

Terapeutiska vacciner mot cancer och infektionssjukdomar

Stora möjligheter i forskningen – små framsteg i kliniken hittills



ROLF KIESSLING, professor i experimentell onkologi, överläkare, Radiumhemmet, Karolinska Universitetssjukhuset Solna
rolf.kiessling@ki.se

KARL LJUNGBERG, med dr, institutionen för onkologi och patologi Karolinska institutet,

Stockholm
ALEXANDER VON GABAIN, PhD, professor i mikrobiologi, Max Perutz-laboratoriet i Wien, adjungerad professor, Karolinska institutet, Stockholm

Under de senaste 100 åren har vaccinationsprogram blivit en integrerad del av den förebyggande hälsovården i industriländerna och haft avgörande betydelse för att kontrollera spridningen av infektionssjukdomar. Dessutom har införandet av vaccinationsprogram varit den kanske viktigaste bidragande orsaken till höjd livskvalitet och minskad dödlighet i utvecklingsländerna.

Trots att ett par hundra år har gått sedan Edward Jenner år 1798 beskrev ett vaccin mot smittkoppor finns ännu inget förebyggande vaccin mot många bakterie-, parasit- och virussjukdomar, såsom malaria, heptatit C-virus och HIV. Genom den kunskaps explosion som skett inom molekylärbio logisk och immunologisk grundforskning och inom mer tillämpad bioteknologisk vaccinutveckling har ett flertal nya vacciner nått marknaden de senaste åren. Som exempel kan nämnas heptatit B-vaccin, som framstälts genom rekombinant DNA-teknologi, och de nya influensavacciner där produktionen lagts om från att vara baserad på kycklingägg till «subenhetsvaccin», baserad på cellodlingssystem.

Förutsättningen för att vaccin mot infektionssjukdomar ska fungera är att det ges innan personen insjuknat. Men den snabba utvecklingen av förebyggande vacciner har banat vägen för att vi även ska kunna framställa terapeutiska vacciner. Denna grupp av vacciner har det gemensamt att de syftar till att bota eller minska lidandet hos personer som redan är sjuka. Termen »terapeutiska vacciner« kan tyckas motsägelsefull, då vaccin egentligen definieras som något som ska förebygga sjukdomar, och det kan diskuteras om inte terapeutiska vacciner mer är en form av immunterapi än ett vaccin. Men eftersom förebyggande och terapeutiska vacciner har mycket gemensamt när det gäller det praktiska utförandet och de ingående komponenterna, och till viss del även verkningsmekanismen, är denna term allmänt vedertagen. Stora satsningar på terapeutiska vacciner pågår inom både akademisk forskning och läkemedelsföretag, och denna forskning går över gränserna mellan flera olika forskningsdiscipliner, såsom infektionsimmunologi, tumörimmunologi och autoimmunitetsforskning.

Få fungerande terapeutiska vacciner hittills

Finns det förutsättningar för att terapeutiska vacciner ska kunna fungera? Ett stort antal företag och akademiska forskargrupper arbetar med detta koncept mot ett synnerligen brett register av sjukdomar. Detta innefattar så skilda sjukdomar

som cancer, kroniska virus- och bakterieinfektioner, exempelvis HIV, hepatit C och B, Helicobacter och HPV men även autoimmuna tillstånd som MS och diabetes samt Alzheimers sjukdom och prionsjukdomar, såsom spongiform encefalit och Creutzfeldt-Jakobs sjukdom. Till terapeutiska vacciner kan även räknas vissa som tillhör den grupp som ofta kallas för »välfärdsvacciner«, dvs vacciner som angriper hälsoproblem som har sin orsak i vår livsstil och vårt beteende, t ex fetma, ateroskleros, karies och nikotin- och kokainberoende.

Trots all forskning finns det ännu inget genombrott när det gäller framställningen av ett fungerande terapeutiskt vaccin mot något av dessa så vitt skilda sjukdomstillstånd. De terapeutiska vacciner som kanske visat allra störst positiv klinisk effekt är alzheimervaccinerna, där effekterna i en klinisk studie med ett vaccin (företaget Elan) var otvetydigt positiva, med helt avstannande demens och upplösande av plack i CNS. Tyvärr drabbades några få av de vaccinerade patienterna av meningoencefalit, kopplad till om de hade mycket hög koncentration av betaamyloid i hjärnans blodkärlsväggar.

De största antalet kliniska studier med terapeutiska vacciner är dock de mot kroniska virussjukdomar och cancer, och vi vill här försöka kommentera några av de försök som pågår inom detta område.

Adjuvans viktigt tillbehör till vacciner

Det kan förefalla paradoxalt att man med terapeutiska vacciner vill behandla sjukdomar genom att tillföra ännu mer av det antigen som redan borde finnas tillgängligt från det agens som orsakade sjukdomen. Här finns paralleller till talesätt inom folkmedicinen, som att behandla olika tillstånd med »the hair of the dog that bit you« eller »more of the same«. Ett modernt sätt att se på denna paradox är att trots att antigen från en kronisk virus- eller bakterieinfektion eller från den maligna tumören redan finns i den sjuka patienten så uppfattas det inte som

SAMMANFATTAT

För att vaccin mot infektionssjukdomar ska fungera är en förutsättning att det ges innan personen insjuknat.

Den snabba utvecklingen av förebyggande vacciner har banat vägen för att vi även ska kunna framställa terapeutiska vacciner, som syftar till att bota eller minska lidandet hos personer som redan är sjuka.

Stora satsningar på terapeutiska vacciner pågår både inom akademisk forskning

och hos läkemedelsföretag. Denna forskning går över gränserna mellan flera olika forskningsdiscipliner, såsom infektionsimmunologi, tumörimmunologi och autoimmunitetsforskning.

Genom att kombinera olika antigener med nya adjuvans och vaccinationsmetoder finns det hopp om att terapeutiska vacciner kommer att ingå i den framtida behandlingsarsenalen mot vissa cancer- och infektionssjukdomar.

»farligt« för immunsystemet. Detta gäller ju även de icke-patogena tarmbakterier som koloniserar våra tarmar utan att aktivera immunförsvaret.

Avgörande för om immunsystemet ska aktiveras är därför inte bara att ett främmande ämne innehåller icke-kroppsegna antigener utan även att det främmande antigenet presenteras för immunsystemet på ett sådant sätt att det upplevs som en fara för individen. Man kan säga att den viktigaste egenskapen hos terapeutiska vacciner är just att de ska få antigenet att framstå som farligt och därför »kickstarta« immunförsvaret. Här kommer vikten av att utveckla effektiva vaccinadjuvans in.

Adjuvans (av latinets adjuvare, att hjälpa) är ämnen som förbättrar vaccinet förmåga och som är av avgörande betydelse för vaccinet effektivitet, inte minst när det gäller terapeutiska vacciner. Många adjuvans verkar genom att aktivera makrofager och dendritiska celler, som är högt specialiserade och synnerligen effektiva vad gäller att aktivera T- och B-celler. På ytan av dendritiska celler finns en familj av molekyler, s k Toll-lika-receptorer (TLR), som först upptäcktes hos *Drosophila* och som har avgörande betydelse för aktiveringen av kroppens immunförsvaret (fruktflugor som saknar TLR går snabbt under i svampinfektioner!).

Den nya generationens adjuvans designas för att binda till TLR på dendritiska celler, vilket kan leda till effektiv aktivering av dessa och därmed av kroppens T-celler. Som ett exempel kan nämnas att bakteriella DNA-sekvenser, främst nukleotidbaserna cytosin och guanin, som hos bakterie-DNA saknar metyleringar (s k CpG-motiv), kan ge goda adjuvanseffekter. Dessa CpG-oligodeoxinukleotider (CpG-ODN) kan binda till TLR 9, och om de blandas med antigener på detta sätt öka effekten av virus- och tumörvacciner. Detta sker troligen genom att denna typ av adjuvans bryter den immunologiska »toleransen« för infektiösa agens och cancerceller, en avgörande egenskap för att terapeutiska vacciner ska ha förutsättningar att fungera.

Försök med terapeutiska vacciner mot virus

Arbetet med att få fram fungerande terapeutiska vacciner mot kroniska virusinfektioner kan ses som en av de största utmaningarna i modern medicinsk forskning. Svårigheten i denna utmaning illustreras kanske bäst av att man inte ens lyckats med att få fram profylaktiska vacciner mot HIV och hepatit C-virus. Förhoppningen har varit att man ska kunna bygga på resultaten från fungerande profylaktiska vacciner för att sedan kunna utveckla terapeutiska vacciner mot dessa virusinfektioner. Denna förhoppning fick nyligen ett allvarligt bakslag genom resultaten från läkemedelsföretaget Mercks profylaktiska HIV-vaccin. Besvikelsen var stor i forskarsamfundet när denna fas IIb-studie, som baserades på tre olika HIV-virus-komponenter (gag, pol och nef) administrerade med en adeno-virusvektor, stoppades då interimresultatet visade att vaccinet inte kunde skydda mot infektion. Pågående studier med terapeutiska HIV-vacciner har visat att det är möjligt att framkalla immunologiska svar mot de antigena komponenterna i vacciner, men inga klara positiva konsekvenser vad gäller kliniskt utfall har kunnat registreras.

Två profylaktiska vacciner mot livmodershalscancer, avsedda att skydda mot sjukdomar orsakade av humant papillomvirus (HPV) av typ 16 och 18, finns redan på marknaden. Men då en HPV-infektion väl har ägt rum kan utvecklingen fram till prekarinogena lesioner och sedan cancer ta 5–15 år, varför de förebyggande HPV-vaccinerna inte kommer att förhindra miljontals fall av dödlig cervixcancer de kommande 20 åren. Därför är de försök som pågår med att framställa terapeutiska vacciner som ska eliminera tidiga lesioner av cervixcancer mycket viktiga. Som exempel kan nämnas att en forskargrupp i Leiden

»... den viktigaste egenskapen hos terapeutiska vacciner är just att de ska få antigenet att framstå som farligt och därför »kickstarta« immunförsvaret.«

tagit fram ett terapeutiskt HPV-vaccin som bygger på syntetiska långa peptider från HPV 16-E6E7-proteinerna. I preliminära resultat från en fas I/II-studie har det visats att detta vaccin kunde framkalla ett T-cellssvar, reducera virusbördan och, hos vissa patienter, även leda till en tillbakabildning av de HPV-inducerade genitala lesionerna.

Även kronisk infektion med hepatit C-virus utgör ett attraktivt mål för terapeutisk vaccinutveckling. Infektion med detta virus leder hos majoriteten av de infekterade till en kronisk infektion, men en mindre andel av patienterna kan utveckla ett T-cellssvar som lyckas eliminera virusinfektionen. Målet med terapeutiska hepatit C-vacciner kan sägas vara att efterlikna detta »lyckade« T-cellssvar. Många olika företag arbetar med att utveckla strategier för terapeutisk vaccination mot hepatit C och utnyttjar olika virusantigener och olika adjuvans. Företaget Intercell rapporterade nyligen interimresultatet från en fas II-studie på patienter infekterade med den subtyp av hepatit C-virus som sällan svarar på standardbehandlingen med interferon/ribavirin. Dessa resultat visade en signifikant, om än låg, minskning av virusbördan i blodet, som korrelerade med induktion av virusspecifika T-celler.

Det finns många andra exempel på försök att utveckla terapeutiska vacciner mot kroniska virusinfektioner, såsom hepatit B-virus, HIV och herpes simplex-virus, som alla använder sig av olika moderna vaccinteknologier för att så effektivt som möjligt aktivera kroppens antigenpresenterande celler. Även om flera av dessa vaccinstudier visat effektiv aktivering av kroppens immunförsvaret och att de därmed har potential att kunna fungera så saknas fortfarande en stor kontrollerad studie som visar effekt på virusbördan.

Cancervaccin – försiktig optimism efter år av misslyckanden

När det gäller cancer kan man ofta konstatera att ett immunförsvaret redan aktiverats hos patienten men att det antingen är alltför svagt eller, oftare, är av »fel sort«. Exempelvis aktiverar det T-hjälpar-2-celler i stället för T-hjälpar-1-celler och har därför inte förutsättningen att kunna stöta bort cancercellerna. Syftet med ett terapeutiskt vaccin är därför att ge ett starkare immunologiskt svar, men kanske främst att ändra kvaliteten på immunsvaret, dvs åstadkomma en »omprogrammering« av immunsystemet. Detta har nu blivit möjligt genom de framsteg som gjorts inom medicinsk teknik, molekylärbiologi och modern immunologi, som har möjliggjort användning av molekylärt väldefinierade antigener och nya metoder för att administrera dessa tillsammans med nya adjuvans.

Endast en mindre andel av humana tumörer (15–20 procent) anses vara orsakade av virus eller bakterier, och utmaningen att framställa terapeutiska vacciner mot de vanliga cancerformer som inte är virusinducerade är desto större. Detta beror på att de tumörantigener som finns på cancercellerna, till skillnad från de kroppsfremmande antigenerna på bakterier eller virus, ofta utgörs av kroppsegna proteiner. Vårt immunförsvaret har utvecklat effektiva mekanismer för att motverka den autoimmunitet som en immunreaktion mot kroppsegna tumörantigener innebär. Detta utgör ett svårt hinder för framställningen av ett effektivt terapeutiskt cancertvaccin.

Typexempel på denna grupp av antigener är de enzymer som är aktiva vid melaninproduktionen hos både melanocyter och

maligna melanomceller. En annan grupp av tumörantigener är de s k cancer testis-antigenerna (CTA), som klonades från främst maligna melanom men som även uttrycks i andra tumörformer, dock inte i normal vävnad, med undantag av testis och fetal vävnad (därav namnet cancer testis-antigen). Ytterligare en grupp av intressanta tumörantigener är de proto-onkogenen som förekommer i flera olika typer av humana cancer-celler men som också finns uttryckt i låg mängd i vissa normala vävnader och därför kan betraktas som ett kroppseget antigen. Ett typexempel på dessa är HER2/neu- genen som är kraftigt överuttryckt i ca 20 procent av all bröstcancer. Överuttryck av HER2 är ett dåligt prognostiskt tecken och korrelerar till snabba sjukdomsförlopp och kortare överlevnadstid.

Inget genombrott i kliniken

Om man ska sammanfatta tumörvaccinförsöken i kliniken måste man konstatera att inget riktigt genombrott ännu ägt rum men att flera lovande kliniska resultat föreligger. Malignt melanom anses vara den tumörform som är mest »immunogen« och som har störst förmåga att aktivera kroppens immunförsvar, och (som kommenterats ovan) så kommer också de flesta tumörantigener som isolerats från denna tumörform. Paradoxalt nog har tumörvaccinförsök mot malignt melanom – av vilka nästan alla fas III-studier är baserade på hela tumör-celler eller tumörcellslisat – ännu inte visat någon signifikant klinisk effekt på de vaccinerade patienterna. Flera vacciner, som initialt förefallit lovande, har inte lyckats leva upp till förhoppningarna i större kliniska studier.

Mer lovande försök finns när det gäller prostatavaccin, icke-småcelligt lungkarcinom (NSCLC) och kolorektalcancer. Som exempel kan nämnas försök att vaccinera prostatacancerpatienter med autologa antigenpresenterande celler som aktiverats med ett rekombinant protein, som uttrycker både prostataprotein PAP (prostate acidic protein) och cytokinet GM-CSF (Sipuleucel-T, företaget Dendreon Co). I en stor fas III-, dubbelblindad, placebokontrollerad multicenterstudie på patienter med androgenoberoende prostatacancer visade detta vaccin en överlevnads fördel på 4,5 månader jämfört med placebovaccinerade kontrollpatienter. Ökad överlevnad har även kunnat påvisas hos patienter med NSCLC som vaccinerats med ett vaccin (Stimuvax från Merck KGaA) som utgörs av en 20 aminosyror lång peptid från den mycket antigena extracellulära delen av tumörantigenet MUC-1. MUC-1 finns både på normala epitelceller och på NSCLC men har på tumörcellerna ett onormalt glykosyleringsmönster, vilket kan aktivera immunsystemet. Detta vaccin är särskilt intressant då det ges i form av en liposom tillsammans med ett effektivt adjuvans, MPL (monofosforyllipid A, ett derivat av endotoxinmolekylen LPS), som effektivt aktiverar immunsystemet.

Kombinationsbehandling kan vara nyckeln till framgång

En stor utmaning avseende försöken att få terapeutiska vacciner att fungera är förmågan hos både tumör- och virusinfekterade celler att »fly undan« igenkänning av immunsvaret. Detta kan ske antingen genom att de infekterade cellerna eller cancercellerna »tappar« uttrycket av det antigen som immunsvaret är riktat mot eller genom att deras cellyta uppvisar nedsett uttryck av de HLA klass I-molekyler som behövs för att de ska kännas igen av de cytotoxiska T-cellerna. Genom att kombinera flera olika antigener i samma vaccin och genom att administrera vaccinet i tidigt stadium av sjukdomen kan risken för dessa immunologiska flyktmekanismer minskas avsevärt.

Ett annat exempel på försök att få mer effektiva vacciner är s k prime boost-strategier, där man i sekvens kan använda först ett DNA-vaccin följt av vaccination med en viral vektor som ut-

trycker samma antigen, alternativt använda två olika virala vaccinvektorer i sekvens. På detta sätt erhålls både ett starkare och ett bredare immunsvaret än om endast en vaccinationsmetod hade använts, vilket man tror beror på att den första vaccinationen aktiverar »minnes-T-cellerna«, medan den andra vaccinationen ökar deras antal. Denna strategi prövas i profylaktiska och terapeutiska vacciner mot HIV, malaria, tuberkulos och cancer, men ännu saknas data som styrker de kliniska effekterna.

Det finns nu även en ökad insikt bland vaccinforskare om vikten av att kombinera terapeutiska vacciner med andra behandlingsmetoder. När det gäller kroniska virusjukdomar, exempelvis HCV, är det viktigt att först reducera virusbördan med hjälp av inhibitorer av den virala replikationen. På detta sätt minskas risken för att varianter av viruset kan uppkomma som tappat uttrycket av antigenet och på så sätt undgår upptäckt av det vaccininducerade immunsvaret (se ovan). Av samma anledning försöker man nu applicera terapeutiska cancer-vacciner efter det att tumörbördan minskat genom konventionella behandlingsmetoder.

Det har även beskrivits att patienter som genomgått behandling med cancervaccin ofta får ett bättre svar på efterföljande kemoterapi. Detta kan ha flera orsaker: dels kan cancer-celler som följt av immunterapi ha blivit mer känsliga för kemoterapi, dels kan kemoterapi göra tumören mer tillgänglig för tumorspecifika T-celler genom att förstöra endotelcellerna och tumörstromat. En annan mer välstuderad effekt av kemoterapi, främst icke-myeloablativ kemoterapi med cyklofosamid och fluadaramid, är förmågan att slå ut de s k regulatoriska T-cellerna (T-reg). På detta sätt förhindras den negativa effekten av T-reg-celler på de tumorspecifika T-cellerna, vilket nu prövas i flera olika kliniska försöksserier. Även andra metoder att slå ut de mekanismer som hämmar immunförsvaret har kombinerats med tumörvaccin, t ex rekombinanta molekyler eller antikroppar som syftar till att blockera CTLA-4-molekylen, som har känd förmåga att hämma tumorspecifika T-celler.

Sammantaget kan man säga att nyckeln till framgång när det gäller terapeutiska vacciner kommer att ligga i intelligenta kombinationsbehandlingar, där kreativa kombinationer av antigen, adjuvans och administreringsätt kombineras med andra behandlingsprinciper. Detta ställer stora krav på samarbetsförmåga mellan olika akademiska forskargrupper och, inte minst, mellan olika läkemedelsföretag, mellan vilka det kommer att bli nödvändigt att utveckla »partnerskap« för att kunna kombinera patentskyddade teknologier. De sammantagna resultaten från de gångna åren ger dock hopp om att terapeutiska vacciner kommer att ingå i den framtida behandlingsarsenalen mot vissa cancer- och infektionssjukdomar.

■ *Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Rolf Kiessling är medlem i företaget Dendreon Co:s vetenskapliga rådgivande kommitté. Alexander von Gabain är Chief Scientific Officer och grundare av företaget Intercell AG samt äger aktier i detta företag.*

ÖVERSIKTLREFERENSER

1. Bijker MS, Melief CJ, Offringa R, van der Burg SH. Design and development of synthetic peptide vaccines: past, present and future. *Expert Rev Vaccines*. 2007;6:591-603.
2. Kiessling R, Choudhury A. Cancer vaccines. *Br J Surg*. 2007;94:1449-50.
3. Schlom J, Arlen PM, Gulley JL. Cancer vaccines: moving beyond current paradigms. *Clin Cancer Res*. 2007;13:3776-82.
4. Wack A, Rappuoli R. Vaccinology at the beginning of the 21st century. *Curr Opin Immunol*. 2005;17:411-8.
5. Garland SM, Hernandez-Avila M, Wheeler CM, Perez G, Harper DM, Leodolter S, et al. Quadrivalent vaccine against human papillomavirus to prevent anogenital diseases. *N Engl J Med*. 2007;356:1928-43.