

## 热休克蛋白 gp96-肽复合物肿瘤疫苗的应用前景与挑战\*

李常颖 畅继武

**摘要** 肿瘤组织来源的热休克蛋白 gp96-肽复合物(heat shock protein 96-peptide complex, HSPPC-96)结合有肿瘤特异性抗原多肽,能够诱导特异性抗肿瘤免疫。自体 HSPPC-96 疫苗在延缓肿瘤复发和提高患者总体生存率等方面彰显优势,应用前景广阔。然而作为自体来源的个体化疫苗,HSPPC-96 疫苗的实施和推广也面临着巨大的挑战,如肿瘤组织来源限制、对晚期肿瘤疗效不明确等问题。本文综合分析了 HSPPC-96 疫苗免疫治疗的临床进展、应用前景及其面临的挑战。

**关键词** gp96-肽复合物 肿瘤疫苗 免疫应答 应用前景 挑战

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.20140327

### Future perspectives and challenges in the development of an antitumor vaccine based on heat shock protein gp96-peptide complex

Changying LI, Jiwu CHANG

Correspondence to: Jiwu CHANG; E-mail: jwchang\_cirl@163.com

Tianjin Institute of Urology, Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81301949) and the Tianjin Municipal Science and Technology Program (Anti-cancer Special Project) (No. 12ZCDZSY16500)

**Abstract** Tumor-derived heat shock protein-peptide complex 96 (HSPPC-96) containing tumor antigenic peptides can elicit potent tumor-specific and protective immunity. Autologous HSPPC-96 vaccine has been shown to effectively prolong recurrence-free survival and increase the overall survival of many tumors, thereby suggesting extensive future applications. However, as an autologous tumor-derived individual vaccine, the development of HSPPC-96 vaccine is challenged by the lack of an adequate autologous tumor, limited efficacy for advanced-stage cancer, etc. This paper summarized the progress, future perspectives, and challenges in the clinical development of HSPPC-96 vaccine immunotherapy.

**Keywords:** gp96-peptide complex, tumor vaccine, immune response, further perspective, challenge

免疫学家关注热休克蛋白(heat shock proteins, HSPs),不仅因为其广泛的分子伴侣作用赋予其结合肿瘤抗原肽的能力,而且专注于其在判断肿瘤预后、参与诱导抗肿瘤免疫的能力<sup>[1-3]</sup>。HSPs 家族成员 gp96 能够与细胞中各种变性蛋白、短肽非特异性结合,形成 gp96-肽复合物(heat shock protein 96-peptide complex, HSPPC-96),因此肿瘤组织来源的 HSPPC-96 携带有肿瘤特异性抗原肽,这使 HSPPC-96 成为构建肿瘤疫苗的理想物质,被认为是最有应用前景的个体化肿瘤疫苗之一<sup>[4-7]</sup>。

#### 1 HSPPC-96 疫苗诱导特异性抗肿瘤免疫应答

HSPPC-96 疫苗为自体肿瘤组织来源的携带有抗原肽的 gp96 蛋白。HSPPC-96 通过 APC 表面的特异性受体如 CD91、Toll 样受体 2(Toll-like receptor 2,

TLR2)等介导内吞<sup>[8-9]</sup>,与 MHC-I 类分子相互作用,刺激 ATP 酶活化并释放能量,促进抗原肽从 gp96 解离,经过组织蛋白酶处理后的抗原肽经由 HSP70、HSP90 接继传递,最后通过转运相关蛋白(transport associated protein, TAP)运载至内质网,被 gp96 加至 MHC-I 类分子上,形成 MHC-I-肽复合物,从而通过抗原肽/TCR、MHC-I/CD8<sup>+</sup> 双识别,引发特异性抗肿瘤细胞毒 T 淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)反应<sup>[3,10]</sup>。

#### 2 HSPPC-96 疫苗的优势

HSPPC-96 疫苗介导的免疫反应,既可将肿瘤抗原肽交叉呈递给 MHC-I 类分子,还能提呈至 MHC-II 类分子,刺激机体产生有效的特异性抗肿瘤免疫。HSPPC-96 疫苗具有以下优势<sup>[11]</sup>: 1)来自于肿瘤的

作者单位:天津医科大学第二医院,天津市泌尿外科研究所(天津市300211)

通信作者:畅继武 jwchang\_cirl@163.com

\*本文课题受国家自然科学基金(编号:81301949)和天津市科技支撑项目“抗癌重大专项”(编号:12ZCDZSY16500)资助

网络出版日期:2014-5-6 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1099.R.20140506.1602.001.html>

HSPPC-96 包含有大量不同的抗原肽, 因而其介导的免疫应答针对肿瘤细胞中所有特异的抗原库, 可降低免疫逃逸发生的可能; 2) 自体来源 HSPPC-96 疫苗免除了对不同类型和不同个体的肿瘤抗原肽进行鉴定的必要; 3) 同一种属内 HSPs 没有多态性, 不受 MHC-I 类抗原限制, 可在同种内广泛应用; 4) gp96 蛋白自身作为免疫“危险信号”诱导 APC 的聚集及其活化成熟, 从而提高免疫刺激强度; 5) 无明显不良反应。

### 3 HSPPC-96 疫苗的临床应用与广阔前景

自体 HSPPC-96 疫苗的临床试验相继在世界各地开展, 进入了不同的阶段 (I/II/III 期)。现已完成肾细胞癌 (renal cell carcinoma, RCC)、恶性黑色素瘤 (简称“恶黑”) 的 III 期临床试验, 并在胰腺癌、胃癌等的治疗中也取得了积极的效果<sup>[12-17]</sup>。

HSPPC-96 治疗局限性 RCC 的 III 期临床试验结果显示, 中等复发风险患者 (包括 I/II 期高级别, III 期 T<sub>1</sub>、T<sub>2</sub>、T<sub>3</sub> 低级别;  $n=184$ ) 的复发时间较观察组 ( $n=178$ ) 延长了 1.8 年 ( $P=0.026$ ,  $HR=0.589$ ); 总体生存率亦明显延长 ( $P=0.036$ )<sup>[5, 12]</sup>。2008 年 4 月俄罗斯公共卫生部批准了商品化的 HSPPC-96 疫苗 Oncophage (即 Vitespen) 用于早期、有复发危险的中危 RCC 患者, 用以防止病情的快速发展, 这也是世界第一例获得批准的个体化治疗性肿瘤疫苗<sup>[5]</sup>。

HSPPC-96 治疗 IV 期恶黑的 III 期临床试验中, 患者随机接受疫苗治疗 (免疫组,  $n=215$ ) 或医生选择 (physician's choice, PC) 的治疗如手术、放化疗、IL-2 等 (对照组,  $n=107$ )。接受 10 次以上 HSPPC-96 治疗的 M1a 和 M1b 期患者的平均生存期比 PC 治疗延长 18.4 个月 (31.2 个月 vs. 12.8 个月,  $P=0.03$ , 危险比  $HR=0.45$ )<sup>[13-14]</sup>。此结果不仅肯定了 HSPPC-96 治疗早中期恶黑的疗效, 也显示了 HSPPC-96 作为自体疫苗治疗肿瘤的优势。

HSPPC-96 疫苗的另一个特征是显著提高肿瘤患者的生存质量, 包括生理和心理两个方面。放化疗等治疗方法给患者带来的痛苦不必细说。临床应用 HSPPC-96 疫苗基本无不良反应。对于使用肿瘤疫苗和放化疗治疗效果相同的患者 (如恶黑 M1c 期患者), 使用 HSPPC-96 疫苗虽然不能更大限度地延长生命, 但能明显改善患者生存质量。以上这些结果提示, HSPPC-96 肿瘤疫苗具有安全性高、不良反应小、肿瘤特异性强的优势, 应用前景广阔。

### 4 HSPPC-96 肿瘤疫苗面临的挑战及其应对措施

作为首个安全性高、特异性强的个体化治疗性肿瘤疫苗, HSPPC-96 的临床试验研究还在广泛深入的进行中。然而在成功的背后, 尚有许多不容乐观的问题值得我们深思<sup>[18-21]</sup>。

首先, HSPPC-96 疫苗的疗效尚需要进一步明确。俄罗斯仅批准 Vitespen 用于早期、有复发危险的中危 RCC 患者, 而不包括中晚期的高危患者<sup>[5, 18]</sup>; 其次, Vitespen 曾因 III 期临床试验数据“未能证明其效果”而未通过美国 FDA 的批准, 主要原因在于 HSPPC-96 对晚期 RCC 的疗效与其他治疗手段相比并无明显优势而影响了总体疗效的评估<sup>[12]</sup>, 这也是阻碍 Vitespen 在欧盟国家推广的主要原因。进一步分析 HSPPC-96 治疗恶黑的临床试验结果不难发现<sup>[14]</sup>, 单独 M<sub>1a</sub> 期和 M<sub>1b</sub> 期患者的中位生存期较对照组延长 50% 以上, 而包括 M1c 期患者在内的总体生存期却与对照组无显著差异。这些结果肯定了 HSPPC-96 疫苗对恶黑的疗效, 也再次提出其治疗晚期肿瘤的疗效问题。结合文献分析, 晚期肿瘤患者机体严重的免疫抑制微环境的形成可能是导致 HSPPC-96 疗效不佳的重要原因<sup>[18]</sup>。HSPPC-96 的目的是通过激活患者的免疫系统, 启动以 CTL 为主的特异性抗肿瘤反应。然而肿瘤细胞在机体内编织了强大的免疫抑制网络, 且抑制状态随着肿瘤的进展而不断加重, 所以 HSPPC-96 效应的发挥可能不同程度地被肿瘤免疫抑制微环境控制<sup>[22-26]</sup>。将 HSPPC-96 肿瘤疫苗与改善机体免疫抑制的治疗相结合, 可能有助于提高 HSPPC-96 疫苗的疗效。

其次, 肿瘤组织来源的限制。作为个体化的肿瘤疫苗, HSPPC-96 来源于患者自体手术切除的肿瘤组织。采用层析方法, HSPPC-96 的产出率约为 13 ~ 150  $\mu\text{g/g}$  肿瘤组织; 而 1 次 HSPPC-96 疫苗治疗至少包括每周 1 次的 25  $\mu\text{g}$  皮内注射, 连续 4 周<sup>[19]</sup>。在恶黑的临床试验中, 51% 患者由于肿瘤组织来源不足等原因而无法获得足量的 HSPPC-96 疫苗<sup>[19]</sup>。而且, 对于丧失手术机会及术后复发转移的晚期患者, 亦无法实现 HSPPC-96 疫苗的治疗。鉴于 gp96 介导的抗肿瘤效应来源于其结合的抗原肽, 因而体外重组的 HSPPC-96 亦能激发机体产生类似的特异性抗肿瘤反应。通过鉴定特定肿瘤组织中 HSP 结合的多肽抗原指纹图谱, 利用分子模拟技术筛选优势 CTL 表位肽, 体外重组多价 HSP-肽复合物肿瘤疫苗, 将会给肿瘤的免疫治疗带来新的希望。

再次, 繁杂的制备过程难以标准化及质量控制。即使获得充足的肿瘤组织, 也会因为制备过程中的各种纯化问题如损失量过大而导致产出率过低或疫苗效率低下。此外, 传统的纯化方法需要使用 ConA-Sepharose 柱, ConA 是一种 T 细胞丝裂原, 样品中 ConA 的污染可对疫苗接种者的免疫系统产生有害作用。为了克服上述问题, 有研究尝试利用基因工程抗体技术获得特异性 gp96 抗体以进一步从肿瘤组织中“钓取”HSPPC-96。应用该方法可以从每克肿

瘤组织中获得最高几百毫克的HSPPC-96蛋白,满足临床治疗的需要<sup>[27]</sup>。

## 5 结语

目前HSPPC-96疫苗在肿瘤转归和总体生存率方面仅显示出了有限的优势,仍然不能否定其在治疗早中期肿瘤的肯定效应及其广阔前景。随着HSP-PC-96纯化方法的优化、优势CTL表位肽的鉴定以及打破机体免疫抑制措施的建立,将会给HSPPC-96肿瘤疫苗的临床推广带来新的希望。

### 参考文献

- Tamura Y, Torigoe T, Kukita K, et al. Heat-shock proteins as endogenous ligands building a bridge between innate and adaptive immunity[J]. *Immunotherapy*, 2012, 4(8):841-852.
- Marinova DM, Slavova YG, Trifonova N, et al. Stress protein Hsp27 expression predicts the outcome in operated small cell lung carcinoma and large cell neuroendocrine carcinoma patients[J]. *J BUON*, 2013, 18(4):915-920.
- Srivastava P. Roles of heat-shock proteins in innate and adaptive immunity[J]. *Nat Rev Immunol*, 2002, 2(3):185-194.
- Srivastava PK, Callahan MK, Mauri MM. Treating human cancers with heat shock protein-peptide complexes: the road ahead[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2009, 9(2):179-186.
- Wood CG, Mulders P. Vitespen: a preclinical and clinical review [J]. *Future Oncol*, 2009, 5(6):763-774.
- Tosti G, di Pietro A, Ferrucci PF, et al. HSPPC-96 vaccine in metastatic melanoma patients: from the state of the art to a possible future[J]. *Expert Rev Vaccines*, 2009, 8(11):1513-1526.
- Ciocca DR, Cayado-Gutierrez N, Maccioni M, et al. Heat shock proteins (HSPs) based anti-cancer vaccines[J]. *Curr Mol Med*, 2012, 12(9):1183-1197.
- Tamura Y1, Torigoe T, Kutomi G, et al. New paradigm for intrinsic function of heat shock proteins as endogenous ligands in inflammation and innate immunity[J]. *Curr Mol Med*, 2012, 12(9):1198-1206.
- Tamura Y, Torigoe T, Kukita K, et al. Heat-shock proteins as endogenous ligands building a bridge between innate and adaptive immunity[J]. *Immunotherapy*, 2012, 4(8):841-852.
- Srivastava PK. Immunotherapy for human cancer using heat shock protein-peptide complexes[J]. *Curr Oncol Rep*, 2005, 7(5):104-108.
- Colaco CA, Bailey CR, Walker KB, et al. Heat shock proteins: stimulators of innate and acquired immunity[J]. *Biomed Res Int*, 2013, 2013:461230.
- Wood C, Srivastava P, Bukowski R, et al. C-100-12 RCC Study Group. An adjuvant autologous therapeutic vaccine (HSPPC-96; vitespen) versus observation alone for patients at high risk of recurrence after nephrectomy for renal cell carcinoma: a multicentre, open-label, randomised phase III trial[J]. *Lancet*, 2008, 372(9633): 145-154.
- di Pietro A, Tosti G, Ferrucci PF, et al. Oncophage: step to the future for vaccine therapy in melanoma[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2008, 8:1973-1984.
- Testori A, Richards J, Whitman E, et al. C-100-21 Study Group. Phase III comparison of vitespen, an autologous tumor-derived heat shock protein gp96 peptide complex vaccine, with physician's choice of treatment for stage IV melanoma: the C-100-21 Study Group[J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(6):955-962.
- Maki RG, Livingston PO, Lewis JJ, et al. A phase I pilot study of autologous heat shock protein vaccine HSPPC-96 in patients with resected pancreatic adenocarcinoma[J]. *Dig Dis Sci*, 2007, 52(8): 1964-1972.
- Oki Y, McLaughlin P, Fayad LE, et al. Experience with heat shock protein-peptide complex 96 vaccine therapy in patients with indolent non-Hodgkin lymphoma[J]. *Cancer*, 2007, 109(1):77-83.
- Mazzafarro V, Coppa J, Carrabba MG, et al. Vaccination with autologous tumor-derived heat-shock protein gp96 after liver resection for metastatic colorectal cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(9):3235-3245.
- Randazzo M, Terness P, Opelz G, et al. Active-specific immunotherapy of human cancers with the heat shock protein Gp96-revisited[J]. *Int J Cancer*, 2012, 130(10):2219-2231.
- Reitsma DJ, Combest AJ. Challenges in the development of an autologous heat shock protein based anti-tumor vaccine[J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2012, 8(8):1152-1155.
- di Pietro A, Tosti G, Ferrucci PF, et al. The immunological era in melanoma treatment: new challenges for heat shock protein-based vaccine in the advanced disease[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2011, 11(10):1395-1407.
- Colaco C. Autologous heat-shock protein vaccines[J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2013, 9(2):275-276.
- Bianchi G, Borgonovo G, Pistoia V, et al. Immunosuppressive cells and tumour microenvironment: focus on mesenchymal stem cells and myeloid derived suppressor cells[J]. *Histol Histopathol*, 2011, 26(7):941-951.
- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation[J]. *Cell*, 2011, 144(5):646-674.
- Raychaudhuri B, Rayman P, Ireland J, et al. Myeloid-derived suppressor cell accumulation and function in patients with newly diagnosed glioblastoma[J]. *Neuro Oncol*, 2011, 13(6):591-599.
- Barnaba V, Schinzari V. Induction, control, and plasticity of Treg cells: The immune regulatory network revised[J]? *Eur J Immunol*, 2013, 43(2):318-322.
- Gabrilovich DI, Ostrand-Rosenberg S, Bronte V. Coordinated regulation of myeloid cells by tumours[J]. *Nat Rev Immunol*, 2012, 12(4):253-268.
- Kleist C, Arnold-Schild D, Welschof M, et al. Single-chain Fv-based affinity purification of the cellular stress protein gp96 for vaccine development[J]. *Methods Mol Biol*, 2003, 207:393-420.

(2014-03-03 收稿)

(2014-03-20 修回)

(本文编辑:杨红欣)

### 作者简介

李常颖 博士,助理研究员。研究方向为肿瘤免疫与免疫微环境、免疫抑制、肿瘤疫苗研发。

E-mail: chyingli2011@163.com

