

Kolorektal Kanser ve İmmünoterapi

COLORECTAL CANCER AND IMMUNOTHERAPY

Suna ÇOKMERT¹, Zekiye ALTUN², İlhan ÖZTOP³, Safiye AKTAŞ², Nur OLGUN⁴

¹ Medical Park Hastanesi, Tıbbi Onkoloji Bölümü, İstanbul

² Dokuz Eylül Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı, İzmir

³ Dokuz Eylül Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, İzmir

⁴ Dokuz Eylül Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Çocuk Onkolojisi Bilim Dalı, İzmir

ÖZ

Kolorektal kanser (KRK), her iki cinsten üçüncü en sık görülen kanser türü olup, kanser ilişkili ölüm nedenleri arasında da yine üçüncü sırada yer almaktadır. Her yıl yeni tanı alan yaklaşık 1 milyon KRK hastasının % 20'sinden fazlası tanı anında metastatik iken, erken evrede tanı alan hastaların yaklaşık % 50'sinde takipte relaps ve metastaz geliştiği izlenmektedir. Son yıllarda tedavi alanındaki gelişmeler metastatik safhadaki hastaların sağ kalım oranlarını arttırmış olsa da, yeni tedavi seçeneklerine olan ihtiyaç devam etmektedir. İmmün sistemin tümörün oluşumu, büyümesi ve metastazının önlenmesinde önemli rol oynayabileceğine dair artan bilgiler dikkatleri tedavi açısından bu alana çekmektedir. İmmünoterapi başlığı altındaki tedaviler, pek çok kanser türünde olumlu yanıtlar alınması nedeniyle KRK'de de araştırılmaktadır. Bu yazının amacı; KRK'e karşı bilinen immün yanıt mekanizmaları ve tümör tarafından geliştirilen immün kaçış mekanizmalarının analizi ve KRK için günümüz ve gelecekteki immünoterapi seçenekleri hakkında bilgileri sunabilmektir.

Anahtar kelimeler: Kolon, Rektum, Cancer, İmmünite

ABSTRACT

Colorectal cancer (CRC) is the third most common cancer in both genders and the third most common cause of cancer related deaths. One million CRC patients are newly diagnosed annually and more than 20% of them are metastatic at the time of diagnosis. About 50% of patients diagnosed at an early stage develop relapse and metastasis on follow up. Although new advances in the treatment increased the survival rates of patients with metastatic disease, need for new treatment choices is still present. Increased knowledge on the preventive role of immune system in tumor formation, growth and metastasis draws attention to this field for new therapies. Since treatment modalities under the heading of immunotherapy yield favorable responses in many types of cancer, its use in CRC is also investigated. The aim of this study is to analyze known immune response mechanisms against CRC and immune escape mechanisms developed by tumor and present knowledge on current and future immunotherapy modalities for CRC.

Keywords: Colon, Rectum, Cancer, Immunity

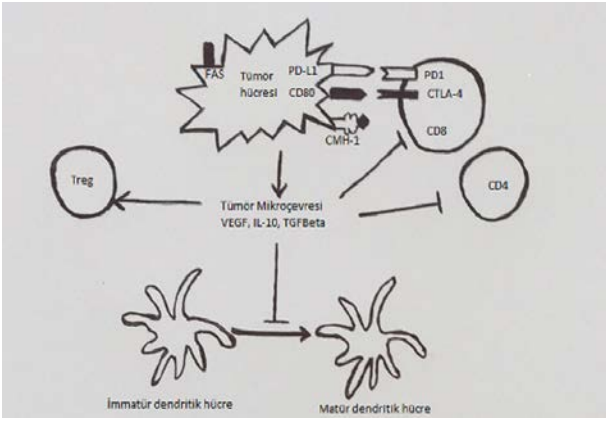
Suna ÇOKMERT

Medical Park Hastanesi
Tıbbi Onkoloji Bölümü
İSTANBUL

İmmünoterapi, tümörlerin ortadan kaldırılması için bağışıklık sistemini kullanan bir tedavi şeklidir. Kanserin oluşum ve gelişim aşamalarına bakıldığında, immün

sistem aslında her gün bir çok kanser hücrelerini tanıyarak yok etmekte, ancak çeşitli faktörlerin etkisi ile tümör hücrelerinde mutasyonların gelişimi ile karsinogenez süreci

devam etmektedir. Bu süreçte; tümör hücreleri önceleri immün sistem tarafından tanınabilen antijenlere sahipken, izleyen dönemde çoğu kez bu antijenler kaybolmakta ya da tümörden salgılanan çeşitli sitokin veya proteinlerin etkileriyle kanser hücreleri immün sistemden kaçabilmekte (immün escape) ve bu şekilde kanser progresyon göstermektedir (1). Tümörün immün sistemden kaçışına dair ana mekanizmalar Şekil 1'de özetlenmiştir (2).



Şekil 1. Tümörün başlıca immün kaçış mekanizmaları

Tümör hücreleri VEGF, interlökin-10 ya da TGFβ gibi immünosupresif sitokinler sekrete edebilirler. Bu moleküller dendritik hücre matürasyonunun blokajına katkıda bulunur ve sonra CD4+ veya CD8+ T lenfositlerden ziyade regülatuar T hücrelerinin oluşuna neden olurlar. VEGF direk olarak da Treg çoğalmasına ve etkisinin başlamasına neden olur. Tümör hücreleri CMH-1 ekspresyonunu down-regüle ederler. Tümör hücreleri PDL1 ya da CD80 gibi inhibitör moleküller eksprese ederek T lenfositlerin tükenmesine neden olurlar. Tümör hücreleri, C-FLIP gibi anti-apoptotik molekülleri aktive ederek ya da FAS gibi ölüm reseptörlerinin ekspresyonunu down-regüle ederek apoptozdan kurtulurlar.

Tarihsel olarak bakıldığında malign melanoma ve renal hücreli karsinom başta olmak üzere bazı tümörler daha immunojenik olmaları nedeniyle, immunoterapiye uygun tümörler olarak kabul edilirken, kolorektal kanserler bu grupta yer almamaktadır. Ancak son yıllarda kolorektal tümör dokusunda tümör infiltrate edici lenfositlerin (TIL) varlığının iyi prognozla ilişkisinin gösterilmesi, kolorektal kanserde dikkatleri yeniden immunoterapiye çekmiştir (3). Ayrıca, çeşitli kanser türlerinde yapılan çalışmalarda kemoterapi ve radyoterapiye dirençli olan tümörlerin de halen

immunoterapiye aday olduğunun saptanması, immunoterapinin kolorektal kanserlerin ileri evreleri için de bir tedavi seçeneği olabileceğini akla getirmektedir (4,5,6).

Spesifik olmayan bir immunoterapi yaklaşımı olan IL-2 ile yapılan çalışmalarda, bu yaklaşımın metastatik kolorektal kanserde etkili olmadığı gözlenirken, adjuvan tedavide standard tedaviye eklendiğinde potansiyel olarak yararlı olabileceği belirtilmiştir (7). Ancak gerek sağladığı katkının sınırlı olması gerekse önemli orandaki yan etkileri nedeniyle bugün için rağbet görmemektedir.

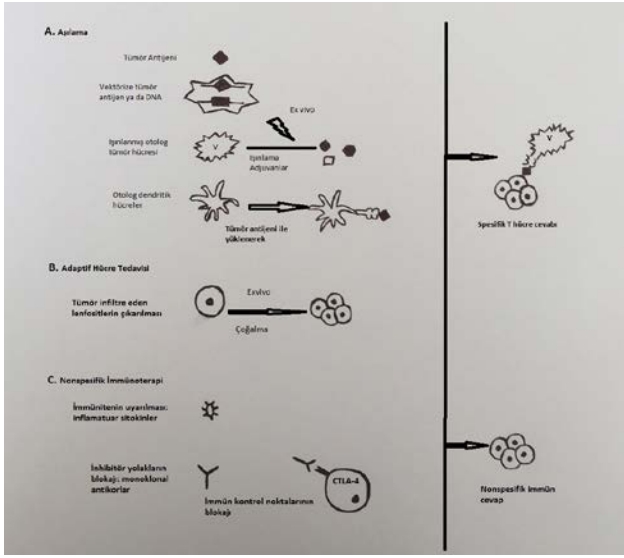
Monoklonal antikorlar, kolorektal kanser tedavisinde yıllardır kullanılmakta olan, yüksek spesifiteye sahip ve klinik olarak efektif immün tedavi ajanlarıdır. Setuksimab ve panitumumab gibi EGFR'ü hedefleyen ve bevacizumab gibi VEGF 'ü hedefleyen monoklonal antikorlar, önemli sinyal yollarını engelleyerek ve doğal immün efektör mekanizmaları kullanarak antikor bağımlı sitotoksisteye neden olmak suretiyle etkili olmaktadır (8).

Tümör mikroçevresinde süpresif mekanizmaları hedefleyen yeni bir antikor çeşidi ise, checkpoint (kontrol noktası) inhibitörleri olarak bilinen CTLA-4, PD-1 ve PD-L1'e karşı geliştirilen antikorlardır. Malign melanoma ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri'nde başarılı sonuçlar elde edilen bu antikorlar ile kolorektal kanserde yapılan ilk çalışmalar çok başarılı olmasa da bu antikorların birbiri veya kemoterapi, hedef tedaviler ya da radyoterapi ile kombine kullanımlarına dair yanıtlar henüz bilinmemektedir (9).

Güncel gelişmeler ışığında kolorektal kanseri hedefleyen immunoterapiler genellikle, kanser aşılma ve adaptif hücre tedavisi (ACT) şeklinde karşımıza çıkmaktadır (10) (Şekil 2).

AŞI ÇALIŞMALARI

Aşılama için kullanılan ajanlar 4 ana kategoride incelenebilir: peptid antijen aşılama, olog tümör hücreleri ile aşılama, dendritik hücre aşılama ve viral/bakteriyel aşılama.



Şekil 2. Güncel immünoterapi yaklaşımları

Başlıca güncel immünoterapi yaklaşımları. A. Aşılamanın amacı tümör antijenlerine karşı spesifik bir bağışıklığa neden olmaktır. Bağışıklama için kullanılan ajan, ya sistemik olarak veya vektörle edilerek direkt olarak uygulanan tek bir antijen ya da ışınlanan tümör hücrelerinden elde edilen antijen kombinasyonudur. Sonuç olarak antijen ex vivo otolog dendritik hücrelerine yüklenebilir. B. Adaptif hücre tedavisi spesifik klonların çoğaltmasına izin veren tümör hücrelerinin varlığında konağın immün hücrelerinin ex vivo çoğaltılmasına dayanır. Bunlar çoğunlukla T hücreleridir fakat doğal öldürücü hücreleri ya da immün hücrelerin kombinasyonunu da kapsayabilir. C. İmmün sistemin nonspesifik uyarımı granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör gibi proinflammatuar sitokinlerin verilmesi ile ya da inhibitör yolların blokajı ile elde edilebilir. İpilimumab sitotoksik T lenfosit ilişkili antijen-4 (CTLA-4)'ü bloke eden monoklonal bir antikordur.

Tümör Antijenlerine Karşı Aşılama

Kanser aşısı konsepti, kanser hücrelerinin çoğunluğunda bulunan self-antijenlerin immün sistem tarafından tanınarak ortadan kaldırılması esasına dayanır. Tümör hücreleri üzerindeki MHC Class I molekülleri ile T hücre reseptörü (TCR) etkileşimi, T hücre aracılı antitümör immün yanıtta çok önemli bir olaydır. Özellikle CD8+ T hücreleri, tümör hücreleri üzerindeki MHC class I molekülleri ile TAA'den kaynaklanan peptidleri tanır. Buradan hareketle immünoterapi, tümör hücreleri üzerindeki spesifik TAA'lerin tanınarak antitümör immün yanıt ile kanser hücre ölümünü destekleyebilir. Antijen spesifik CD8+ sitotoksik T lenfositleri (CTL) indüklemek

için TAA'lerden köken alan peptitlerin, MHC Class I molekülleri ile tanınması sürecinde antijen sunan hücrelerin (APC) yüzeyine sunulması gereklidir. Tersine, CD4+ T hücreleri, APC üzerindeki MHC Class II moleküllerinin katkılarıyla peptidleri direkt olarak tanır ve interferon- γ ve IL-2 sekresyonu yoluyla antijen spesifik CD8+ CTL'lerin sürekliliğini artırır. Bu nedenle, APC'ler üzerindeki MHC Class I ve II molekülleri ve peptit komplekslerinin $\alpha\beta$ T hücre reseptörü ile etkileşimi kanser immünoterapisinde merkezi bir olaydır. CD8+ CTL'ler tarafından eksprese edilen $\alpha\beta$ TCR, tümör hücreleri üzerindeki MHC Class I-peptit komplekslerini tanır ve perforin ve granzyme B gibi efektör moleküller yoluyla tümör hücre ölümüne yol açarlar (10,11). İnsan T lenfositlerinin nadir bir alt tipi, TCR- $\gamma\delta$ eksprese eder. İnsan $\gamma\delta$ T hücreleri kendi TCR'leri tarafından tanımlanmış çeşitli hücre alt tipleri içerir. Kanser immünoterapi stratejileri, MHC-kısıtlı T hücrelerinin aktivasyonu üzerine odaklanmasına rağmen, $\gamma\delta$ T hücreleri sitokin üretimi ve potent sitotoksik aktivite gibi bazı dengeleyici fonksiyonlara katılırlar ve non-MHC-kısıtlı şekildeki antijenleri tanırlar. Böylece T hücreleri salgılanan sitokinler kadar kendi HLA-kısıtlı olmayan sitotoksik kapasitedeki tümörlere de saldırabilir. Gerçekten tümör infiltre eden $\gamma\delta$ T hücreleri, kolorektal kanserleri de içeren geniş bir kanser türünde saptanmıştır. Aktive edilen $\gamma\delta$ T hücreleri normal, transforme olmamış hücreleri ayırarak metastatik kolorektal, prostat, meme ve renal karsinomlardan kaynaklanan hücreleri öldürebilir (11,12).

KRK'de birkaç faz II, antijen içeren aşılama çalışması bildirilmiştir. β -human chorionic gonadotropin peptid aşısı ile immünizasyon, daha önce tedavi almış metastatik KRK'li 77 hastanın 56'sında hCG antikoru oluşturmuştur ve yüksek antikor varlığı daha uzun sağkalım ile ilişkili bulunmuştur (13). Hepatik metastazların küratif rezeksiyonu sonrası CEA ile immünizasyon, 2 yıllık rekürrensiz sağkalımı etkilememiştir (14). Mutant bir RAS peptidi ile adjuvan aşılama şeklindeki bir pilot çalışmada, evre II ve III KRAS mutant KRK'de, 7 hastanın 4'ünde artmış IFN- γ mRNA ekspresyonu spesifik bir immün yanıtı neden olmuştur (15).

MUC 1, KRK'de ilk tespit edilen tümör antijenlerinden olup, 15 yıldır MUC1 ile oluşturulan aşı çalışmaları devam etmektedir. Son zamanlarda saptanan ilginç bir bulgu MUC1 ile oluşturulan aşının, premalign lezyonların oluşumu önlemesi dolayısıyla kolorektal tümörögenizi geri döndürmesi ile ilgilidir (16). MUC1, MSI ya da HER2neu gibi çeşitli peptidler kullanarak antijen aşılarının kullanıldığı çeşitli faz I/II çalışmaları devam etmektedir.

Peptid temelli aşılarda etkinliğin artırılması için daha uzun sentetik peptidlerin kullanılmasının daha yararlı olacağı ifade edilmektedir. Bununla ilgili yapılan bir faz I/II çalışmada kolorektal kanserli 10 hastaya iki katı miktarda p53 sentetik uzun peptid uygulanmış ve hastaların 9'unda p53 spesifik CD4+ ve CD8+ T-hücre yanıtı elde edilmiştir. Altı hastada yanıt 6 aydan uzun sürmüştür (17).

Otolog Tümör Hücreleri ile Aşılamaya

1992'den beri, ışınlanmış otolog tümör hücreleri ile immünizasyonu içeren aktif spesifik immünoterapi birkaç faz III çalışmada incelenmiştir. Otolog tümör hücreleri içeren aşılarda yüksek oranda TAA içermesi nedeniyle cazip bir tedavi stratejisi olarak ifade edilmektedir (10,18). Otolog tümör aşılarının etkinliğini arttırmak için öncelikle immunojenitesini arttırmaya ihtiyaç vardır. Ancak bugün için hangi spesifik ajanın (kemoterapi, radyasyon veya kimyasal ajanlar) daha yüksek immunojenite sağlamak üzere en uygun olduğu bilinmemektedir (18). Yapılan çalışmalarda Newcastle Hastalığı virüsü (19,20), ya da BCG (21,22) ile otolog tümör aşısı inkübe edilerek etkinliği arttırılmaya çalışılmıştır. Daha sonra bu yaklaşımlar hem erken evrede hem de metastatik kolon kanserinde araştırılmıştır (21,22,23). Bunlardan erken evrede adjuvan tedavi olarak kullanıldığı çalışmalarda rektum kanserli hastalarda DFS ve OS yararı gösterilemezken, kolon kanserli hastalarda ise hem DFS hem de OS avantajı sağladığı bildirilmiştir. Bunu takiben yapılan ve sadece evre II-III kolon kanserli hastaların alındığı faz III çalışmada tüm grupta anlamlı bir katkı saptanmamış, ancak gecikmiş tipte hipersensitivite gözlenenlerde genel sağ kalımda uzamanın olduğu bildirilmiştir. Öte yandan 254 kolon kanserli hastada

yapılan bir diğer çalışmada yararlılığın özellikle evre II hastalarda anlamlı düzeyde olduğu ve rekkürrens oranında %44'lük azalma sağladığı rapor edilmiştir. Tüm sonuçların doğrultusunda araştırmacılar daha etkin bir tedavi için hem yüksek kaliteli aşılara ihtiyaç olduğunu hem de yararlılığın özellikle minimal rezidüel hastalıkta daha belirgin olacağını, dolayısıyla bu yaklaşımın adjuvan tedaviye aday olduğunu düşündüklerini belirtmişlerdir.

Dendritik Hücre Bazlı Aşılamaya

Antitümör aşılamada anlamlı bir gelişme de antijenlerin vektörizasyonu yoluyla sağlanmıştır. Dendritik hücreler en önemli antijen sunan hücreler olması nedeniyle kanser immünoterapisinin en önemli ilgi odaklarından biridir. Dendritik hücreler hastadan toplanarak tümör epitoplari ile yüklenir, ex-vivo olgunlaştırılır ve hastaya bir aşı şeklinde geri verilir (24). Dendritik hücrelere çeşitli antijenlerin tekli (25), ikili (26) veya multipl (27) olarak yüklenmesi suretiyle yapılan çalışmalarda genel olarak iyi bir güvenlik profili sergilediği gözlenmiştir. Ancak etkin bir tedavi için doğru antijenlerin seçilmesi önemlidir. Bu anlamda literatürde CEA, MAGE, HER-2/neu-derived peptidler en yaygın çalışılan antijenler olarak tanımlanmaktadır (10,18). Bu peptidleri içeren dendritik hücrelerle yapılan faz I-II çalışmalarda özellikle CEA-spesifik T hücrelerinin uyarıldığı ve immünolojik yanıtın klinik yanıt ile korele olduğu bildirilmiştir. Ayrıca CEA'nın immunojenitesinin düşük olması nedeniyle peptid ligandlarında değişiklik yapılarak immunojenitesinin arttırıldığı da belirtilmektedir (28). Genel olarak immünoterapi yaklaşımlarında beklenen etkinin tümör yanıtından daha çok sağ kalımda uzama olduğu ifade edilmektedir. Etkin bir immünoterapinin önündeki en önemli engellerden birisi immünotolerans durumudur. Bu tolerans içinde de dendritik hücrelerdeki tolerans durumu ayrı bir önem taşımaktadır. Munn DH ve ark. (29) dendritik hücre toleransına indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO)'ın neden olduğunu göstermişlerdir. Araştırmacılar buna dayanarak IDO içeren peptid dizileri geliştirmişler ve bu dizilerin kanserli hastalarda CTLs tarafından spontan tanındığını bildirmişlerdir (30). Dolayısıyla IDO reaktif T hücrelerinin başta tümörlü hücreler olmak üzere IDO ekspres eden hücreleri öldürme kapasitesine sahip olduğu ifade

edilmektedir. Bununla ilgili erken evre faz çalışmaları devam etmektedir.

Viral/bakteriyel aşular

Rekombinan virüs teknolojisi ile, tümör ilişkili antijen eksprese eden hale getirilen viral veya bakteriyel bir vektörün doğal olarak immünojenik ve tipik olarak antijen sunan hücreleri (özellikle dendritik hücreleri) enfekte etme özelliğinden yararlanılarak tedavide kullanılmasıdır. CEA/TRICOM ve ALVAC aşuları, hayvan çalışmaları ve faz II çalışmalarda gerek % 50'ya varan etkinlik gerekse de düşük yan etki profili ile ümit vaad eden tedaviler olarak görülmektedir (31,32).

Adaptif Hücre Tedavisi

Pasif immünoterapi, konağın endojen immün sistemini aktive etmekten (aktif immünoterapi) ziyade immün efektör hücrelerin ya da moleküllerin konağa transfer edildiği bir olaydır. Bu tedavinin bir formu ACT'dir. Çoğu adaptif hücre tedavileri primer olarak oldukça spesifik doğası ve T hücrelerin potent öldürme yeteneği nedeniyle T hücre tedavisi üzerine odaklanmıştır. ACT'nde otolog T hücreleri hastadan alınır, aktive edilir, *ex-vivo* çoğaltılır ve tedavi edici etki için hastaya geri transfer edilir (33). ACT'nin avantajları, *ex-vivo* yeniden programlama ve *in-vivo* T hücre aktivasyonunu inhibe eden bazı self-tolerans mekanizmalarının üstesinden gelebilmesidir. Gerçekten de, tümör antijenlerine yüksek spesifite gösteren T hücrelerin büyük miktarlarının uygulanması tümör regresyonuna neden olabilir. Evre II ve IV kolon kanseri olan 16 hastada, hasta lenf nodlarından toplanan T hücreleri ile adaptif hücre tedavisi test edilmiş ve metastatik 9 hastanın 4'ünde belirgin bir yan etki olmaksızın tam yanıt elde edilmiştir (34).

Genetik olarak T hücrelerinin aşırı ve spesifik T hücre reseptörü eksprese etmek üzere işlenmesi-programlanması esasına dayanan ve tümörleri hedefleyen tedavi yaklaşımı, büyük oranda hastanın MHC haplotip'i ile ilişkilidir. Bu yaklaşımın kullanıldığı karsino embriyojenik antijen (CEA)'e spesifik T hücre reseptörleri ile genetik olarak üretilen otolog T hücreleri KRK'de faz I çalışmada kullanılmıştır; tedavi edilen 3 hastada serum

CEA düzeylerinin azaldığı görülmüş ancak şiddetli enflamatuar kolit toksisitesi tespit edilmiştir (35).

Antikor bazlı kimerik antijen reseptörleri (CAR), hücre içi T hücre domainlerinin sinyalizasyonunu birleştirir ve MHC kısıtlaması olmadan tümör yüzeyindeki doğal antijenleri hedefler. KRK'li hastalarda, HER2'yi hedefleyen ve genetik olarak üretilen T hücre eksprese eden kimerik antijen reseptörleri, ciddi toksisiteye neden olmuştur (36). Benzer stratejiler olan allojenik lenfositler ve otolog naturel killer tedavileri, faz I ve II çalışmalarında denetlenmektedir. ACT, kolorektal kanserde ciddi yan etkileri yanı sıra, T hücre üretimi için maliyet ve zaman gerektirmesi (4-16 hafta) gibi bazı dezavantajlara sahiptir ve şimdilik sadece akut ve kronik lenfoid lösemi için olumlu sonuçlar göstermiştir.

Son söz olarak; anlaşılmaktadır ki kanser ve immün sistem ilişkisi çok yönlü, birbiriyle iç içe ve oldukça dinamik bir süreçtir. Tümörün immün sistem tarafından tanınma, gözetim ve kaçış mekanizmalarının KRK'e özgü olarak anlaşılması, KRK immünoterapisinde yeni ufukların açılmasına yol açacaktır.

KAYNAKLAR:

1. Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, et al. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol* 2002;3:991-998.
2. Pernot S, Terme M, Voron T, et al. Colorectal cancer and immunity: what we know and perspectives. *World J Gastroenterol* 2014;20:3738-3750.
3. Ohtani H. Focus on TILs: prognostic significance of tumor infiltrating lymphocytes in human colorectal cancer. *Cancer Immunol* 2007;7:4.
4. Weng D, Song B, Durfee J et al. Induction of cytotoxic T lymphocytes against ovarian cancer-initiating cells. *Int J Cancer* 2011;129:1990-2001.
5. Takahara A, Koido S, Ito M et al. Gemcitabine enhances Wilms' tumor gene WT1 expression and sensitizes human pancreatic cancer cells with WT1-specific T-cell-mediated antitumor immune response. *Cancer Immunol Immunother* 2011;60:1289-1297.
6. Weng D, Song B, Koido S, Calderwood SK, Gong J. Immunotherapy of radioresistant mammary tumors with early metastasis using molecular chaperone vaccines

- combined with ionizing radiation. *J Immunol* 2013;191:755-763.
7. Grande C, Firvida JL, Navas V, Casal J. Interleukin-2 for the treatment of solid tumors other than melanoma and renal cell carcinoma. *Anticancer Drugs* 2006;17:1-12.
 8. Noguchi T, Ritter G, Nishikawa H. Antibody-based therapy in colorectal cancer. *Immunotherapy* 2013;5:533-545.
 9. Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer* 2012;12:252-264.
 10. Ellebaek E, Andersen MH, Svane IM, Straten PT. Immunotherapy for metastatic colorectal cancer: Present status and new options *Scand Gastroenterol* 2012;47:315-332.
 11. Corvaisier M, Moreau-Aubry A, Diez E et al. V gamma 9V delta 2 T cell response to colon carcinoma cells. *J Immunol* 2005;175:5481-5488.
 12. Kabelitz D, Wesch D, Pitters E, Zöller M. Potential of human gammadelta T lymphocytes for immunotherapy of cancer. *Int J Cancer* 2004;112:727-732.
 13. Moulton HM, Yoshihara PH, Mason DH, Iversen PL, Triozzi PL. Active specific immunotherapy with a beta-human chorionic gonadotropin peptide vaccine in patients with metastatic colorectal cancer: antibody response is associated with improved survival. *Clin Cancer Res* 2002;8:2044-2051.
 14. Posner MC, Niedzwiecki D, Venook AP et al. A phase II prospective multi-institutional trial of adjuvant active specific immunotherapy following curative resection of colorectal cancer hepatic metastases: cancer and leukemia group B study 89903. *Ann Surg Oncol* 2008;15:158-164.
 15. Toubaji A, Achar M, Provenzano M et al. Pilot study of mutant ras peptide-based vaccine as an adjuvant treatment in pancreatic and colorectal cancers. *Cancer Immunol Immunother* 2008;57:1413-1420.
 16. Kimura T, McKolanis JR, Dzubinski LA et al. MUC1 vaccine for individuals with advanced adenoma of the colon: a cancer immunoprevention feasibility study. *Cancer Prev Res (Phila)* 2013;6:18-26.
 17. Speetjens FM, Kuppen PJ, Welters MJ et al. Induction of p53-specific immunity by a p53 synthetic long peptide vaccine in patients treated for metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2009;15:1086-1095.
 18. Koido, Ohkuso T, Homma S et al. Immunotherapy for colorectal cancer *World J Gastroenterol* 2013;14;19:8531-8542.
 19. Schlag P, Manasterski M, Gerneth T et al. Active specific immunotherapy with Newcastle-disease-virus-modified autologous tumor cells following resection of liver metastases in colorectal cancer. First evaluation of clinical response of a phase II-trial. *Cancer Immunol Immunother* 1992;35:325-330.
 20. Schulze T, Kemmner W, Weitz J, Wernecke KD, Schirmmacher V, Schlag PM. Efficiency of adjuvant active specific immunization with Newcastle disease virus modified tumor cells in colorectal cancer patients following resection of liver metastases: results of a prospective randomized trial. *Cancer Immunol Immunother* 2009;58:61-69.
 21. Hoover HC Jr, Brandhorst JS, Peters LC et al. Adjuvant active specific immunotherapy for human colorectal cancer: 6.5-year median follow-up of a phase III prospectively randomized trial. *J Clin Oncol* 1993;11:390-399.
 22. Vermorken JB, Claessen AM, Van TH et al. Active specific immunotherapy for stage II and stage III human colon cancer: a randomised trial. *Lancet* 1999;353:345-350.
 23. Hanna MG Jr, Hoover HC Jr, Vermorken JB, Harris JE, Pinedo HM. Adjuvant active specific immunotherapy of stage II and stage III colon cancer with an autologous tumor cell vaccine: first randomized phase III trials show promise. *Vaccine* 2001;19(17-19):2576-2582.
 24. Palucka K, Banchereau J. Cancer immunotherapy via dendritic cells. *Nat Rev Cancer* 2012;12:265-277
 25. Liu Y, Zhang W, Zhang B, Yin X, Pang Y. DC vaccine therapy combined concurrently with oral capecitabine in metastatic colorectal cancer patients. *Hepatogastroenterology* 2013;60:23-27.
 26. Morse 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. *Ann Surg* 2013;258:879-886.
27. 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. *Clin Cancer Res* 2010;16:5548-5556.
 28. Fong L, Hou Y, Rivas A et al. Altered peptide ligand vaccination with Flt3 ligand expanded dendritic cells for tumor immunotherapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:8809-8814.
 29. Munn DH, Mellor AL. Indoleamine 2,3-dioxygenase and tumor-induced tolerance. *J Clin Invest.* 2007;117:1147-1154.
 30. Sorensen RB, Hadrup SR, Svane IM, Hjortso MC, Thor SP, Andersen MH. Indoleamine 2,3-dioxygenase specific, cytotoxic T cells as immune regulators. *Blood* 2011;117:2200-2210.
 31. Marshall JL, Gulley JL, Arlen PM, Beetham PK, et al. Phase I study of sequential vaccinations with fowlpox-CEA(6D)-TRICOM alone and sequentially with vaccinia-CEA(6D)-TRICOM, with and without granulocyte-macrophage colony-stimulatingfactor, in patients with carcinoembryonic antigenexpressing carcinomas. *J Clin Oncol* 2005;23:720-731.
 32. Kaufman HL, Lenz HJ, Marshall J, et al. Combination chemotherapy and ALVAC-CEA/B7.1 vaccine in patients with metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2008;14:4843-4849.
 33. Restifo NP, Dudley ME, Rosenberg SA. Adoptive immunotherapy for cancer: harnessing the T cell response. *Nat Rev Immunol* 2012;12:269-281.
 34. Karlsson M, Marits P, Dahl K et al. Pilot study of sentinel-node-based adoptive immunotherapy in advanced colorectal cancer. *Ann Surg Oncol* 2010;17:1747-1757.
 35. Parkhurst MR, Yang JC, Langan RC et al. T cells targeting carcinoembryonic antigen can mediate regression of metastatic colorectal cancer but induce severe transient colitis. *Mol Ther* 2011;19:620-62.
 36. Morgan RA, Yang JC, Kitano M, Dudley ME, Laurencot CM, Rosenberg SA. Case report of a serious adverse event following the administration of T cells transduced with a chimeric antigen receptor recognizing ERBB2. *Mol Ther* 2010;18:843-851.