

# 结直肠癌肿瘤疫苗研究进展

汪雨彤<sup>1</sup>, 叶凡<sup>1</sup>, 张霄<sup>1</sup>, 邹睿涵<sup>1</sup>, 崔诗允<sup>2\*</sup>

1.南京医科大学第一临床医学院, 江苏 南京 211166

2.南京医科大学第一附属医院 肿瘤科, 江苏 南京 210029

**【摘要】** 结直肠癌作为全球三大常见恶性肿瘤之一, 每年约有数百万例新病例产生。在生物免疫治疗的迅速发展下, 免疫疗法为结直肠癌的治疗带来新的方案。肿瘤疫苗通过放大抗肿瘤免疫应答, 激活患者体内特异性抗肿瘤反应, 从而对肿瘤进行预防或治疗。本文就结直肠癌肿瘤疫苗的研制基础、临床研究进展以及疫苗开发遇到的挑战进行综述。

**【关键词】** 结直肠癌; 肿瘤疫苗; 研究进展; 解决策略

## Advances in vaccines for colorectal cancer

Wang Yutong<sup>1</sup>, Ye Fan<sup>1</sup>, Zhang Xiao<sup>1</sup>, Zou Ruihan<sup>1</sup>, Cui Shiyun<sup>2\*</sup>

1.Nanjing Medical University, Nanjing 211166, Jiangsu, China

2.Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu, China

**【Abstract】** Colorectal cancer is one of the three most common malignant tumors worldwide, with millions of new cases predicted each year. With the rapid development of biological immunotherapy, immunotherapy has brought new solutions to the treatment of colorectal cancer. Tumor vaccines can prevent or treat tumors by amplifying anti-tumor immune responses and activating specific anti-tumor responses in patients. Here, we conduct a comprehensive review concerning the advance of vaccine for colorectal cancer in preclinical and clinical research.

**【Key words】** Colorectal cancer; Tumor vaccine; Advance; Resolvent

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是全球第三大常见的恶性肿瘤,在美国,CRC是癌症相关死亡的第二大原因<sup>[1]</sup>。到2030年,预计全球将有超过220万新病例和110万人死亡<sup>[2]</sup>。尽管标准治疗方法取得了重大进展,但诊断为转移性CRC患者的5年生存率仍然非常低,约为12%<sup>[1]</sup>。近年来,在肿瘤免疫学和分子生物学快速发展的推动下,生物免疫在结直肠癌治疗方面取得了迅猛发展。黑色素瘤、肾细胞癌和非小细胞肺癌等恶性肿瘤已经从免疫治疗中获得了有希望的临床益处<sup>[3]</sup>。尽管免疫疗法取得了全面进展,但这种针对CRC患者的治疗方法仍处于实验阶段,目前有许多免疫疗法正在进行临床研究。本文将重点介绍CRC肿瘤疫苗方面的最新进展和展望。癌症疫苗接种已被用于多种肿瘤类型以放大抗肿瘤免疫应答。肿瘤疫苗的工作机制主要分为靶向抗原治疗、自体肿瘤细胞治疗以及树突状细胞治疗<sup>[4]</sup>。

## 1 基于肿瘤相关抗原疫苗

最普遍的疫苗接种方式就是通过不同患者的共有抗原靶向治疗来引发免疫应答。主要是针对肿瘤特异性抗

原和肿瘤相关抗原(tumor-associated antigen, TAAs)。最初肿瘤相关抗原是指在肿瘤细胞中过表达但在未转化的正常组织中表达较低的蛋白质,后来包括能被肿瘤反应性肿瘤浸润淋巴细胞(tumor Infiltrating Lymphocyte, TIL)识别的组成抗原决定簇的蛋白质组成的抗原<sup>[4]</sup>。

1.1 癌胚抗原疫苗 过度表达的抗原是指在DNA、mRNA和蛋白质水平上扩增的蛋白质。作为最早鉴定的TAAs之一,癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)是一种自体抗原,在CRC中过表达,能够减弱肿瘤患者的自身免疫应答。

最初的CEA相关疫苗基于CEA衍生的肽负载树突状细胞(dendritic cell, DC)能够诱导CEA特异性细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)活性的基础,目标是开发具有更高人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)亲和力的肽配体,有效激活特异性的CTL。通过开发DNA疫苗,对CEA进行靶向治疗。目前使用6.C4(scFv6.C4)杂交瘤细胞系构建了单链可变片段,通过电穿孔用表达scFv6.C4的质粒载体(uP/PS-scFv6.C4)注射入表达CEA的转基因CEA2682小鼠在第3次免疫后产生了具有CEA特异性AB3抗体<sup>[5]</sup>。动物实验证明,在CEA转基因小鼠体内,用uP-PS/scFv6.C4质粒载体进行DNA疫苗接种能够引起特定的体液和细胞免疫,足以阻止生长或消除肿瘤细

\*通信作者:崔诗允,主治医师, E-mail: cuishiyun@njum.edu.cn

胞。在实验中,用质粒载体免疫的 C57BL/6 小鼠表达 scFv6.C4 的抗体能够引发识别 CEA 的免疫过程。目前由于实验技术限制,未能得到定量比较的结果,且未进行临床试验。

尽管在小鼠模型中 CEA 疫苗能够表现更高的 T 细胞活化程度,但是在已有的 CEA 疫苗的临床试验中,CEA 肽疫苗的疗效总体上并不令人满意,临床反应率不超过 17%<sup>[6]</sup>。

1.2 黑色素瘤基因(melanoma antigen gene, MAGE)相关抗原疫苗 在人体结直肠正常组织中,没有 MAGE 基因的表达<sup>[7]</sup>,在结直肠肿瘤组织中 MAGE-A2、MAGE-A4、MAGE-A7、MAGE-A8、MAGE-A12、MAGE-B2、MAGE-B3、MAGE-D2、MAGE-F1 和 MAGE-H1 均有表达。其中 MAGE-A2 和 MAGE-A7 在组织中过表达<sup>[8]</sup>。

目前有一项关于人工合成 MAGE-A4-H/K-HELP 疫苗的临床试验,患者通过接种 MAGE-A4-H/K-HELP 辅以 OK432 和 Montanide ISA-51,未出现不良反应。此过程中 MAGE-A4-H/K-HELP 诱导 MAGE-A4 特异性 Th1 和 Tc1 免疫反应以及产生 MAGE-A4 特异性补体固定 IgG 抗体<sup>[9]</sup>。

目前临床上关于针对结直肠癌的 MAGE 抗原疫苗的研制仍有很大的空白。

1.3 表皮生长因子抗原(epidermal growth factor receptor, EGFR)疫苗 EGFR 在 mCRC 中的表达升高了 49%~82%<sup>[10]</sup>,目前针对 EGFR 的靶向免疫治疗主要为针对 EGFR 的单克隆抗体(mAbs)和酪氨酸激酶抑制剂<sup>[11]</sup>。但是直接针对 CRC 的 EGFR 靶向肿瘤疫苗的研制相对空白。

目前有一个靶向 ERBB3 的疫苗正在研制,作为一种抑制肠息肉发生的疫苗,该疫苗主要针对家族性腺瘤性息肉病(familial adenomatous polyposis, FAP)和 Lynch 综合征患者(此类患者患结肠癌的风险很高)。接种靶向 ERBB3 的疫苗旨在预防或降低患结肠癌的风险<sup>[12]</sup>。该疫苗通过建立 2 个独立的抗原,将 ERBB3 的 II 区的天冬氨酸残基定位,从而引发自身免疫反应。该疫苗已经进行了动物实验。实验中采用化学方法制备了 BEX 肽和以 ERBB3 cDNA 为模板扩增的 EB3IV,对 ERBB3 小鼠进行免疫接种,最终结果显示遗传性结肠癌小鼠模型的息肉总负担降低。

1.4 肿瘤特异性抗原(tumor specific antigen, TSA) TSA 是一种在肿瘤细胞中特异性表达而正常细胞中不表达的抗原。结直肠癌新抗原即属于 TSA。在癌症发生机制中,包括逐步获得和积累的突变,这不仅导致基因表达增加或减少,也表达新抗原序列修饰蛋白。结直肠癌有很高的体细胞突变频率,因此有较高的新抗原产生潜力。由于 TSA 仅由癌细胞呈现,免疫系统可以较好地区分恶性组织,降低严重不良事件的风险。

目前由 KRAS、NRAS 和 BRAF 引起的新抗原是 CRC 点突变的代表。KRAS 在细胞内信号级联反应中起主要作用,并且研究发现,40.96% CRC 患者发生外显子 2 突变(密码子 12/13)。KRAS 外显子 2 型野生型患者中,有 15.31% 额外 RAS 突变和 12.44% BRAF 突变<sup>[13]</sup>。另一项研究发现

存在上述 3 个基因突变的患者对对可用靶向治疗药物帕尼单抗和西妥昔单抗没有反应,已经被确定为阴性生物标志物<sup>[14]</sup>。

由于 TSA 涉及肿瘤细胞突变位点的检测,存在个体差异性,再加之基因测序技术要求高,成本高,难推广,故该方面研究有待深入。

1.5 热休克蛋白(heat shock proteins, HSP)疫苗 热休克蛋白 105(HSP105)在许多癌症中高表达。一项 I 期临床试验给 30 例晚期 CRC 或子宫内膜癌(endometrial carcinoma, EC)患者接种 HLA-A24 和 HLA-A2 限制性 HSP105 肽疫苗,15/30(50%)产生肽特异性 CTL,提示其在诱导免疫反应、改善预后方面的意义。该研究也揭示 HSP105 特异性 CTL 为潜在的预测无进展生存的生物标志物<sup>[15]</sup>。

## 2 肿瘤细胞疫苗

自体细胞疫苗直接使用来自患者本身的肿瘤细胞,经体外处理(射线、细胞因子改造等),肿瘤细胞被加工成疫苗重新注射入患者体内,激活免疫应答<sup>[4]</sup>。自体肿瘤疫苗抗原来自患者自身肿瘤细胞,具有患者肿瘤细胞的所有特异性的突变,因此,自体肿瘤细胞疫苗具有很大的个性化特征。

在一项自体肿瘤细胞-卡介苗的临床试验发现<sup>[16]</sup>, II 期的结直肠癌患者中 OncoVaxis(自体肿瘤细胞疫苗)有显著的统计学意义,但在 III 期患者的预后目前仍未显示出统计学意义。

在最新的一项基于新材料的自体肿瘤疫苗的动物试验中,通过载有佐剂的纳米长效剂对濒临死亡的肿瘤细胞进行表面修饰,来进一步增强肿瘤细胞的免疫原性,促进 APC 的激活以及抗原呈递<sup>[17]</sup>。最终结果显示完整的肿瘤细胞疫苗接种与免疫检查点阻滞相结合可导致约 78% 的 CT26 荷瘤小鼠完全消退肿瘤,并建立针对肿瘤复发的长期免疫力。

目前仅有小部分的案例可证明自体肿瘤细胞疫苗有效,且总体上看效果不佳。这可能和疫苗引发的机体免疫耐受及免疫反应的类型有关。针对这一现象,可以通过增加佐剂,或用抗体修饰等方法进行疫苗效果增强。

## 3 树突状细胞疫苗

树突状细胞(dendritic cell, DC)作为最强的抗原呈递细胞(antigen-presenting cells, APC),在启动免疫系统对外源抗原反应起到关键作用。通过 DC 疫苗佐剂刺激 DC 提交抗原,可诱导治疗性的 CD4<sup>+</sup>T 细胞和 CD8<sup>+</sup>T 细胞反应,促进初始 T 细胞成为 CTL,识别杀伤肿瘤。

多项临床试验提示 DC 疫苗在结直肠癌治疗中具有重要意义。在一项 AEC 致敏 DC 联合破伤风类毒素及 IL-2 治疗晚期结直肠癌的 I 期临床研究中,给 12 例转移性结直肠癌患者进行 3 次连续 CEA 脉冲 DC 与破伤风毒素混合,一次 DC 疫苗接种后低剂量 IL-2 皮下注射,结果显示小部

分患者观察到抗癌胚抗原免疫反应增强和临床效益<sup>[18]</sup>。另一项临床Ⅱ期研究中,给CRC患者随机分为两组,分别注射黏蛋白1(PANVC)修饰自体树突细胞和PANVC联合注射GM-CSF,显示DC/PANVAC组和PANVC/GM-CSF组两年无复发生存率相近(47%和55%),表明DC疫苗和痘载体疫苗有相似活性,疫苗接种患者比未接种者有更高生存率<sup>[19]</sup>。一项HLA-A\*0201或HLA-A\*2402限制性CEA肽脉冲DC疫苗临床试验中,7/10(70%)接种患者检测到CEA特异性T细胞数量增加,2例(20%)患者病情稳定12周,提示DC疫苗可促进特定T细胞反应<sup>[20]</sup>。

DC疫苗也可用于结直肠癌切除术辅助治疗。一项临床试验对24例接受结直肠癌切除术的患者进行自体肿瘤溶解液和对照蛋白(KLH)脉冲DC疫苗局部注射,15例(63%)免疫诱导自体肿瘤特异性T细胞增殖,61%诱导肿瘤特异性DTH反应。出现反应的患者5年内有明显更好复发自由生存(RFS)(63%比18%, $p=0.037$ ),显示DC疫苗在结直肠癌切除术后辅助治疗中的意义<sup>[21]</sup>。

黑色素瘤致敏的DC疫苗或可减轻不良反应。在一项6例晚期CRC患者参加的Ⅰ期临床试验中,以酪氨酸酶、MART-1、gp100等黑色素瘤分化抗原表达缺陷细胞系为载体,黑色素瘤细胞裂解物冲击DC制作DC疫苗,所有患者耐受性良好<sup>[22]</sup>。

受控环境下DC在抗原负载和成熟方面有有利影响,如避免耐受性信号、有广泛的可用佐剂及抗原选择等。但也存在如成本高、需要个性化细胞治疗产品等缺点。未来,如何最佳利用具有专门功能的特定DC亚群来协调对抗癌的有效免疫反应将成为DC疫苗研究的热点与方向<sup>[23]</sup>。

#### 4 联合治疗

目前的研究中,单种疫苗治疗也体现出很多局限性。免疫治疗与免疫治疗,免疫治疗与手术、化疗等其他治疗方法相结合已经成为近年来的研究热点。下面选取最新的临床试验研究成果进行介绍。

一项探讨痘苗安卡拉-5T4(MVA-5T4)、节拍器低剂量环磷酸胺或两者联合使用能否增强mCRC抗肿瘤免疫力的临床试验证明,环磷酸胺预先耗尽调节性T细胞没有增加MVA-5T4疫苗接种产生的免疫反应,而环磷酸胺和MVA-5T4可分别独立诱导有益的抗肿瘤免疫反应<sup>[24]</sup>。

一项对晚期癌症患者进行BCG-CWS联合WT1肽的Ⅰ期剂量升级研究表明,BCG-CWS的剂量为每个体100 $\mu$ g时,患者耐受性良好,显示有临床效果,能够诱导适当的免疫反应<sup>[25]</sup>。

另一项Ⅱ期研究采用外叶绿体膜1激酶、转位酶34(TOMM34)、环指蛋白43(RNF43)、血管内皮生长因子受体1(VEGFR1)和VEGFR2五肽和奥沙利铂为基础的化疗组成的联合治疗,结果表明,VEGFR2 IgG反应可能是CRC患者肽疫苗治疗的重要免疫学标志物<sup>[26]</sup>。

环指蛋白43(RNF43)是一种泛素连接酶,作为Wnt信

号通路中的负向调控因子之一,具有重要的抗肿瘤作用。RNF43突变后会异常激活Wnt信号通路,与肿瘤的发生、发展密切相关。一项多肽疫苗环指蛋白43(RNF43)和线粒体外膜转位酶34 kDa(TOMM34)联合尿嘧啶-替加氟(UFT)/LV治疗转移性大肠癌的Ⅰ期临床试验证明具有免疫反应性<sup>[27]</sup>。接下来的研究中该团队又将患者分为白细胞抗原HLA-A\*2402匹配组与不匹配组,结果显示阳性CTL亚组3年无复发生存率明显高于阴性反应亚组,表明肽疫苗诱导CTL反应可以预测在辅助环境下Ⅲ期CRC患者的存活率<sup>[28]</sup>。另一项以自体RNF43肽致敏DC联合小剂量环磷酸胺的临床试验证明免疫治疗联合CPA治疗RNF43阳性晚期实体肿瘤是安全的,可以引起肿瘤特异性免疫反应,伴有Tregs下降,具有临床疗效<sup>[29]</sup>。同时,Ocv-c02,一种由RNF43和TOMM34两个肽表位组成的肽疫苗,被证明在每个体0.3~6.0 mg用于标准化疗不耐受的晚期或复发大肠癌患者是安全和良好耐受的<sup>[30]</sup>。

也有用ki20a衍生肽或针对VEGFR1和VEGFR2的疫苗联合吉西他滨用于晚期癌症患者的Ⅱ期临床试验,表明这种治疗性肽鸡尾酒可能能够有效引发患者肽特异性免疫反应<sup>[31]</sup>。

#### 5 生物标志物

为了有效评估免疫反应的效果,更好地预测疾病进展,寻找有价值的生物标志物也是目前CRC疫苗研究的方向。除了上文提到的VEGFR2 IgG反应、肽疫苗诱导CTL反应外,还有几项近期临床试验也对相关问题进行了研究。一项研究对转移性大肠癌患者的血浆样本进行miRNA表达的综合分析,结果表明,HLA-A\*2402配对患者组(疫苗治疗组)血浆miR-6826高表达患者与低表达患者相比预后不良( $P=0.048$ ),不配对组(对照组)则没有观察到这一现象( $P=0.168$ )。miR-6875也得到相似结果(分别为 $P=0.029$ 和 $P=0.754$ )。Cox回归模型多变量分析表明miR-6826的表达是总生存率最重要预测因子( $P=0.003$ , $HR=3.670$ ),表明miR-6826和miR-6875可能是预测疫苗疗效的有用阴性生物标志物<sup>[32]</sup>。另一项以miRNA作为预测性生物标志物的研究,分析总生存率和miRNA表达的关系,发现3个miRNA预测因子与总生存率呈负相关:肿瘤细胞中的miR-125b-1( $P=0.040$ ),肿瘤细胞和基质细胞中的miR-378a( $P=0.001$ ),这两种miRNA的表达可能被认为是预测大肠癌疫苗疗效的新生物标志物<sup>[33]</sup>。

随着肿瘤生物学的发展和肿瘤免疫耐受机制研究的进展,分子靶向治疗的研究在不断展开。肿瘤疫苗是一种集治疗与预防潜能于一体的免疫治疗手段,因其自身无毒性的优势,常被认为有产生严重不良事件少和自身免疫不良反应概率较小的优势。但随着近年来研究不断深入,发现单一的免疫治疗方案无法在不同癌种或相同癌种不同亚型之间取得相似成效,常会失败或产生严重免疫反应。通过基因测序手段,寻找个性化抗原,以确定结直肠癌患

表1 投入临床试验疫苗

名称	标识符	参与人数	主要目的
mDC3 疫苗	NCT03730948	12	初步评估 mDC3 疫苗在结直肠癌患者中的安全性和耐受性以及免疫应答率
PolyPEP11018 疫苗	NCT03391232	15	PolyPEP11018 疫苗接种作为转移性结直肠癌患者护理标准维持治疗的附加免疫疗法安全性免疫原性检测
DC 疫苗	NCT01885702	25	林奇综合征或大肠癌 MSI 患者的树突状细胞疫苗接种
DNA 疫苗	NCT01064375	20	大肠癌患者 tetwtCEA DNA 皮内电穿孔的安全性和免疫原性评估
自体肿瘤匀浆疫苗	NCT02919644	19	IV期大肠癌根治性切除后自体树突状细胞接种自体肿瘤匀浆的疫苗接种; II期研究
CEA(6D)VRP 疫苗	NCT01890213	12	CEA(6D)VRP 疫苗(AVX701)主动免疫治疗 III期大肠癌的初步研究
PANVAC 疫苗	NCT02981524	51	评估 PANVAC-V 和 PANVAC-F 在晚期癌症患者中的安全性和有效性。记录对疫苗的免疫反应以及可能发生的任何抗肿瘤反应
GVAX 疫苗	NCT02981524	17	GVAX 结肠疫苗(含环磷酰胺)和派姆单抗治疗错配修复能力强晚期大肠癌患者

注:资料来源 <https://clinicaltrials.gov/>, 检索词: colorectal cancer 和 vaccine。

者所属亚组,来收获最佳免疫原性和疗效。该方向已经成为现在转化研究重点。同时,联合治疗被认为是很有前景的研究方向。这就要求我们在寻求疫苗抗原、佐剂、运载工具的最佳组合的同时,结合辐射治疗、手术切除治疗等其他治疗方法,增强免疫反应,克服免疫抑制,降低不良反应概率。

对于疫苗评估,一方面需要寻找更合适的分子标志物对疫苗效果进行评估和前瞻性验证,以获得更好的临床治疗方案。另一方面还需要更大规模的随机试验和更多的早期结直肠癌患者临床试验来研究疫苗在改善预后和生存率方面的效果。以上都是未来结直肠癌疫苗方向具有前景的研究领域。

#### 参考文献

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(1): 5-29.
- [2] ARNOLD M, SIERRA M S, LAVERSANNE M, et al. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality [J]. Gut, 2017, 66(4): 683-691.
- [3] HODI F S, O'DAY S J, MCDERMOTT D F, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma [J]. N Eng J Med, 2010, 363(8): 711-723.
- [4] BUTTERFIELD L H. Cancer vaccines [J]. BMJ (Clinical research ed.), 2015, 350: h988.
- [5] DENAPOLI P M A, ZANETTI B F, DOS SANTOS A A, et al. Preventive DNA vaccination against CEA-expressing tumors with anti-idiotypic scFv6.C4 DNA in CEA-expressing transgenic mice [J]. Cancer Immunol Immunother, 2017, 66(3): 333-342.
- [6] WAGNER S, MULLINS C S, LINNEBACHER M. Colorectal cancer vaccines: Tumor-associated antigens vs neoantigens [J]. World J Gastroenterology, 2018, 24(48): 5418-5432.
- [7] MORI M, INOUE H, MIMORI K, et al. Expression of MAGE genes in human colorectal carcinoma [J]. Ann Surg, 1996, 224(2): 183-188.
- [8] CHUNG F Y, CHENG T L, CHANG H J, et al. Differential

gene expression profile of MAGE family in taiwanese patients with colorectal cancer [J]. J Surg Oncol, 2010, 102(2): 148-153.

- [9] TAKAHASHI N, OHKURI T, HOMMA S, et al. First clinical trial of cancer vaccine therapy with artificially synthesized helper/ killer-hybrid epitope long peptide of MAGE-A4 cancer antigen [J]. Cancer Sci, 2012, 103(1): 150-153.
- [10] MIYAMOTO Y, SUYAMA K, BABA H. Recent Advances in Targeting the EGFR Signaling Pathway for the Treatment of Metastatic Colorectal Cancer [J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(4).
- [11] BERTOTTI A, PAPP E, JONES S, et al. The genomic landscape of response to EGFR blockade in colorectal cancer [J]. Nature, 2015, 526(7572): 263-267.
- [12] BAUTZ D J, SHERPA A T, THREADGILL D W. Prophylactic vaccination targeting ERBB3 decreases polyp burden in a mouse model of human colorectal cancer [J]. Oncoimmunology, 2017, 6(1): e1255395.
- [13] NEGRU S, PAPADOPOULOU E, APESSOS A, et al. KRAS, NRAS and BRAF mutations in Greek and Romanian patients with colorectal cancer: a cohort study [J]. BMJ Open 2014, 4(5): 8.
- [14] SCUDELLARI M. Drug development: Mix and match [J]. Nature, 2015, 521(7551): S12-14.
- [15] SHIMIZU Y, YOSHIKAWA T, KOJIMA T, et al. Heat shock protein 105 peptide vaccine could induce antitumor immune reactions in a phase I clinical trial [J]. Cancer Sci., 2019, 110(10): 3049-3060.
- [16] UYL-DE GROOT C A, VERMORKEN J B, HANNA M G, JR., et al. Immunotherapy with autologous tumor cell-BCG vaccine in patients with colon cancer: a prospective study of medical and economic benefits [J]. Vaccine, 2005, 23(17-18): 2379-2387.
- [17] FAN Y, KUAI R, XU Y, et al. Immunogenic Cell Death Amplified by Co-localized Adjuvant Delivery for Cancer Immunotherapy [J]. Nano Lett., 2017, 17(12): 7387-7393.
- [18] LIU K J, CHAO T Y, CHANG J Y, et al. A phase I clinical

- study of immunotherapy for advanced colorectal cancers using carcinoembryonic antigen-pulsed dendritic cells mixed with tetanus toxoid and subsequent IL-2 treatment [J]. *J Biomed Sci*, 2016, 23(1): 64.
- [19] MORES MA, NIEDZWIECKI D, MARSHALL JL, et al. A randomized phase II study of immunization with dendritic cells modified with poxvectors encoding CEA and MUC1 compared with the same poxvectors plus GM-CSF for resected metastatic colorectal cancer [J]. *Ann Surg*, 2013, 258(6): 879-886.
- [20] LIU KJ, WANG CC, CHEN LT, et al. Generation of carcinoembryonic antigen (CEA)-specific T-cell responses in HLA-A\*0201 and HLA-A\*2402 late-stage colorectal cancer patients after vaccination with dendritic cells loaded with CEA peptides [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(8): 2645-2651.
- [21] BARTH RJ, FISHER DA, WALLACE PK, et al. A randomized trial of ex vivo CD40L activation of a dendritic cell vaccine in colorectal cancer patients: tumor-specific immune responses are associated with improved survival [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(22): 5548-5556.
- [22] BURGENDORF SK, FISCHER A, CLAESSEON MH, et al. Vaccination with melanoma lysate-pulsed dendritic cells, of patients with advanced colorectal carcinoma: report from a phase I study [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2006, 25(2): 201-206.
- [23] WCULEK S K, CUETO F J, MUJAL A M, et al. Dendritic cells in cancer immunology and immunotherapy [J]. *Nat. Rev. Immunol.*, 2019.
- [24] SCURR M, PEMBROKE T, BLOOM A, et al. Effect of Modified Vaccinia Ankara-5T4 and Low-Dose Cyclophosphamide on Antitumor Immunity in Metastatic Colorectal Cancer: A Randomized Clinical Trial [J]. *JAMA Oncol*, 2017, 3(10): e172579.
- [25] NISHIDA S, TSUBOI A, TANEMURA A, et al. Immune adjuvant therapy using Bacillus Calmette-Guérin cell wall skeleton (BCG-CWS) in advanced malignancies: A phase I study of safety and immunogenicity assessments [J]. *Medicine*, 2019, 98(33): e16771.
- [26] KANEKIYO S, HAZAMA S, TAKENOUCI H, et al. IgG response to MHC class I epitope peptides is a quantitative predictive biomarker in the early course of treatment of colorectal cancer using therapeutic peptides [J]. *Oncol Rep*, 2018, 39(5): 2385-2392.
- [27] KAWAMURA J, SUGIURA F, SUKEGAWA Y, et al. Multicenter, phase II clinical trial of peptide vaccination with oral chemotherapy following curative resection for stage III colorectal cancer [J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(4): 4241-4247.
- [28] KAWAMURA J, SUGIURA F, SUKEGAWA Y, et al. Cytotoxic T lymphocyte response to peptide vaccination predicts survival in stage III colorectal cancer [J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(5): 1545-1551.
- [29] HIJIKATA Y, OKAZAKI T, TANAKA Y, et al. A phase I clinical trial of RNF43 peptide-related immune cell therapy combined with low-dose cyclophosphamide in patients with advanced solid tumors [J]. *PLoS One*, 2018, 13(1).
- [30] TANIGUCHI H, IWASA S, YAMAZAKI K, et al. Phase I study of OCV-C02, a peptide vaccine consisting of two peptide epitopes for refractory metastatic colorectal cancer [J]. *Cancer Sci*, 2017, 108(5): 1013-1021.
- [31] SUZUKI N, HAZAMA S, IGUCHI H, et al. Phase II clinical trial of peptide cocktail therapy for patients with advanced pancreatic cancer: VENUS-PC study [J]. *Cancer Sci*, 2017, 108(1): 73-80.
- [32] KIJIMA T, HAZAMA S, TSUNEDOMI R, et al. MicroRNA-6826 and -6875 in plasma are valuable non-invasive biomarkers that predict the efficacy of vaccine treatment against metastatic colorectal cancer [J]. *Oncol Rep*, 2017, 37(1): 23-30.
- [33] TANAKA H, HAZAMA S, IIDA M, et al. miR-125b-1 and miR-378a are predictive biomarkers for the efficacy of vaccine treatment against colorectal cancer [J]. *Cancer Sci*, 2017, 108(11): 2229-2238.