

Zusammenfassung

Während hämatologische Neoplasien zunehmend besser therapeutisch angebar sind, ist die Behandlung solider Tumoren einschließlich des malignen Melanoms insbesondere im metastasierten Stadium nach wie vor limitiert. Der Zuwachs an tumorimmunologischem Wissen in den letzten 10 Jahren hat zur Identifikation von einer Vielzahl von Melanom-assoziierten Tumorantigenen geführt als auch zur Entwicklung von unterschiedlichen Behandlungskonzepten. Im Folgenden sollen die Fortschritte der letzten Jahre knapp zusammengefasst werden, wobei das Hauptaugenmerk auf Peptide und dendritische Zellen gelegt wurde.

Abstract

Haematologic neoplasms can be treated more and more successfully in contrast to solid tumors including malignant melanoma. Especially in the advanced stage of disease no effective treatment options are available. Over the last decade a substantial surplus of tumor immunological knowledge could be witnessed leading to the identification of numerous tumor-associated antigens and consequently to the design of various novel treatment regimens. In this chapter the progress which was made particularly in the field of peptide and dendritic cell vaccination is briefly summarized.

Einleitung

Das Melanom ist ein maligner Tumor neuroektodermalen Ursprungs mit steigender Inzidenz und Mortalität. Bekanntermaßen ist die frühzeitige Erkennung und Exzision der einzige Garant für eine gute Prognose, da im fortgeschrittenen Krankheitsstadium die Heilungschancen aufgrund der hohen Therapieresistenz minimal sind [1]. Andererseits werden beim Melanom oft immunologisch-vermittelte Phänomene wie z.B. partielle oder komplette Regressionen des Primärtumors, das Auftreten von Vitiligo, Halo-Nävi oder Uveitis beobachtet. Diese Erscheinungen werden zumeist als Zeichen einer immunologischen Erkennung von melanozytären Zellen im Rahmen der Melanomkrankung gewertet. Weiterhin ist seit Jahren bekannt, dass Tumor-infiltrierende Lymphozyten (TIL) in der Lage sind, Melanomzellen spezifisch zu erkennen und zytolytisch zu zerstören. Zusammenge-

nommen darf festgestellt werden, dass das Melanom (wie andere humane Tumoren auch) als „immunogen“ zu gelten hat.

In den letzten Jahren ist klar geworden, dass effektive anti-tumorale Immunantworten nicht sehr häufig in späteren Krankheitsstadien der Tumorerkrankung zu finden sind. Allgemein angenommene Gründe sind Toleranz bzw. Anergiephänomene. Um diese Hindernisse zu überwinden, muss eine effektive Tumorkvazine die bestehende Toleranz brechen und „kryptische“ T-Zellpopulationen aktivieren, die aufgrund ihrer niedrigen Affinität zum T-Zell-Rezeptor der Toleranzinduktion im Thymus entkommen sind. So genannte „danger signals“ führen zur notwendigen Kostimulation und T-Zellaktivierung durch Antigen-präsentierende Zellen (Überblick in [2]). Darüber hinaus wurde in den letzten 10 Jahren eine Vielzahl von Melanom-assoziierten Antigenen und T-Zell-Epitopen beschrieben, die jetzt für den therapeutischen

Institutsangaben

Klinische Kooperationseinheit für Dermatoonkologie (DKFZ) & Klinik für Dermatologie, Venerologie & Allergologie des Universitätsklinikums Mannheim

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. D. Schadendorf · Klinische Kooperationseinheit für Dermatoonkologie (DKFZ) an der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Universitätsklinikum Mannheim · Theodor-Kutzer-Ufer · 68135 Mannheim · E-mail: d.schadendorf@dkfz.de

Bibliografie

Akt Dermatol 2003; 29: 435–438 © Georg Thieme Verlag Stuttgart · New York · ISSN 0340-2541

Einsatz zur Verfügung stehen [3]. Die Charakterisierung von Tumorantigenen ermöglichte die Entwicklung definierter synthetischer Vakzine und deren systematische klinische Prüfung.

Im Wesentlichen werden diese neueren tumorimmunologischen Erkenntnisse im Rahmen erster klinischer Anwendungen bezüglich Verträglichkeit getestet. Dazu zählen klinische Phase-I-Studien mit synthetisch hergestellten Peptiden, sog. Peptidvaccination, zumeist in Kombination mit verschiedenen Adjuvantien. Auch dendritische Zellen, die aus dem patienteneigenen Blut hergestellt werden, werden derzeit in unterschiedlicher Weise für Immunisierungszwecke überprüft. Dieser Bericht will auf den nächsten Seiten einen kurzen Überblick über den derzeitigen Stand der klinischen Anwendung und einen kurzen Ausblick auf zukünftige Entwicklungen geben.

Impfung mit synthetischen Peptiden

Die Identifikation HLA-Klasse-I-bindender Peptidsequenzen aus Tumorantigenen als Zielstrukturen für zytotoxische T-Lymphozyten (CTL) ist die Voraussetzung für die Entwicklung Peptid-basierter Tumor-Impfstoffe. HLA-Klasse-I-bindende Peptide bestehen meist aus 9–10 Aminosäuren und lassen sich relativ einfach synthetisch herstellen. Peptide können ohne Antigenprozessierung direkt an HLA-Klasse-I-Moleküle antigenpräsentierender Zellen binden und so CTL aktivieren. Ein Nachteil von Peptid-Impfstoffen ist – wie bei der Organtransplantation – deren HLA-Restriktion, so dass Patienten zunächst HLA-typisiert werden müssen und für Patienten mit selteneren HLA-Allelen häufig keine Peptide zur Verfügung stehen (Übersicht in [4]).

Für die Immunisierung mit Peptiden werden zwei grundsätzliche Wege beschritten: Peptide werden entweder 1) direkt in die Haut injiziert – meist in Kombination mit immunologischen Adjuvantien – mit dem Ziel dort von dendritischen Zellen präsentiert zu werden, oder 2) vor der Injektion auf dendritische Zellen geladen, die zuvor in vitro generiert werden müssen (siehe nachfolgenden Abschnitt).

Es wird allgemein angenommen, dass die vorbeugende Vakzinierung bei Patienten nach erfolgreicher Operation oder Chemotherapie wahrscheinlich sehr viel effektiver ist als bei Patienten mit fortgeschrittenen Tumorerkrankungen. Dies ist zumindest teilweise erklärbar durch die große Tumorzellzahl und durch eine tumorbedingte Immunsuppression in diesem Tumorstadium. Mit dem Ziel die Immunogenität und Toxizität von Peptidvakzinen zu überprüfen, wurden in den vergangenen Jahren jedoch zunächst erste klinische Phase-I-Studien mit MHC-Klasse-I-restringierten Peptiden bei Patienten mit metastasiertem Melanom durchgeführt (= therapeutische Vakzination).

Die Ergebnisse erster Studien bei Patienten mit metastasiertem Melanom sind vielversprechend, denn es gelang die Induktion tumorspezifischer CTL und bei einzelnen Patienten mit metastasierten Tumoren wurden Tumorremissionen beobachtet. In einer Multizenterstudie unter Leitung des Ludwig Institute for Cancer Research, Brüssel, konnte durch Vakzinierung mit dem MAGE-3.A1-Peptid bei 7/25 Melanompatienten mit vorwiegend Hautmetastasen eine partielle oder komplette Remission einzelner

Metastasen erreicht werden [5]. Rosenberg et al. haben in einer nicht randomisierten Studie Patienten mit einem gp100-Peptid behandelt und bei 42% der Patienten, die zusätzlich hochdosiert IL-2 erhielten, objektive Tumorremissionen erreicht [6]. Auch Jäger et al. [7] berichteten von 3 Patienten, bei denen es nach Vakzinierung mit einem Cocktail HLA-A2.1-bindender Peptidepitope der Antigene Tyrosinase, MART-1 und gp100 zusammen mit dem Adjuvans GM-CSF zu einer teilweisen oder vollständigen Rückbildung der Metastasen kam. Eigene Untersuchungen zur Vakzinierung mit Tyrosinasepeptiden in Kombination mit GM-CSF zeigte in einer Phase-II-Studie bei Patienten mit meist fortgeschrittenem metastasiertem Melanom allerdings keine objektive Tumorremission [8], jedoch kam es bei zwei Patienten, die nach Resektion multipler Metastasen vakziniert wurden, zu einer langfristigen Rezidivfreiheit [9].

Studien im Stadium IV waren die Grundlage für die Prüfung von Peptidvakzinen in der adjuvanten Situation. In einer adjuvanten Phase-I-Studie konnte gezeigt werden, dass Patienten, die eine messbare T-Zell-Antwort im Blut gegen das MART-1-Peptid aufbauten, länger rezidivfrei blieben [10]. In einer ersten großen randomisierten Studie von Lee et al. bei Hochrisiko-Patienten, die adjuvant gp100- und Tyrosinase-Peptide mit oder ohne IL-12 als Adjuvans erhielten, zeigte sich zwar kein Unterschied im rezidivfreien Überleben zwischen den beiden Patientengruppen, jedoch war das rezidivfreie Überleben insgesamt gegenüber historischen Kontrollen deutlich verlängert [11]. Zu dem gleichen Ergebnis kam die Gruppe von Slingluff et al. [12], die Hochrisiko-Patienten mit gp100-Peptid und verschiedenen Adjuvantien immunisierte. Allerdings müssen diese Beobachtungen mit großer Vorsicht interpretiert werden, da solche Ergebnisse natürlich immer von Patientenselektion beeinflusst werden können und vor einer breiten Anwendung zunächst in randomisierten Studien bestätigt werden müssen. Eine erste groß angelegte vierarmige adjuvante Studie (Peptide/GM-CSF versus Peptide versus GM-CSF versus Placebo) wird derzeit innerhalb der amerikanischen East Cooperative Oncology Group (ECOG) durchgeführt. Allerdings müssen hier hunderte von Patienten eingeschlossen und nachbeobachtet werden, so dass noch Jahre vergehen werden, bis ein verlässliches Ergebnis vorliegen wird.

Welche Bedeutung immunologische Adjuvantien bei der Peptidvaccination 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 wie IL-2 die Generierung von zytotoxischen T-Zellen unterstützen sollen.

In einer Phase-I-Studie, in der wir die Peptidvaccinierung in Kombination mit unterschiedlichen Adjuvantien bei Melanompatienten in der adjuvanten Situation geprüft haben, konnten wir zeigen, dass die Immunogenität durch so genannte T-Helferproteine als Adjuvantien gesteigert werden kann. Durch Peptidvaccinierung in Kombination mit Keyhole limpet hemocyanin (KLH), einem stark immunogenen Protein, und GM-CSF traten die Immunantworten deutlich früher auf als bei Patienten, die mit Peptiden ohne Adjuvantien oder in Kombination mit den einzelnen Adjuvantien immunisiert wurden [13]. Basierend auf diesen Ergebnissen sind weitere klinische Prüfungen in Vorbereitung.

Die häufig beobachteten Nebenwirkungen einer Peptidvaccination in Form von Entzündungsreaktionen an der Einstichstelle und „Grippe-ähnlichen Symptomen“ sind meist auf die begleitend eingesetzten Adjuvantien zurückzuführen. Vitiligo-ähnliche Hautveränderungen wurden bei einzelnen Patienten nach Vakzinierung gegen Melanom-Differenzierungsantigene beschrieben. Klinisch bedeutsame Nebenwirkungen wurden bislang nicht berichtet.

Impfung mit dendritischen Zellen

Aus den Untersuchungen der letzten Jahre ist bekannt, dass dendritische Zellen eine Schlüsselrolle in der Generierung einer Immunantwort einnehmen. Dabei sind dendritische Zellen für die Antigenpräsentation und die Induktion einer primären T-Zellantwort besonders geeignet und spezialisiert [2,14]. Unabhängig von ihrem Ursprungsgewebe, z.B. peripherem Blut oder Knochenmark, sind dendritische Zellen durch ihre einzigartige Fähigkeit Antigene aufzunehmen, zu prozessieren und auf der Zelloberfläche zu präsentieren, befähigt CD4- und CD8-T-Zellen zu aktivieren.

In den letzten Jahren ist es gelungen, dendritische Zellen aus Vorläuferzellen im peripheren Blut bzw. Knochenmark durch den Zusatz von verschiedenen Zytokinen auch unter GMP-Bedingungen *in vitro* zu generieren und zu expandieren [15,16]. Derartig differenzierte dendritische Zellen stehen nur nach Beladung mit synthetisch hergestellten Peptiden, Tumorlysaten oder nach Transfektion mit Tumorantigenen für Vakzinationszwecke zur Verfügung [17]. Eine Reihe tierexperimenteller Untersuchungen belegte, dass dendritische Zellen deutlich stärker in der Lage sind, immunologische Antworten auszulösen als z.B. Tumorzellen selbst. Auch alternative Vakzinationskonzepte, wie die Verwendung von nackter Plasmid-DNS, ist in ihrem Impferfolg von dendritischen Zellen abhängig. Dendritische Zellen sind nicht nur in der Lage Antigen-spezifische T-Zellen zu primen, sondern auch durch Kontakt mit ruhenden NK-Zellen NK-Zell-vermittelte Antitumorimmunität zu stimulieren [18].

Untersuchungen in murinen Systemen haben die außerordentliche Potenz der dendritischen Zellen eine anti-Tumorantwort zu stimulieren, belegt. Dennoch sind noch viele Fragen einer „optimalen“ DC-basierten Vakzine auch im Tiermodell offen. Hierzu zählen u. a. die Fragen, wie DC mit dem antigenen Material in Kontakt gebracht werden sollten (RNA, DNA, Peptide etc.), die beste Immunisierungsfrequenz und -dauer sowie effizienteste DC-Beladung ebenso wie die effektivste Vakzinationsroute.

Im humanen System ist es mit autologen DC vielfach gelungen, *in vitro* zytotoxische T-Lymphozyten gegen verschiedenste Zielstrukturen wie z.B. p53, CEA oder dem Melanom-assoziierten Antigen TRP-2 zu generieren [19–21]. Außer der Beladung von DC mit definierten Peptiden oder auch mit unfraktionierten Peptiden, die man durch milde Säureelution von Tumorzellen erhalten kann, wie von Storkus et al. [22] gezeigt, kann auch Tumorlysat aus autologem Tumormaterial für die Beladung verwendet werden, wenn keine bekannten Tumorantigene bzw. keine T-Zell-Epitope definiert sind, um eine klinische Anwendung zu ermöglichen. Auch die Gewinnung der Gesamt-RNA aus autolo-

gen Tumoren und der Transfer dieser in DC für Immunisierungszwecke wurde kürzlich als eine neue, innovative Therapieoption beschrieben [23] und von der Firma Merix kommerziell verfolgt.

In kürzlich durchgeführten szintigraphischen Untersuchungen zeigte sich, dass unreife, aus Monozyten generierten DC nach intradermaler Injektion eine hervorragende migratorische Fähigkeit besitzen. Innerhalb von 10 Minuten gelangten Peptid-beladene DC, die mit Technetium markiert waren, in den drainierenden Lymphknoten [24]. Diese Ergebnisse konnten von Morse u. Mitarb. [25] mit ¹¹¹Indium-markierten DC, die verschiedene Applikationsrouten (i. e., i. v., i. d.) verglichen, bestätigt werden.

Eine erste klinische Phase-I/II-Studie konnte bereits 1998 belegen, dass eine Impfung von metastasierten Melanompatienten mit Peptid- bzw. Tumorlysat-beladenen dendritischen Zellen ohne wesentliche Toxizität ist. Vielmehr konnte in dem ausgewählten Patienten in einzelnen Fällen sogar ein komplettes Verschwinden sämtlicher Metastasen induziert werden [26]. Diese Ergebnisse konnten in der Zwischenzeit durch eine Vielzahl anderer Arbeitsgruppen, als auch bei anderen Tumoren reproduziert werden [27,28]. Wenngleich die Immunisierung mit dendritischen Zellen keinen absoluten Durchbruch für alle Patienten mit Metastasen darstellt, so kann doch festgestellt werden, dass zumindest ein Teil der Behandelten langfristig von der Therapie zu profitieren scheinen. Derzeit prüft eine große klinische Phase-II/III-Studie mit finanzieller Unterstützung der Deutschen Krebshilfe die Effektivität dieser experimentellen Therapieform im Vergleich zur Standardchemotherapie mit DTIC in einer prospektiv-randomisierten Form. Nähere Informationen zum Studiendesign sind unter der folgenden Internetadresse erhältlich: <http://www.dkfz.de/Dendritische-Zellen>. Mehr als 100 (von 240 geplanten) Patienten sind mittlerweile eingeschlossen. Neben dieser Studie, die die Wirksamkeit belegen soll, wird an Verfahren gearbeitet die arbeitsaufwändige und kostenintensive Herstellung zu vereinfachen, die stimulatorische Kapazität der dendritischen Zellen weiter zu erhöhen und an Möglichkeiten die Abhängigkeit der Impfung von der HLA-Typisierung des Patienten unabhängig zu machen. Diese Ansätze umfassen die Kombination mit Gentransfer einzelner Tumorantigene bzw. von Nucleinsäuren kompletter Tumorklonen.

Alternative Vakzinationsformen

Neben der Immunisierung mit synthetischen Peptiden oder dendritischen Zellen, die sich derzeit besonderem Zuspruch erfreuen, gibt es eine große Reihe weiterer tumorimmunologischer Ansätze, die in der Dermatookologie erprobt werden. Dazu zählt auch die Expansion von zytotoxischen T-Lymphozyten *in vitro* gegen definierte T-Zell-Epitope und deren nachfolgende Infusion in den betroffenen Patienten. Hierbei erhofft man sich durch die hohe Konzentration von „Killerzellen“ die Tumormassen signifikant zu reduzieren. Erste klinische Untersuchungen sind ermutigend, bedürfen aber einer prospektiven Überprüfung an größeren nicht-selektionierten Patienten [29].

Auch die Injektion nackter DNS als zirkulärem DNS-Strang, der die genetische Information für ganze Tumorantigene oder Teile dieser kodieren, ist eine Strategie tumorimmunologischer Effekt-

orzellen zu generieren. Erste klinische Phase-I-Studien prüfen diesen Ansatz, der durch seine einfache Herstellung und Applikation besticht. Neben dieser neuesten biotechnologischen Therapieform, wird derzeit auch eine weltweite Phase-III-Studie mit Cancervax® durchgeführt, was ein Gemisch aus mehreren humanen, allogenen Melanomzellen darstellt und von tumorfreien Patienten nach Lymphknotenmetastasierung zum Einsatz kommt. Ein Überblick über derartige zellbasierte Immunisierungsstrategien ist erst vor kurzem erschienen und soll an dieser Stelle nicht wiederholt werden [30].

Vakzination in der Dermatookologie – Ein Ausblick

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass sich mit der Identifikation von Tumorantigenen, die von zytotoxischen T-Zellen erkannt werden, neue und vielversprechende Möglichkeiten für die Immuntherapie von Melanomen eröffnet haben. Tumorimmunologische Konzepte haben in den letzten Jahren rasante Fortschritte gemacht. Sowohl Ergebnisse aus tierexperimentellen Untersuchungen als auch erste klinische Anwendungen belegen, dass es gelingt, mit Hilfe von innovativen Vakzinationsstrategien eine protektive Immunantwort zu generieren. Teilweise ist dieses klinische Ansprechen über Jahre anhaltend. Die Antigen-spezifische Vakzinierung ist eine Therapieform, die insbesondere für die adjuvante Behandlung von Tumorpatienten in Zukunft möglicherweise große Bedeutung erlangen wird. Allerdings steht die Umsetzung in die klinische Anwendung noch ganz am Anfang. Die Weiterentwicklung dieses Behandlungsansatzes im Rahmen von Phase-I/III-Studien ist dringend notwendig, denn es gilt effizientere Vakzinierungsstrategien zu entwickeln und deren Rolle in der adjuvanten und therapeutischen Behandlung zu definieren. Daher sollten Patienten zur Zeit nur im Rahmen von klinischen Studien behandelt werden. Weitere Voraussetzungen für die konsequente klinische Weiterentwicklung und Optimierung von Vakzinierungsstrategien mit Tumorantigenen sind sensitive und standardisierte Messsysteme, mit denen die Induktion einer T-Zell-Antwort quantitativ und qualitativ bestimmt werden kann und die gegenwärtig nur an wenigen Zentren zur Verfügung stehen.

Aus diesen Ausführungen ist erkenntlich, dass es noch Jahre dauern wird, bis es eine „optimale“ Vakzination geben wird, mit der es gelingt, reproduzierbar eine starke Immunantwort zu generieren, die lange, am besten lebenslang anhaltend ist. Wichtig wird es sein, den derzeitigen Enthusiasmus zu erhalten und nicht mit zu großen Erwartungen zu ersticken.

Literatur

- Schadendorf D. Is there a standard for the palliative treatment of melanoma? *Onkologie* 2002; 25: 74–76
- Bell D et al. Dendritic cells. *Adv Immunol* 1999; 72: 255–324
- Rosenberg SA. Progress in human tumor immunology and immunotherapy. *Nature* 2001; 411: 380–384
- Wang RF. Human tumor antigens: implications for cancer vaccine development. *J Mol Med* 1999; 77: 640–655
- Marchand M et al. 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
- Rosenberg SA et al. Immunologic and therapeutic evaluation of a synthetic peptide vaccine for the treatment of patients with metastatic melanoma. *Nat Med* 1998; 4: 321–327
- Jaeger E et al. GM-CSF enhances immune responses to melanoma-associated peptides in vivo. *Int J Cancer* 1996; 67: 54–62
- Scheibenbogen C et al. Phase II trial of vaccination with tyrosinase peptides and GM-CSF in melanoma. *J Immunotherapy* 2000; 23: 275–281
- Scheibenbogen C et al. Long-term freedom from recurrence in 2 stage IV melanoma patients following vaccination with tyrosinase peptides. *Int J Cancer* 2002; 99: 403–408
- Wang F et al. Phase I trial of a MART-1 peptide vaccine with incomplete Freund's adjuvant for resected high-risk melanoma. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 2756–2765
- Lee P et al. Effects of IL-12 on the immune response to a multi-peptide vaccine for resected melanoma. *J Clin Oncol* 2001; 19: 3836–3847
- Slingluff C et al. Phase I trial of a melanoma vaccine with gp100 280–288 peptide and tetanus helper peptide in adjuvant: immunologic and clinical outcome. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 3012–3024
- Scheibenbogen C et al. Effects of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and foreign helper protein as immunologic adjuvants on the T-cell response to vaccination with tyrosinase peptides. *Int J Cancer* 2003; 104: 188–194
- Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998; 392: 245–252
- Romani N et al. Proliferating dendritic cell progenitors in human blood. *J Exp Med* 1994; 180: 83–93
- Jonuleit H et al. Pro-inflammatory cytokines and prostaglandins induce maturation of potent immunostimulatory dendritic cells under fetal calf serum-free conditions. *Eur J Immunol* 1997; 27: 3135–3142
- Nestle FO et al. Dendritic cells: On the move from bench to bedside. *Nat Med* 2001; 7: 761–765
- Fernandez NC et al. Dendritic cells directly trigger NK cell function: cross talk relevant in innate anti-tumor immune responses in vivo. *Nature Med* 1999; 5: 405–411
- Chikamatsu K et al. Generation of anti-p53 cytotoxic T lymphocytes from human peripheral blood using autologous dendritic cells. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 1281–1288
- Sun Y et al. Identification of a new HLA-A(*)0201-restricted T-cell epitope from the tyrosinase-related protein 2 (TRP2) melanoma antigen. *Int J Cancer* 2000; 87: 399–404
- Sun Y et al. Expression of the proteasome activator PA28 rescues the presentation of a cytotoxic T lymphocyte epitope on melanoma cells. *Cancer Res* 2002; 62: 2875–2882
- Storkus WP et al. Identification of T-cell epitopes: rapid isolation of class I-presented peptides from viable cells by mild acid elution. *J Immunother* 1993; 14: 94–103
- Nair SK et al. Induction of carcinoembryonic antigen (CEA)-specific cytotoxic T-lymphocyte responses in vitro using autologous dendritic cells loaded with CEA peptide or CEA RNA in patients with metastatic malignancies expressing CEA. *Int J Cancer* 1999; 82: 121–124
- Thomas R et al. Immature human monocyte-derived dendritic cells migrate rapidly to draining lymph nodes after intradermal injection for melanoma immunotherapy. *Melanoma Res* 1999; 9: 474–481
- Morse MA et al. Migration of human dendritic cells after injection in patients with metastatic malignancies. *Cancer Res* 1999; 59: 56–58
- Nestle FO et al. Vaccination of melanoma patients with peptide or tumor lysate pulsed dendritic cells. *Nat Med* 1998; 4: 328–332
- Thurner B 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: 1669–1678
- Schuler-Thurner B 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* 2000; 165: 3492–3496
- Dudley ME et al. Cancer regression and autoimmunity in patients after clonal repopulation with antitumor lymphocytes. *Science* 2002; 298: 850–854
- Sun Y et al. Cell-based vaccination against melanoma – background, preliminary results, and perspective. *J Mol Med* 1999; 77: 593–608