immunantwort durch den Einsatz von modifizierten Immunzellen der Patientin

bzw. des Patienten äußerst attraktiv und kann eine auf die jeweilige Person abgestimmte Therapie darstellen. Passive Immuntherapien, wie die Verwendung von Antikörpern oder der adoptive Transfer tumorspezifischer zytotoxischer T-Zellen, wurden bei verschiedenen Krebsarten erfolgreich eingesetzt [20]. Obwohl dies kurzfristig erfolgreich war, hat sich gezeigt, dass die passive Immuntherapie keine dauerhafte immunologische Reaktion oder die Entwicklung eines zellulären Gedächtnisses für die Tumorassoziierten Antigene (TAAs) hervorbringt.

Bei der aktiven Immuntherapie hingegen werden mit Antigenen beladene DC-„Impfstoffe“ verwendet, um sowohl eine kurz- als auch eine langfristige Anti-Tumor-Reaktion zu induzieren [3]. DCs richten sich nicht direkt gegen Tumorzellen, sondern aktivieren T-Zellen, die von besonderer Bedeutung für die Anti-Tumor-Reaktion sind.

Während der frühen Entwicklung der Immuntherapie wurden antigenpräsentierende Zellen (APCs) aus Leukapheresen von Patientinnen und Patienten gewonnen. Das Tumorantigen, welches zur Be-

ladung dieser DCs verwendet wurde, war in der Regel ein Peptid eines Tumor-assoziierten Antigens oder TAA-Proteine aus Tumorzelllysaten. Von TAA war bekannt, dass sie von bestimmten Tumoren exprimiert werden [24]. 1995 veröffentlichten Mukherji et al. Daten aus einer kleinen Studie zur Verwendung dendritischer Zellen bei Patientinnen und Patienten mit fortgeschrittenem metastasiertem Melanom [16]. Dort wurden von Patientinnen und Patienten stammende periphere mononukleäre Blutzellen (PBMCs), die mit GM-CSF kultiviert wurden, als APCs verwendet. Rückblickend können zumindest einige dieser Zellen als DCs angenommen werden. Unter Verwendung eines Peptids des Melanom-assoziierten Antigens 1 (MAGE-1), das normalerweise nur im Hoden exprimiert wird, aber bei Melanomen reaktiviert wird [36], wurden die APCs ex vivo beladen und den Betroffenen mit fortgeschrittenem metastasiertem Melanom intradermal injiziert. Obwohl vor Beginn der Therapie keine MAGE-1-spezifischen CTLs im Blut oder in den metastatischen Läsionen dieser Patientinnen und Patienten nachweisbar waren, wurden diese nach nur 4 Dosen von peptidbeladenen in verschiedenen

Gewebe identifiziert. Diese Studie war eine der ersten, die die Sicherheit und potenzielle Wirksamkeit der Therapie mit APCs unterstrich, auch wenn keine klinische Verbesserung bei den Patientinnen und Patienten zu beobachten war.

Aus Monozyten kultivierte DCs

Ein großer Fortschritt war dann die Entwicklung von Kulturprotokollen, die IL-4 und GM-CSF nutzten, um DCs gezielt aus Monozyten zu generieren [26]. Die erste klinische Studie, in der diese Methodik zur Behandlung bei Krebs eingesetzt wurde, war 1998 bei Melanomen [17]. In einer kleinen Studie mit 16 Patientinnen und Patienten mit fortgeschrittenem metastasiertem Melanom wurden mit GM-CSF und IL-4 erzeugte MoDCs mit Melanom-spezifischen Antigenen beladen. Diese Vakzine wurden einen Monat lang wöchentlich injiziert, danach wurde mit monatlichen Injektionen fortgeföhren (bis zu 10 Injektionen). Einzigartig für die damalige Zeit war, dass die DCs direkt in einen unbeteiligten peripheren Lymphknoten injiziert wurden, um den Kontakt mit den T-Zellen sicherzustellen. Es zeigte sich, dass die Vakzine gut vertragen wurde und bei 5 Probandinnen und Probanden kam es zu einer Rückbildung von Metastasen (Abb. 1).

Weitere Quellen für DC

In anderen frühen Studien wurden andere DC-Quellen verwendet, wie die direkte Isolierung von nicht-monozytären APCs aus peripherem Blut durch Dichtegradientenzentrifugation [10]. In dieser Studie zum niedriggradigen follikulären B-Zell-Lymphom lieferten Tumorbiopsien das spezifisch vom Tumor exprimierte Immunglobulin als TAA. Dieses wurde verwendet, um die isolierten APCs in Kulturen ohne GM-CSF oder IL-4 zu beladen. Mit dieser Vakzine wurden die Patientinnen und Patienten mehrmals subkutan behandelt. Alle Teilnehmenden in dieser Studie beendeten die Injektionsreihe und entwickelten T-Zell-Reaktionen auf das Antigen, die zu einer Rückbildung des Tumors und bei einem Patienten sogar eine vollständige Remission zur Folge hatte.

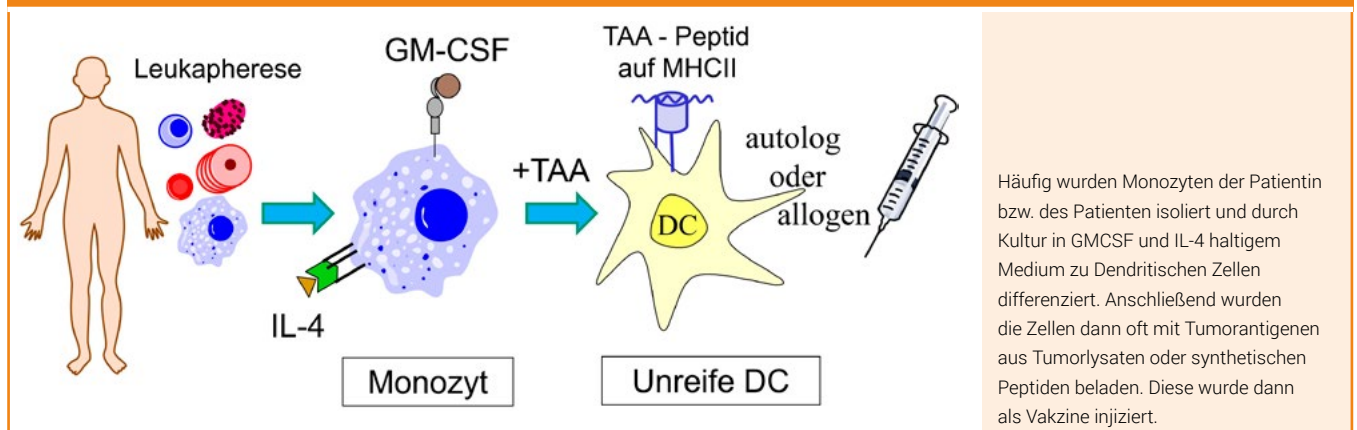
In einer Studie aus dem Jahr 2001 wurden CD34⁺-Vorläuferzellen des Bluts von Patientinnen und Patienten, die zuvor mit GM-CSF injiziert worden waren, durch Leukapherese gewonnen [2]. Die Kultivierung dieser Zellen mit GM-CSF, Flt3-L und TNF α erzeugt eine myeloide Zellpopulation, die verschiedene Entwicklungsstadien enthielt, darunter unreife DCs, LCs und cDCs. In dieser Studie wurden 18 Patientinnen und Patienten mit fortgeschrit-

tenem metastasiertem Melanom die Mischpopulation über einen Zeitraum von 2 Monaten insgesamt viermal subkutan injiziert. Die Zellen wurden mit mehreren melanomspezifischen Antigenen beladen, darunter MART-1 (*Melanoma Antigen Recognized by T-cells*), MAGE-3 (*Melanoma-associated antigen 3*) und gp100. 16 dieser Probandinnen und Probanden entwickelten eine T-Zell-Antwort gegen eines oder mehrere der Antigene, und bei 7 von ihnen bildete sich der Tumor entweder zurück oder die Krankheit blieb stabil.

Übersicht: Vakzine der 1. Generation

Diese klinischen Studien der ersten Generation, wie sie später genannt wurden, waren wichtig, um die Sicherheit und potenzielle Wirksamkeit von DCs in einem klinischen Kontext zu zeigen. Im Jahr 2003 veröffentlichte Ridgway einen Überblick über die „ersten 1000 dendritischen Zellimpfungen“, die zwischen 1995 und 2001 in 98 einzelnen Studien behandelt wurden [23]. Die Mehrzahl dieser Patientinnen und Patienten wurden mit peptidbeladenen DCs entweder gegen metastasierendes Melanom oder Prostatakrebs behandelt. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Patientinnen und Patienten in 31 dieser Studien eine partielle Reaktion auf den Impfstoff zeigten und in 17 Studien

Abbildung 1. Dendritische Zell-Vakzine der ersten Generation



eine komplette Remission (CR) bei einzelnen Betroffenen zu beobachten war, wobei die Definition der kompletten Remission (CR) je nach Studie unterschiedlich war. Dieser Bericht unterstreicht den potenziellen Nutzen der DC-Therapie, zeigte aber auch, dass aus noch nicht verstandenen Gründen nicht jede Patientin oder jeder Patient davon profitiert.

2004 wurde eine Übersicht zu Immuntherapien von Rosenberg et al. veröffentlicht. Hier wurden DC-Studien der ersten Generation mit anderen Immuntherapien wie mit löslichen Proteinen oder viralen Impfungen verglichen [24]. Ein Standard für die globale Vergleichbarkeit von Tumorbehandlung wurde aufgestellt. Der Rückgang der Tumorlast um 50% wurde als Schwellenwert für das Ansprechen propagiert. Unter Verwendung dieser Kriterien wurde gezeigt, dass peptidbeladene DCs zu einem Ansprechen auf die Therapie bei 7,1% der Probandinnen und Probanden führten, was damit höher lag als bei alternativen Impfstrategien.

DC-Therapien der 2. Generation

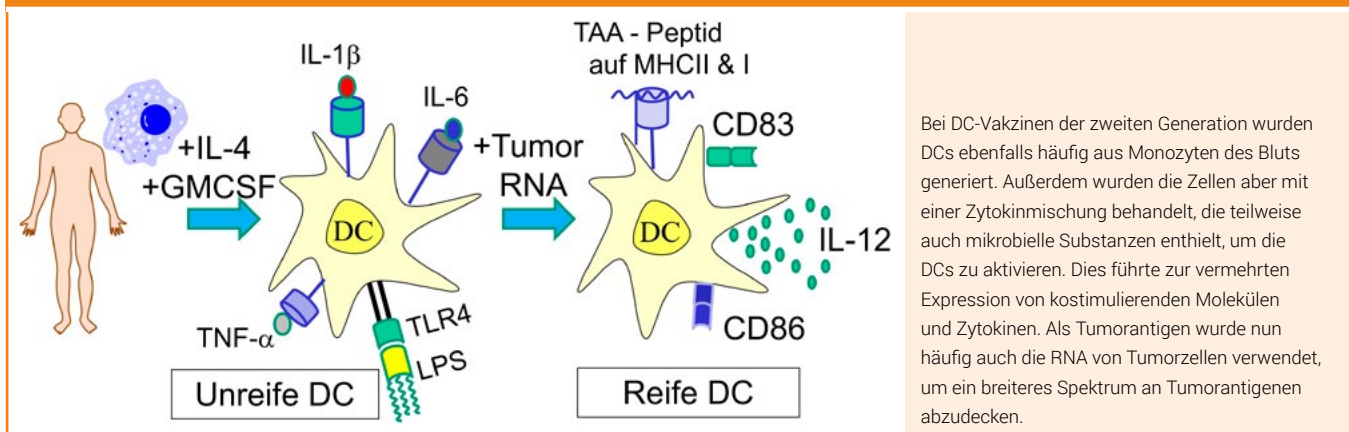
Die Sicherheit und potenzielle Wirksamkeit, die in kleinen klinischen Studien

mit DCs der ersten Generation gezeigt wurden, öffneten die Türen zu größeren klinischen Studien. Mit zunehmendem Wissen über die Biologie der DCs wurde vermutet, dass voll ausgereifte DCs den unreifen DCs, wie sie in den frühen Studien verwendet worden waren, überlegen sind [39]. Studien aus den Jahren 1999 und 2000 verglichen die Aktivität von DCs, die durch Standardkultur mit monozytenkonditioniertem Medium (MCM) allein oder MCM mit TNF α gewonnen wurden [30, 35]. Beim metastasierten Melanom wurde gezeigt, dass die klinische Reaktion auf den Impfstoff signifikant besser war, wenn die DCs mit TNF α aktiviert wurden (als ohne TNF α -Gabe), obwohl beide DC-Gruppen die grundlegenden konventionellen DC-Marker CD86 und das humane Leukozytenantigen (HLA)-DR sowie CD83 exprimierten.

Jonuleit et al. injizierten unreife und reife DCs, die jeweils verschiedene Antigene präsentierten, um die resultierende T-Zell-Reaktion zu vergleichen [11]. Nur reife DCs, die durch die Zugabe von IL-1 β , TNF α , IL-6 und PGE2 aktiviert wurden, waren in der Lage, die CTL-Bildung in vivo zu induzieren, obwohl beide DC-Populationen in der Lage waren,

eine T-Zell-Antwort in vitro zu induzieren. Interessanterweise entwickelten Patientinnen und Patienten, die unbeladene, unreife DCs erhielten, Hypersensitivitätsreaktionen vom verzögerten Typ (DTH). Das deutet darauf hin, dass diese Zellen an der Injektionsstelle bleiben oder unerwünschte Entzündungseffekte verstärken. Dieser „Reifungscocktail“ wurde dann in gleicher oder leicht abgewandelter Form häufig in klinischen Studien verwendet [4]. Allerdings wurde in weiteren Analysen der Aktivität von DC-Vakzinen gezeigt, dass die mit dem Jonuleit-Cocktail stimulierten DCs das Zytokin IL-12 nicht sezernieren, ein Zytokin, welches für die Entwicklung einer zytotoxischen Immunantwort wichtig ist. Ein IL-12-sekretorischer DC-Phänotyp wurde dann nach Ligatur von CD40 und Exposition gegenüber IFN γ oder bakteriellen Produkten ermöglicht, wie Lipopolysaccharid (LPS) oder Polyinosin:Polycytidylsäure (PolyI:C) [5, 18, 33]. Wichtig ist, dass der reife DC-Phänotyp auch noch nach dem Entfernen der Zytokine stabil ist, damit der Phänotyp auch noch nach Injektion der DCs in die Patientin bzw. den Patienten und anschließender Migration der Zellen in die Lymphorgane erhalten bleibt [40] (Abb. 2).

Abbildung 2. Dendritische Zell-Vakzine der zweiten Generation



Bei DC-Vakzinen der zweiten Generation wurden DCs ebenfalls häufig aus Monozyten des Bluts generiert. Außerdem wurden die Zellen aber mit einer Zytokinmischung behandelt, die teilweise auch mikrobielle Substanzen enthielt, um die DCs zu aktivieren. Dies führte zur vermehrten Expression von kostimulierenden Molekülen und Zytokinen. Als Tumorantigen wurde nun häufig auch die RNA von Tumorzellen verwendet, um ein breiteres Spektrum an Tumorantigenen abzudecken.

DC-Quellen der 2. Generation

In dieser zweiten Generation von DC-Therapien wurde dann auch die Quelle von Tumorantigenen erweitert. Mehrere Antigenquellen wie Peptide, Tumor-Ribonukleinsäure (RNA) und Tumorslysate konnten *in vitro* und *in vivo* eine Antitumorreaktion hervorrufen, wenn DCs hiermit beladen wurden [4]. Bei einer Reihe von Studien in diesem Zeitraum wurde Tumorzell-RNA in großen Mengen oder TAA-kodierende RNA verwendet, die aus Tumorbiopsien gewonnen wurde. Die Expression der Tumor-RNA durch den Proteinbiosyntheseapparat im Zytosol ermöglicht die Präsentation des gesamten Spektrums an Peptiden der TAA auf MHC I [27]. Diese Strategie setzt allerdings voraus, dass der Tumor für eine Biopsie zugänglich ist, was nicht immer der Fall ist.

Eine 2013 veröffentlichte Studie von Hobo et al. zeigte, dass RNA, die für MAGE-3, Survivin und ein B-Zell-Reifungsantigen (BCMA) kodiert, eine geeignete TAA-Quelle für die Induktion tumorspezifischer T-Zellen durch DC-Vakzinierung sein kann. Diese Studie wurde in einer kleinen Kohorte von Patientinnen und Patienten mit multiplem Myelom nach Chemotherapie und autologer Stammzelltherapie durchgeführt [9]. Die DCs wurden in dieser Studie intravenös und intradermal injiziert und exprimierten in hohem Maße konventionelle Marker der DC-Aktivierung wie CD40, CD86 und MHC-Klasse II. Mehr als 60% der Zellen exprimierten CCR7, einen wichtigen Chemokin-Rezeptor, über den DCs in die Lymphknoten navigiert werden.

Ein Drittel der Patientinnen und Patienten in dieser Studie wiesen nach der DC-Injektion Anti-MAGE-3- und Anti-BCMA-T-Zellen auf und bei fast der Hälfte von ihnen kam es zu einer Stabilisierung der Erkrankung.

Im Jahr 2013 wurde gezeigt, dass Tumor-RNA aus Glioblastombiopsien eine schützende T-Zell-Reaktion auslösen kann, wenn die resultierenden Peptide von DCs präsentiert werden [37]. In dieser Studie von Vik-Mo et al. wurde die RNA aus autolog kultivierten Glioblastom-Biopsieorganoiden verwendet, um DCs mittels Elektroporation zu beladen. Dies ermöglicht die MHC-Klasse-I-Präsentation ohne die Notwendigkeit einer Kreuzpräsentation und erfordert daher nicht unbedingt die effizienteste kreuzpräsentierende DC-Untergruppe [1]. Nach einer Serie von sieben intradermalen Injektionen im Abstand von jeweils einem Monat überlebten 5 von 7 Probandinnen und Probanden in der Studie fast 2 Jahre länger als die vergleichbare Kontrollkohorte. Die Analyse von T-Zellen aus dem Blut zeigte einen Anstieg der Anzahl von T-Zellen, die für TAAs bzw. Kontrollpeptide spezifisch sind, bei den DC-behandelten Patientinnen und Patienten.

Einfluss des Reifungscocktails

Zusätzliche Komplexität ergibt sich aus der Beobachtung, dass verschiedene Antigenbeladungsmethoden durch den Reifungscocktail beeinflusst werden. Studien von Zobywalski et al. zeigten, dass die Elektroporation von Tumor-RNA zwar eine erfolgreiche Antigenpräsentation durch DCs bewirkte, die mit TNF α , IL-1 β , IFN γ und PGE2 ausgereift worden waren, die Zugabe von poly I:C zu diesem Cocktail hemmte die Präsentation jedoch [40]. Anhand der MAGE-Antigenfamilie wurde gezeigt, dass die Zellen, wenn sie nach der DC-Reifung transfiziert wurden, eine stärkere CTL-Reaktion auslösen. Dies spiegelt die natürliche DC-Biologie wider, bei der MHC-Peptid-Komplexe auf der unreifen Zelloberfläche während der Reifung schnell internalisiert und ersetzt werden [13]. Dies unterstreicht die RNA-Transfektion als potenziell überle-

gene Antigenbeladungsmethode, da die Endozytose während der Reifung von DCs nachlässt.

Sipuleucel-T bei Prostatakrebs

Sipuleucel-T wurde in dieser Zeit für den Einsatz bei Prostatakrebs entwickelt. Dieser Zell-Impfstoff, der auch unter dem Namen Provenge bekannt und lizenziert ist, war der Erste, der von der FDA für den klinischen Einsatz zugelassen wurde. Sipuleucel-T besteht aus autologen PBMCs, die *in vitro* mit einem Fusionsprotein aktiviert werden, das als PA2024 bekannt ist [32]. PA2024 ist ein prostataspezifisches Antigen (Prostata-Säure-Phosphatase [PAP]) welches mit dem Zytokin GM-CSF fusioniert ist [31]. PAP wird in Prostatagewebe und Prostatakarzinom stark exprimiert, während die Expression in anderen Geweben minimal ist, was mögliche Off-Target-Effekte begrenzt [7]. DCs die nur PAP präsentieren, erzeugen *in vivo* eine schwächere T-Zell-Reaktion als DCs, die mit PA2024 beladen sind.

In Übereinstimmung mit früheren DC-Studien wurde Provenge nach intravenöser (i.v.) Injektion gut vertragen und führt zu einer Verbesserung der Anti-PAP-T-Zell-Antwort und Verringerung des im Patientenserum nachweisbaren Prostatakrebs-assoziierten Antigens [32]. Diese therapeutischen Reaktionen korrelierten mit der klinischen Wirksamkeit des Impfstoffs, der sich in einer Verlängerung des Gesamtüberlebens (OS) der Patientinnen und Patienten äußert [12]. Die Zulassung von Sipuleucel-T für die kommerzielle Verwendung im Gesundheitswesen durch die FDA war ein wichtiger Meilenstein in der Zell-Therapie.

DC-Therapien der 3./nächsten Generation

Die Zulassung von Sipuleucel-T durch die FDA und die verbesserten klinischen

Reaktionen auf Therapien der zweiten Generation haben das Potenzial für eine weitere Verbesserung der DC-Impfstoffe aufgezeigt. Im Zusammenspiel mit einem besseren Verständnis der komplexen DC-Biologie und der Entwicklung von neuen molekularen Techniken wurde der Bereich der Forschung ausgeweitet. Einer der Hauptschwerpunkte der aktuellen Generation von DC-Therapien ist die Verwendung von *in vivo* DC-Untergruppen, die keine kostspieligen *ex vivo*-Kulturprotokolle erfordern.

Wie die Erstellung von Transkriptionsprofilen von DCs zeigte, die *in vitro* aus CD34⁺- bzw. CD14⁺-Vorläuferzellen differenziert wurden, sind diese Zellen zwar nach phänotypischen und funktionellen Kriterien technisch gesehen DCs, unterscheiden sich aber transkriptionell von den natürlich vorkommenden *in situ* DCs [15]. Bestimmte Funktionen sind möglicherweise in DC-Untergruppen, wie sie *in situ* zu finden sind, einzigartig: pDCs sind starke Produzenten von Typ-I-Interferonen, während myeloische cDCs eine stärkere Aufnahme von apoptotischen und nekrotischen Zellen zeigen [8, 29]. Aufgrund ihrer spezialisierten Funktionen haben die natürlichen DC-Untergruppen nach Ausreifung unterschiedliche Oberflächen- und Zytokinphänotypen und reagieren verschieden auf Entzündungsreize in Reifungscocktails [21]. pDCs und cDCs exprimieren z.B. keine gemeinsamen bakteriellen Mustererkennungsrezeptoren (PRRs), was eine Reifung mit bestimmten bakteriellen Produkten ausschließt. Obwohl diese DCs im Blut relativ selten sind, können laut Daten aus klinischen Studien sowohl pDCs als auch cDCs zuverlässig in ausreichender Zahl für therapeutische Zwecke isoliert werden, wenn sie mittels magnetischer oder FACS-Sortierung isoliert werden. pDCs sind in erster Linie an der antiviralen Abwehr durch die Produktion von Typ-I-

IFNs beteiligt. Es hat sich jedoch gezeigt, dass sie zytotoxische T-Zellen effizient stimulieren können [25]. Trotz ihrer geringen Effizienz bei der Antigenaufnahme und -präsentation hat sich gezeigt, dass pDCs TAAs zur Stimulation von CTLs verarbeiten können [38].

Beispiel pDCs

2013 wiesen Tel et al. nach, dass natürliche pDCs aus Melanompatientinnen und -patienten isoliert werden können. Diese wurden dann mit gp100-Peptiden beladen und den Betroffenen reinjiziert [34]. Im Vergleich zu entsprechenden historischen Kontrollen konnten pDCs das Gesamtüberleben signifikant verlängern und es konnte bei vielen Patientinnen und Patienten ein Anstieg der TAA-spezifischen T-Zellen beobachtet werden. Obwohl die Wirksamkeit der Therapie in einer kleinen Studie schwer zu beurteilen ist, sind die vorgelegten Daten vielversprechend.

pDCs sind ein Beispiel für die Bedeutung eines geeigneten Injektionsweges. Zirkulierende pDCs gelangen direkt aus dem Blutkreislauf durch die Venolen mit hohem Endothel (HEVs) in die Lymphknoten. Dies schließt eine subkutane oder intradermale Injektionsstrategien aus. Eine direkte intranodale Injektion ist dagegen möglich [34].

Beispiel cDCs

cDCs, wie bereits beschrieben, sind ein weiterer *in vivo* DC-Subtyp für eine potenziellen Verwendung in DC-Therapien. Wie die pDCs haben auch die cDCs eine spezielle Funktion und wandern hauptsächlich in die Randzone der LN [21]. Im Gegensatz zu den pDCs, die eine schlechte Antigenaufnahme und Präsentation zeigen, sind cDCs bei der Endozytose wesentlich leistungsfähiger als die meisten DC-Untergruppen [29]. Dies macht sie zu einer interessanten

DC-Untergruppe für den therapeutischen Einsatz.

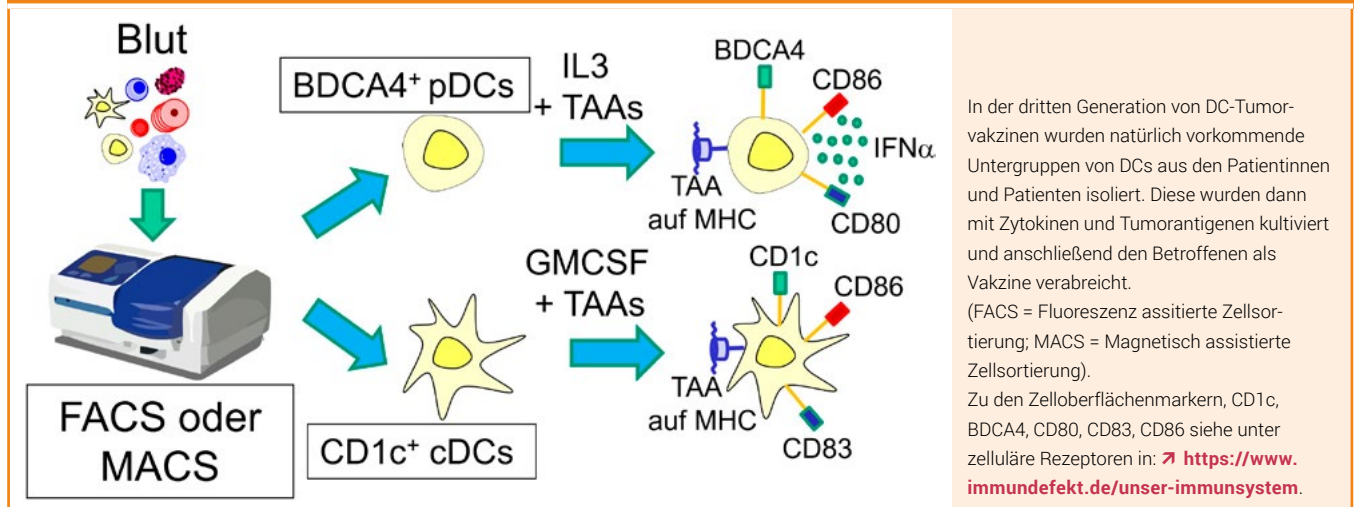
cDCs können durch die Expression der Oberflächenmarker CD1c und CD141 weiter unterteilt werden. CD1c⁺-cDCs sind im Blut in deutlich höherer Zahl vorhanden als CD141⁺-cDCs und wurden bereits erfolgreich in klinischen Krebsstudien eingesetzt. Wie sich in frühen klinischen Phase-I-Studien zeigen ließ, ist es möglich, genügend cDCs für den therapeutischen Einsatz zu isolieren, und diese Zellen werden von den Patientinnen und Patienten gut vertragen [22]. Schreibelt et al. wiesen nach, dass CD1c⁺-cDCs in der Lage sind, *de novo* antigenspezifische T-Zell-Reaktionen zu induzieren, selbst wenn nur 3x10⁶ Zellen nach Kultur über Nacht intranodal injiziert wurden [28]. Die Zellen waren immunogen und exprimierten die Marker CD83 und CD86 in hohem Maße, aber CD80 und CCR7 nur in geringerem Maße.

Durch den Impfstoff verlängerte sich das progressionsfreie Überleben um bis zu 1 Jahr bei Patientinnen und Patienten mit nachweisbaren T-Zellreaktionen auf den DC-Impfstoff im Vergleich zu denjenigen ohne solche Reaktionen (Abb. 3).

Kombiniert mit Checkpoint-Inhibitoren

Die Expression von kostimulierenden Molekülen auf der Oberfläche von DCs ist von entscheidender Bedeutung für die Aktivierung von naiven T-Zellen. Allerdings weiß man, dass insbesondere zytotoxische T-Zellen Rezeptoren wie CTLA4 (Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4) exprimieren können, die nach Bindung von CD80 zur Anergie der Zellen und damit zur Inaktivität führen können. Andere Negativregulatoren, die von DCs exprimiert werden, sind z.B. PDL1 (programmed cell death ligand 1), welches an PD1 auf der T-Zelle bindet. In diesem Zusammen-

Abbildung 3. Dendritische Zell-Vakzine der dritten Generation



© Marcus Peters

hang wurden die sogenannten Checkpoint-Inhibitoren entwickelt – Antikörper, die CTLA4 und PD1 blockieren und damit eine T-Zell-Antwort fördern können. Diese blockierenden Antikörper werden schon erfolgreich bei einigen Krebsarten in der Monotherapie oder in Kombination mit anderen Chemotherapien eingesetzt.

Neueste Ansätze kombinieren nun die Behandlung mit antigenbeladenen DCs mit der Anwendung von Checkpoint-Inhibitoren wie Atezolizumab, um die Aktivität der Vakzine auf diese Weise zu verbessern [6].

Schlussfolgerung

Ein besseres Verständnis der DC-Biologie ist und war entscheidend für die Entwicklung und Optimierung von DC-Therapien. Trotz mehr als 20 Jahren Verbesserungen zeigen klinische Studien mit DC-Vakzinen noch oft subklinische Tumorantworten, die für viele Patientinnen und Patienten nicht zu einer Verlängerung des Überlebens führen. Auch die beobachteten T-Zell-Reaktionen variieren von Patient zu Patient. Über die Gründe hierfür kann nur spekuliert werden.

Während sich die Protokolle zur Reifung der DCs verbessert haben, ist die schlechte Migration der Zellen oft ein Problem, ein Faktor der in klinischen Studien noch nicht ausreichend berücksichtigt wird. Der Schwellenwert der in die Lymphknoten migrierten DCs für die Aktivierung einer Anti-Tumor-Reaktion ist nachweislich gering [14], aber die unterschiedlichen Reaktionen der Patientinnen und Patienten deuten darauf hin, dass selbst diese Zahl möglicherweise nicht erreicht wird. Ein möglicher Ausweg ist die Injektion der Zellen direkt in den Lymphknoten. Doch ist dies ein technisch aufwendiger Prozess, da die Injektion unter Ultraschallkontrolle stattfinden muss. Daher wären Fortschritte in der gezielten Differenzierung von DCs zu einem migrierenden Phänotyp wünschenswert.

Was die Antigenbeladung der Zellen betrifft, ist wahrscheinlich in der Verwendung von RNA das größte Potenzial vorhanden, da hierdurch Peptide sowohl auf MHC-I- als auch MHC-II-Molekülen präsentiert werden und auch patientenspezifische Neoantigene auf eine kosteneffektive Weise als Antigene für die Vak-

zinierung verwendet werden können. Auch die Kombination von DC-Vakzinen mit gleichzeitiger Gabe von Checkpoint-Inhibitoren wird die Behandlungserfolge weiter verbessern.

Überraschenderweise gibt es nur wenige Veröffentlichungen von Studien, in denen DCs für die Allergen-Immuntherapie verwendet werden. Dabei sollte die Modulation der allergischen Inflammation hierdurch kontrollierter möglich sein als durch die gängige Injektion von Allergenextrakten. Die hohen zu erwartenden Kosten einer Therapie mit DCs scheint das Interesse an der Forschung auf dem Gebiet zu lähmen. Anders sieht es auf dem Gebiet des gezielten in vivo „targetings“ von DCs mit Allergenen zur Immuntherapie aus, hier gibt es wenige, aber interessante neue Ansätze [19].

PD Dr. Marcus Peters

AG Immunologie der Lunge
 Institut für Molekulare Immunologie
 Ruhr-Universität Bochum
 44780 Bochum
marcus.peters@rub.de

Literatur

- 1 Bachem A, Güttler S, Hartung E et al. Superior antigen cross-presentation and XCR1 expression define human CD11c+CD141+ cells as homologues of mouse CD8+ dendritic cells. *J Exp Med* 2010; 207(6): 1273–1281
- 2 Banchereau 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(17): 6451–6458
- 3 Boudreau JE, Bridle BW, Stephenson KB et al. Recombinant vesicular stomatitis virus transduction of dendritic cells enhances their ability to prime innate and adaptive antitumor immunity. *Mol Ther* 2009; 17(8): 1465–1472
- 4 Constantino J, Gomes C, Falcão A, Cruz MT, Neves BM. Antitumor dendritic cell-based vaccines: lessons from 20 years of clinical trials and future perspectives. *Transl Res* 2016; 168: 74–95
- 5 Fučíková J, Rožková D, Ulčová H et al. Poly I: C-activated dendritic cells that were generated in CellGro for use in cancer immunotherapy trials. *J Translat Med* 2011; 9: 223
- 6 Garg AD, Coulie PG, van den Eynde BJ, Agostinis P. Integrating Next-Generation Dendritic Cell Vaccines into the Current Cancer Immunotherapy Landscape. *Trends in Immunol* 2017; 38(8): 577–593
- 7 Graddis TJ, McMahan CJ, Tamman J, Page KJ, Trager JB. Prostatic acid phosphatase expression in human tissues. *Internat J Clin Exp Pathology* 2011; 4(3): 295–306
- 8 Hagberg N, Berggren O, Leonard D et al. IFN- α production by plasmacytoid dendritic cells stimulated with RNA-containing immune complexes is promoted by NK cells via MIP-1 β and LFA-1. *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 2011; 186(9): 5085–5094
- 9 Hobo W, Strobbe L, Maas F et al. Immunogenicity of dendritic cells pulsed with MAGE3, Survivin and B-cell maturation antigen mRNA for vaccination of multiple myeloma patients. *Cancer Immunol Immunother* 2013; 62(8): 1381–1392
- 10 Hsu FJ, Benike C, Fagnoni F et al. Vaccination of patients with B-cell lymphoma using autologous antigen-pulsed dendritic cells. *Nature Med* 1996; 2(1): 52–58
- 11 Jonuleit H, Giesecke-Tuettenberg A, Tüting T et al. A comparison of two types of dendritic cell as adjuvants for the induction of melanoma-specific T-cell responses in humans following intranodal injection. *Internat J Cancer* 2001; 93(2): 243–251
- 12 Kantoff PW, Higano CS, Shore ND et al. Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer. *New Engl J Med* 2010; 363(5): 411–422
- 13 Lelouard H, Gatti E, Cappello F, Gresser O, Camosseto V, Pierre P. Transient aggregation of ubiquitinated proteins during dendritic cell maturation. *Nature* 2002; 417(6885): 177–182
- 14 Lim D-S, Kim J-H, Lee D-S, Yoon C-H, Bae Y-S. DC immunotherapy is highly effective for the inhibition of tumor metastasis or recurrence, although it is not efficient for the eradication of established solid tumors. *Cancer Immunol Immunother* 2007; 56(11): 1817–1829
- 15 Lundberg K, Albrekt A-S, Nelissen I et al. Transcriptional profiling of human dendritic cell populations and models – unique profiles of in vitro dendritic cells and implications on functionality and applicability. *PloS one* 2013; 8(1): e52875
- 16 Mukherji B, Chakraborty NG, Yamasaki S et al. Induction of antigen-specific cytolytic T cells in situ in human melanoma by immunization with synthetic peptide-pulsed autologous antigen presenting cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92(17): 8078–8082
- 17 Nestle FO, Aljagic S, Gilliet M et al. Vaccination of melanoma patients with peptide- or tumor lysate-pulsed dendritic cells. *Nature Med* 1998; 4(3): 328–332
- 18 Nicolette CA, Healey D, Tcherepanova I et al. Dendritic cells for active immunotherapy: optimizing design and manufacture in order to develop commercially and clinically viable products. *Vaccine* 2007; 25(2): B47–60
- 19 Nieto A, Mazón Á, Nieto M et al. First-in-human phase 2 trial with mite allergoids coupled to mannan in subcutaneous and sublingual immunotherapy. *Allergy* 2022; 77(10): 3096–3107
- 20 Palucka AK, Ueno H, Fay JW, Banchereau J. Taming cancer by inducing immunity via dendritic cells. *Immunological Reviews* 2007; 220: 129–150
- 21 Piccioli D, Sammiceli C, Tavarini S et al. Human plasmacytoid dendritic cells are unresponsive to bacterial stimulation and require a novel type of cooperation with myeloid dendritic cells for maturation. *Blood* 2009; 113(18): 4232–4239
- 22 Prue RL, Vari F, Radford KJ et al. A phase I clinical trial of CD1c (BDCA-1)+ dendritic cells pulsed with HLA-A*0201 peptides for immunotherapy of metastatic hormone refractory prostate cancer. *Journal of immunotherapy (Hagerstown, Md.: 1997)* 2015; 38(2): 71–76
- 23 Ridgway D. The first 1000 dendritic cell vaccinees. *Cancer Invest* 2003; 21(6): 873–886
- 24 Rosenberg SA, Yang JC, Restifo NP. Cancer immunotherapy: moving beyond current vaccines. *Nature Med* 2004; 10(9): 909–915
- 25 Salio M, Cella M, Vermi W et al. Plasmacytoid dendritic cells prime IFN- γ -secreting melanoma-specific CD8 lymphocytes and are found in primary melanoma lesions. *Europ J Immunol* 2003; 33(4): 1052–1062
- 26 Sallusto F, Lanzavecchia A. Efficient presentation of soluble antigen by cultured human dendritic cells is maintained by granulocyte/macrophage colony-stimulating factor plus interleukin 4 and down-regulated by tumor necrosis factor alpha. *J Exp Med* 1994; 179(4): 1109–1118
- 27 Schaft N, Dörrie J, Thumann P et al. Generation of an optimized polyvalent monocyte-derived dendritic cell vaccine by transfecting defined RNAs after rather than before maturation. *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)* 2005; 174(5): 3087–3097
- 28 Schreiber G, Bol KF, Westdorp H et al. Effective Clinical Responses in Metastatic Melanoma Patients after Vaccination with Primary Myeloid Dendritic Cells. *Clin Cancer Res* 2016; 22(9): 2155–2166
- 29 Schreiber G, Tel J, Sliepen KHEWJ et al. Toll-like receptor expression and function in human dendritic cell subsets: implications for dendritic cell-based anti-cancer immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother* 2010; 59(10): 1573–1582
- 30 Schuler-Thurner B, Dieckmann D, Keikavoussi P et al. Mage-3 and influenza-matrix peptide-specific cytotoxic T cells are inducible in terminal stage HLA-A2.1+ melanoma patients by mature monocyte-derived dendritic cells. *J Immunol (Baltimore, Md.: 1950)* 2000; 165(6): 3492–3496
- 31 Small EJ, Fratesi P, Reese DM et al. Immunotherapy of hormone-refractory prostate cancer with antigen-loaded dendritic cells. *J Clin Oncology* 2000; 18(23): 3894–3903
- 32 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 Clin Oncology* 2006; 24(19): 3089–3094
- 33 Snijders A, Kalinski P, Hilkens CM, Kapsenberg ML. High-level IL-12 production by human dendritic cells requires two signals. *Internat Immunol* 1998; 10(11): 1593–1598
- 34 Tel J, Aarntzen EHJG, Baba T et al. Natural human plasmacytoid dendritic cells induce antigen-specific T-cell responses in melanoma patients. *Cancer Research* 2013; 73(3): 1063–1075
- 35 Thurner B, Haendle I, Röder C et al. Vaccination with mage-3A1 peptide-pulsed mature, monocyte-derived dendritic cells expands specific cytotoxic T cells and induces regression of some metastases in advanced stage IV melanoma. *J Exp Med* 1999; 190(11): 1669–1678
- 36 van der Bruggen P, Traversari C, Chomez P et al. A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. *Science (New York, N.Y.)* 1991; 254(5038): 1643–1647
- 37 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. *Cancer Immunol Immunother* 2013; 62(9): 1499–1509
- 38 Villadangos JA, Young L. Antigen-presentation properties of plasmacytoid dendritic cells. *Immunity* 2008; 29(3): 352–361
- 39 Vries IJM de, Lesterhuis WJ, Scharenborg NM et al. Maturation of dendritic cells is a prerequisite for inducing immune responses in advanced melanoma patients. *Clin Cancer Res* 2003; 9(14): 5091–5100
- 40 Zobywalski A, Javorovic M, Frankenberger B et al. (2007) Generation of clinical grade dendritic cells with capacity to produce biologically active IL-12p70. *J Translat Med* 2007; 5: 18