

Die Immuntherapie beim Prostatakarzinom

Aktuelle Ansätze

Die Entwicklung von immunologischen Therapien in der Onkologie hat in den letzten Jahren einige vielversprechende Resultate gezeigt, sodass neue Medikamente zugelassen worden sind. Gerade beim Prostatakarzinom konnte gezeigt werden, dass multiple Tumorantigene exprimiert werden und dass im Stroma eine Fülle von immunologischen Effektorzellen, die gegen die Tumorzellen gerichtet sind, nachweisbar sind.

SACHA ROTHSCHILD, ALFRED ZIPPELIUS



Sacha
Rothschild



Alfred
Zippelius

Die Immuntherapie induziert oder verstärkt die anti-tumorale Immunantwort. Das Konzept der Immuntherapie geht auf die Beobachtungen von William B. Coley Ende des 19. Jahrhunderts zurück, wonach sich Tumoren nach der Injektion von Bakterien verkleinern (1, 2). Später kamen weitere richtungsweisende Beobachtungen hinzu, so unter anderem das Auftreten von Spontanremissionen, die höhere Inzidenz von malignen Tumoren bei immun-supprimierten Personen sowie die Identifikation von tumorspezifischen Antigenen und Lymphozyten. In den letzten Jahren hat sich die Tumorimmunologie stark entwickelt, und es konnten insbesondere wichtige zugrunde liegende immunologische Mechanismen beschrieben werden. So wurde eine Vielzahl von Tumorantigenen entdeckt, und es konnten effektor- und immunoregulatorische Mechanismen beschrieben werden. Wir wissen heute, dass das Immunsystem eine duale Rolle bei der Tumorabwehr spielt: Einerseits führen Lymphozyten zur Eliminierung von Tumorzellen, andererseits kann der immunologische Druck Tumorzellen so verändern, dass diese letztlich der Immunabwehr entkommen (sog. Immuno-Editing) (3). Die Immuntherapie von Tumoren umfasst

unterschiedliche Methoden und ist heute fester Bestandteil der onkologischen Therapie. So ist die Gabe von Antikörpern in Kombination mit Radio- und Chemotherapie bei verschiedenen Tumorentitäten ein etabliertes Verfahren. Des Weiteren können Patienten vakziniert werden, um das Immunsystem gegen spezifische Tumorantigene zu aktivieren, um so Tumor-reaktive T-Zellen zu induzieren. Die vor Kurzem publizierten Daten von zwei randomisierten Studien, die eine signifikante Verlängerung des Gesamtüberlebens bei Patienten mit metastasiertem malignem Melanom durch den T-Zell-stimulierenden Antikörper Ipilimumab gezeigt haben, eröffnen der immunologischen Therapie neue therapeutische Perspektiven in der Onkologie (4, 5).

Prostatakarzinom – ein immunogener Tumor

Traditionell gilt das Melanom, basierend auf der Expression von zahlreichen Tumorantigenen und der Infiltration mit immunologischen Effektorzellen, als immunogener Tumor. Mittlerweile wurden aber auch bei anderen soliden Tumoren immunologische Mechanismen entdeckt. So konnte auch beim Prostatakarzinom gezeigt werden, dass multiple Tumorantigene wie Differenzierungs- und Cancer-Testis-Antigene exprimiert werden (6). Im Stroma lassen sich CD4- und CD8-Lymphozyten nachweisen, die spezifisch gegen Tumorzellen gerichtet sind. Mechanismen einer lokalen Immunsuppression wie das Vorhandensein von regulatorischen T-Zellen unterdrücken allerdings zumeist die Abwehrfunktionen dieser Effektorzellen. Ziel einer effektiven Therapie könnte es daher sein, das vorhandene Repertoire an Immunzellen zu rekrutieren. Interessanterweise haben auch konventionelle Therapien erhebliche immunologische Wirkungen. So induziert die Androgenablation ein oli-

ABSTRACT

Immunotherapy in Prostate cancer

Prostate cancer is the most frequent malignancy in male. During the last decade, immunotherapy has emerged as an exciting novel therapeutic approach for advanced prostate cancer. The US Food and Drug Administration (FDA) has recently approved a personalized vaccine (sipuleucel-T) in prostate cancer and the CTLA-4 antibody ipilimumab in malignant melanoma. Currently, several clinical trials are investigation different immunological therapeutic approaches for the treatment of prostate cancer.

Keywords: immunotherapy, prostate cancer, sipuleucel-T, ipilimumab

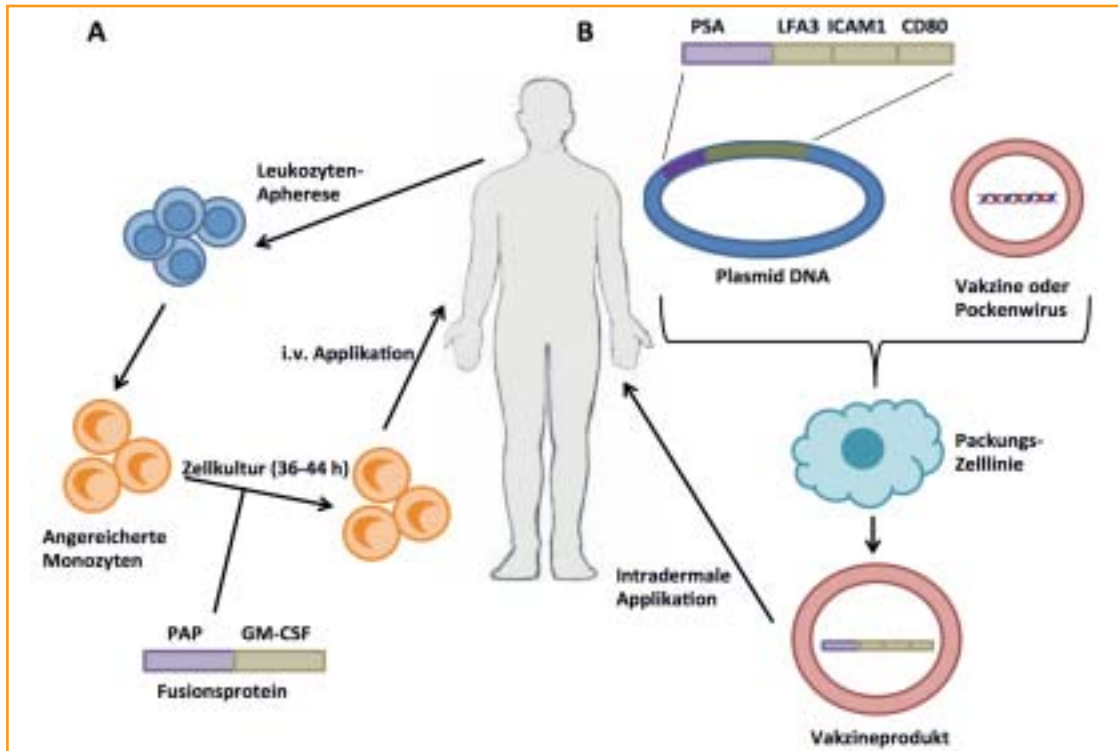


Abbildung 1:

A.: Sipuleucel-T basiert auf Zellen, die aus einer Leukozyten-Apherese vom Patienten gewonnen wurden. Die Anreicherung von Monozyten aus dieser Apherese geschieht in einem zentralen Labor. Diese Monozyten werden während 36 bis 44 Stunden mit einem spezifischen Fusionsprotein, gebildet aus GM-CSF gekoppelt an das Zielantigen PAP (prostatic acid phosphatase), inkubiert. Das Produkt wird intravenös appliziert. Im menschlichen Körper entwickeln sich die Monozyten zu reifen und kompetenten Antigen-präsentierenden Zellen, welche PAP den körpereigenen T-Zellen präsentieren und das Immunsystem aktivieren.

B.: ProstVac VF besteht aus einem DNA-Plasmid, das für das Zielantigen PSA und drei weitere ko-stimulatorische Moleküle (LFA3, ICAM1 und CD80) kodiert. Das Plasmid wird in einer Packungs-Zelllinie in einen Poxvirus integriert und stellt so das Vakzinierungsprodukt dar. Die Vakzine wird intradermal verabreicht, wo sie die epithelialen Zellen infiziert. Der daraus entstehende Zelldébris (inklusive des Zielantigens PSA) wird von Antigen-präsentierenden Zellen aufgenommen und den körpereigenen T-Zellen präsentiert. Eine weitere Möglichkeit der Antigenpräsentation ist die direkte Infektion von Antigen-präsentierenden Zellen (z.B. Langerhans-Zellen der Haut).

Adaptiert von Drake CG (6).

goklonales T-Zell-Infiltrat, das vermutlich eine antigenspezifische Immunantwort darstellt. Inwieweit der klinische Erfolg einer antihormonellen Therapie von diesem Immunzellinfiltrat abhängt, ist derzeit unklar. Allerdings suggeriert diese Beobachtung, dass sich gerade mit dieser Therapie synergistische therapeutische Effekte ergeben könnten.

Antigenspezifische Immuntherapie

Beim antigenspezifischen Therapieansatz wird ein spezifisches Tumorantigen direkt als Therapieziel verwendet. Entweder wird das Antigen auf DNA- oder auf Proteinebene in eine Vakzine integriert, oder es wird ex vivo auf eine Antigen-präsentierende Zelle geladen. Zu den am häufigsten verwendeten Antigenen beim Prostatakarzinom zählen das prostataspezifische Antigen (PSA), PAP (= prostatic acid phosphatase) und PSMA (= prostate-specific membrane antigen).

Sipuleucel-T

Sipuleucel-T (Provenge, Dendreon Inc.) ist eine personalisierte Vakzine, die individuell für jeden Patienten

produziert wird (7). Patienten durchlaufen eine Leukapherese, nach der die gewonnenen Zellen zur Herstellerfirma geschickt werden. Dort werden Monozyten angereichert und ex vivo für 36 bis 44 Stunden mit einem Fusionsprotein, das PAP mit GM-CSF (= granulocyte macrophage colony stimulating factor) verbindet, kultiviert. Die Funktion von GM-CSF besteht darin, dendritische Zellen, welche die Immunantwort induzieren, zu aktivieren und zur Reifung zu bringen. Die Antigen-beladenen Antigen-präsentierenden Zellen sowie andere Immunzellen aus der Kultur werden so aktiviert und danach dem Patienten retransfundiert (Abbildung 1A). Die Patienten bekommen in der Regel drei Apheresen und nachfolgend intravenöse Infusionen der Immuntherapie im Abstand von zwei Wochen. Die Hochregulation von CD54 kann als Surrogatmarker für die Aktivierung der Antigen-präsentierenden Zellen und somit die Effektivität von Sipuleucel-T verwendet werden (8).

In einer randomisierten Phase-III-Studie mit 512 Patienten konnte 2010 ein signifikanter Überlebensvorteil für Sipuleucel-T gegenüber Placebo (25,8 vs. 21,7

Monate, $p = 0,03$) gezeigt werden (9). Die Studie schloss Patienten mit metastasiertem, kastrationsrefraktärem Prostatakarzinom (CRPC = castration-resistant prostate cancer) ein, die keine oder nur minimale tumorbedingte Symptome hatten. Die meisten Patienten hatten noch keine Vortherapie mit einer zytotoxischen Chemotherapie. Basierend auf diesen Daten und auf zwei kleineren Phase-III-Studien (7, 10) hat die FDA in den USA Sipuleucel-T 2010 für Patienten mit asymptomatischem, metastasiertem CRPC zugelassen. Die häufigsten Nebenwirkungen von Sipuleucel-T sind Fieber, Schüttelfrost und Kopfschmerzen. Eine kürzlich publizierte Analyse konnte zudem eine signifikante Korrelation zwischen einer antigenspezifischen Immunantwort und dem Gesamtüberleben zeigen (11). Basierend auf dem Konzept, dass eine Immuntherapie möglicherweise den grössten Effekt bei minimaler Tumorlast hat (12), wurden Studien mit Sipuleucel-T bei frühen Stadien von Prostatakarzinomen initiiert. In einer Phase-II-Studie wurde Sipuleucel-T bei rund 40 Patienten vor der geplanten Prostatektomie verabreicht (13). Der primäre Endpunkt war der Nachweis von Immunzellen im Prostatektomiepräparat. Es konnte eine Vermehrung von T-Lymphozyten intratumoral gefunden werden.

ProstVac VF

ProstVac VF (Bavarian Nordic) ist eine Vakzine basierend auf einem Pockenvirusvektor. Die verwendete Vakzine für Prostatakarzinome (TRICOM) enthält kostimulierende Moleküle (ICAM1, LFA3 und CD80) (Abbildung 1B.) (14, 15). In einer Phase-II-Studie wurden 82 Patienten zwischen ProstVac VF plus GM-CSF und Placebo plus GM-CSF randomisiert. Der primäre Endpunkt war das progressionsfreie Überleben, das nicht unterschiedlich war, wohingegen das Gesamtüberleben signifikant verbessert wurde (median 25,1 vs. 16,6 Monate, $p = 0,0061$). Neben lokalen Hautreaktionen kam es zu Müdigkeit, Fieber, Schüttelfrost, Übelkeit, Arthralgien (16). Weitere Studien mit ProstVac VF rekrutieren zurzeit Patienten. Eine randomisierte Phase-II-Studie bei metastasiertem CRPC, die ProstVac VF mit Docetaxel kombinierte, musste wegen einer ungenügenden Zahl eingeschlossener Patienten abgebrochen werden.

DNA-Vakzine

DNA-basierte Vektoren sind deutlich weniger immunogen als virale Vektoren. Eine Möglichkeit, die Immunogenität von DNA-basierten Vektoren zu verstärken, ist die Inkorporation von spezifischen pro-inflammatorischen Zytokinen (z.B. toll-like receptor-Agonisten), welche antigenpräsentierende Zellen aktivieren. pTVG-HP ist eine Plasmid-DNA, die für PAP kodiert. In einer Phase-I-Studie wurden 22 Patienten mit verschiedenen Dosen von pTVG-HP zusammen mit GM-CSF intradermal behandelt. Es zeigt

ten sich keine relevanten Nebenwirkungen. 12 Patienten zeigten eine gegen PAP gerichtete Immunantwort. Die Zeit bis zur PSA-Verdoppelung wurde durch die Vakzinierung verlängert (17).

Polyvalente und nicht spezifische Immuntherapien

Zellbasierte Immuntherapien

GVAX (BioSante) ist eine zellbasierte Vakzine, wobei GM-CSF-transduzierte Tumorzellen als Vakzine verwendet werden (18). Dabei wird anstelle eines einzelnen Antigens, wie vorher diskutiert, die gesamte Zelle als Vakzine verwendet, um eine Immunantwort gegen mehrere potenzielle Tumorantigene zu erreichen. GM-CSF hat die Eigenschaft, antigenpräsentierende Zellen und T-Zellen an den Ort der Vakzinierung zu bringen, um so eine Immunantwort zu induzieren (19, 20). Prostata-GVAX basiert auf den allogenen Zelllinien LnCap (androgensensibel) und PC3 (kastrationsrefraktär) (21, 22). Zwei kürzlich publizierte Studien (VITAL-1 und VITAL-2) bei Patienten mit metastasiertem CRPC zeigten negative Resultate (23). Neben methodologischen Gründen könnte hierfür auch das fortgeschrittene Tumorstadium ursächlich sein.

Immunmodulatorische Antikörper

Verschiedene inhibitorische Signalkaskaden sind im den Tumor umgebenden Gewebe aktiviert und unterstützen die zytotoxische T-Zell-Antwort gegen Tumorantigene. Von Bedeutung sind die Moleküle CTLA-4, PD-1, B7-H3 oder B7x, wobei es für die beiden ersten spezifische Antikörper gibt. Das zytotoxische T-Lymphozyten-Antigen 4 (CTLA-4) ist ein wichtiger negativer Regulator der T-Zell-Antwort und kann so die antitumorale Immunantwort hemmen (24). Die Bedeutung von CTLA-4 konnte im Tiermodell gezeigt werden. So starben CTLA-4-depletierte Mäuse nach 4 bis 6 Wochen aufgrund von lymphozytären Infiltraten in diversen Organen (25, 26). Die Hemmung von CTLA-4 durch den spezifischen Antikörper Ipilimumab (MDX-010; Bristol-Myers Squibb) zeigte beim metastasierten malignen Melanom in der Kombination mit Dacarbazine gegenüber der alleinigen Therapie mit Dacarbazine in der Erstlinienbehandlung eine signifikante Überlebensverlängerung (4). Bei vorbehandelten Patienten führte die Therapie mit Ipilimumab ebenfalls zu einer signifikanten Verlängerung des Gesamtüberlebens (5). Die Rate an klinisch relevanten immunvermittelten Toxizitäten lag bei 25 bis 35% und umfasste Kolitis, Neutropenie, Dermatitis, Pneumonitis sowie diverse endokrine Störungen wie Hypothyreose und Hypophysitis (27, 28). Ipilimumab wurde in verschiedenen Phase-I- und Phase-II-Studien beim Prostatakarzinom untersucht, und es zeigte sich objektives klinisches Tumoransprechen sowie Abfall des PSA-Wertes (29, 30).

Zurzeit laufen zwei Phase-III-Studien mit Ipilimumab. Die eine Studie (NCT01057810) vergleicht Ipilimumab gegen Placebo bei kastrationsrefraktärem Prostatakarzinom bei Patienten, die nicht mit einer Chemotherapie vorbehandelt wurden. Die zweite Studie (NCT00861614) untersucht Ipilimumab gegenüber Placebo bei Patienten mit kastrationsrefraktärem Prostatakarzinom nach einer Vorbehandlung mit Docetaxel.

Ein weiterer immunologischer Angriffspunkt ist das Molekül PD1 (programmed cell death 1). Laborarbeiten fanden B7-H1 als Liganden von PD1 (PD-L1) und konnten zeigen, dass deren Interaktion zu einer Inhibition von T-Zellen führt (31, 32). In Tierversuchen führte eine PD1-Hemmung zu einer verstärkten antitumoralen Immunantwort (33, 34). Zudem konnte gezeigt werden, dass PD-L1 in zahlreichen humanen Tumoren (u.a. in Nierenzellkarzinomen) vermehrt exprimiert wird und dass eine vermehrte Expression mit einer schlechteren Prognose einhergeht (35). Beim Prostatakarzinom konnte gezeigt werden, dass die Prostata-infiltrierende CD8+ T-Zellen PD1 exprimieren (36). Phase-I-Studien mit den humanen Antikörpern gegen PD1 respektive PD-L1 zeigten eine gute Verträglichkeit und ein vielversprechendes Ansprechen bei mehrfach vorbehandelten Patienten mit diversen soliden Tumoren (37, 38). In Kürze werden Phase-III-Studien zur Inhibition der PD1/PD-L1-Signalkaskade initiiert, wie beispielsweise beim Bronchuskarzinom, an der auch unsere Klinik teilnimmt (NCT01642004).

Kombination von Immuntherapie mit etablierten Substanzen

Die möglicherweise am effektivsten wirksame Behandlungsstrategie bei malignen Tumoren ist es, verschiedene Therapieansätze miteinander zu kombinieren. Insbesondere beim fortgeschrittenen Prostatakarzinom könnte die Kombination von neuen immuntherapeutischen Ansätzen mit der etablierten antitumoralen Therapie einen Fortschritt ermöglichen (39).

Kombination mit radioaktiven Substanzen

Die Kombination von Bestrahlung und Immuntherapie ist nicht zuletzt deswegen von Interesse, weil bekannt ist, dass die Bestrahlung ebenfalls eine immunogene Wirkung hat (40), indem Antigen-präsentierende Zellen stimuliert werden (41) und diese wiederum einen pro-inflammatorischen Effekt haben (42). Die Kombination von Bestrahlung und Immuntherapie hat eine synergistische Wirkung (43, 44). Zurzeit laufen einige Studien, welche die Kombination von ¹⁷⁷Lu-J591 (ein radioaktiv beladener monoklonaler Antikörper gegen PSMA) alleine (NCT00538668) oder in Kombination mit anderen Substanzen, wie Docetaxel (NCT00916123) oder Ketoconazol (NCT00859781), un-

tersuchen. In einer Phase-II-Studie wird das Radiopharmakon ¹⁵³Sm-EDTMP (Quadramet) mit oder ohne ProstVac VF bei metastasiertem CRPC untersucht (NCT00450619).

Kombination mit antihormoneller Therapie

Im Tierversuch konnte gezeigt werden, dass die Androgenablation zu einer Regeneration des Thymus und zum Auftreten von naiven T-Zellen im peripheren Blut führt. Beim Menschen bewirkt die antihormonelle Therapie eine vermehrte Infiltration von CD4-positiven T-Zellen in der Prostata. Die Kombination von ProstVac VF mit Androgenablation zeigte eine verstärkte Immunogenität gegen PSA und ein geringes Toxizitätsprofil (45). Zahlreiche Studien untersuchen zurzeit die Kombination von Sipuleucel-T oder Ipilimumab mit unterschiedlichen antihormonellen Substanzen.

Kombination von unterschiedlichen Immuntherapien

Die erste Studie, die unterschiedliche Ansätze der Immuntherapie beim Prostatakarzinom untersuchte, kombinierte GM-CSF mit Ipilimumab. In der Kohorte mit der maximalen Ipilimumab-Dosis von 3 mg/kg zeigten 3 von 24 Patienten einen PSA-Abfall von über 50%, zudem zeigte ein Patient mit Lebermetastasen eine fast komplette radiologische Remission (46). In weiteren Studien wurde GVAX respektive ProstVac VF mit Ipilimumab kombiniert (47, 48). Die Rate an höhergradigen Toxizitäten, inklusive endokrinologischer Störungen, scheint der limitierende Faktor bei diesen Kombinationstherapien zu sein. (49)

Konklusion

Die Bedeutung von immunologischen Faktoren beim Prostatakarzinom ist im Vergleich zu den klassischen immunologisch getriggerten Tumoren (Melanom, Nierenzellkarzinom) eine neue, aber therapeutisch wichtige Erkenntnis. Sowohl der Nachweis von diversen Tumorantigenen wie auch von immunologischen Effektorzellen legten den Grundstein für die Erforschung von Vakzinierungstherapien und immunmodulatorischen Behandlungsansätzen. Aufgrund positiver Resultate von Phase-III-Studien hat die FDA in den USA Sipuleucel-T für Patienten mit metastasiertem, asymptomatischem CRPC zugelassen. Interessante Resultate aus frühen klinischen Studien führten zur Entwicklung von Phase-III-Studien mit ProstVac VF und Ipilimumab für Patienten mit metastasiertem CRPC. Zudem sind Studien zur Kombination von immuntherapeutischen Therapieansätzen mit konventionellen Therapien wie Radiotherapie, Hormonablation oder Chemotherapie geplant, um die Prognose der Patienten mit Prostatakarzinomen zu verbessern. ▲

Dr. med. et Dr. phil. nat. Sacha Rothschild
(Korrespondenzadresse)
E-Mail: rothschilds@uhbs.ch

Prof. Dr. med. Alfred Zippelius

Medizinische Onkologie
Universitätsspital Basel
4031 Basel

Potenzielle Interessenkonflikte:

Sacha Rothschild: Honorare von Glaxo-Smith-Kline, Janssen-Cilag, Pfizer, Roche und Sanofi Aventis für die Teilnahme an Advisory Boards. Beraterfunktion für Glaxo-Smith-Kline, Merck und Roche.

Alfred Zippelius: Honorare von Roche, BMS und Lilly für Berater-tätigkeit.

Quellen:

1. Coley WB.: The Treatment of Inoperable Sarcoma by Bacterial Toxins (the Mixed Toxins of the Streptococcus erysipelas and the Bacillus prodigiosus). *Proc R Soc Med.* 1910; 3 (Surg Sect): 1–48.
2. Coley WB.: End Results in Hodgkin's Disease and Lymphosarcoma Treated by the Mixed Toxins of Erysipelas and Bacillus Prodigiosus, Alone or Combined with Radiation. *Ann Surg.* 1928; 88(4): 641–67.
3. Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ.: Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science.* 2011; 331(6024): 1565–70.
4. Robert C, Thomas L et al.: Ipilimumab plus dacarbazine for previously untreated metastatic melanoma. *N Engl J Med.* 2011; 364(26): 2517–26.
5. Hodi FS, O'Day SJ, et al.: Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med.* 2010 Aug 19; 363(8): 711–23.
6. Drake CG.: Prostate cancer as a model for tumour immunotherapy. *Nat Rev Immunol.* 2010; 10(8): 580–93.
7. Higano CS, Schellhammer PF, et al.: Integrated data from 2 randomized, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trials of active cellular immunotherapy with sipuleucel-T in advanced prostate cancer. *Cancer.* 2009; 115(16): 3670–79.
8. Sheikh NA, Jones LA.: CD54 is a surrogate marker of antigen presenting cell activation. *Cancer Immunol Immunother.* 2008; 57(9): 1381–90.
9. Kantoff PW, Higano CS, et al.: Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer. *N Engl J Med.* 2010; 363(5): 411–22.
10. Small EJ, Schellhammer PF et al.: Placebo-controlled phase III trial of immunologic therapy with sipuleucel-T (APC8015) in patients with metastatic, asymptomatic hormone refractory prostate cancer. *J Clin Oncol.* 2006; 24(19): 3089–94.
11. Sheikh NA, Petrylak D, et al.: Sipuleucel-T immune parameters correlate with survival: an analysis of the randomized phase 3 clinical trials in men with castration-resistant prostate cancer. *Cancer Immunol Immunother.* 2012 Aug 3.
12. Gulley JL, Arlen PM, et al.: Immunologic and prognostic factors associated with overall survival employing a poxviral-based PSA vaccine in metastatic castrate-resistant prostate cancer. *Cancer Immunol Immunother.* 2010; 59(5): 663–74.
13. Fong L, Weinberg VK, al.: Neoadjuvant sipuleucel-T in localized prostate cancer: effects on immune cells within the prostate tumor microenvironment. *J Clin Oncol.* 2012; 30(suppl): Abstr 2564.
14. Hodge JW, Sabzevari H, et al.: A triad of costimulatory molecules synergize to amplify T-cell activation. *Cancer Res.* 1999; 59(22): 5800–07.
15. DiPaola RS, Plante M, et al.: A phase I trial of pox PSA vaccines (PROSTVAC-VF) with B7-1, ICAM-1, and LFA-3 co-stimulatory molecules (TRICOM) in patients with prostate cancer. *J Transl Med.* 2006; 4: 1.
16. Kantoff PW, Schuetz TJ et al.: Overall survival analysis of a phase II randomized controlled trial of a Poxviral-based PSA-targeted immunotherapy in metastatic castration-resistant prostate cancer. *J Clin Oncol.* 2010; 28(7): 1099–105.
17. McNeel DG, Dunphy EJ, et al.: Safety and immunological efficacy of a DNA vaccine encoding prostatic acid phosphatase in patients with stage D0 prostate cancer. *J Clin Oncol.* 2009; 27(25): 4047–54.
18. Dranoff G, Jaffee E, et al.: Vaccination with irradiated tumor cells engineered to secrete murine granulocyte-macrophage colony-stimulating factor stimulates potent, specific, and long-lasting anti-tumor immunity. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1993; 90(8): 3539–43.
19. Shi Y, Liu CH, Roberts AI, et al.: Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and T-cell responses: what we do and don't know. *Cell Res.* 2006; 16(2): 126–33.
20. Simons JW, Sacks N.: Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-transduced allogeneic cancer cellular immunotherapy: the GVAX vaccine for prostate cancer. *Urol Oncol.* 2006; 24(5): 419–24.
21. Small EJ, Sacks N, et al.: Granulocyte macrophage colony-stimulating factor – secreting allogeneic cellular immunotherapy for hormone-refractory prostate cancer. *Clin Cancer Res.* 2007; 13(13): 3883–91.
22. Nguyen MC, Tu GH, et al.: Antibody responses to galectin-8, TARP and TRAP1 in prostate cancer patients treated with a GM-CSF-secreting cellular immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother.* 2010; 59(9): 1313–23.
23. Higano C, Saad F et al.: A phase III trial of GVAX immunotherapy for prostate cancer versus docetaxel plus prednisone in asymptomatic, castration-resistant prostate cancer (CRPC). *American Society of Clinical Oncology Genitourinary Cancers Symposium.* 2009; LBA150.
24. Pardoll D, Drake C.: Immunotherapy earns its spot in the ranks of cancer therapy. *J Exp Med.* 2012; 209(2): 201–09.
25. Waterhouse P, Penninger JM, et al.: Lymphoproliferative disorders with early lethality in mice deficient in Ctl4. *Science.* 1995; 270(5238): 985–88.
26. Tivol EA, Borriello F, et al.: Loss of CTLA-4 leads to massive lymphoproliferation and fatal multiorgan tissue destruction, revealing a critical negative regulatory role of CTLA-4. *Immunity.* 1995; 3(5): 541–47.
27. Weber J.: Ipilimumab: controversies in its development, utility and autoimmune adverse events. *Cancer Immunol Immunother.* 2009; 58(5): 823–30.
28. Rosenberg SA, Yang JC, Restifo NP.: Cancer immunotherapy: moving beyond current vaccines. *Nat Med.* 2004; 10(9): 909–15.
29. O'Mahony D, Morris JC, et al.: A pilot study of CTLA-4 blockade after cancer vaccine failure in patients with advanced malignancy. *Clin Cancer Res.* 2007; 13(3): 958–64.
30. Small EJ, Tchekmedyan NS, et al.: A pilot trial of CTLA-4 blockade with human anti-CTLA-4 in patients with hormone-refractory prostate cancer. *Clin Cancer Res.* 2007; 13(6): 1810–05.
31. Dong H, Zhu G, Tamada K, Chen L.: B7-H1, a third member of the B7 family, co-stimulates T-cell proliferation and interleukin-10 secretion. *Nat Med.* 1999; 5(12): 1365–69.

32. Freeman GJ, Long AJ, et al.: Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *J Exp Med.* 2000; 192(7): 1027–34.
 33. Iwai Y, Ishida M, et al.: Involvement of PD-L1 on tumor cells in the escape from host immune system and tumor immunotherapy by PD-L1 blockade. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002; 99(19): 12293–97.
 34. Hirano F, Kaneko K, et al.: Blockade of B7-H1 and PD-1 by monoclonal antibodies potentiates cancer therapeutic immunity. *Cancer Res.* 2005; 65(3): 1089–96.
 35. Thompson RH, Gillett MD, et al.: Costimulatory B7-H1 in renal cell carcinoma patients: Indicator of tumor aggressiveness and potential therapeutic target. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004; 101(49): 17174–79.
 36. Sfanos KS, Bruno TC, et al.: Human prostate-infiltrating CD8+ T lymphocytes are oligoclonal and PD-1+. *Prostate.* 2009; 69(15): 1694–703.
 37. Brahmer JR, Drake CG, et al.: Phase I study of single-agent anti-programmed death-1 (MDX-1106) in refractory solid tumors: safety, clinical activity, pharmacodynamics, and immunologic correlates. *J Clin Oncol.* 2010; 28(19): 3167–75.
 38. Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, Gettinger SN, Smith DC, McDermott DF, et al.: Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med.* 2012; 366(26): 2443–54.
 39. Antonarakis ES, Drake CG.: Combining immunological and androgen-directed approaches: an emerging concept in prostate cancer immunotherapy. *Curr Opin Oncol.* 2012; 24(3): 258–65.
 40. Apetoh L, Ghiringhelli F, et al.: Toll-like receptor 4-dependent contribution of the immune system to anticancer chemotherapy and radiotherapy. *Nat Med.* 13(9): 1050–59.
 41. Lugade AA, Moran JP, et al.: Local radiation therapy of B16 melanoma tumors increases the generation of tumor antigen-specific effector cells that traffic to the tumor. *J Immunol.* 2005; 174(12): 7516–23.
 42. Chakraborty M, Abrams SI, et al.: Irradiation of tumor cells up-regulates Fas and enhances CTL lytic activity and CTL adoptive immunotherapy. *J Immunol.* 2003; 170(12): 6338–47.
 43. Demaria S, Kawashima N, et al.: Immune-mediated inhibition of metastases after treatment with local radiation and CTLA-4 blockade in a mouse model of breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2005; 11(2 Pt 1): 728–34.
 44. Chakraborty M, Abrams SI, et al.: External beam radiation of tumors alters phenotype of tumor cells to render them susceptible to vaccine-mediated T-cell killing. *Cancer Res.* 2004; 64(12): 4328–37.
 45. Sanda MG, Smith DC, et al.: Recombinant vaccinia-PSA (PROSTVAC) can induce a prostate-specific immune response in androgen-modulated human prostate cancer. *Urology.* 1999; 53(2): 260–06.
 46. Fong L, Kwek SS, et al.: Potentiating endogenous antitumor immunity to prostate cancer through combination immunotherapy with CTLA4 blockade and GM-CSF. *Cancer Res.* 2009; 69(2): 609–15.
 47. van den Eertwegh AJ, Versluis J, et al.: Combined immunotherapy with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-transduced allogeneic prostate cancer cells and ipilimumab in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer: a phase 1 dose-escalation trial. *Lancet Oncol.* 2012; 13(5): 509–17.
 48. Madan RA, Mohebtash M, et al.: Ipilimumab and a poxviral vaccine targeting prostate-specific antigen in metastatic castration-resistant prostate cancer: a phase 1 dose-escalation trial. *Lancet Oncol.* 2012; 13(5): 501–08.
 49. Blansfield JA, Beck KE, et al.: Cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen-4 blockage can induce autoimmune hypophysitis in patients with metastatic melanoma and renal cancer. *J Immunother.* 2005; 28(6): 593–98.
-