Cancer immunology and cancer vaccine

อ.พญ. สาริน กิจพาณิชย์
สาขารังสีรักษาและมะเร็งวิทยา ฝ่ายรังสีวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

ในปี ค.ศ. 1798 นักวิทยาศาสตร์ชาวอังกฤษชื่อ Edward Jenner ทำการป้ายหนองจาก cowpox แล้วฉีดเข้าไปในเด็กชายอายุ 7 ปี หลังจากนั้นได้ลองทดสอบโดยการฉีดเชื้อ smallpox เข้าไปในเด็กชายคนเดิม ปรากฏว่าเชื้อ smallpox ไม่ก่อให้เกิดโรค แสดงให้เห็นว่าร่างกายเกิดกลไกบางอย่างตอบสนองต่อเชื้อครั้งแรก และยังดำรงอยู่เพื่อป้องกันการติดเชื้อครั้งที่สองได้ จึงกล่าวได้ว่าการค้นพบนี้เป็นจุดกำเนิดของวัคซีน (vaccine)[1] การให้วัคซีนคือการให้แอนติเจน (antigen) เพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันของร่างกายให้สร้างภูมิต้านทานต่อเชื้อหรือแอนติเจนที่ฉีดเข้าไป ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายเพื่อป้องกันโรคติดเชื้อทั้งไวรัสและแบคทีเรีย เมื่อร่างกายได้รับวัคซีน แอนติเจนจะถูกจับเข้าในเซลล์และผ่านกระบวนการย่อย (processing) โดย professional antigen presenting cells (APCs) เช่น dendritic cells (DCs) และ macrophages หลังจากนั้นชิ้นส่วนของแอนติเจนจะถูกนำเสนอบนผิว APCs โดย major histocompatibility complex (MHC) class II molecule ซึ่งจับแบบเฉพาะกับ CD4+ helper T cell หลังจาก CD4+ helper T cell จับกับ MHC class II – antigen complex จะเกิดการกระตุ้น APCs ให้หลั่ง cytokines คือ interleukin (IL)-1 ไปกระตุ้น CD4+ helper T cell ให้กลายเป็น activated cell ซึ่ง activated helper T cell จะหลั่ง IL-2 ไปกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของ helper T cell ที่มี receptor ที่เฉพาะเจาะจงกับชิ้นส่วนของแอนติเจนนั้นๆ และกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของ CD8+ cytotoxic T cell ในขณะเดียวกัน IL-2 จะกระตุ้นให้ B cell มีการแบ่งตัวกลายเป็น plasma cell และ memory B cell ซึ่ง plasma cell จะสร้างแอนติบอดีซึ่งเฉพาะเจาะจงกับชิ้นส่วนแอนติเจนนั้น ส่วน memory B cell จะจดจำเชื้อโรค และสามารถคงอยู่ได้นานหลายปี ทำให้สามารถสร้างแอนติบอดีที่เฉพาะกับเชื้อโรคนั้นได้รวดเร็วมากขึ้น หากเกิดการติดเชื้อครั้งถัดไป การผลิตวัคซีนจึงต้องเลือกใช้แอนติเจนที่มี high immunogenicity หรือมีความสามารถในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันสูง ซึ่งในการผลิตวัคซีน

ป้องกันโรคแบคทีเรียหรือไวรัสนั้นมี high immunogenicity อยู่แล้วเนื่องจากแอนติเจนจากแบคทีเรียหรือไวรัสนั้น ไม่ใช่สารและเซลล์ของร่างกายมนุษย์ (non-self antigen หรือ foreign antigen) เซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันจึงสามารถตรวจจับได้ง่าย เช่น วัคซีนป้องกันการติดเชื้อ human papilloma virus (HPV) ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคมะเร็งปากมดลูก และวัคซีนป้องกัน hepatitis B virus (HBV) ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคมะเร็งตับ เป็นต้น

จากกลไกของระบบภูมิคุ้มกันที่สามารถต่อต้านเชื้อนั้นๆ เป็นเวลานานหลายปีภายหลังการติดเชื้อ นำมาสู่แนวความคิดในการผลิตวัคซีนเพื่อการรักษาโรคมะเร็ง โดยหวังให้เซลล์ภูมิคุ้มกันของร่างกายตรวจจับเซลล์มะเร็งได้เหมือนกับที่จับสารแปลกปลอม อย่างไรก็ตามเซลล์มะเร็งนั้นพัฒนามาจากเซลล์เดิมของร่างกาย (self antigen) จึงอาจมี low immunogenicity และมีกลไกที่หลบหลีกการตรวจจับของร่างกาย เพราะฉะนั้นการพัฒนาวัคซีนรักษามะเร็งให้สามารถนำไปใช้ได้จริงทางคลินิกจำเป็นที่จะต้องทำความเข้าใจถึงกลไกทางภูมิคุ้มกันพื้นฐานของร่างกายในการกำจัดเซลล์มะเร็ง เพื่อนำไปประยุกต์ต่อไป

กลไกทางภูมิคุ้มกันของร่างกายในการกำจัดมะเร็ง

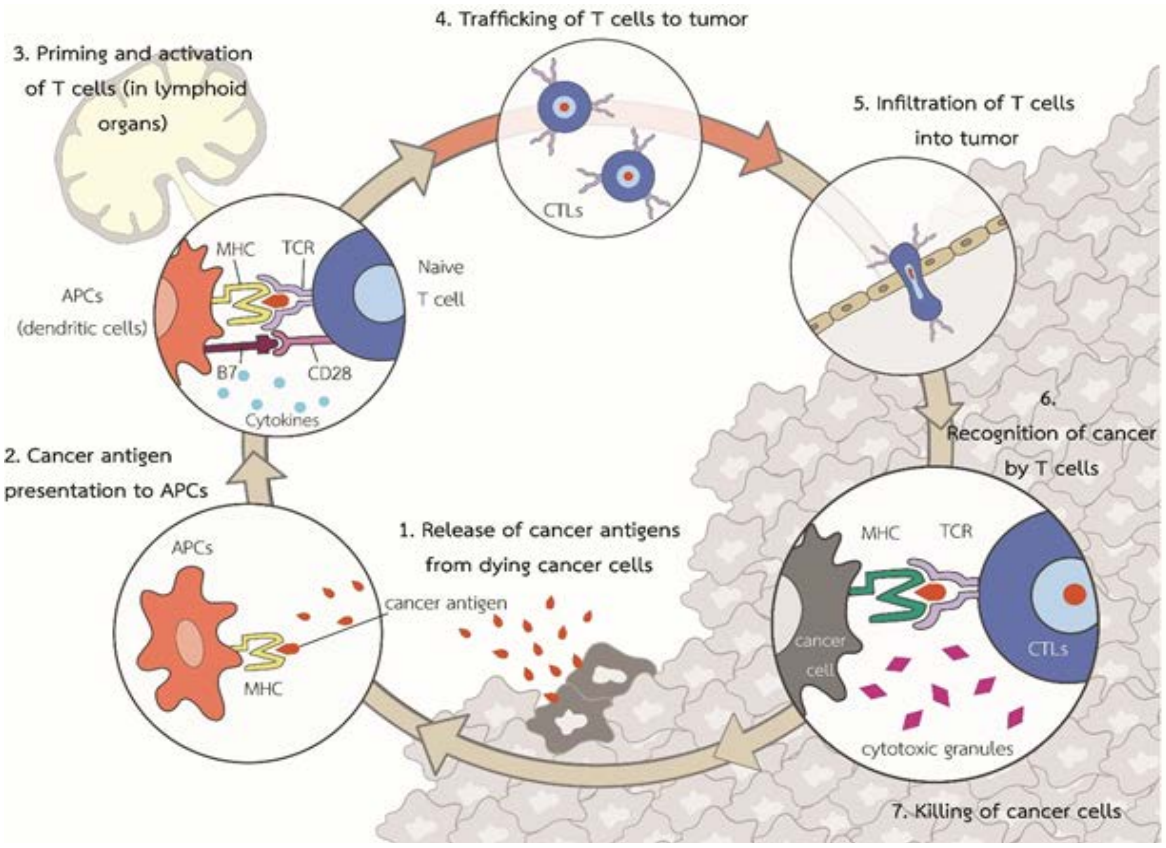
ระบบภูมิคุ้มกัน แบ่งเป็นภูมิคุ้มกันแต่กำเนิด หรือ innate immunity เป็นปราการด่านแรกที่กำจัดสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกายได้ทันที ตอบสนองแบบเดิมกับเชื้อที่เข้ามาโดยไม่มีการจดจำ (no memory) ตัวอย่างของ innate immunity ได้แก่ ผิวหนังและสารเคมีต่างๆ โปรตีนในเลือด เม็ดเลือดขาวชนิด neutrophil, natural killer (NK) cells, eosinophils และที่สำคัญคือ APCs ได้แก่ DCs และ macrophages ซึ่งมีการรับรู้สิ่งแปลกปลอมแบบเจาะจงรูปแบบ (pattern recognition) มี pattern recognition receptor (PRRs) เช่น toll-like receptor (TLRs), mannose receptor ซึ่งจะรับรู้เฉพาะ non self antigen ส่วนภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นภายหลังหรือ adaptive immunity เป็นภูมิคุ้มกันที่มีการจดจำ โดยมีเซลล์หลักคือ B cell และ T cell ซึ่งทั้ง innate และ adaptive immunity มีส่วนสำคัญในการกำจัดเซลล์มะเร็ง

เซลล์มะเร็งเป็นเซลล์ปกติเดิมของร่างกายที่กลายพันธุ์แต่ยังมีลักษณะคล้ายเซลล์ปกติของร่างกาย จึงไม่ค่อยกระตุ้นภูมิหรือมีการหลอกภูมิคุ้มกันโดยการแสดงแอนติเจนของก้อนมะเร็ง (tumor antigen) ที่ลักษณะเหมือนกับเซลล์ปกติ ทำให้ภูมิคุ้มกันคิดว่าเป็นเซลล์ปกติ จึงไม่ทำลาย และมีความสามารถในการหลบหลีกการทำลายโดยภูมิคุ้มกันของร่างกาย (immune evasion) ได้ นอกจากนี้บริเวณรอบก้อนมะเร็ง (tumor micro-environment) ยังมีภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการทำงานของเซลล์ภูมิคุ้มกัน เช่น เซลล์มะเร็งปล่อย cytokines บางชนิดเพื่อกดภูมิ (immuno-

suppressive) ทำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวไม่สามารถทำงานได้

อย่างไรก็ตามร่างกายมีการทำงานของภูมิคุ้มกันเพื่อกำจัดเซลล์มะเร็ง (tumor immunity) โดยในอดีตมีการทดลองใช้สารเคมีเหนี่ยวนำให้เกิดก้อนมะเร็งในหนูทดลอง หลังจากนั้นตัดก้อนมะเร็งออกและทำการปลูกถ่ายก้อนมะเร็งกลับไปที่หนูตัวเดิม (original tumor-bearing mouse) และหนูตัวใหม่ที่มีพันธุกรรมเหมือนกัน (synergic mouse) ผลปรากฏว่าก้อนมะเร็งไม่สามารถเติบโตได้ในหนูตัวแรก แต่โตในหนูตัวใหม่ ในขั้นตอนถัดมาผู้วิจัยได้ทดลองแยกเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด CD8 T-cell ออกมาจาก original tumor bearing mouse ฉีดเข้าไปในหนูที่ได้รับการปลูกถ่ายก้อนมะเร็ง (recipient mouse) พบว่าก้อนมะเร็งมีขนาดเล็กลง นอกจากนี้หลักฐานทางพยาธิวิทยา พบว่ามี lymphocyte infiltration บริเวณรอบก้อนมะเร็ง[2]

ในปี 2013 Chen และคณะ[3] เสนอแนวความคิดของกลไกที่ภูมิคุ้มกันทำลายเซลล์มะเร็งโดยผ่าน 7 ขั้นตอน เรียกว่า Cancer-immunity cycle **(ภาพที่ 1)** ดังนี้



ภาพที่ 1 cancer-immunity cycle (adapted from Chen et al.[3])

1. Release of cancer antigen on cell surface

เซลล์มะเร็งจะแสดงแอนติเจนบนผิวเซลล์หรือเซลล์มะเร็งที่ตายจะมี cell debris เกิดขึ้นซึ่งทำหน้าที่เป็นแอนติเจน ทำให้เกิดการกระตุ้น tumor associated macrophages (TAMs) ได้แก่ M1 macrophage ซึ่งทำหน้าที่ phagocytose เซลล์มะเร็งเข้าไปและกำจัดเซลล์มะเร็งโดยสารเคมีต่างๆ เช่น nitric oxide (NO), lysosomal enzymes, reactive oxygen species (ROS) และ tumor necrosis factor (TNF) เป็นต้น ในขณะเดียวกันยังทำหน้าที่เป็น APCs นำเสนอ cancer antigen ให้ CD4+ helper T cell ซึ่งจะหลั่ง cytokines ต่างๆ เช่น interferon (IFN)-γ, TNF ไปกระตุ้นการแสดงออกของ MHC class I และกระตุ้นการทำงานของ cytotoxic T cells (CTLs) ในบริเวณ tumor environment นอกจากนี้ macrophages ยังสามารถเป็น APCs นำเสนอ cancer antigen ได้ทั้งต่อ CTLs และ CD4+ T helper cells เรียกกระบวนการนี้ว่า cross presentation (คือนำเสนอได้ทั้ง MHC class I ต่อ CD8+ และผ่าน MHC class II ต่อ CD4+)

2. Cancer antigen presentation โดย DCs และ APCs

นอกจาก macrophages ที่ทำหน้าที่นำเสนอแอนติเจนให้กับ T cell แล้ว APCs ที่สำคัญที่กระตุ้น T cell ได้ดีที่สุดคือ DCs ซึ่งเป็น professional APCs เนื่องจากโมเลกุลที่ช่วยในการกระตุ้น T cell หลายชนิด รวมทั้งมี co-stimulatory molecules ต่อ T cell ซึ่ง professional APCs จะต้องเดินทางไปยัง lymphoid organs เพื่อนำเสนอแอนติเจนต่อ naïve T cell ให้กลายเป็น effector T cell แล้วเดินทางกลับมายังบริเวณก้อนมะเร็งดังจะกล่าวถัดไปในข้อ 3 อย่างไรก็ตามใน tumor environment จะมีสารยับยั้งการเจริญของ DCs อยู่ ทำให้ immature DCsไม่สามารถเปลี่ยนเป็น mature DCs ได้ หรือถูกยับยั้ง maturation โดยสาร VEGF, TGF-β, IL-10 ซึ่ง immature DCs ขาด co-stimulatory molecules ทำให้ไม่สามารถทำหน้าที่นำเสนอแอนติเจนได้เต็มที่ ในบางกรณี immature DCs ยังไปกระตุ้นให้ effector T cell ที่อยู่ใน tumor environment เปลี่ยนเป็น regulatory T cell (Treg) แทนที่จะกลายเป็น CTLs ซึ่ง Treg ทำหน้าที่กดภูมิ

เซลล์มะเร็งเองสามารถทำหน้าที่เป็น APCs ได้เนื่องจากมีการแสดงออกของ MHC class I (MHC class I พบในทุกเซลล์ที่มีนิวเคลียส) อย่างไรก็ตามการนำเสนอแอนติเจนด้วยเซลล์มะเร็งสามารถกระตุ้นภูมิได้น้อย และเซลล์มะเร็งเองก็พยายามที่จะกดการแสดงออก (Down regulation) ของ MHC class I ด้วย

3. Priming and activation of T cells

Immature DCs เมื่อย่อยโปรตีนแล้วจะถูกกระตุ้นกลายเป็น activated หรือ mature DCs และเดินทางไป lymphoid organs โดยแสดง chemokine receptor คือ CCR7 บนผิวเซลล์ซึ่งจะจับกับ CCL19 และ CCL21 ใน secondary lymphoid organs ทำให้ mature DCs เดินทางไปยัง secondary lymphoid

organs ได้แก่ lymph nodes และ ม้ามได้ จากนั้น DCs จะนำเสนอแอนติเจนต่อ naïve T cell โดยผ่านสัญญาณ 2 ชนิด ได้แก่ 1) MHC – peptide – T cell receptor (TCR) complex และ 2) Co-stimulatory signal คือ B7 (บน DCs) - CD28 (บน T cell) interaction เกิดการหลั่ง cytokines คือ IL-12, IL-2 เพื่อกระตุ้น naïve T cell ให้กลายเป็น effector T cell (ซึ่งหากมีไม่ครบ 2 สัญญาณอาจทำให้ไม่เกิด effector T cell เรียกว่า T cell tolerance) และกลายเป็น T helper cell และ CTLs ในที่สุด อย่างไรก็ตามหาก T cell ถูกกระตุ้นอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน เช่น การติดไวรัสเรื้อรัง หรือมะเร็ง จะเกิดการเพิ่มจำนวนขึ้นของ negative regulatory markers บนผิวเซลล์ เพื่อหยุดการทำงานที่มากเกินไป เรียกว่าทำให้เกิด T cell exhaustion ในระยะแรกหลังถูกกระตุ้น T cell จะแสดง programmed cell death protein -1 (PD-1) จำนวนปานกลาง เรียกเซลล์ระยะนี้ว่า exhausted T cell ซึ่งยังสามารถฟื้นฟูการทำงานของ T cell ในระยะนี้ด้วยการรักษาด้วยยาภูมิคุ้มกันบำบัด เช่น anti-PD-1 หรือ anti-PD-L1 ได้ แต่เมื่อ T cell ถูกกระตุ้นนานขึ้นจะแสดง PD-1 จำนวนมาก รวมทั้งแสดงโมเลกุลอื่นๆ ที่เสริม negative feedback เช่น T-cell immunoglobulin and mucin-domain containing protein 3 (TIM-3), lymphocyte activation gene 3 (LAG-3) เรียกระยะนี้ว่า hyperexhausted T cell ซึ่งมักจะฟื้นฟูการทำงานไม่ได้ (unrecoverable) โมเลกุลที่สำคัญอีกหนึ่งชนิดบนผิว T cell คือ CTLA-4 ซึ่งจับกับ B7 เหมือน CD28 โดยปกติแล้ว T cell จะมี CTLA-4 บนผิวเซลล์น้อย แต่จะเพิ่มจำนวนขึ้นเมื่อ T cell ได้ถูกกระตุ้นด้วยแอนติเจน ซึ่ง CTLA-4 จะยับยั้ง T cell activation โดยแย่ง CD28 จับกับ B7 ทำให้ไม่เกิด B7-CD28 costimulatory signal เพราะฉะนั้นการใช้ยาภูมิคุ้มกันบำบัดชนิด anti-CTLA-4 จึงมีประโยชน์ในการกระตุ้นให้เกิด effector T cell

4. Trafficking T cells to tumor

เมื่อ T cell ถูกกระตุ้นกลายเป็น effector T cells จะเคลื่อนที่เข้าสู่กระแสเลือดและเดินทางไปยังมะเร็งที่มีแอนติเจนนั้นๆ โดยรับรู้สาร chemokines ต่างๆ เช่น CCL2, CCL5, CXCL9 และ CXCL10 ที่หลั่งจากเซลล์ใน tumor environment[4]

5. Infiltration of T cells into tumor[4, 5]

กลไกในการเคลื่อนที่ของ effector T cell จากกระแสเลือดเข้าสู่ tumor microenvironment เชื่อว่าเกิดจากการจับตัวระหว่าง T-cell และ ICAM-1, VACM-1 และselectins ซึ่งเป็นโมเลกุลบน endothelial cell จะช่วยอำนวยให้ T cell เคลื่อนที่เข้าสู่ tumor environment ได้ นอกจากนี้บริเวณก้อนมะเร็งประกอบไปด้วยเซลล์หลายชนิด มีส่วนสำคัญ 2 ส่วนคือ 1) parenchyma ได้แก่ cancer cell และ cancer stem cell (CSCs) 2) stroma คือเซลล์เสริมโครงสร้าง ได้แก่ endothelial cell, pericytes, fibroblasts, macrophage linage cells, และ extracellular matrix เช่น collagen ซึ่งเซลล์และส่วนประกอบต่างๆ เหล่านี้ มีส่วน

สำคัญที่จะเสริมหรือยับยั้งการเคลื่อนที่ของ effector T cell เข้าใน tumor environment เพื่อทำการกำจัดเซลล์มะเร็ง ซึ่งจากการพิสูจน์ทางพยาธิวิทยา เราสามารถแบ่งชนิดของมะเร็งตามการมีอยู่ของเซลล์ภูมิคุ้มกัน ได้เป็น 3 ชนิด[6] ได้แก่

a. Immune-inflamed tumor หรือ T cell infiltrated tumor หรือ inflammatory tumor คือมะเร็งที่มีเซลล์ภูมิคุ้มกันแทรกอยู่ในบริเวณ parenchyma แล้ว เช่น CD4+ และ CD8+ T cell, myeloid cells, monocytes และยังอาจ พบ cytokines ที่ถูกหลั่งมาเพื่อเสริมการกระตุ้น T cell ด้วย เช่น IFN type I และ II, IL-2, IL-12 และ TNF มะเร็งกลุ่มนี้มีเซลล์ภูมิคุ้มกันอยู่ที่ก้อนมะเร็งแล้ว แต่ทำงานไม่ได้ เนื่องจากอาจมีความบกพร่องที่ effector phase หรือมะเร็งมี inhibitory signal ต่อ T cell

b. Immune-excluded tumor คือมะเร็งที่มีเซลล์ภูมิคุ้มกันอยู่ใน tumor environment แต่ไม่แทรกเข้าใกล้ parenchyma อาจจะคงอยู่ใน stroma หรืออยู่เพียงรอบๆ ก้อนเท่านั้น แสดงว่าเซลล์ภูมิคุ้มกันเตรียมพร้อมจะทำงาน แต่ผ่าน stroma เข้าไปไม่ได้

c. Immune-desert tumor คือมะเร็งที่แทบไม่มี effector T cell อยู่รอบ tumor environment เลย

มะเร็งกลุ่ม immune-excluded และ immune-desert tumor รวมเรียกว่า non T cell infiltrated หรือ non inflammatory tumor ซึ่งกลไกกดภูมิคุ้มกัน เช่น ขาด cytokine สำคัญโดยเฉพาะ type I IFN, มี dense stroma อันประกอบด้วย collagen และ fibroblast ทำให้ T cell ไม่สามารถทะลุเข้าไปได้ เพราะฉะนั้นการรักษามะเร็งกลุ่มนี้จึงมุ่งไปที่การเปลี่ยน non inflammatory tumor ให้กลายเป็น inflammatory tumor และ/หรือ การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซลล์ใน tumor environment ให้เอื้อต่อการเคลื่อนที่ของ T cell มากขึ้นด้วยวิธีการ เช่น การฉีด IFN เข้าในก้อนมะเร็งเพื่อกระตุ้น inflammation, การฉายรังสี และการให้เคมีบำบัด ซึ่งมีหลักฐานว่าการฉายรังสีช่วยเพิ่ม IFN-β และกระตุ้นการทำงานของ intratumoral DCs[7] ส่วนการให้ยาเคมีบำบัดช่วยกระตุ้น cancer cell death และเกิด cell debris ซึ่งจะเป็นแอนติเจนต่อไป[8] อย่างไรก็ตามมะเร็งหนึ่งชนิดอาจประกอบด้วยทั้ง inflammatory และ non inflammatory tumor ได้

6. Recognition of cancer cells by T cells and killing of cancer cells

เมื่อ effector T cell เข้าสู่ tumor environment จะรับรู้เซลล์มะเร็งผ่าน TCR และ MHC class I หลังจากนั้นจะปล่อย cytotoxic granules เช่น perforin, granzyme ออกมาเพื่อกำจัดเซลล์มะเร็ง[9] เมื่อเซลล์มะเร็งตายจะปล่อยโมเลกุลที่มี damage associated molecular patterns (DAMPs) ซึ่งจะถูกรับรู้โดย APCs หลังจากนั้น APCs จะหลั่งสาร type I IFN และนำเสนอแอนจิเจนสู่ T cell ต่อไปกลับเข้าสู่วงจรขั้นที่ 1[5] แต่มะเร็งสามารถหลบหลีกการกำจัดในขั้นตอนนี้โดยหลายวิธี เช่น

- โมเลกุลบนผิวเซลล์มะเร็ง ซึ่งจะไปจับกับโมเลกุลบน T cell ทำให้ยับยั้งการทำงาน เช่น programmed death ligand 1 (PD-L1)

- โมเลกุลยับยั้งการทำงานบนผิว T cell เช่น Lymphocyte activation gene 3 (LAG-3) ไปแย่งจับกับ MHC class II ทำให้ไม่เกิดการนำเสนอแอนติเจน[10], T cell immunoglobulin and mucin-domain containing-3 (TIM-3) ไปกดการทำงานของ T helper cell[11]

- มี regulatory T cell (Treg) เช่น Foxhead box protein P3 (FoxP3)+ Treg อยู่เป็นจำนวนมากใน tumor environment

- มีการผลิตสารที่เอื้อต่อการเจริญเติบโตของมะเร็งเช่น เอนไซม์ idoleamine-2,3-dioxygenase (IDO)

- เซลล์มะเร็งเปลี่ยน M1 macrophage ซึ่งทำหน้าที่เป็น APCs ให้กลายเป็น M2 macrophage โดยกระบวนการที่เรียกว่า re-education ซึ่ง M2 macrophage จะสร้างสาร vascular และ endothelial growth factor เช่น vascular endothelial growth factor (VEGF), tumor growth factor (TGF)-β, IL-10 สนับสนุนการเจริญเติบโตของก้อนมะเร็ง ทำให้ effector T cell ไม่สามารถทำงานได้

- มี myeloid derived suppressor cells (MDSCs) ซึ่งมีคุณลักษณะก้ำกึ่งระหว่าง myeloid cell และ differentiated immune cell ถูกค้นพบใน tumor environment ไม่นานมานี้ในปี 2009[12, 13] ว่าทำงานสนับสนุนการเจริญเติบโตของก้อนมะเร็งและเพิ่ม angiogenesis โดยการหลั่งสาร เช่น TGF-β, IL-10 และ prostaglandins[2]

องค์ประกอบและประเภทของวัคซีนมะเร็ง

วัคซีนมีองค์ประกอบที่สำคัญ 2 ส่วนได้แก่

1) แอนติเจนคือเชื้อหรือส่วนประกอบของเชื้อที่มีความสามารถในการกระตุ้นภูมิ แบ่งออกเป็นหลายชนิด[2] เช่น

• Neoantigen เกิดจาก mutation ซึ่งอาจเกิดจาก gene mutation ทำให้เกิดแอนติเจนชนิดใหม่บนหรือในเซลล์ซึ่งไม่เคยมีในเซลล์ปกติ หรือเกิดจากการกลายพันธุ์ของ oncogene หรือ tumor suppressor gene ทำให้สูญเสียการทำงาน เช่น p53 mutation ซึ่ง neoantigen นี้มี high immunogenicity

• Abnormally expressed antigen คือแอนติเจนที่มีอยู่เดิมของร่างกาย (self-antigen) แต่ไม่แสดงออก (silence) ในเซลล์ปกติ แต่แสดงออกบนเซลล์มะเร็ง (De-repressed expression) เช่น cancer/testis antigens (CTAs) ได้แก่ melanoma antigen gene (MAGE) ในมะเร็งผิวหนังชนิด melanoma, B melanoma antigen (BAGE), New York esophageal squamous cell carcinoma 1 (NY-ESO-1), synovial sarcoma X – 2 (SSX-2)[14] หรือแอนติเจนที่แสดงออกบนเซลล์ปกติแต่มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นบนเซลล์มะเร็ง (overexpression) เช่น มะเร็งเต้านมมีการเพิ่มจำนวนขึ้นของ human epidermal growth factor receptor 2 (HER-2)/Neu ซึ่งเป็นกลุ่ม proto-oncogene

• Oncogenic viral proteins คือแอนติเจนที่เกิดจากการแสดงออกของไวรัสบางชนิดที่สัมพันธ์ต่อการเกิดมะเร็ง โดยทำให้เกิดการอักเสบเรื้อรัง (chronic inflammation)

ตารางที่ 1 สรุป cancer-immunity cycle และการรักษาที่มีบทบาทในแต่ละขั้นตอน

Step in cancer-immunity cycle	Stimulators	Inhibitors	Potential therapeutic approaches
1. Release of cancer antigen	Immunogenic or necrotic cell death	Tolergenic or apoptotic cell death	Chemotherapy Radiation Targeted therapy
2. Antigen presentation	• Proinflammatory cytokines: TNF-α, IL-1, IFN-α • Immune cell factors: CD40L/CD40 • Endogenous adjuvants released from dying tumors: CDN (STING ligand), ATP, HMGB1 • TLR ligands	• IL-10, IL-4, IL-13 • DC immaturity	Cancer vaccines CD40 agonists IFN-α GM-CSF TLR agonists
3. Priming and activation	• Costimulatory signals - CD28:B7, CD137: CD137L, OX40:OX40L, CD27:CD70, • IL-2, IL-12 Note: X:Y = molecules on T-cell: molecules on APCs	• CTLA4:B7, PD-L1:PD-1 • Prostaglandins • T cell tolerance • Treg Note: X:Y = molecules on T-cell: molecules on APCs	Anti-CTLA4 CD137/OX40/CD27 agonists IL-2 IL-12
4. T-cell trafficking to tumors	CX3CL1, CXCL9, CXCL10, CCL5		-
5. T-cell infiltration into tumors	ICAM1, selectins	VEGF, endothelin B receptor	Anti-VEGF
6. T-cell recognition of cancer cell	T cell receptor	Reduced peptide-MHC expression on cancer cells	Adoptive T cell transfer CARs T-cell
7. T-cell killing	IFN-γ, T cell granule content	• Molecules: PD-L1:PD-1, PD-L1:B7, TIM-3: phospholipids, LAG-3, IDO, Arginase, TGF-β • Cells: Treg, MDSCs, M2 macrophages • Hypoxia	Anti-PD-1 Anti-PD-L1 IDO inhibitors

Abbreviations: ATP = adenosine triphosphate; CARs = chimeric antigen receptors; CCL = C-C motif chemokine ligand; CD = cluster of differentiation; CXCL = C-X-C motif chemokine ligand; CTLA4 = cytotoxic T-lymphocyte–associated antigen 4; DC = dendritic cell; GM-CSF = granulocyte-macrophage colony stimulating factor; HMGB-1 = high mobility group box 1; ICAM = intercellular adhesion molecule 1; IDO = idoleamine-2,3-dioxygenase; IFN = interferon; IL = interleukin; LAG = lymphocyte activation gene; MDSCs = myeloid-derived suppressor cells; MHC = major histocompatibility complex; PD-1 = programmed cell death protein -1; PD-L1 = programmed death ligand 1; TGF = tumor growth factor; TIM = T-cell immunoglobulin and mucin-domain containing protein; TLR = toll-like receptor; TNF = tumor necrosis factor; Treg = regulatory T cell; VEGF = vascular endothelial growth factor.

มักจะมี high immunogenic เนื่องจากเป็นโปรตีนแปลกปลอม ได้แก่ การติดเชื้อ EBV ใน B cell lymphoma และ nasopharyngeal carcinoma, HPV ในการเกิดมะเร็งปากมดลูก ตลอดจน HBV และ HCV ในการเกิดมะเร็งตับ

• Oncofetal antigen คือ แอนติเจนที่มีการแสดงออกในมะเร็งและเซลล์ตัวอ่อน (fetal tissues) แต่ไม่พบในเซลล์ผู้ใหญ่ปกติ แต่มีจำนวนเพิ่มขึ้นได้ในภาวะอักเสบเรื้อรังบางชนิด การแสดงออกของแอนติเจนหรือโปรตีนเหล่านี้มีประโยชน์ในการตรวจติดตามผู้ป่วยมะเร็งบางชนิดที่มีการแสดงออกของแอนติเจนเหล่านี้ เช่น alpha fetoprotein (AFP) ในมะเร็งตับ และ carcinoembryonic antigen (CEA) ในมะเร็งปอด และมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก

• Altered glycolipid or glycoprotein antigen เช่น mucin 1 (MUC-1) ในมะเร็งเต้านมและมะเร็งรังไข่

หากจำแนกโดยการแสดงออกของแอนติเจน แอนติเจนบางชนิดสามารถพบในเซลล์ปกติและเซลล์มะเร็ง เช่น glycoprotein (gp) 100, Melan-A/Mart-I และ tyrosinase ใน melanoma, prostate-specific antigen (PSA) และ prostatic acid phosphatase (PAP) ในมะเร็งต่อมลูกหมาก และ mammaglobin-A ในมะเร็งเต้านม แต่แอนติเจนบางตัวจะมีการแสดงออกเพิ่มขึ้นอย่างมากในเซลล์มะเร็งเทียบกับเซลล์ปกติดังกล่าวไปในข้างต้น เช่น CEA, MUC-1, Her-2/Neu, p53 tumor suppressor gene, human telomerase reverse transcriptase (hTERT) และ antiapoptotic protein บางตัว เช่น livin และ survivin

การผลิตวัคซีนมะเร็งสามารถเลือกใช้แอนติเจนได้หลายแบบ โดยหลักการแล้วควรเลือกที่มีความแตกต่างจากเซลล์ร่างกาย (foreignness) มาก เพื่อให้มี high immunogenicity เช่น การใช้สารพันธุกรรม deoxyribonucleic acid (DNA) หรือ ribonucleic acid (RNA) ที่ถอดรหัสให้โปรตีนของเซลล์มะเร็ง ซึ่งมักจะมี mutation ที่แตกต่างจากเซลล์ร่างกาย, การใช้เปปไทด์หรือชิ้นส่วนจากเซลล์มะเร็งที่เป็นผลมาจาก mutation หรือแม้กระทั่งการใช้เซลล์มะเร็งทั้งเซลล์เป็นแอนติเจน ซึ่งแต่ละวิธีมีข้อดีข้อเสียแตกต่างกันดังจะกล่าวถัดไป

2) adjuvant คือสารเสริมที่ให้พร้อมแอนติเจนเพื่อส่งเสริมการสร้างภูมิคุ้มกัน[2] Adjuvant ที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย เช่น ส่วนประกอบของ Alum (Aluminium phosphate, aluminium hydroxide, potassium aluminium sulfate) ตัวอย่างสาร adjuvant อื่นๆ เช่น mineral oil, BCG, cytokines ต่างๆ เช่น IL-1, IL-2, IL-12, complement factor, modified LPS (lipopolysaccharides) และ squalene เป็นต้น

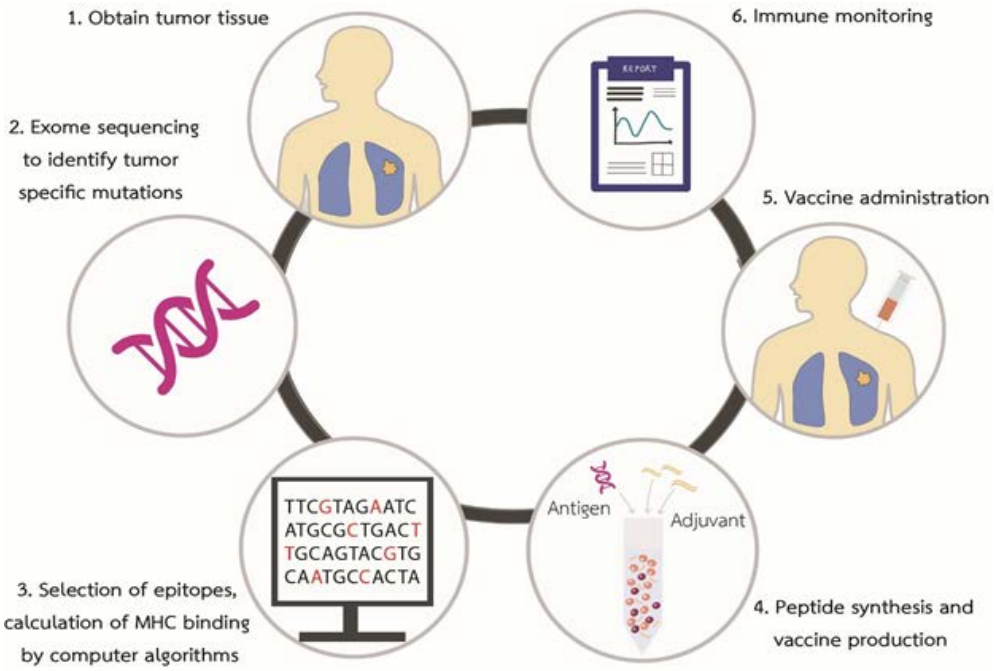
เปปไทด์วัคซีน (Peptide antigen vaccine)

การเลือกใช้เปปไทด์แอนติเจนในการผลิตวัคซีนมีข้อดีคือสามารถจับ T cell ได้โดยตรง โดยเฉพาะหากเลือกใช้ neoantigen ซึ่งเกิดขึ้นใหม่จากการกลายพันธุ์ ซึ่งมักมี high immunogenicity นอกจากนี้ยังสามารถสังเคราะห์ได้ง่าย มีผลข้างเคียงน้อย มีความจำเพาะเจาะจง และสามารถใช้เปปไทด์หลายชนิดในวัคซีนเดียวได้[15]

อย่างไรก็ตามข้อสำคัญในการเลือกเปปไทด์แอนติเจนมาใช้เป็นวัคซีนคือ 1) ต้องสามารถจับกับ MHC molecule ได้ดี (มี high affinity) และ 2) ต้องถูกรับรู้โดย T cell ผ่าน TCR[16] เพราะฉะนั้นอุปสรรคในการผลิตเปปไทด์วัคซีน มีหลายประการ เช่น 1) ผู้ป่วยมะเร็งชนิดเดียวกันมีทั้งแอนติเจนที่พบร่วมกันในกลุ่มมะเร็งนั้นๆ (shared antigen) และแอนติเจนที่เกิดจากการกลายพันธุ์เฉพาะคน (personalized antigen) เพราะฉะนั้นการใช้วัคซีนที่มีแต่ shared antigen อาจไม่ได้ผลในผู้ป่วยทุกราย 2) ทุกการกลายพันธุ์ไม่ได้สร้างโปรตีนที่มี high immunogenic โดยเฉพาะใน point mutation เพราะฉะนั้นเปปไทด์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยโปรตีนนั้นๆ จึงอาจจับกับ MHC molecule (บน APCs) หรือ TCR (บน T cell) ได้ไม่ดีจึงไม่เกิดการรับรู้แอนติเจนของ T cell[6] ในปัจจุบันมีการนำเทคโนโลยี next generation genome sequencing (NGS) มาใช้ในการวิเคราะห์สารพันธุกรรม RNA และ DNA ของมะเร็งทำให้ทราบชนิดของ neoantigen ที่จะเกิดจากสารพันธุกรรมเหล่านั้นได้ รวมทั้งมีโปรแกรมการวิเคราะห์ทำนายการจับตัวของเปปไทด์กับ MHC molecule ได้ ทำให้เอื้อต่อการสร้างเปปไทด์วัคซีนมากขึ้น[17-19]

กระบวนการสร้างแอนติเจนวัคซีนเริ่มจากการวิเคราะห์ลำดับสารพันธุกรรมที่ถอดรหัสให้โปรตีน (exome sequencing) DNA และ RNA จากชิ้นเนื้อของผู้ป่วย จากนั้นนำลำดับสารพันธุกรรมมาวิเคราะห์หาจุดที่มีการกลายพันธุ์โดยเทียบชิ้นเนื้อมะเร็งกับชิ้นเนื้อปกติ เมื่อได้จุดที่มีการกลายพันธุ์แล้วจะแยกส่วนที่เป็น non germline mutation มาเข้าโปรแกรมวิเคราะห์ทำนายหาเปปไทด์แอนติเจนที่มีความเป็นไปได้ว่าจะกระตุ้นภูมิได้ดีที่สุด[15] เปปไทด์สังเคราะห์มีทั้งแบบสายสั้น (synthetic short peptides, SSPs) ขนาดประมาณ 8-11 กรดอะมิโนและเปปไทด์สายยาว (synthetic long peptides, SLPs) ขนาดประมาณ 15 กรดอะมิโนหรือมากกว่า ซึ่ง SLPs มีโอกาสกระตุ้นภูมิได้มีประสิทธิภาพกว่า[20] หลังจากนั้นเปปไทด์ที่ถูกคัดเลือกจะถูกสังเคราะห์ขึ้นเป็นวัคซีนซึ่งจำเพาะสำหรับผู้ป่วยแต่ละคน เมื่อผ่านกระบวนการผลิตทั้งหมดวัคซีนจะถูกนำไปฉีดให้ผู้ป่วยโดยให้ร่วมกับสาร adjuvant ซึ่งเสริมการกระตุ้นภูมิของวัคซีน ซึ่งสาร adjuvant ที่ใช้บ่อย เช่น Montanide หรือ MF59 emulsions, dsRNA, poly I:C หรือ poly IC:LC, Toll-like receptor targeting agent เช่น CpG oligonucleotides

งานวิจัยทางคลินิกที่ใช้ shared neoantigen vaccine ในโรคมะเร็งต่างๆ ให้ผลเป็นที่น่าพอใจ และมีผลข้างเคียงน้อย แต่จำนวนผู้ป่วยที่ทำการศึกษายังค่อนข้างน้อย ดังแสดงใน **ตารางที่ 2** งานวิจัยที่สำคัญที่แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการนำ shared neoantigen vaccine มาใช้ในการรักษา คืองานวิจัยทางคลินิกระยะที่ 3 โดย Schwartzentruber และคณะในปี 2011 ทำการศึกษาผู้ป่วยมะเร็งผิวหนังชนิด melanoma ระยะที่ 4 และระยะลุกลามเฉพาะที่ (locally advanced) โดยเปรียบเทียบการให้เปปไทด์วัคซีน ที่ใช้ gp100 ร่วมกับสาร adjuvant คือ Montanide ISA-51 ตามด้วย IL-2 กับการให้ IL-2 อย่างเดียวในผู้ป่วยจำนวน 185 คน[21] พบว่าการ



ภาพที่ 2 แสดงขั้นตอนการผลิตวัคซีนชนิดเปปไทด์

ตอบสนองของโรค (overall response rate) เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 6 เป็นร้อยละ 16 (p=0.03) เพิ่มอัตราการปลอดโรค (progression free survival) จาก 1.6 เดือนเป็น 2.2 เดือน (p=0.008) และมีแนวโน้มเพิ่มค่ามัธยฐานการรอดชีวิต (median survival) จาก 11.1 เดือนเป็น 17.8 เดือน (p=0.06)

ส่วนงานวิจัยทางคลินิกที่สำคัญในการใช้ประโยชน์จาก NGS เพื่อหา personalized neoantigen **(ตารางที่ 3)** ได้แก่การศึกษาระยะที่ 1 โดย Ott และคณะ[22] ตีพิมพ์ในปี 2017 ทำการศึกษาชิ้นเนื้อในผู้ป่วยมะเร็งผิวหนังชนิด melanoma ระยะที่ 3-4 จำนวน 10 คน และคัดเลือก neoantigen จำนวน 13-20 ชนิดต่อผู้ป่วย 1 คนมาทำการผลิตเปปไทด์สายยาวแล้วฉีดกลับเข้าไปในผู้ป่วยจำนวน 6 คน (ระยะที่ 3 จำนวน 4 คนและระยะที่ 4 จำนวน 2 คน ซึ่งทั้ง 2 คนมีการกระจายไปปอด) ร่วมกับการให้สาร adjuvant คือ poly-IC:LC การฉีดวัคซีนทำภายหลังการผ่าตัดด้วย curative intent ประมาณ 18 สัปดาห์ ผลการศึกษาพบว่า เกิดการกระตุ้น CD4+ และ CD8+ T cell ที่จำเพาะต่อ neoantigen จำนวนร้อยละ 60 และ 16 ตามลำดับ จาก neoantigen ที่ฉีดเข้าไปทั้งหมดรวมทุกผู้ป่วย 97 neoantigens ผู้ป่วยระยะที่ 3 ทั้ง 4 คนยังคงปลอดการกำเริบของโรคภายหลังการฉีดวัคซีน 25 เดือน ส่วนผู้ป่วยระยะที่ 4 ทั้ง 2 คนมีการกำเริบของโรคที่ประมาณ 12-15 เดือนหลังจากการฉีดวัคซีน ซึ่งทั้ง 2 คนได้รับการรักษาต่อด้วยยาภูมิคุ้มกันบำบัด anti-PD-1 และมีการตอบสนองแบบยุบหมด (complete

ตารางที่ 2 ตัวอย่างงานวิจัยทางคลินิกที่ใช้ shared antigen vaccine

Authors	Year	N	Indications	Peptide	Adjuvant	Outcomes
Kenter [23]	2009	20	HPV-16-positive, grade 3 vulvar intraepithelial neoplasia	SLPs of HPV-16 viral oncoproteins E6 and E7	IFA	Gr1-2 local swelling 100% Gr1-2 fever 64% At 3 mo cR 60% cCR 25% (No detectable HPV-16 4/5) At 12 months cR 79% (15/19) cCR 47% (9/19)
Rahma et al[24]	2014	53	Advanced cancer (38 with colorectal, 11 with pancreatic, 1 with common bile duct and 3 with lung)	Mutant RAS peptides	IL-2 (arm A), GM-CSF (arm B), or both (arm C)	median PFS 3.6 median OS 16.9 months, Immune response to the relevant RAS peptide 20/37 (54%) (92.3% of patients on arm B only, less in arm A,C)
Schwartzentruber et al[21]	2011 Phase III	185	185 Locally advanced or advanced stage cutaneous melanoma	Gp100:209-217(210M)	IFA	overall response rate 6 vs 16% (p=0.03) PFS 1.6 vs 2.2 mo (p=0.008) median OS 11.1 vs 17.8 mo (p=0.06)

Abbreviations: cCR = clinical complete response; cR = clinical response; Gp = glycoprotein; GM-CSF = granulocyte-macrophage colony stimulating factor; Gr = grade; HPV = human papilloma virus; IFA = Incomplete Freund's Adjuvant (หรือ Montanide ISA-51); IL = interleukin; mo = months; OS = overall survival; PFS = progression free survival; SLPs = synthetic long peptides.

ตารางที่ 3 ตัวอย่างงานวิจัยทางคลินิกที่ใช้ personalized neoantigen

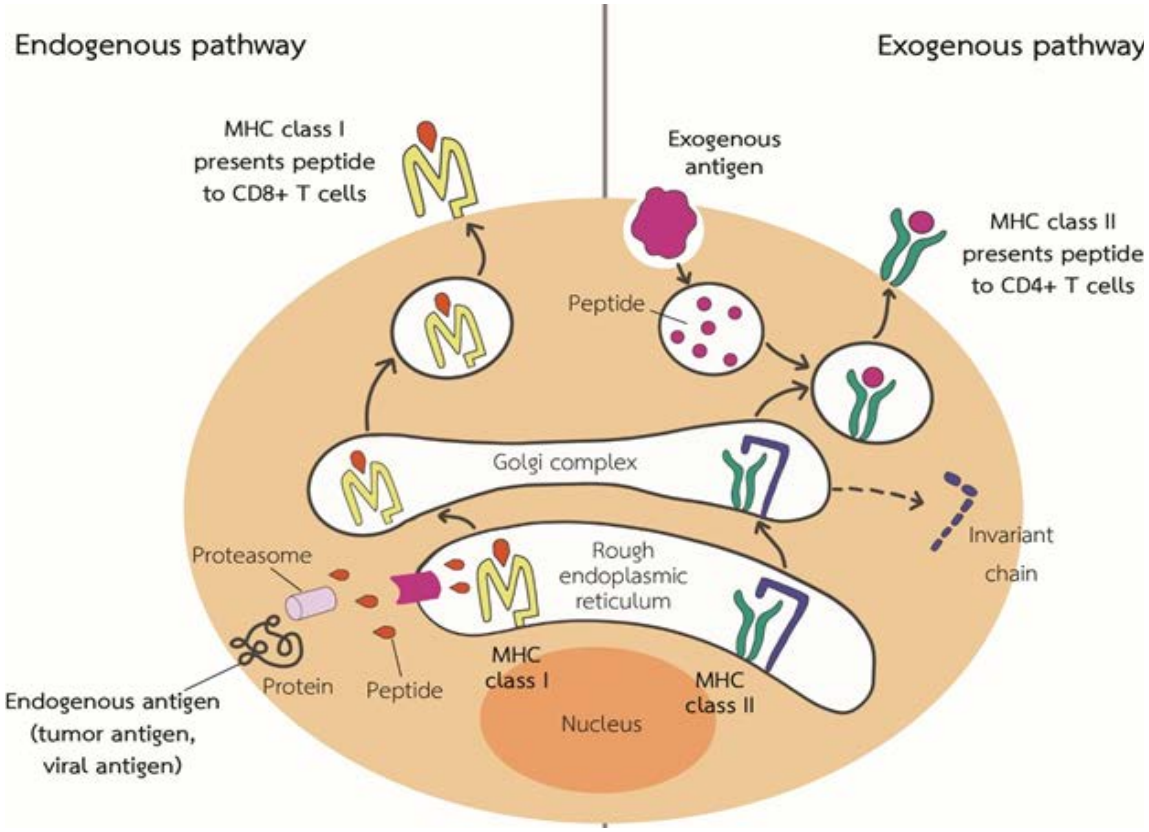
Authors	Year	N	Indications	Peptide	Adju-vant	Outcomes	Subsequent Rx after progression
Ott et al[22]	2017 Phase I	10	Stage III-IV cutaneous melanoma	13-20 neoantigen/pt; subcutaneous injection	Poly IC:LC, TLR-3	Evidence of T-cell response	Anti-PD-1
Keskin et al[25]	2018 Phase I/IB	10	newly diagnosed MGMT-unmethylated GBM, after sx and RT	Up to 20 neoan-tigen/pt; subcuta-neous injection	Poly IC:LC	Evidence of T-cell response, Median PFS 7.6 mo Median OS 16.8 mo	Bevacizumab, re-surgery, Anti-PD-L1

Abbreviations: GBM = glioblastoma; MGMT = methylguanine methyltransferase; mo = months; OS = overall survival; PD-1 = programmed cell death protein-1; PD-L1 = programmed death ligand 1; PFS = progression free survival; pt = patient; RT = radiation; Rx = treatment; SLPs = synthetic long peptides; sx = surgery; TLR = toll like receptor.

response) นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยเกี่ยวกับการใช้ personalized neoantigen vaccine ในมะเร็งชนิดต่างๆ อีกหลายงานวิจัยแต่ยังเป็นระยะต้นเท่านั้น[3]

Nucleic acid vaccine

Nucleic acid คือสารพันธุกรรมในเซลล์ ได้แก่ DNA และ RNA ซึ่ง DNA อยู่ในโครโมโซมในนิวเคลียส จะถูกถอดรหัส (transcription) โดย RNA polymerase ให้กลายเป็น messenger RNA (mRNA) และออกจากนิวเคลียสไปอยู่ใน cytoplasm หลังจากนั้น ribosome จะทำหน้าที่อ่านลำดับเบส (translation) บน mRNA ให้กลายเป็นสายยาวของกรดอะมิโน เรียกว่าโปรตีน เพราะฉะนั้นการผลิตวัคซีน DNA หรือ RNA น่าจะเป็นวิธีกระตุ้น CD8+ T cell ได้ดีที่สุด เพราะเกิด neoantigen ในเซลล์ ทำให้ผ่านการย่อยโดย proteasome และนำเสนอผ่าน MHC class I[2] ต่างจากเปปไทด์ซึ่งเป็น exogenous antigen จะจับกับ MHC class II และกระตุ้น CD4+ T cell เป็นส่วนใหญ่ ไม่ได้กระตุ้น CD8+ T cell โดยตรง ยกเว้นเมื่อมี cross presentation ผ่าน DCs ดังแสดงใน**ภาพที่ 3**



ภาพที่ 3 แสดงการนำเสนอแอนติเจนโดย MHC class I และ MHC class II

DNA vaccine สร้างจากการนำยีนสังเคราะห์ที่จะก่อให้เกิดแอนติเจน (antigen encoding gene) ไปแทรกอยู่ในตัวนำ (vector) เช่น plasmid ของแบคทีเรีย เมื่อถูกฉีดเข้าไปในร่างกาย DNA-plasmid ก็จะถูกจับกินเข้าไปในเซลล์ หลังจากนั้น vector จะนำยีนนั้นแทรกเข้าไปอยู่ในนิวเคลียส ก่อให้เกิด กระบวนการ transcription และ translation เพื่อให้ได้แอนติเจนต่อไป นอกจากนี้ตัวแบคทีเรียเองยังทำหน้าที่เป็น PAMPs กระตุ้น innate immunity ผ่าน TLRs หรือ PRRs อื่นๆ ได้อีกด้วย[14] จึงนำไปสู่การกระตุ้นทั้ง CD4+ และ CD8+ T cell อย่างไรก็ตาม DNA vaccine ยังกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ไม่ดีเมื่อเทียบกับ peptide หรือวัคซีนประเภทอื่นๆ ซึ่งอาจจะเกิดจากความลำบากในการเคลื่อนที่เข้านิวเคลียสของ DNA-plasmid complex[26]

RNA vaccine สร้างจากการสังเคราะห์สาย mRNA ในหลอดทดลอง (in vitro transcription, IVT) โดยใช้ DNA แม่แบบจากการวิเคราะห์ชิ้นเนื้อของผู้ป่วยด้วย NGS หลังจากนั้นฉีดกลับเข้าไปในผู้ป่วย ซึ่ง mRNA จะถูกจับเข้าในเซลล์ เกิดกระบวนการผลิตแอนติเจนเหมือนกับ DNA vaccine อย่างไรก็ตามแอนติเจนที่เกิดใน cytoplasm เป็น intracellular antigen ซึ่งจะผ่านการย่อยด้วย proteasome เป็นเปปไทด์และนำเสนอผ่าน MHC class I ข้อดีของ RNA vaccine คือ ไม่ต้องเข้าไปในนิวเคลียสเพื่อทำงาน และสามารถผลิต RNA จำนวนมากจากชิ้นเนื้อที่มีอยู่จำกัดได้[26] งานวิจัยทางคลินิกแรกที่ใช้ RNA Vaccine ในมนุษย์ทำโดย Sahin และคณะ[27] ตีพิมพ์ในปี 2017 ทำการศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งผิวหนังชนิด melanoma จำนวน 13 คน โดยใช้ mRNA สังเคราะห์ 2 สายต่อผู้ป่วย 1 ราย แต่ละสายจะทำให้เกิด 5 neoantigen ฉีดเข้าไปที่ต่อมน้ำเหลืองบริเวณขาหนีบจำนวน 8 โดส (dose) พบว่ามี T cell response 60% จาก 125 mutations ในวัคซีน ผู้ป่วย 8 คนที่ปราศจากโรค ณ เวลาที่ได้รับวัคซีนมีระยะปลอดโรคอยู่ที่ 12-23 เดือน ผู้ป่วย 5 คนมีการกลับเป็นซ้ำของโรคในขณะได้รับวัคซีน ที่น่าสนใจคือมีผู้ป่วย 1 รายที่มีการกำเริบของโรค ได้รับการรักษาควบคู่ไปกับการให้ยา anti-PD-1 มีการตอบสนองแบบยุบหมด (complete response)

Viral-based vaccine

ไวรัสสามารถนำมาใช้ในการนำพาสารพันธุกรรม DNA หรือยีนเข้าไปในเซลล์ เพื่อให้เกิดกระบวนการสร้างและนำเสนอแอนติเจนได้ แนวความคิดนี้มีข้อดีคือไวรัสส่วนใหญ่สามารถกระตุ้นภูมิได้ดี เมื่อฉีดเข้าร่างกายมักจะดึงดูดให้ professional APCs มาในบริเวณที่ฉีดและ uptake ไวรัสเข้าไปในเซลล์ นอกจากนี้การตัดต่อสารพันธุกรรมเข้าไปในส่วนประกอบของไวรัสสามารถทำได้ง่าย อย่างไรก็ตามข้อจำกัดของการใช้ viral based vaccine คือไวรัสบางตัวอาจกระตุ้นให้ร่างกายสร้างแอนติบอดีต่อตัวไวรัสนั้นๆ ได้ จึงไม่เหมาะกับการใช้เป็นระยะเวลานาน[28] ไวรัสที่ถูกนำมาศึกษาเพื่อทำวัคซีนมะเร็ง เช่น Pox virus (vaccinia virus, modified vaccinia ankara (MVA)), Avian poxvirus (fowl virus, canarypox (ALVAC)), Adenovirus โดยที่กลุ่ม poxvirus เป็นกลุ่มที่ถูกนำมา

ศึกษามากที่สุดเนื่องจากกระตุ้นภูมิได้ดี เข้าไปทำงานใน cytoplasm เท่านั้นจึงไม่เสี่ยงต่อการเกิด genome mutation ในนิวเคลียส มีความสามารถในการแบ่งตัวสูงจึงสร้างแอนติเจนได้มาก แต่ poxvirus กระตุ้นให้ร่างกายเกิดแอนติบอดีได้และตัว vaccinia virus สามารถทำให้เกิดโรคได้ใน immunocompromised host ส่วน avain poxvirus ไม่ก่อให้เกิดโรคในคน ไม่ทำให้ร่างกายสร้างแอนติบอดีมาต้าน แต่กระตุ้นภูมิได้ไม่ดีเท่ากลุ่ม poxvirus

งานวิจัยทางคลินิกแบบสุ่มระยะที่ 2 โดย Kantoff และ คณะ[29] ตีพิมพ์ในปี 2010 ทำการศึกษาในผู้ป่วยมะเร็งต่อมลูกหมากระยะแพร่กระจายที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยการกำจัดฮอร์โมน (metastatic castration resistant prostate cancer, mCRPC) จำนวน 125 คน โดยเทียบระหว่างการให้กับไม่ให้วัคซีน PROSTVAC[30] ซึ่งประกอบไปด้วย 1) Priming phase ด้วย vaccinia-based vaccine ฉีดทางใต้ผิวหนัง (subcutaneous route) ในวันที่ 1 และ 2) Boost phase ด้วย fowlpox-based vaccine จำนวน 6 โดส ฉีดวันที่ 14, 28, 56, 84, 112, 140 โดยวัคซีนทั้ง 2 ชนิดถูกตัดต่อแทรกยีนที่สร้าง PSA และ costimulatory molecules ลงไปใน vector และให้พร้อมกับสาร adjuvant คือ granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) ผลการศึกษาพบว่ามัธยฐานการปลอดโรคซึ่งเป็นผลการศึกษาหลักไม่แตกต่างกันที่ 3.8 และ 3.7 เดือนในกลุ่มที่ได้วัคซีนและได้ยาหลอกตามลำดับ แต่กลุ่มที่ได้รับวัคซีนมีอัตราการรอดชีวิตที่ 3 ปีเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติ คิดเป็นร้อยละ 30 (25/82 คน) เทียบกับร้อยละ 17 (7/40 คน) รวมทั้งมีมัธยฐานการรอดชีวิตเพิ่มขึ้น (25.1 vs 16.6 เดือน, HR 0.56, 95% CI 0.37-0.85, p=0.006) ผลการศึกษานี้นำไปสู่งานวิจัยทางคลินิกแบบสุ่มระยะที่ 3 โดย Gulley และคณะ โดยทำการศึกษาในปี 2011-2015 ในผู้ป่วย mCRPC จำนวน 1297 คน สุ่มเข้า 3 กลุ่มได้แก่ กลุ่มที่ 1 ได้รับวัคซีน กลุ่มที่ 2 ได้รับวัคซีนและ GM-CSF และกลุ่มที่ 3 ได้รับยาหลอก ผลการศึกษาได้ถูกเผยแพร่ในรูปแบบบทคัดย่อในปี 2018 พบว่าค่ามัธยฐานการรอดชีวิตของทั้ง 3 กลุ่มไม่ต่างกัน (34.8 vs 33.9 vs 34.7 เดือน)[31] อย่างไรก็ตามค่ามัธยฐานการรอดชีวิตของทั้ง 3 กลุ่มเพิ่มขึ้นจากผลการศึกษาเดิมประมาณ 1 ปี แสดงให้เห็นถึงมาตรฐานการรักษาที่สูงขึ้นใน mCRPC โดยสรุปแล้วยังไม่มีหลักฐานที่แสดงถึงประสิทธิภาพอย่างชัดเจนของ viral based vaccine นี้ในมะเร็งต่อมลูกหมาก

Tumor cell vaccines

วัคซีนที่ใช้เซลล์มะเร็งทั้งเซลล์เป็นแอนติเจนเป็นวัคซีนมะเร็งที่ถูกคิดค้นในยุคแรก โดยการนำชิ้นเนื้อของผู้ป่วยมากระตุ้นเกิด apoptosis หรือ necrosis โดยวิธีการต่างๆ เช่น การฉายรังสี (radiation), การอาบแสงอัลตราไวโอเลต (ultraviolet irradiation), การใช้กรด (hypochlorous acid), การแช่แข็งและละลาย (freezing – thawing) และการใช้ความร้อน (hyperthermia) ทำให้เกิดแอนติเจน เรียกว่า tumor cell lysate แล้วทำการฉีด tumor cell lysate กลับเข้าไปในผู้ป่วย โดยให้ร่วมกับ

สารกระตุ้นภูมิต่างๆ เช่น GM-CSF, Bacillus Calmette–Guérin (BCG) หรือนำไป pulse กับ DCs และฉีดกลับเข้าไปในรูปแบบแอนติเจนที่ถูกนำเสนอบน DCs เรียบร้อยแล้ว ซึ่งข้อดีของการใช้เซลล์มะเร็งมาเป็นวัคซีนคือได้แอนติเจนจำนวนมาก ซึ่งเป็นทั้ง self antigen, non self antigen และ neoantigen[16] จึงสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันทั้ง humoral และ adaptive immunity[32, 33] แต่เนื่องจากภูมิคุ้มกันถูกกระตุ้นเป็นวงกว้างไม่เฉพาะ T cell จึงอาจมีปริมาณ T cell ที่จำเพาะต่อมะเร็งไม่เพียงพอ วัคซีนที่ใช้เซลล์มะเร็ง แบ่งเป็น 2 ชนิด[23] คือ

1) Autologous tumor cell vaccine คือวัคซีนที่ใช้เซลล์มะเร็งของผู้ป่วยคนเดียว ข้อดีคือเกิดแอนติเจนที่เป็นตัวแทนของ tumor associated antigen ทั้งหมดของผู้ป่วยคนนั้น โดยไม่ต้องคัดเลือกมาเพียงส่วนหนึ่ง หรือคาดเดาจากโปรแกรมเหมือน peptide vaccine แต่ข้อจำกัดก็คือจำเป็นต้องได้ชิ้นเนื้อจำนวนเพียงพอ ซึ่งอาจทำได้ยากในการตัดชิ้นเนื้อจากบางอวัยวะ[34] นอกจากนี้ยังไม่สามารถนำไปใช้กับผู้ป่วยคนอื่นๆ ได้

2) Allogenic tumor cell vaccine คือวัคซีนที่ใช้เซลล์มะเร็งจากผู้ป่วยโรคมะเร็งเดียวกันหลายคน เพื่อให้ได้แอนติเจนรวมของโรคมะเร็งนั้นๆ และนำกลับไปฉีดในผู้ป่วย ซึ่งวัคซีนทีได้ประกอบไปด้วยแอนติเจนจากทั้ง shared mutation ของมะเร็งชนิดนั้น และ personalized mutation ซึ่งอาจมีซ้ำหรือไม่ซ้ำกันในผู้ป่วยแต่ละราย ข้อดีของวิธีนี้คือสามารถใช้วัคซีนกับผู้ป่วยได้หลายราย

Dendritic cell vaccine

ดังที่กล่าวไปแล้วในข้างต้นว่า DCs ใน tumor environment มักถูกยับยั้ง maturation ทำให้ไม่สามารถนำเสนอแอนติเจนได้อย่างมีประสิทธิภาพ และอาจนำไปสู่การเกิด T cell tolerance จึงมีผู้คิดค้นการผลิต mature DCs จากเลือดโดย leukapheresis เพื่อให้ได้ peripheral blood monocytes (PBMCs) และนำไปเลี้ยง หลังจากนั้นนำผูกติด (priming/pulsing) กับแอนติเจนในหลอดทดลอง ผสมกับสาร adjuvant ที่เสริมการทำงานของ DCs เช่น toll-like receptor ligands คือ CpG-DNA, GM-CSF, IL-12 และฉีดกลับเข้าไปในผู้ป่วย เรียกว่า dendritic cell vaccine ซึ่งการทำ DCs priming สามารถใช้แอนติเจนทุกชนิดดังกล่าวข้างต้นมา prime กับ DCs ในหลอดทดลอง เพื่อข้ามขั้นตอน in vivo antigen presentation เช่น peptide pulsed DCs, mRNA transfected DCs[26, 35], tumor cell pulsed DCs[36, 37] คุณสมบัติของ DC vaccine ที่ดี ได้แก่ 1) มี costimulatory molecules 2) สามารถตอบสนองต่อ chemokine ที่สร้างจากต่อมน้ำเหลืองและเดินทางไปยังต่อมน้ำเหลืองเพื่อนำเสนอแอนติเจนได้ หรือในอุดมคติคือมี CCR7 ซึ่งเป็น receptor ตามธรรมชาติ และ 3) สร้าง cytokine ที่จำเป็นต่อการทำงานของตัว DCs เองได้ เช่น IL-12p70

ความพยายามในการนำ DC vaccine มาใช้ทางคลินิกครั้งแรกเกิดขึ้นในปี 1996 โดย Murphy และคณะ[38] ได้ทำงานวิจัยระยะที่ 1 ในผู้ป่วยมะเร็งต่อมลูกหมากระยะแพร่กระจาย

โดยให้ DC vaccine ซึ่งผลิตจาก autologous DCs ผูกติดกับเปปไทด์ HLA-A0201 ซึ่งผลิตจาก prostate specific membrane antigen (PSMA) ผลการศึกษาพบว่าสามารถลดค่า PSA ในเลือดได้ หลังจากนั้นได้เกิดงานวิจัยทางคลินิกโดยใช้ DC vaccine ในมะเร็งชนิดต่างๆ มากมาย ในปี 2006 Small และคณะ[39] ได้ทำงานวิจัยแบบสุ่มเปรียบเทียบการให้และไม่ให้ Sipuleucel-T คือ DC vaccine ที่ผลิตจาก PBMCs ซึ่งถูกกระตุ้นด้วย PA2024 อันประกอบไปด้วยแอนติเจน คือ prostate antigen และ prostatic acid phosphatase (PAP) และสาร adjuvant คือ GM-CSF ในผู้ป่วยมะเร็งต่อมลูกหมากระยะแพร่กระจายที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาด้วยการกำจัดฮอร์โมน (metastatic castrate-resistant prostate cancer, mCRPC) จำนวน 127 คน พบว่ากลุ่มที่ได้รับ Sipuleucel-T มีค่ามัธยฐานการรอดชีวิตที่มากกว่ากลุ่มที่ได้ยาหลอกอย่างมีนัยยะสำคัญ คิดเป็น 25.9 สัปดาห์ เปรียบเทียบกับ 21.4 สัปดาห์ ตามลำดับ (p=0.01, HR 1.70, 95%CI 1.13-2.56) อย่างไรก็ตามค่ามัธยฐานระยะเวลาที่มีการกำเริบของโรค (median time to progression) ของทั้งสองกลุ่ม ซึ่งเป็นผลลัพธ์หลักของงานวิจัยนี้ ไม่แตกต่างกัน

ต่อมาในปี 2010 Kantoff และคณะ[40] ได้ต่อยอดผลงานวิจัยข้างต้นโดยทำงานวิจัยแบบสุ่มระยะที่ 3 ในผู้ป่วย mCRPC จำนวน 512 คน พบว่าการให้ Sipuleucel-T เพิ่มมัธยฐานการรอดชีวิตจาก 21.7 เดือนในกลุ่มที่ได้ยาหลอกเป็น 25.8 เดือนในกลุ่มที่ได้ Sipuleucel-T (p=0.02, HR 0.77, 95%CI 0.61-0.97) นำไปสู่การเป็นวัคซีนมะเร็งชนิดแรกที่ได้รับการยอมรับโดยองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกาให้ใช้ในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งต่อมลูกหมาก mCRPC

อย่างไรก็ตามบนผิวเซลล์ของ DCs ยังคงมีโปรตีนโมเลกุลอื่นๆ ที่มีทั้งเพิ่มประสิทธิภาพในการกำจัดเซลล์มะเร็งและกดการกำจัดมะเร็ง ดังสรุปใน**ตารางที่ 4**[14] เพราะฉะนั้นการใช้ DC vaccine ควบคู่กับการรักษาอื่นๆ ที่ยับยั้งการทำงานของ inhibitory molecules น่าจะช่วย

ตารางที่ 4 activating และ inhibitory molecules บน dendritic cells

Activating molecules	Inhibitory molecules
โปรตีน เช่น CD40, CD40L	Ubiquitin-editing enzyme A20
Costimulatory molecules เช่น CD70, GITRL, 4-1BBL (CD173L), OX40L	Suppressor of cytokine signaling (SOCS1)
Proinflammatory factors เช่น IL-12p70, IL2, IL-18, CCR7, CXCL10	Scavenger receptor (SRA/CD204)

เพิ่มประสิทธิภาพของวัคซีนได้ ซึ่งยังคงต้องมีการศึกษาต่อไป ข้อจำกัดของ DC vaccine คือ 1) การผลิตวัคซีนต้องเก็บเซลล์จากตัวผู้ป่วยเองและนำไปเพาะเลี้ยงให้เพิ่มจำนวน จึงมีขั้นตอนที่ยุ่งยาก ไม่สามารถใช้ในผู้ป่วยรายอื่นได้[2] 2) ต้องเลือกแอนติเจนที่กระตุ้นภูมิได้ดีเพื่อจับกับ DCs 3) แม้จะเอาแอนติเจนที่สำคัญ prime กับ DCs แล้ว ก็ไม่สามารถคาดเดาได้ว่าในขั้นตอน antigen presentation ต่อ T cell ทำได้ครบถ้วน และมี co-stimulatory signal ครบถ้วนหรือไม่[15]

หลักฐานทางคลินิกและผลการรักษาด้วยวัคซีนในมะเร็งชนิดต่างๆ

นอกเหนือจากผลงานวิจัยวัคซีนมะเร็งในโรคมะเร็งผิวหนังชนิด melanoma และมะเร็งต่อมลูกหมากที่ได้กล่าวถึงไปแล้วในข้างต้นนั้น ก็ยังมีความพยายามใช้วัคซีนในการรักษามะเร็งชนิดต่างๆ แต่ยังไม่มีวัคซีนที่แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพที่ชัดเจนทางคลินิก ในปัจจุบันจึงมีเพียงวัคซีน Sipuleucel-T ในมะเร็งต่อมลูกหมาก mCRPC เท่านั้นที่ได้รับการยอมรับจากองค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกาในปี 2010 มะเร็งหลายชนิดสัมพันธ์กับการติดเชื้อไวรัส เช่น การติดเชื้อ Epstein Barr virus (EBV) มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคมะเร็งคอหอยหลังโพรงจมูก, การติดเชื้อ human papilloma virus (HPV) สัมพันธ์กับการเกิดโรคมะเร็งคอหอยส่วนปาก ซึ่ง viral-associated molecules และ peptides ต่างๆ น่าจะเป็นแอนติเจนที่ดีในการนำมาใช้เป็น therapeutic vaccine แต่ในขณะนี้มีเพียงงานวิจัยระยะที่ 1-2 เท่านั้นที่แสดงถึงความปลอดภัยในการใช้วัคซีน EBV ในมะเร็งหลังโพรงจมูก[41] และการใช้วัคซีน HPV viral antigen[42] และ p16[43] ในการรักษามะเร็งคอหอยส่วนปาก ข้อมูลดังแสดงต่อไปนี้เป็นการรวบรวมงานวิจัยเกี่ยวกับวัคซีนมะเร็งในโรคที่พบได้บ่อยและส่วนใหญ่เป็นงานวิจัยระยะที่ 3

มะเร็งปอด

งานวิจัยทางคลินิกระยะที่ 3 แบบสุ่มในมะเร็งปอดนั้นเป็นผลต่อเนื่องมาจากผลการศึกษาในระยะที่ 2 จำนวนมากที่ชี้ให้เห็นถึงแนวโน้มว่าวัคซีนอาจมีประสิทธิภาพในการนำมารักษา อย่างไรก็ตามยังไม่มีงานวิจัยใดที่รับรองประสิทธิภาพของวัคซีนในมะเร็งปอดดังแสดงใน **ตารางที่ 5**

ในปี 2016 Rodriguez และคณะ[44] ทำงานวิจัยทางคลินิกแบบสุ่มระยะที่ 3 ในผู้ป่วยมะเร็งปอดระยะ IIIB ถึง IV จำนวน 405 คน โดยภายหลังผู้ป่วยได้รับยาเคมีบำบัด first line แล้ว 4-6 รอบ จะสุ่มผู้ป่วยเปรียบเทียบระหว่างการให้และไม่ให้วัคซีน CIMAVax-EGF ซึ่งวัคซีน CIMAvax-EGF ใช้ human recombinant epidermal growth factor (EGF) ร่วมกับตัวพาคือโปรตีน P64 ซึ่งสกัดจากแบคทีเรีย Neisseria meningitidis ผสมกับสาร adjuvant คือ Montanide ISA 51 ซึ่งจะเหนี่ยวนำให้เกิดแอนติบอดีต่อ EGF และยับยั้ง EGF-EGFR interaction ในที่สุด[45] โดยผู้ป่วยกลุ่มได้รับวัคซีน (experimental group) จะได้รับ CIMAvax-EGF ฉีดเข้ากล้ามเนื้อทุก 2 สัปดาห์เป็น

ตารางที่ 5 งานวิจัยทางคลินิกศึกษา cancer vaccine ในโรคมะเร็งปอด

งานวิจัย	START Butts et al [47]	STOP Giaccone et al [48]	MAGRIT Vansteenkiste et al [49]
จำนวนผู้ป่วย (คน)	1513	532	2312
ปีที่ทำการวิจัย (ค.ศ.)	2007-2011	2015	2007-2012
Inclusion criteria	Stable or response, Unre-sectable stage III NSCLC after chemoradiation	Stable or response, Stage IV NSCLC after platinum-based first-line chemotherapy	Completely resected stage IB, II, and IIIA MAGE-A3-positive NSCLC
Arm 1: แอนติเจน	Tecemotide (L-BLP25)	Belagenpumatucel-L (Lucanix)	MAGE-A3 protein
Arm 2: placebo	placebo	placebo	placebo
ชนิดของแอนติเจน	Liposomal peptide vaccine targeting MUC1 glycoprotein	4 transforming growth factor (TGF)-β2-antisense gene-modified, irradiated, allogeneic NSCLC cell lines	Tumor-associated carcinoem-bryonic antigen (CEA)
Adjuvant	Monophosphoryl lipid A	N/A	AS15
Duration and route of treatment	Subcutaneous; every week for 8 weeks, and then every 6 weeks until disease progression	Intradermal; Monthly for 18 cycles then two quarterly cycles	Intramuscular; 13 injections during 27 mo
ผลการศึกษา	Median F/U 39.9 mo	At second interim analysis for futility	Median F/U 38.1 mo
OS	25.6 vs 22.3 mo HR 0.88, 0.75-1.03; p=0.123	20.3 vs 17.8 mo, HR 0.94, p=0.594	Median not reach
PFS	10 vs 8.4 mo HR 0.87 [0.75–1.00]; p=0.053	4.3 vs 4.0 mo, HR 0.99, p=0.947	60.5 vs 57.9 mo HR 1.02, 95% CI 0.89-1.18; p=0.74

Abbreviations: F/U = follow-up; HR = hazard ratio; mo = months; N/A = not available; NSCLC = non-small cell lung cancer; OS = overall survival; PFS = progression free survival.

จำนวน 4 รอบ หลังจากนั้นฉีดทุก 4 สัปดาห์ ส่วนผู้ป่วยกลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีน (control group) จะได้รับการดูแลรักษาแบบประคับประคอง ผลการศึกษาพบว่าวัคซีนสามารถกระตุ้นให้เกิดแอนติบอดีต่อ EGF แบบวัดได้ในเลือดและช่วยลดปริมาณ EGF ในเลือด ค่ามัธยฐานการรอดชีวิตของทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกัน คิดเป็น 10.8 เดือนในกลุ่มที่ได้รับวัคซีน และ 8.86 เดือนในกลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีน อย่างไรก็ตามในผู้ป่วยที่ได้รับวัคซีนอย่างน้อย 4 รอบพบว่า ค่ามัธยฐานการรอดชีวิตเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติ คิดเป็น 12.4 เดือนในกลุ่มที่ได้รับวัคซีนครบ เปรียบเทียบกับ 9.4 เดือนในกลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีน (p=0.036, HR 0.77, 95% CI 0.61–0.98) นอกจากนี้ยังพบว่าค่า EGF ในเลือดเป็นปัจจัยที่สัมพันธ์กับการรอดชีวิต โดยผู้ป่วยใน control group ที่มีค่า EGF ต่ำ (serum EGF ≤ 870 pg/mL) มีค่ามัธยฐานการรอดชีวิตมากกว่าผู้ป่วยที่มีค่า EGF สูง (serum EGF > 870 pg/mL) คิดเป็น 15 เดือน เปรียบเทียบกับ 8.6 เดือนตามลำดับ (p=0.002, HR 0.38, 95%CI 0.2-0.7) ส่วนผู้ป่วยที่มีค่า EGF สูงและได้รับวัคซีน (experimental group, high EGF) จะมีค่ามัธยฐานการรอดชีวิต มากกว่าผู้ป่วยที่มีค่า EGF สูงแต่ไม่ได้รับวัคซีน (control group, high EGF) คิดเป็น 14.6 เดือนเปรียบเทียบกับ 8.6 เดือนตามลำดับ (p=0.0001, HR 0.41, 95%CI 0.25-0.67) ซึ่งผลการศึกษานี้นำไปสู่งานวิจัยระยะที่ 1-2 ในประเทศสหรัฐอเมริกาเพื่อทดสอบประสิทธิภาพของยานี้เมื่อให้คู่กับยา anti-PD-1 ในมะเร็งปอดและมะเร็งศีรษะและลำคอ ซึ่งได้รายงานผลการศึกษาเป็นครั้งแรกใน World Conference on Lung Cancer ในเดือนกันยายน ปี 2018 ว่าไม่มีผลข้างเคียงรุนแรงและยังมีการตอบสนองแบบ objective response ร้อยละ 44[46] ซึ่งคงยังต้องมีการเก็บข้อมูลระยะยาวต่อไป

มะเร็งเต้านม

งานวิจัยระยะที่ 3 ที่รวบรวมผู้ป่วยจำนวนถึง 1028 คนทำโดย Miles และคณะ[50] ไม่สามารถแสดงให้เห็นถึงประโยชน์ของวัคซีนได้ ซึ่งผลการศึกษาดังแสดงใน**ตารางที่ 6** อย่างไรก็ตามการให้วัคซีนกลุ่มนี้ซึ่งเป็นกลุ่ม anti MUC-1 มักจะกระตุ้น humoral response เป็นหลัก ทำให้เกิด antibody[51] ซึ่งแสดงผลช้า ไม่สามารถรักษาผู้ป่วยในการศึกษาได้เท่าทันเนื่องจากผู้ป่วยมีโรคระยะแพร่กระจายอยู่แล้ว นอกจากนี้ยังไม่มีการให้ maintenance หรือ booster vaccine ต่อ และกลุ่มที่ใช้เปรียบเทียบ (control group) ก็ได้รับ keyhole limpet hemocyanin (KLH) ซึ่งตัว KLH ก็ผลกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ด้วย เพราะฉะนั้นจึงทำให้เห็นประโยชน์ของ sialyl-Tn (STn)-KLH ไม่ชัดเจน

งานวิจัยโดย Mittendorf และคณะ เป็นที่น่าสนใจ เนื่องจากรวมผู้ป่วยที่เป็น HER 1-2+ ด้วย ซึ่งมีแนวคิดมาจากงานวิจัยของเขาเองในปี 2011 ซึ่งพบว่าผู้ป่วยที่มี low HER-2 expression มีการตอบสนองต่อวัคซีนที่จำเพาะต่อ HER-2 รวดเร็วกว่าผู้ป่วยที่มี HER-2 overexpression ซึ่งคาดว่าเกิดจาก immunogenic tolerance ในผู้ป่วย HER-2 overexpression[52] และผู้ป่วยที่มี low HER-2 expression มีการตอบ

ตารางที่ 6 งานวิจัยทางคลินิกศึกษา cancer vaccine ในโรคมะเร็งเต้านม

งานวิจัย	Miles et al[50]	Mittendorf et al[57, 58]	Heery et al[59]
จำนวนผู้ป่วย (คน)	1028	195	48
ปีที่ทำการวิจัย (ค.ศ.)	Phase III 1998-2003	Phase I/II Published in 2012, 2014	Phase II 2006-2012
Inclusion criteria	Metastatic breast cancer; stable or response after systemic chemotherapy	Node-positive and high-risk node-negative (≥T2, grade 3, estrogen and progesterone receptor - negative, HER2 3+ by IHC, or lymphovascular invasion or isolated tumor cells (N0 (i+))	Metastatic breast cancer regardless of prior treatment
Arm 1	100 µg STn-KLH (Theratope ®) plus adjuvant	Only HLA-A2/3 + patients were vaccinated (n=108)	Docetaxel + PANVAC
Arm 2	100 µg KLH plus adjuvant	HLA-A2/3 - = control group (n=79)	Docetaxel
ชนิดของแอนติเจน	Sialyl-Tn (STn), a carbohydrate epitope on glycoproteins, including cancer-associated mucins; STn-keyhole limpet hemocyanin (KLH) (Theratope®; Biomira, Inc., Edmonton, Canada), a synthetic STn conjugated to the KLH carrier protein	Nelipepimut-S or E75 (NeuVax ®) = HER-2 derived peptide binds the HLA-A2 and A3 alleles	PANVAC; CEA-MUC-1-TRICOM) priming dose with recombinant vaccinia vector; subsequent doses with recombinant fowlpox vector; Each vector encodes the transgenes for CEA and MUC-1 as well as transgenes for 3 human costimulatory molecules (B7.1, ICAM-1, and LFA-3)
Adjuvant	nhanzyn™ (previously called Detox B	GM-CSF	GM-CSF (not mandatory)
Duration and route of treatment	Subcutaneous; at weeks 0, 2, 5, and 9 then monthly (without adjuvant) for 4 months, and then quarterly until disease progression Note: cyclophosphamide (300 mg/m2) 3 days before injection in both arms	Intradermal; peptide dose 500-1000 mcg split into 4-6 monthly inoculation	priming dose 3 weeks prior to the first cycle of docetaxel Booster doses on day 1 of each docetaxel cycle. Docetaxel was given on days 2, 9, and 16 of each 28-day cycle.

งานวิจัย	Miles et al[50]	Mittendorf et al[57, 58]	Heery et al[59]
ผลการศึกษา		At 5 years	
OS	23.1 vs 22.3 mo	N/A	N/A
PFS	N/A	89.7% vs 80.2% (p = 0.08)	7.9 vs 3.9 mo (p=0.09, HR 0.65, 95% CI 0.34-1.14)
Others	Time to progression: 3.4 vs 3.0 mo	-	-

Abbreviations: CI = confidence interval; GM-CSF = granulocyte-macrophage colony stimulating factor; HER = human epidermal growth factor receptor; HLA = human leukocyte antigen; HR = hazard ratio; IHC = immunohistochemistry; mo = months; N/A = not available; OS = overall survival; PFS = progression free survival.

สนองของ CTLs ที่จำเพาะต่อวัคซีนที่คงอยู่ยาวนานกว่า Mittendorf และคณะจึงออกแบบการศึกษาทางคลินิกโดยใช้วัคซีน nelipepimut-S หรือ E75 ชื่อทางการค้าคือ NeuVax ซึ่งเป็นเปปไทด์วัคซีนสังเคราะห์จาก HER-2 ที่จับตัวแบบจำเพาะกับ HLA-A2 และ A3 alleles โดยฉีดวัคซีนในผู้ป่วยที่มี HLA-A2/3 positive (experimental group) และไม่ฉีดในผู้ป่วยที่ไม่มีการแสดงออกของ HLA-A2/3 (control group) ซึ่งผู้ป่วยจำนวน 195 ในการศึกษามีการแสดงออกของ HER-2 ทั้งแบบ 1+, 2+ และ 3+ ผลการศึกษาหลังตรวจติดตามเป็นเวลา 2 ปีพบว่าอัตราการปลอดโรคในกลุ่มที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้วัคซีนไม่แตกต่างกัน คิดเป็นร้อยละ 94.3 เปรียบเทียบกับร้อยละ 86.8 แต่ผู้ป่วยที่มี HER-2 1+ ถึง 2+ มีอัตราการปลอดโรคเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติ คิดเป็นร้อยละ 94.0 เปรียบเทียบกับ 79.4 (p=0.04) หลังจากนั้นผู้วิจัยได้เพิ่มการฉีดวัคซีนกระตุ้น (booster) เนื่องจากพบว่าผู้ป่วยที่มีการกำเริบมีภูมิต้านทานลดลง และหลังจากการตรวจติดตามผู้ป่วยทุกรายเป็นเวลา 5 ปี พบว่าอัตราการปลอดโรคไม่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 6 อย่างไรก็ตามอาจอธิบายได้จากมีผู้ป่วยถึงร้อยละ 65 ที่ไม่ได้รับวัคซีนครบตามจำนวนรอบที่กำหนด ซึ่งในกลุ่มที่ได้รับวัคซีนครบตามกำหนดจะมีอัตราปลอดโรคที่ 5 ปีแตกต่างจากกลุ่ม control group อย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติคิดเป็นร้อยละ 94.6 เทียบกับ 80.2 (p=0.05) ซึ่งขณะนี้ในมีงานวิจัยแบบสุ่มระยะที่ 3 เฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยที่มีการกระจายไปต่อมน้ำเหลืองและมี low HER-2 expression ชื่อ PRESENT[53] ซึ่งผลลัพธ์หลัก (primary outcome) คืออัตราปลอดโรคที่ 3 ปี ในขณะนี้ได้ผู้ป่วยทั้งสิ้น 758 คน และปิดรับผู้ป่วยแล้วในปี 2016

GP2 เป็นเปปไทด์อีกชนิดที่ได้รับการศึกษาในมะเร็งเต้านม โดยจับแบบจำเพาะกับ HLA-A2 แต่จับไม่แน่นเท่า nelipepimut-S แต่มีความสามรถในการกระตุ้น CTLs ได้เทียบเท่ากับ nelipepimut-S โดย Mittendorf และคณะ[54] ทำงานวิจัยทางคลินิกระยะที่ 2 ในผู้ป่วยมะเร็ง

เต้านมที่มีการแสดงออกของ HLA-A2 และมี HER-2 1+ ถึง 3+ ภายหลังผู้ป่วยได้รับการรักษาตามาตรฐานครบแล้ว จะถูกสุ่มให้ได้รับวัคซีน GP-2 ร่วมกับ GM-CSF หรือได้รับ GM-CSF อย่างเดียว ผลการศึกษาในผู้ป่วยจำนวน 180 คนภายหลังการติดตามเป็นเวลา 34 เดือนพบว่าอัตราการปลอดโรคโดยคาดคะเนที่ 5 ปี ไม่แตกต่างกันคิดเป็นร้อยละ 88 ในกลุ่มที่ได้ GP-2 ร่วมกับ GM-CSF เปรียบเทียบกับร้อยละ 81 ในกลุ่มที่ได้ GM-CSF อย่างเดียว เมื่อพิจารณาเฉพาะกลุ่มผู้ป่วยที่มี HER-2 3+ พบว่ากลุ่มที่ได้รับวัคซีนมีอัตราการปลอดโรคโดยคาดคะเนที่ 5 ปีสูงกว่ากลุ่มที่ได้ GM-CSF อย่างเดียวแต่ไม่มีนัยยะสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามในกลุ่มผู้ป่วยที่มี HER-2 3+ มักจะต้องได้รับยา trastuzumab จนครบก่อนแล้วจึงเข้างานวิจัยเพื่อรับวัคซีน คณะผู้วิจัยพบว่าผู้ป่วยจำนวนหนึ่งมีการกำเริบของโรคตั้งแต่ได้รับวัคซีนครั้งต้นๆ จึงอาจเป็นไปได้ว่าผู้ป่วยกลุ่มนี้ได้รับวัคซีนช้าเกินไป เพราะฉะนั้นงานวิจัยต่อมาที่กำลังรวบรวมผู้ป่วยจึงศึกษาเปรียบเทียบระหว่างการให้ trastuzumab กับการให้ trastuzumab ร่วมกับวัคซีน[55]

Mittendorf และคณะ[56] ยังได้ทำการศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยลักษณะเดียวกันแต่ใช้วัคซีนต่างชนิด คือ เปปไทด์ AE37 ซึ่งจับ MHC class II molecule โดยสุ่มผู้ป่วยระหว่างได้รับวัคซีน AE37 ร่วมกับ GM-CSF เปรียบเทียบกับได้รับ GM-CSF อย่างเดียว ผลการศึกษาในผู้ป่วยจำนวน 298 คนพบว่าอัตราการปลอดโรคที่ 5 ปี ไม่แตกต่างกันคิดเป็นร้อยละ 80.8 ในกลุ่มที่ได้วัคซีน เปรียบเทียบกับร้อยละ 79.5 ในกลุ่มที่ได้ GM-CSF อย่างเดียว อย่างไรก็ตามกลุ่มผู้ป่วยที่เป็น triple negative คือมี low HER-2 expression และไม่มีการแสดงออกของ hormonal receptor มีอัตราการปลอดโรคที่ 5 ปีเพิ่มขึ้น คิดเป็นร้อยละ 77.7 ในกลุ่มที่ได้วัคซีน (25 ราย) เปรียบเทียบกับร้อยละ 49 ในกลุ่มที่ได้ GM-CSF อย่างเดียว (25 ราย) แต่ไม่มีนัยยะสำคัญทางสถิติ (p=0.12) ซึ่งอธิบายได้จากจำนวนผู้ป่วยในแต่ละกลุ่มน้อย เพราะฉะนั้นจึงควรมีการศึกษาวัคซีนในมะเร็งเต้านมชนิด triple negative ในกลุ่มผู้ป่วยจำนวนมากขึ้นต่อไป

มะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนัก

งานวิจัยทางคลินิกระยะที่ 2 โดย Kawamura และคณะ[60] เก็บข้อมูลระหว่างปี 2009 – 2014 และตีพิมพ์ในปี 2018 ทำการศึกษาการให้เปปไทด์วัคซีน คือ ring finger protein 43 ซึ่งจำเพาะต่อ HLA-A*2402 ร่วมกับยาเคมีบำบัดแบบรับประทาน คือ uracil-tegafur/leucovorin เป็นการรักษาเสริม (adjuvant therapy) ในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักระยะที่ 3 ภายหลังการผ่าตัดจำนวน 46 คน พบว่าการให้เปปไทด์วัคซีนร่วมกับยาเคมีบำบัดเพิ่มอัตราการปลอดโรคที่ 3 ปีในกลุ่มที่มีการแสดงออกของ HLA-A*2402 และมี T cell response วัดจาก ELISpot เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่มี T cell response คิดเป็นร้อยละ 85.7 เปรียบเทียบกับ 33.3 ตามลำดับ (p = 0.01, HR 0.159, 95%CI 0.02-0.69)

สำหรับในผู้ป่วยระยะแพร่กระจาย Rodriguez และคณะ[61] ได้ทำงานวิจัยทางคลินิก

ระยะที่ 2 โดยให้วัคซีน DCs ที่ได้รับ autologous tumor lysate loading ในผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่และทวารหนักที่มีการกระจายไปที่ตับแบบ synchronous หรือ metachronous และสามารถทำการผ่าตัดได้ โดยผู้ป่วยจำนวน 19 รายได้รับยาเคมีบำบัดนำ (neoadjuvant chemotherapy) ตามด้วยการผ่าตัดโรคที่ตับและ/หรือที่มะเร็งปฐมภูมิ ตามด้วยการให้ยาเคมีบำบัดเสริม (adjuvant chemotherapy) หลังจากนั้นผู้ป่วยจำนวน 15 รายที่ได้รับการผ่าตัดแบบตัดออกหมด (margin negative) จะถูกสุ่มให้ได้หรือไม่ได้รับวัคซีน DCs ผลการศึกษาพบว่า ค่ามัธยฐานอัตราปลอดโรค (median DFS) ของกลุ่มที่ได้รับวัคซีนสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีน คิดเป็น 25.3 เดือน (95% CI 8.74 – not reach) เปรียบเทียบกับ 9.5 เดือน (95%CI 5.32-18.88) ตามลำดับ อย่างไรก็ตามทั้งสองการศึกษามีผู้ป่วยจำนวนน้อย

เนื้องอกในสมองชนิด Glioblastoma multiforme (GBM)

งานวิจัยทางคลินิกแบบสุ่มระยะที่ 3 ชื่อ ACT IV โดย Weller และคณะ[62] ทำการศึกษาการให้ Rindopeppimut หรือ CDX-110 ซึ่งคือเปปไทด์วัคซีนที่จับจำเพาะกับ epidermal growth factor variant III (EGFRvIII) mutation ซึ่งเป็น deletion mutation ที่พบได้ถึงร้อยละ 25 ของผู้ป่วย GBM[63] โดยผู้ป่วย GBM รายใหม่ที่มีการแสดงออกของ EGFRvIII และได้รับการผ่าตัดแบบ maximal surgical resection ตามด้วยการให้รังสีเคมีบำบัดเรียบร้อยแล้วนั้นจะถูกสุ่มให้ได้รับ Rindopepimut หรือยาหลอกโดยฉีดเข้าใต้ผิวหนัง (intradermal) เดือนละ 1 ครั้ง จนกระทั่งมีการกำเริบของโรค โดยทั้งสองกลุ่มจะได้รับวัคซีนหรือยาหลอกร่วมกับ temozolomide จำนวน 6-12 รอบ หลังจากเก็บข้อมูลระหว่างปี 2012 ถึง 2014 มีผู้ป่วยเข้าร่วมการศึกษา 745 คน ผลการศึกษาพบว่าค่ามัธยฐานการรอดชีวิต (median survival) ไม่แตกต่างกันในทั้งสองกลุ่ม คิดเป็น 20.1 เดือนในกลุ่มที่ได้รับ Rindopepimut เปรียบเทียบกับ 20.0 เดือนในกลุ่มที่ได้รับยาหลอก (p = 0.22, HR 0.89, 95% CI 0.75–1.07) แม้งานวิจัยระยะที่ 3 ในกลุ่มผู้ป่วย GBM รายใหม่จะไม่สามารถแสดงถึงประสิทธิภาพของ Rindopepimut ได้ แต่สำหรับในผู้ป่วย GBM ที่มีการกำเริบของโรค มีงานวิจัยทางคลินิกระยะที่ 2 ชื่อ ReACT ทำโดย Reardon และคณะ[64] พบว่าการให้ Rindopepimut ร่วมกับ bevacizumab ช่วยเพิ่มอัตราการปลอดโรคที่ 6 เดือนและเพิ่มอัตราการรอดชีวิตอย่างมีนัยยะสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับการให้ยาหลอกร่วมกับ bevacizumab โดยอัตราการปลอดโรคคิดเป็นร้อยละ 27 เปรียบเทียบกับร้อยละ 11 และค่ามัธยฐานการรอดชีวิตคิดเป็น 12 เดือนเปรียบเทียบกับ 8.8 เดือนตามลำดับ

นอกจาก Rindopepimut แล้วยังมีงานวิจัยแบบสุ่มระยะที่ 3 ศึกษาการให้เปปไทด์วัคซีนแบบ personalized antigen ในผู้ป่วย GBM ที่มีการกำเริบของโรค แต่พบว่าอัตราการรอดชีวิตไม่ต่างจากการให้ยาหลอก[65] ยังคงมีงานวิจัยวัคซีนประเภทอื่นๆ ในผู้ป่วย GBM ที่กำลังเก็บข้อมูล เช่น การใช้วัคซีน DCs ในงานวิจัยระยะที่ 2 คือ ATTAC II (NCT02465268) และ

ELEVATE (NCT02366728) และงานวิจัยระยะที่ 3 คือ STING (NCT02546102) ซึ่งยังคงต้องรอติดตามผลต่อไป

สรุป

จากข้อมูลทั้งหมดจะเห็นได้ว่ายังมีข้อจำกัดในการใช้วัคซีนรักษามะเร็งคือวัคซีนช่วยในขั้นตอน antigen presentation ของ cancer-immunity cycle แต่เซลล์มะเร็งยังมีความสามารถหลบหลีกระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายในขั้นตอนอื่นๆ ด้วย จึงน่าจะเป็นสาเหตุของความไม่ประสบความสำเร็จในการนำวัคซีนมะเร็งมาใช้ในงานวิจัยทางคลินิกขนาดใหญ่ เพราะฉะนั้นการนำวัคซีนมะเร็งมาใช้คู่กับยาภูมิคุ้มกันบำบัดประเภทอื่นๆ เช่น check point inhibitors จึงน่าจะเป็นทางที่ช่วยเสริมประสิทธิภาพของการรักษาแต่ละแบบให้ได้ผลดีที่สุดต่อผู้ป่วยโรคมะเร็ง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.นพ.ปกรัฐ หัสสสูต หน่วยไวรัสวิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และ อ.พญ.ศุลีพร อุตมาภินันท์ หน่วยมะเร็งวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ ในการอนุเคราะห์ข้อมูลและอ่านตรวจทานบทความ

ภาพประกอบบทความ โดย อ.พญ.สาริน กิจพาณิชย์

เอกสารอ้างอิง

1. Riedel S. Edward Jenner and the history of smallpox and vaccination. Proc (Bayl Univ Med Cent) 2005; 18:21-5.
2. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Cellular and Molecular Immunology. Ninth ed. Philadelphia: Elsevier; 2017.
3. Chen DS, Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. Immunity 2013;39: 1-10.
4. Gajewski TF, Schreiber H, Fu YX. Innate and adaptive immune cells in the tumor microenvironment. Nat Immunol 2013;14:1014-22.
5. Woo SR, Corrales L, Gajewski TF. Innate immune recognition of cancer. Annu Rev Immunol 2015;33: 445-74.
6. Chen DS, Mellman I. Elements of cancer immunity and the cancer-immune set point. Nature 2017;541: 321-30.
7. Burnette BC, Liang H, Lee Y, Chlewicki L, Khodarev NN, Weichselbaum RR, et al. The efficacy of

radiotherapy relies upon induction of type i interferon-dependent innate and adaptive immunity. Cancer Res 2011;71:2488-96.

8. Michaud M, Martins I, Sukkurwala AQ, Adjemian S, Ma Y, Pellegatti P, et al. Autophagy-dependent anticancer immune responses induced by chemotherapeutic agents in mice. Science 2011;334: 1573-7.
9. Martínez-Lostao L, Anel A, Pardo J. How Do Cytotoxic Lymphocytes Kill Cancer Cells? Clinical Cancer Research 2015;21:5047.
10. Maruhashi T, Okazaki IM, Sugiura D, Takahashi S, Maeda TK, Shimizu K, et al. LAG-3 inhibits the activation of CD4(+) T cells that recognize stable pMHCII through its conformation-dependent recognition of pMHCII. Nat Immunol 2018;19: 1415-26.
11. Das M, Zhu C, Kuchroo VK. Tim-3 and its role in regulating anti-tumor immunity. Immunol Rev 2017;276: 97-111.
12. Qian BZ, Pollard JW. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis. Cell 2010;141: 39-51.
13. Ostrand-Rosenberg S, Sinha P. Myeloid-derived suppressor cells: linking inflammation and cancer. J Immunol 2009;182:4499-506.
14. Guo C, Manjili MH, Subjeck JR, Sarkar D, Fisher PB, Wang XY. Therapeutic cancer vaccines: past, present, and future. Adv Cancer Res 2013;119: 421-75.
15. Aldous AR, Dong JZ. Personalized neoantigen vaccines: A new approach to cancer immunotherapy. Bioorg Med Chem 2018;26:2842-9.
16. Banchereau J, Palucka K. Immunotherapy: Cancer vaccines on the move. Nat Rev Clin Oncol 2018;15: 9-10.
17. Nielsen M, Lundegaard C, Blicher T, Lamberth K, Harndahl M, Justesen S, et al. NetMHCpan, a method for quantitative predictions of peptide binding to any HLA-A and -B locus protein of known sequence. PLoS One 2007;2:e796.
18. Nielsen M, Lundegaard C, Worning P, Lauemoller SL, Lamberth K, Buus S, et al. Reliable prediction of T-cell epitopes using neural networks with novel sequence representations. Protein Sci 2003;12:1007-17.

19. Rammensee H, Bachmann J, Emmerich NP, Bachor OA, Stevanovic S. SYFPEITHI: database for MHC ligands and peptide motifs. Immunogenetics 1999;50:213-9.
20. Ophir E, Bobisse S, Coukos G, Harari A, Kandalaft LE. Personalized approaches to active immunotherapy in cancer. Biochim Biophys Acta 2016;1865:72-82.
21. Schwartzentruber DJ, Lawson DH, Richards JM, Conry RM, Miller DM, Treisman J, et al. gp100 peptide vaccine and interleukin-2 in patients with advanced melanoma. N Engl J Med 2011;364:2119-27.
22. Ott PA, Hu Z, Keskin DB, Shukla SA, Sun J, Bozym DJ, et al. An immunogenic personal neoantigen vaccine for patients with melanoma. Nature 2017;547:217-21.
23. Kenter GG, Welters MJ, Valentijn AR, Lowik MJ, Berends-van der Meer DM, Vloon AP, et al. Vaccination against HPV-16 oncoproteins for vulvar intraepithelial neoplasia. N Engl J Med 2009;361:1838-47.
24. Rahma OE, Hamilton JM, Wojtowicz M, Dakheel O, Bernstein S, Liewehr DJ, et al. The immunological and clinical effects of mutated ras peptide vaccine in combination with IL-2, GM-CSF, or both in patients with solid tumors. J Transl Med 2014; 12:55.
25. Keskin DB, Anandappa AJ, Sun J, Tirosh I, Mathewson ND, Li S, et al. Neoantigen vaccine generates intratumoral T cell responses in phase Ib glioblastoma trial. Nature 2018.
26. McNamara MA, Nair SK, Holl EK. RNA-Based Vaccines in Cancer Immunotherapy. J Immunol Res 2015; 2015:794528.
27. Sahin U, Derhovanessian E, Miller M, Kloke BP, Simon P, Lower M, et al. Personalized RNA mutanome vaccines mobilize poly-specific therapeutic immunity against cancer. Nature 2017;547:222-6.
28. Larocca C, Schlom J. Viral vector-based therapeutic cancer vaccines. Cancer J 2011;17:359-71.
29. Kantoff PW, Schuetz TJ, Blumenstein BA, Glode LM, Bilhartz DL, Wyand M, et al. Overall Survival Analysis of a Phase II Randomized Controlled Trial of a Poxviral-Based PSA-Targeted Immunotherapy in

Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. Journal of Clinical Oncology 2010;28:1099-105.

30. Singh P, Pal SK, Alex A, Agarwal N. Development of PROSTVAC immunotherapy in prostate cancer. Future Oncol 2015;11:2137-48.
31. Gulley JL, Borre M, Vogelzang NJ, Ng S, Agarwal N, Parker CC, et al. Results of PROSPECT: A randomized phase 3 trial of PROSTVAC-V/F (PRO) in men with asymptomatic or minimally symptomatic metastatic, castration-resistant prostate cancer. Journal of Clinical Oncology 2018; 36:5006-.
32. Gonzalez FE, Gleisner A Fau - Falcon-Beas F, Falcon-Beas F Fau - Osorio F, Osorio F Fau - Lopez MN, Lopez Mn Fau-Salazar-Onfray F, Salazar-Onfray F. Tumor cell lysates as immunogenic sources for cancer vaccine design. Hum Vaccin Immunother 2014;10:9.
33. Kawahara M, Takaku H. A tumor lysate is an effective vaccine antigen for the stimulation of CD4(+) T-cell function and subsequent induction of antitumor immunity mediated by CD8(+) T cells. Cancer biology & therapy 2015;16:1616-25.
34. Chiang CL, Coukos G, Kandalaft LE. Whole Tumor Antigen Vaccines: Where Are We? Vaccines (Basel) 2015;3:344-72.
35. Fiedler K, Lazzaro S, Lutz J, Rauch S, Heidenreich R. mRNA Cancer Vaccines. Recent Results Cancer Res 2016;209:61-85.
36. Lopez MN, Pereda C, Segal G, Munoz L, Aguilera R, Gonzalez FE, et al. Prolonged survival of dendritic cell-vaccinated melanoma patients correlates with tumor-specific delayed type IV hypersensitivity response and reduction of tumor growth factor beta-expressing T cells. J Clin Oncol 2009;27:945-52.
37. Hernando JJ, Park TW, Kubler K, Offergeld R, Schlebusch H, Bauknecht T. Vaccination with autologous tumour antigen-pulsed dendritic cells in advanced gynaecological malignancies: clinical and immunological evaluation of a phase I trial. Cancer Immunol Immunother 2002;51:45-52.
38. Murphy G, Tjoa B, Ragde H, Kenny G, Boynton A. Phase I clinical trial: T-cell therapy for prostate cancer using autologous dendritic cells

pulsed with HLA-A0201-specific peptides from prostate-specific membrane antigen. Prostate 1996; 29:371-80.

39. Small EJ, Schellhammer PF, Higano CS, Redfern CH, Nemunaitis JJ, Valone FH, 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 Oncol 2006;24: 3089-94.
40. Kantoff PW, Higano CS, Shore ND, Berger ER, Small EJ, Penson DF, et al. Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer. N Engl J Med 2010;363: 411-22.
41. Taylor GS, Jia H, Harrington K, Lee LW, Turner J, Ladell K, et al. A recombinant modified vaccinia ankara vaccine encoding Epstein-Barr Virus (EBV) target antigens: a phase I trial in UK patients with EBV-positive cancer. Clin Cancer Res 2014;20:5009-22.
42. Aggarwal C, Cohen R, Morrow MP, Bauml J, Weinstein G, Boyer J, et al. Immunotherapy with VGX-3100 (HPV16 and HPV18 plasmids) + INO-9012 (DNA encoding IL-12) in human papillomavirus (HPV) associated head and neck squamous cell carcinoma (HNSCCa): interim safety and immunogenicity results. Journal for ImmunoTherapy of Cancer 2015;3:P426.
43. Reuschenbach M, Rafiyan M, Pauligk C, Karbach J, Kloor M, Prigge E-S, et al. Phase I/IIa trial targeting p16INK4a by peptide vaccination in patients with human papillomavirus-associated cancer. Journal of Clinical Oncology 2015;33:e14030-e.
44. Rodriguez PC, Popa X, Martinez O, Mendoza S, Santiesteban E, Crespo T, et al. A Phase III Clinical Trial of the Epidermal Growth Factor Vaccine CIMAvax-EGF as Switch Maintenance Therapy in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Patients. Clin Cancer Res 2016;22: 3782-90.
45. Saavedra D, Neninger E, Rodriguez C, Viada C, Mazorra Z, Lage A, et al. CIMAvax-EGF: Toward long-term survival of advanced NSCLC. Semin Oncol 2018;45:34-40.

46. Dy G, Dozier A, Reid M, Lee K, Miller A, Wallace P, et al. Interim results from a phase I/II trial of nivolumab in combination with CIMAvax-EGF as second line therapy in advanced NSCLC. Proceedings of the IASLC 19th World Conference on Lung Cancer; 2018 Sep 23-26; Toronto, Canada p 509.
47. Butts C, Socinski MA, Mitchell PL, Thatcher N, Havel L, Krzakowski M, et al. Tecemotide (L-BLP25) versus placebo after chemoradiotherapy for stage III non-small-cell lung cancer (START): a randomised, double-blind, phase 3 trial. Lancet Oncol 2014;15:59-68.
48. Giaccone G, Bazhenova LA, Nemunaitis J, Tan M, Juhasz E, Ramlau R, et al. A phase III study of belagenpumatucel-L, an allogeneic tumour cell vaccine, as maintenance therapy for non-small cell lung cancer. Eur J Cancer 2015;51: 2321-9.
49. Vansteenkiste JF, Cho BC, Vanakesa T, De Pas T, Zielinski M, Kim MS, et al. Efficacy of the MAGE-A3 cancer immunotherapeutic as adjuvant therapy in patients with resected MAGE-A3-positive non-small-cell lung cancer (MAGRIT): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. Lancet Oncol 2016;17: 822-35.
50. Miles D, Roche H, Martin M, Perren TJ, Cameron DA, Glaspy J, et al. Phase III multicenter clinical trial of the sialyl-TN (STn)-keyhole limpet hemocyanin (KLH) vaccine for metastatic breast cancer. Oncologist 2011;16:1092-100.
51. Miles D, Papazisis K. Rationale for the clinical development of STn-KLH (Theratope) and anti-MUC-1 vaccines in breast cancer. Clin Breast Cancer 2003;3 Suppl 4: S134-8.
52. Benavides LC, Gates JD, Carmichael MG, Patil R, Holmes JP, Hueman MT, et al. The impact of HER2/neu expression level on response to the E75 vaccine: from U.S. Military Cancer Institute Clinical Trials Group Study I-01 and I-02. Clin Cancer Res 2009;15:2895-904.
53. Efficacy and Safety Study of NeuVax(TM) (Nelipepimut-S or E75) Vaccine to Prevent Breast Cancer Recurrence (PRESENT). http://

clinicaltrials.gov/show/NCT 01479244 10 January 2019, date last accessed.

54. Mittendorf EA, Ardavanis A, Litton JK, Shumway NM, Hale DF, Murray JL, et al. Primary analysis of a prospective, randomized, single-blinded phase II trial evaluating the HER2 peptide GP2 vaccine in breast cancer patients to prevent recurrence. Oncotarget 2016;7:66192-201.
55. Phase II Trial of Combination Immunotherapy With Nelipepimut-S + GM-CSF (NeuVax™) and Trastuzumab in High-risk HER2+ Breast Cancer Patients. https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02297698 13 January 2019, date last accessed.
56. Mittendorf EA, Ardavanis A, Symanowski J, Murray JL, Shumway NM, Litton JK, et al. Primary analysis of a prospective, randomized, single-blinded phase II trial evaluating the HER2 peptide AE37 vaccine in breast cancer patients to prevent recurrence. Ann Oncol 2016;27: 1241-8.
57. Mittendorf EA, Clifton GT, Holmes JP, Schneble E, van Echo D, Ponniah S, et al. Final report of the phase I/II clinical trial of the E75 (nelipepimut-S) vaccine with booster inoculations to prevent disease recurrence in high-risk breast cancer patients. Ann Oncol 2014;25:1735-42.
58. Mittendorf EA, Clifton GT, Holmes JP, Clive KS, Patil R, Benavides LC, et al. Clinical trial results of the HER-2/neu (E75) vaccine to prevent breast cancer recurrence in high-risk patients: from US Military Cancer Institute Clinical Trials Group Study I-01 and I-02. Cancer 2012;118: 2594-602.
59. Heery CR, Ibrahim NK, Arlen PM, Mohebtash M, Murray JL, Koenig K, et al. Docetaxel Alone or in Combination With a Therapeutic Cancer Vaccine (PANVAC) in Patients With Metastatic Breast Cancer: A Randomized Clinical Trial. JAMA Oncol 2015;1:1087-95.
60. Kawamura J, Sugiura F, Sukegawa Y, Yoshioka Y, Hida JI, Hazama S, et al. Multicenter, phase II clinical trial of peptide vaccination with oral chemotherapy following curative resection for stage III

colorectal cancer. Oncol Lett 2018; 15:4241-7.

61. Rodriguez J, Castanon E, Perez-Gracia JL, Rodriguez I, Viudez A, Alfaro C, et al. A randomized phase II clinical trial of dendritic cell vaccination following complete resection of colon cancer liver metastasis. J Immunother Cancer 2018;6:96.
62. Weller M, Butowski N, Tran DD, Recht LD, Lim M, Hirte H, et al. Rindopepimut with temozolomide for patients with newly diagnosed, EGFRvIII-expressing glioblastoma (ACT IV): a randomised, double-blind, international phase 3 trial. Lancet Oncol 2017;18:1373-85.
63. Malkki H. Trial Watch: Glioblastoma vaccine therapy disappointment in Phase III trial. Nat Rev Neurol 2016; 12:190.
64. Neagu MR, Reardon DA. Rindopepimut vaccine and bevacizumab combination therapy: improving survival rates in relapsed glioblastoma patients? Immunotherapy 2015; 7:603-6.
65. Narita Y, Arakawa Y, Yamasaki F, Nishikawa R, Aoki T, Kanamori M, et al. A randomized, double-blind, phase III trial of personalized peptide vaccination for recurrent glioblastoma. Neuro Oncol 2018.