

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2010.02.020

HER-2/neu 肿瘤疫苗的研究进展

赵丽丽,姜北海[▲],寿成超(北京大学临床肿瘤学院 北京肿瘤医院暨北京市肿瘤防治研究所 生化与分子生物学实验室 恶性肿瘤发病机制及转化研究教育部重点实验室,北京 100142)

[摘要] 原癌基因 HER-2/neu 在多种恶性肿瘤中有扩增及过表达,近 30% 的原发性乳腺癌患者有 HER-2/neu 过表达。针对 HER-2 靶点的特异性人源化抗体曲妥单抗(trastuzumab;又名赫赛汀,Herceptin)在上世纪 90 年代已用于临床治疗。目前针对 HER-2 的肽疫苗、蛋白疫苗、细胞疫苗、DC 相关疫苗、以及 DNA 疫苗等的研究,均已取得一定进展,如小肽 E75(p369-399)与 GM-CSF 联合应用,在 HLA-A2(+)/A3(+)乳腺癌患者的 II 期临床试验中显示出一定疗效;针对编码 HER-2 的 DNA 疫苗已经进入临床试验阶段,这些疫苗均有可能成为乳腺癌治疗的又一个重要手段。但这些疫苗距临床实际使用尚有一定的距离,有许多问题有待解决和需要进一步的临床验证。

[关键词] 肿瘤;HER-2/neu;疫苗;曲妥单抗

[文献标志码] A [文章编号] 1007-385X(2010)02-0221-06

Recent progress of HER-2/neu cancer vaccines

ZHAO Li-li, JIANG Bei-hai[▲], SHOU Chen-chao (Peking University School of Oncology, Beijing Cancer Hospital & Beijing Institute for Cancer Research, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Key Laboratory of Carcinogenesis and Translational Research, Ministry of Education, Beijing 100142, China)

[Abstract] Overexpression of HER-2/neu oncogene is a frequent molecular event in multiple human cancers, including in approximately 30% of all primary breast cancer case. The humanized anti-HER-2 monoclonal antibody, trastuzumab (also named as herceptin), has been proven to be effective in patients with HER-2-associated metastatic breast cancer since 1990s. Great progress has been made in developing various vaccines targeting HER-2, including peptide vaccines, protein vaccines, cell vaccines, dendritic cell-associated vaccines, and DNA vaccines. For example, peptide E75 (p369-399) combined with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) has been shown effective for HLA-A2 (+)/A3 (+) stage II breast cancer patients, and HER-2-targeted DNA vaccine has already entered clinical trials. They might be important ways for treatment of breast cancer. Anyhow, there are still a lot of problems need to be addressed before their application in clinical practice.

[Key words] neoplasms; HER-2/neu; vaccine; trastuzumab

[Chin J Cancer Biother, 2010, 17(2): 221-226]

人类通过疫苗接种已有效控制了多种感染性疾病如天花、脊髓灰质炎等的发生和蔓延。随着宫颈癌疫苗的临床应用,人们希望可以应用预防性肿瘤疫苗,最终有效控制肿瘤的发生和发展。HER-2/neu (HER-2)是一个相对分子质量为 185 000 的具有酪氨酸激酶活性的膜蛋白受体,属于表皮生长因子受体家族成员。它较少表达于正常组织,但可表达于多种肿瘤组织,在原发性乳癌中的过表达率近 30%,它的过表达往往与患者预后不良有关。由于 HER-2 是一个具有胞外区的跨膜蛋白,因此可作为肿瘤特异性免疫治疗的靶点。针对 HER-2 的特异性抗体曲妥单抗(trastuzumab;又名赫赛汀,Her-

ceptin)已广泛用于 HER-2 阳性乳癌患者的治疗^[1]。此外,应用主动免疫治疗,诱导 HER-2 高表达的转移性乳腺癌患者产生抗 HER-2 的免疫反应也是有效的免疫治疗方法。但由于 HER-2 是自身蛋白,用

[基金项目] 国家高技术研究发展计划(863 计划)项目(No. 2007AA02A249)资助。Project supported by the National High Technology Research and Development Program (863 Program) of China (No. 2007AA02A249)

[作者简介] 赵丽丽(1982-),女,山西省长治市人,硕士生,主要从事小肽肿瘤疫苗方面的研究;姜北海(1976-),女,北京市人,博士,助理研究员,主要从事小肽肿瘤疫苗方面的研究。▲并列第一作者

[通信作者] 寿成超(SHOU Cheng-chao, corresponding author), E-mail: scc@bjcancer.org

完整的 HER-2 蛋白可使机体产生免疫耐受,不能有效引发抗 HER-2 的免疫反应^[2-3]。基于上述原因,目前开展的 HER-2 疫苗研究主要包括肽疫苗、蛋白疫苗、细胞疫苗、DC 相关 HER-2 疫苗以及 DNA 疫苗,以下对上述不同类型疫苗的研究进展作一综述。

1 HER-2 肽疫苗

由于来源于胞内区或胞外区的 HER-2 抗原可通过 HLA I 类或 II 类分子提呈至 CD8⁺ 或 CD4⁺ T 细胞,因此各种 HER-2 肽可作为针对乳癌免疫治疗的潜在刺激物。合成肽作为疫苗有多种优势:如肽结构简单、便于合成,应用合成肽可避免机体的免疫耐受,能诱导特异性免疫反应^[3]等。目前,已有多种 HER-2 肽疫苗处于临床试验阶段(表 1)。

Disis 等^[4]对 17 例乳腺癌和卵巢癌患者给予 HER-2 肽和 GM-CSF 混合免疫,通过酶联免疫斑点法(ELISPOT)检测 IFN- γ 产量,证明其中 9 例出现了 CD8⁺ 免疫反应,同时还诱导机体产生了抗 HER-2 的反应。Knutson 等^[5]对 19 例处于临床 III 期或 IV 期的乳腺癌或卵巢癌患者给予其他的 HLA 限制性 HER-2 表位(p369~384、p688~703、p971~984)以及 HLA-A2 表位(p369~377、p689~697、p971~979)。ELISPOT 检测提示,患者可产生长时间的免疫反应。由于 I 类表位肽的长度很短,常易导致 I 类表位抗原肽不稳定或聚集。为了克服这一缺陷, Murray 等^[6]人设计了包含 CTL 表位的 3 种 15 肽(p369~384、p688~703,以及 p971~984)作为混合疫苗,对 18 例 III 期和 IV 期乳癌患者,每月免疫 1 次,结果在末次免疫 1 年后仍可检测到 CD4⁺ 和 CD8⁺ 细胞反应。

前期研究^[7]发现,大多数患者在给予 4 种 II 类 HER-2 小肽后,可产生特异性 T 细胞反应。对 10 例 HER-2 过表达的乳腺癌或肺癌患者,皮内联合给与 4 种小肽的混合物与 GM-CSF 佐剂,25% 的患者出现 HER-2 肽特异性的 T 细胞免疫,50% 的患者出现 HER-2 肽特异性的抗体免疫反应。但患者没有产生针对 HER-2 整个蛋白的特异性 T 细胞或抗体免疫反应。另一个临床初步研究^[8]中,对 4 例 HLA-A2(+)、HER-2 过表达的转移性乳腺癌、卵巢癌或大肠癌患者给予来源于 HER-2 的 HLA-A2 结合表位——p369~377(E75)小肽免疫,同时加以弗氏佐剂。结果 3 例患者在第 1 次免疫后血液中就可检测到肽特异的 CTL 反应。Knutson 等^[9]应用相同的

HER-2 E75 肽和 HLA2 肽以及 GM-CSF 佐剂对 6 例 III 期或 IV 期乳腺癌或卵巢癌的患者进行免疫。结果显示,肽疫苗免疫后,虽然免疫反应持续时间较短,但患者可产生低水平肽特异的 CD8⁺ T 细胞免疫。

在另一个 I 期临床试验中, Murray 等^[10]应用 E75 肽疫苗与 GM-CSF 治疗 13 例转移性乳腺癌和 1 例卵巢癌,联合给予患者剂量逐步升高的 E75 (500~1 000 μg)与 250 μg GM-CSF,疫苗毒性反应较弱。4 例患者在小肽刺激后,出现了 E75 特异性的 CTL 反应,1 年后仍可在一些患者体内检测到 E75 特异性 CTLs。

在应用 E75 与 GM-CSF 联合免疫的 II 期临床试验中,对 186 例乳腺癌患者给予疫苗治疗,并评估 E75 疫苗对乳腺肿瘤复发的预防作用。其中对 101 例 HLA-A2(+)/A3(+)患者给予疫苗治疗,85 例 HLA-A2(-)/A3(-)患者作为对照组。结果显示,疫苗对患者毒性反应很小,患者出现疫苗剂量依赖性免疫反应。在 20 个月的随访中,免疫组患者肿瘤复发率为 5.6%,对照组患者复发率为 14.2% ($P=0.04$)。随着疫苗特异性免疫反应的减弱,随访 26 个月后两组的复发率无显著性差异,分别为 8.3%、14.8%,但复发的形式有显著性差异。对照组复发患者有 50% 出现骨转移,而免疫组复发患者无一例出现骨转移 ($P=0.05$)。同时免疫组复发患者病死率为 12.5%,而对照组复发患者病死率为 41.7%。总之 E75 对于诱导 HLA-A2(+)/A3(+)乳腺癌患者的抗 HER-2 免疫反应是安全有效的。上述 II 期临床试验的结果将推动 III 期临床试验的进程^[11-12]。

大部分小肽引发了针对 HER-2 的 CTL 反应,但是持续时间仍达不到理想状态。为了延长小肽疫苗免疫保护的时间, Mittendorf 等^[13]制定了可以激发 Th 细胞的免疫策略。Ii-Key 肽(LRMK)可以有效地通过 APC 的 MHC-II 类分子激活 Th 细胞。通过将 LRMK 连接到 HER-2/neu:776-790 的氨基末端,形成新的小肽 AE37。应用 AE37 与 GM-CSF 佐剂对 15 例乳腺癌患者进行免疫,患者给予不同剂量的 AE37(100~1 000 μg)和佐剂 GM-CSF(0~250 μg)。结果显示,疫苗毒性反应较弱,患者可耐受,1 级毒性反应占 40%,2 级毒性反应占 60%,无 3、4 级毒性反应。疫苗免疫人体后,产生了 CD4⁺ T 细胞反应。由于免疫时间尚短,长期的免疫效果有待于进一步观察。

表 1 进入临床试验的 HER-2 肽疫苗

疫 苗	入组患者	ELISPOT 阳性患者数	3/4 级 毒性反应	参考文献
HER-2 肽(p42-56, p98-114, p328-345, p776-790, p927-941, p1166-1180) + GM-CSF	HER-2 过表达晚期乳 腺癌或卵巢癌 17 例	9/17	无	[4]
HER-2 肽(p369-p384, p688-p703, p971-p984) + HLA-A2 肽(p369-p377, p689-p697, p971-p979) + GM-CSF	HER-2 过表达乳腺癌 或卵巢癌 19 例	5/19	无报道	[5]
HER-2 肽(p369-p384, p688-p703, p971-p984)	HER-2 过表达乳腺癌 18 例	无报道(CD4 ⁺ CD8 ⁺ 长期反应)	无报道	[6]
4 种 HER-2 肽(p98-114, p369-386, p776-790, p927-941) + GM-CSF	HER-2 过表达乳腺癌 或肺癌 8 例	2/8	无报道	[7]
HER-2 HLA-A2 表位肽 E75(p369-377) + 弗氏佐剂	HER-2 过表达结肠癌、 乳腺癌或卵巢癌 4 例	3/4	无	[8]
E75(p369-377) + GM-CSF	HER-2 过表达乳腺癌 或卵巢癌 6 例	无报道 (低水平 CTL)	无报道	[9]
E75(p369-377) + GM-CSF	HER-2 过表达乳腺癌 或卵巢癌 14 例	4/8	无	[10]
E75(p369-377) + GM-CSF	HER-2 过表达乳腺癌 186 例	无报道	无	[11]
AE37(LRMK + p776-790) + GM-CSF	淋巴结未转移、经过标 准化治疗、HER-2 过表 达乳腺癌 15 例	CD4 ⁺ T 细胞反应	无	[13]

此外,应用 HER-2 B 细胞表位也可引起肿瘤抑制性免疫反应^[14]。以曲妥单抗为靶分子,通过筛选噬菌体随机肽库,获得可模拟 HER-2 蛋白的 B 细胞表位的小肽,实验证实该小肽可诱导小鼠产生针对 HER-2 的体液和细胞免疫反应^[15]。

2 HER-2 蛋白疫苗

HER-2 蛋白疫苗研究比较广泛,主要集中在两方面,一是不同 HER-2 蛋白片段研究,二是增强免疫反应的佐剂研究。

在一个临床初步研究^[16]中,对 29 例 HER-2 过表达的乳腺癌或卵巢癌患者术后给予 HER-2 胞内区蛋白疫苗,每月 1 次,周期为 6 个月,同时给与 GM-CSF 作为佐剂。患者对疫苗耐受性良好,大多数患者出现了 HER-2 胞内区特异性 T 细胞免疫反

应和 IgG 类抗体反应。高剂量组患者出现特异性免疫的时间明显早于低剂量组。半数以上的患者在免疫结束后,维持特异性 T 细胞免疫达 9 ~ 12 个月。

Limentani 等^[17]进行了联合应用重组 HER-2 截断体蛋白与免疫佐剂分子的 I 期临床研究,对 15 例 II 或 III 期乳腺癌患者给予 20、100、500 μg 免疫,共 6 次。患者出现了针对 HER-2 胞内区和胞外区的抗体反应,其安全性良好。Kitano 等^[18]将 HER-2 蛋白 1 ~ 146 截断体(146HER-2)与胆固醇普鲁蓝(cholesteryl pullulan, CHP)的纳米粒子相混合,用此混合物(CHP-HER-2)作为疫苗对 9 例不同实体瘤患者进行了临床试验。其中 5 例患者在第 4 到 8 次免疫后可检测到 CD8⁺ 和(或)CD4⁺ T 免疫反应,且无明显不良反应。Seavey 等^[19]构建了减毒李斯特菌重组体疫苗,包含 HER-2 蛋白的胞外区或者胞内区,

其中含 HLA-A2 限制性表位在移植肿瘤的 FVB/N 小鼠腹腔注射免疫, 结果显示, 疫苗可以逆转或者减慢肿瘤生长, 而且产生了针对 HER-2 HLA-A2 限制性表位的免疫反应。

我国钟国成等^[20]对纯化的 HER-2 胞外配体第 2 结构域(RLD2)片段进行糖基化修饰, 后负载在 DC 表面, 致敏 T 淋巴细胞, 增强了 T 细胞特异性杀伤 SKBR3 细胞的能力。Dimitriadis 等^[21]用甘露糖修饰的 HER-2 胞外区免疫小鼠, 产生了 HER-2 特异性的抗体, 可以减少肿瘤细胞增殖, 产生的 CTL 在体外可以裂解肿瘤细胞。由于 CD11c 是主要表达在 DCs 表面的抗原受体, 针对 CD11c 的抗原可以提高特异性免疫反应。我国学者^[22]将针对 CD11c 的单链片段可变区(scFv)与 HER-2 蛋白胞外区进行融合, 该融合蛋白与 DC 激活的 CpG 寡核苷酸联合免疫小鼠, 产生了强烈的细胞和体液免疫反应, 可以阻滞 HER-2 阳性肿瘤生长, 而且该疫苗对免疫耐受的 BALB-neuT 鼠仍有效。

3 以细胞为基础的 HER-2 疫苗

最初的 HER-2 细胞疫苗(Tplex)是将表达 p185 和 MHC I 类分子的乳腺癌细胞与 IL-12 联合应用; 同时, 将 IL-12 基因导入乳腺癌细胞, 经丝裂霉素 C 处理后免疫小鼠。结果提示, HER-2 细胞疫苗可以预防小鼠发生乳腺癌, 并且延长小鼠生存期^[23]。

将 MDA-MB-231 乳腺癌细胞进行基因工程改造, 使之表达 HLA-A2、HER-2 和共刺激分子 CD80 (B7-1), 经放射线照射后, 辅以 GM-CSF 和 BCG 对 30 例 IV 期乳腺癌患者进行免疫治疗。结果显示, 其中 4 例患者疾病趋于稳定, 但未观察到肿瘤缩小; 4 例患者体内可检测到细胞因子; 1 例患者在末次免疫 24 个月后仍可检测到分泌 $\text{INF}\gamma$ 的 CD8^+ T 细胞; 1 例患者表现出肿瘤特异的 IL-5 反应^[24]。细胞疫苗虽然较为安全, 并且可以诱发肿瘤特异的免疫反应, 但疫苗的生产 and 保存困难, 同时容易污染, 这可能是其以后应用的主要障碍。

4 以 DC 为基础的 HER-2 疫苗

人们尝试应用多种方法加强靶抗原诱导的免疫反应, 应用 DC 是刺激机体产生免疫反应的有效策略。DC 高表达 HLA 复合物和共刺激因子 B7-1、B7-2、CD40、ICAM1、LFA-3 等, 同时可分泌一些细胞因子(如 IL-12), 并进一步活化 T 细胞。DC 可以刺激天然的或记忆性 T 细胞, 是迄今发现的最有效的

抗原提呈细胞。由于 DC 在外周血淋巴细胞中占比例很小(0.5%), 为了获得大量 DC, 可应用 GM-CSF 或 flt-3L 刺激活化骨髓前体细胞产生。此外, DC 也可通过外周血单核细胞产生。动物模型证明肿瘤抗原负载的 DC 可以活化特异性 CTL, 用 HER-2 腺病毒感染 DC 免疫小鼠, 可预防或延迟 neuT 转基因 BALB/c 鼠发生乳腺肿瘤^[25]。

Morse 等^[26]对 7 例临床 II、III、IV 期乳腺癌患者术后给予负载 HER-2 胞内区的 DC, 共给药 4 次, 每隔 3 周 1 次。结果提示, 疫苗毒性反应很弱, 6 例患者仅在注射部位出现迟发型超敏反应。ELISPOT 实验提示, 5 例患者出现 HER-2 特异性反应; 5 年随访显示, 6 例可检测到抗 HER-2 胞内区抗体, 无患者死亡。尽管临床试验规模较小, 但患者对疫苗的耐受性良好, 患者未出现心脏等器官的不良反应, 该结果有待扩大病例予以进一步验证。

以负载 E75 小肽的 DC 作为疫苗治疗转移性乳腺癌患者, 结果显示, 6 例试验患者中 1 例疾病保持稳定, 5 例疾病进展; 2 例患者出现 DTH 反应, 活检发现血管周围有 CD4 和 CD8 细胞浸润。所有患者均未出现免疫相关的毒性反应。因此对于晚期 HER-2 表达阳性的乳腺癌患者, 提示应用 E75 小肽或 HER-2 负载的 DC 是安全可行的。但由于产生的免疫反应较弱, 仍需要进一步优化 DC 的免疫策略^[27]。

5 HER-2 DNA 疫苗

1990 年, Wolff 等^[28]偶然发现在小鼠肌肉组织内注射质粒 DNA 后, 质粒携带的基因可在肌细胞内进行表达, 小鼠产生专一的免疫反应, 因此他们提出 DNA 可用于免疫的设想。DNA 疫苗有很多优点: (1) 表达蛋白经过了后期修饰; (2) 外源基因在体内存在时间较长, 免疫应答较持久; (3) 载体质粒可以将多种抗原的编码基因联合在一个质粒上进行免疫, 诱导对多种抗原成分的免疫反应; (4) 质粒载体稳定, 易储存。Orlandi 等^[29]将 Flt-3 配体基因与 HER-2 胞外区基因(neu)融合, 形成嵌合 Flneu 分子, 以此 FLneu DNA 疫苗免疫 FVB/N 鼠, 结果诱发了强烈的 HER-2 特异性 CD8^+ T 细胞反应。Yo 等^[30]以鼠 Flt3L 和 GM-CSF 共表达质粒(pFLAG)与 HER-2 疫苗(pN-neu)联合使用, 在小鼠体内产生了针对过表达 HER-2 膀胱癌细胞的 CD8^+ T 细胞介导的抗肿瘤免疫反应。

Slouts 等^[31]构建了表达分泌融合蛋白的 DNA 疫苗 pSecTag2-CTLA-4-ErbB2222, 该疫苗免疫小鼠

后产生了 HER-2 特异性抗体和 CTL 反应,抗瘤能力明显增强,近 80% 受试小鼠未长肿瘤。

利用不同的 HER-2 cDNA 片段构建 DNA 疫苗,如 DNA 疫苗 pE2A 由 HER-2 全长基因构成,同时将 p185 的活性部位 ATP 的结合位点 Lys753 突变为 Ala753,从而使转染细胞表达 p185,但不引起细胞的恶性转化;DNA 疫苗 pE2TM 由信号肽及编码 HER-2 胞外区和跨膜区的 DNA 组成,但缺乏细胞内激酶区;又如 DNA 疫苗 psecE2 编码氨基末端胞外区 1~505 个氨基酸,并以分泌形式表达。它们均可诱导细胞免疫和体液免疫反应,对 BALB/c 鼠和 C57BL/6 鼠产生保护性免疫反应。早期的 DNA 疫苗研究通常是单独肌肉注射 HER-2 DNA 疫苗,随后的研究同时给予 pGM-CSF 质粒,电穿孔免疫可加强基因表达和免疫反应^[32-36]。

目前已经开展应用 pVAX-E2A DNA 疫苗治疗 IV 期乳腺癌的小规模临床试验,在质粒免疫的同时给予低剂量 GM-CSF 和 IL-2 作为佐剂。结果显示,转移性乳腺癌受试患者未出现不良反应。此外,Merck 公司已启动 HER-2 和 CEA DNA 疫苗(V930)的 I 期临床试验,用于治疗 HER-2 和(或)CEA 表达阳性的 II、III、IV 期乳腺癌、结肠癌、卵巢癌或非小细胞肺癌患者,其临床疗效正在观察中^[32-36]。

De Giovanni 等^[23]发现,必须在转基因鼠幼年,或仅出现乳腺非典型增生时给予疫苗才可能完全预防乳腺癌的发生。简单地说,疫苗治疗需要“越早越好”,但这在实践中是不现实的。目前进行的临床试验通常是针对 III、或 IV 期晚期乳腺癌患者,这些患者的肿瘤细胞对化疗药物具耐药性,加之患者免疫系统严重缺陷,因此很难达到较好的临床疗效。因此,对患者的选择是需要认真研究的问题。虽然各种 HER-2 疫苗研究显示出一定的潜在应用前景,但 HER-2 疫苗距临床实际应用仍有一定距离,从剂型的确定、对象的选择到免疫时机的把握等,均有许多问题有待解决^[37-39]。

[参 考 文 献]

- [1] Spector NL, Blackwell KL. Understanding the mechanisms behind trastuzumab therapy for human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(34): 5838-5847.
- [2] Disis ML, Calenoff E, McLaughlin G, Murphy AE, Chen W, Groner B, *et al*. Existent T-cell and antibody immunity to HER-2/neu protein in patients with breast cancer [J]. *Cancer Res*, 1994, 54(1): 16-20.
- [3] Disis ML, Gralow JR, Bernhard H, Hand SL, Rubin WD, Cheever MA. Peptide-based, but not whole protein, vaccines elicit immunity to HER-2/neu, oncogenic self-protein [J]. *J Immunol*, 1996, 156(9): 3151-3158.
- [4] Disis ML, Grabstein KH, Sleath PR, Cheever MA. Generation of immunity to the HER-2/neu oncogenic protein in patients with breast and ovarian cancer using a peptide-based vaccine [J]. *Clin Cancer Res*, 1999, 5(6): 1289-1297.
- [5] Knutson KL, Schiffman K, Disis ML. Immunization with a HER-2/neu helper peptide vaccine generates HER-2/neu CD8 T cell immunity in cancer patients [J]. *J Clin Invest*, 2001, 107(4): 477-484.
- [6] Murray JL, Przepiora D, Ioannides CG. Clinical trials of HER-2/neu specific vaccines [J]. *Semin Oncol*, 2000, 27(6 Suppl 11): 71-75.
- [7] Salazar LG, Fikes J, Southwood S, Ishioka G, Knutson KL, Gooley TA, *et al*. Immunization of cancer patients with HER-2/neu derived peptides demonstrating high-affinity binding to multiple class II alleles [J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(15): 5559-5565.
- [8] Zaks TZ, Rosenberg SA. Immunization with a peptide epitope (p369-377) from HER-2/neu leads to peptide-specific cytotoxic T lymphocytes that fail to recognize HER-2/neu⁺ tumors [J]. *Cancer Res*, 1998, 58(21): 4902-4908.
- [9] Knutson KL, Schiffman K, Cheever MA, Disis ML. Immunization of cancer patients with a HER-2/neu, HLA-A2 peptide, p369-377, results in short-lived peptide specific immunity [J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8(5): 1014-1018.
- [10] Murray JL, Gillogly ME, Przepiora D, Brewer H, Ibrahim NK, Booser DJ, *et al*. Toxicity, immunogenicity, and induction of E75-specific tumor-lytic CTLs by HER-2 peptide E75(369-377) combined with granulocyte macrophage colony-stimulating factor in HLA-A2⁺ patients with metastatic breast and ovarian cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8(11): 3407-3418.
- [11] Mittendorf EA, Holmes JP, Ponniah S, Peoples GE. The E75 HER-2/neu peptide vaccine [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2008, 57(10): 1511-1521.
- [12] Amin A, Benavides LC, Holmes JP, Gates JD, Carmichael MG, Hueman MT, *et al*. Assessment of immunologic response and recurrence patterns among patients with clinical recurrence after vaccination with a preventive HER-2/neu peptide vaccine: from US military cancer institute clinical trials group study I-01 and I-02 [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2008, 57(12): 1817-1825.
- [13] Mittendorf EA, Holmes JP, Murray JL, von Hofe E, Peoples GE. CD4⁺ T cells in antitumor immunity: utility of an li-key HER-2/neu hybrid peptide vaccine (AE37) [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2009, 9(1): 71-78.
- [14] Garrett JT, Rawale S, Allen SD, Phillips G, Forni G, Morris JC, *et al*. Novel engineered trastuzumab conformational epitopes demonstrate *in vitro* and *in vivo* antitumor properties against HER-2/neu [J]. *J Immunol*, 2007, 178(11): 7120-7131.
- [15] Jiang B, Liu W, Qu H, Meng L, Song S, Ouyang T, *et al*. A novel peptide isolated from a phage display peptide library with trastuzumab can mimic antigen epitope of HER-2 [J]. *J Biol Chem*,

- 2005, 280(6): 4656-4662.
- [16] Disis ML, Schiffman K, Guthrie K, Salazar LG, Knutson KL, Goodell V, *et al.* Effect of dose on immune response in patients vaccinated with an HER-2/neu intracellular domain protein-based vaccine [J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22(10): 1916-1925.
- [17] Limentani S, Dorval T, White S, Curigliano G, Campone M, Disis N, *et al.* Phase I dose-escalation trial of a recombinant HER-2 vaccine in patients with Stage II/III HER-2⁺ breast cancer [J]. *ASCO Proc*, 2005; Abstr 2520.
- [18] Kitano S, Kageyama S, Nagata Y, Miyahara Y, Hiasa A, Naota H, *et al.* HER-2-specific T-cell immune responses in patients vaccinated with truncated HER-2 protein complexed with nanogels of cholesteryl pullulan [J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(24): 7397-7405.
- [19] Seavey MM, Pan ZK, Maciag PC, Wallecha A, Rivera S, Paterson Y, *et al.* A novel human HER-2/neu chimeric molecule expressed by listeria monocytogenes can elicit potent HLA-A2 restricted CD8-positive T cell responses and impact the growth and spread of HER-2/neu-positive breast tumors [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(3): 924-932.
- [20] Zhong GC, Xu M, Shi M, Hu MR, Min M, Chen J. Specific cytotoxicity of CTL which was induced by DC pulsed with mannosylated antigen [J]. *Chin J Cell Mol Immunol*, 2007, 23(2): 117-123.
- [21] Dimitriadis A, Gontinou C, Baxevasis CN, Mamalaki A. The mannosylated extracellular domain of HER-2/neu produced in *P. pastoris* induces protective antitumor immunity [J]. *BMC Cancer*, 2009, 9: 386.
- [22] Wei H, Wang S, Zhang D, Hou S, Qian W, Li B, *et al.* Targeted delivery of tumor antigens to activated dendritic cells via CD11c molecules induces potent antitumor immunity in mice [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(14): 4612-4621.
- [23] De Giovanni C, Nicoletti G, Landuzzi L, Astolfi A, Croci S, Comes A, *et al.* Immunoprevention of HER-2/neu transgenic mammary carcinoma through an interleukin 12-engineered allogeneic cell vaccine [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(11): 4001-4009.
- [24] Dols A, Smith JW, Meijer SL, Fox BA, Hu HM, Walker E, *et al.* Vaccination of women with metastatic breast cancer, using a costimulatory gene(CD80)-modified, HLA-A2-matched, allogeneic, breast cancer cell line: clinical and immunological results [J]. *Hum Gene Ther*, 2003, 14(11): 1117-1123.
- [25] Chen Y, Emtage P, Zhu Q, Foley R, Muller W, Hitt M, *et al.* Induction of ErbB-2/neu-specific protective and therapeutic antitumor immunity using genetically modified dendritic cells: enhanced efficacy by cotransduction of gene encoding IL-12 [J]. *Gene Ther*, 2001, 8(4): 316-323.
- [26] Morse MA, Hobeika A, Osada T, Niedzwiecki D, Marcom PK, Blackwell KL, *et al.* Long term disease-free survival and T cell and antibody responses in women with high-risk HER-2⁺ breast cancer following vaccination against HER-2 [J]. *J Transl Med*, 2007, 5: 42.
- [27] Morse MA, Clay TM, Colling K, Hobeika A, Grabstein K, Cheever MA, *et al.* HER-2 dendritic cell vaccines [J]. *Clin Breast Cancer*, 2003, 3(Suppl 4): S164-S172.
- [28] Wolff JA, Malone RW, Williams P, Chong W, Acsadi G, Jani A, *et al.* Direct gene transfer into mouse muscle *in vivo* [J]. *Science*, 1990, 247(4949 Pt1): 1465-1468.
- [29] Orlandi F, Venanzi FM, Concetti A, Yamauchi H, Tiwari S, Norton L, *et al.* Antibody and CD8⁺ T cell responses against HER-2/neu required for tumor eradication after DNA immunization with a Flt-3 ligand fusion vaccine [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(20): 6195-203.
- [30] Yo YT, Hsu KF, Shieh GS, Lo CW, Chang CC, Wu CL, *et al.* Coexpression of Flt-3 ligand and GM-CSF genes modulates immune responses induced by HER-2/neu DNA vaccine [J]. *Cancer Gene Ther*, 2007, 14(11): 904-917.
- [31] Sloots A, Mastini C, Rohrbach F, Weth R, Curcio C, Burkhardt U, *et al.* DNA vaccines targeting tumor antigens to B7 molecules on antigen-presenting cells induce protective antitumor immunity and delay onset of HER-2/neu-driven mammary carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(21): 6933-6943.
- [32] Wei WZ, Jacob J, Radkevich-Brown O, Whittington P, Kong YC. The "A, B and C" of HER-2 DNA vaccine development [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2008, 57(11): 1711-1717.
- [33] Whittington PJ, Radkevich-Brown O, Jacob JB, Jones RF, Weise AM, Wei WZ. HER-2 DNA versus cell vaccine: immunogenicity and anti-tumor activity [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2009, 58(5): 759-767.
- [34] Whittington PJ, Piechocki MP, Heng HH, Jacob JB, Jones RF, Back JB, *et al.* DNA vaccination controls HER-2⁺ tumors that are refractory to targeted therapies [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(18): 7502-7511.
- [35] Radkevich-Brown O, Jacob J, Kershaw M, Wei WZ. Genetic regulation of the response to HER-2 DNA vaccination in human HER-2 transgenic mice [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(1): 212-218.
- [36] Smorlesi A, Papalini F, Pierpaoli S, Provinciali M. HER-2/neu DNA vaccination for breast tumors [J]. *Methods Mol Biol*, 2008, 423: 473-485.
- [37] Jones KL, Buzdar AU. Evolving novel anti-HER-2 strategies [J]. *Lancet Oncol*, 2009, 10(12): 1179-1187.
- [38] Shumway NM, Ibrahim N, Ponniah S, Peoples GE, Murray JL. Therapeutic breast cancer vaccines: a new strategy for early-stage disease [J]. *Bio Drugs*, 2009, 23(5): 277-287.
- [39] Ross JS, Slodkowska EA, Symmans WF, Puztai L, Ravdin PM, Hortobagyi GN. The HER-2 receptor and breast cancer: ten years of targeted anti-HER-2 therapy and personalized medicine [J]. *Oncologist*, 2009, 14(4): 320-368.

[收稿日期] 2009 - 11 - 11 [修回日期] 2010 - 02 - 18

[本文编辑] 王莹