

T.C. KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

HEMATOLOJİ BİLİM DALI

MULTİPL MİYELOMDA TÜMÖR HÜCRE ANTİJENLERİ İLE YÜKLENMİŞ

DENDRİTİK HÜCRE AŞILAMASI

DENDRITIC CELL VACCINATION LOADED WITH TUMOR CELL

ANTIGENS IN MULTIPLE MYELOMA

Uzmanlık Tezi

Dr. Nergiz ERKUT

Trabzon - 2012

T.C. KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

HEMATOLOJİ BİLİM DALI

MULTİPL MİYELOMDA TÜRÖR HÜCRE ANTİJENLERİ İLE YÜKLENMİŞ

DENDRİTİK HÜCRE AŞILAMASI

DENDRITIC CELL VACCINATION LOADED WITH TUMOR CELL

ANTIGENS IN MULTIPLE MYELOMA

Uzmanlık Tezi

Dr. Nergiz ERKUT

TEZ Danışmanı: Prof. Dr. Mehmet SÖNMEZ

Trabzon – 2012

İÇİNDEKİLER

Sayfa No.

KISALTMALAR	I-IV
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2-16
2.1. Kanser ve İmmün Sistem	
2.2. Multipl Miyelom ve İmmün Sistem	
2.3. Dendritik Hücre	
2.4. Kanser Aşısı	
2.5. Multipl Miyelomda DH Kanser Aşısı	
3. MATERYAL ve METOD.....	17-24
4. BULGULAR.....	25-39
5. TARTIŞMA.....	40-44
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	45
7. TÜRKÇE ÖZET	46
8. SUMMARY	47
9.KAYNAKLAR.....	48-54

KISALTMALAR

AKHN	Allojenik Kök Hücre Nakli
ALL	Akut Lenfoblastik Lösemi
ALP	Alkalen Fosfataz
ALT	Alanin Aminotransferaz
AML	Akut Miyeloid Lösemi
ASH	Antijen Sunan Hücre
AST	Aspartat Aminotransferaz
BK	Beyaz Küre
BUN	Kan Üre Azotu
CD123	IL3R α Zinciri
CDKN1A	Siklin Bağımlı Kinaz İnhibitörü 1A
CpG	Sitozin Posfat Guanin
CTCAE	Profili Common Terminology Criteria For Adverse Events v4.0
ÇİPY	Çok İyi Parsiyel Yanıt
DCIR	Dendritik Hücre İmmünoresptörü
DC-SIGN	DH Spesifik İntersellüler Adezyon Molekülü-3-Grabbing Non-İntegrin
DH	Dendritik Hücre
DKK	Dickkopf-1 Protein
DLİ	Donör Lenfosit İnfüzyonu
EBV	Ebstein Barr Virüs
FDA	Gıda Ve İlaç Uygulama
FL	Foliküler Lenfoma
GM-CSF	Granülosit Makrofaj Koloni Stimülan Faktör
GVHH	Graft-Versus-Host Hastalığı

GVM	Graft Versus Miyelom
Hb	Hemoglobin
HBV	Hepatit B Virüsü
Hct	Hematokrit
HCV	Hepatit C Virüsü
HLA	İnsan Lökosit Antijen
HP	Helicobacter Pylori
HPV	Human Papilloma Virüs
hTERT	Human Telomeraz Revers Transkriptaz
HTLV	Human T Lenfosit Virüsü
Id	İdiyotip
IDO	İndolamin 2,3 Deoksijenaz
IFN	İnterferon
Ig	İmmünoglobulin
IL	İnterlökin
ISS	Uluslararası Sınıflama Sistemi
IV	İntravenöz
JAK	Janus Protein Kinaz
KLL	Kronik Lenfositik Lösemi
KML	Kronik Miyeloid Lösemi
LH	Langerhans Hücre
LOX	Lektin Benzeri Okside Olmuş LDL Reseptörü-1
MAGE	Melanom Antijen Gen
MCP	Membran Kofaktör Protein-1
M-CSF	Makrofaj Koloni Stimulan Faktör
MHC	Majör Histokompatibilite Kompleks

MKBH	Miyeloid Kaynaklı Baskılayıcı Hücre
MM	Multipl Miyelom
MNH	Mononükleer Hücre
MNS	Mutlak Nötrofil Sayısı
MR	Manyetik Rezonans
MUC1	Polimorfik Epitelyal Musin 1
NHL	Non-Hodgkin Lenfoma
NK	Natural Killer
NKT	Natural Killer T
OKHN	Otolog Kök Hücre Nakli
PAD	Bortezomib-Doksorubisin-Deksametazon
PAK2	P21 Aktive Eden Serin Kinaz 2
PG	Prostaglandin
PH	Progresif Hastalık
Ph⁺	Philadelphia
PML	Promiyelositik Lösemi
PPD	Pürifiye Protein Türü
PSA	Prostat Spesifik Antijen
PVC	Pnömonokokal 7-Valent Konjige Aşı
PY	Parsiyel Yanıt
RANK	Nükleer Faktör κ B Reseptör Aktivatörü
RANK-L	Nükleer Faktör κ B Reseptör Aktivatörü-Ligand
RHAMM	Hiyaluronik Asit Motilite Reseptörü
SC	Subkutan
SH	Stabil Hastalık
SP17	Sperm Protein 17

STAT	Sinyal İletici Ve Transkripsiyon Aktive Edici
TACI-APRIL	Transmembran Aktivatör Ve Kalsiyum Modulatör Siklofilin Ligand İnteraktör-Proliferasyon İndükleyen İgand
TBF	Tümör Büyüme Faktörü
Th17	T Helper 17
TLR	Toll Like Reseptör
TNF	Tümör Nekroz Faktör
Treg	T Regülatuar
TSP	Trombospondin
TY	Tam Yanıt
VAD	Vinkristin-Adriamisin-Deksametazon
VEBF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
VD	Bortezomib –Deksametazon
VED	Bortezomib-Siklofosfamid-Deksametazon
WT1	Wilms Tümörü I

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Multipl Miyelom (MM) anemi, litik kemik lezyonları, böbrek fonksiyon bozukluğu, hiperkalsemi, hipogammaglobulinemi ve artmış enfeksiyon riski ile giden kemik iliğinde plazma hücrelerinin klonal çoğalması ile karakterize malin bir hastalıktır. MM hematolojik kanserlerin % 10'unu, tüm kanserlerin % 1'ini oluşturan en yaygın görülen malin hematolojik hastalıklar arasında yer almaktadır (1). Yeni geliştirilen ilaçların kullanıma girmesi ve otolog kök hücre nakli (OKHN) ile yüksek tedavi yanıt oranlarına ulaşılmamasına rağmen, halen uzun süreli tam kür sağlanamayan bir hastalık olmaya devam etmektedir (2). Allojenik kök hücre nakli (AKHN) ve donör lenfosit infüzyonu (DLİ) yapılan bazı MM hastalarında, graft versus miyelom (GVM) etkisiyle tam kür sağlandığının gösterilmesinden sonra immünoterapi yaklaşımları MM'de önem kazanmaya başlamıştır. Fakat alloreaktif cevabın spesifik olmaması sonucu graft-versus-host hastalığı (GVHH) sık gözlenmiş ve AKHN sonrasında yüksek oranda mortalite ve morbidite oranları izlenmiştir (1). Bu nedenle malin plazma hücrelerini ortadan kaldırmak için miyeloma spesifik immün cevabı sağlayacak tedaviler üzerinde durulmaya başlanmıştır. Takiben en güçlü antijen sunan hücre (ASH) olan dendritik hücre (DH)'ye miyelom hücrelerinin antijenik yapıları tanıtılarak tümör spesifik lenfositlerin oluşturulması hedeflenmiştir.

Hematolojik kanserlerde immün yanıtın zayıf olmasından dolayı tümör hücreleri yeterince etkilenememektedir. Ayrıca MM'de malin plazma hücreleri, oluşan immün yanıtı karşıda dirençlidirler (3). Yapılan çalışmalarda MM'li hastalarda DH kanser aşısıyla tümör hücrelerine karşı humoral ve hücrel immün cevabın oluştuğu gösterilmesine rağmen, bu durumun hastanın klinik bulgularına yansımaları yeterince olamamaktadır. Bu çalışmada, MM hastalarında tümör antijeni yüklü DH kanser aşısının etkinliği ve toksisitesinin değerlendirilmesi planlandı.

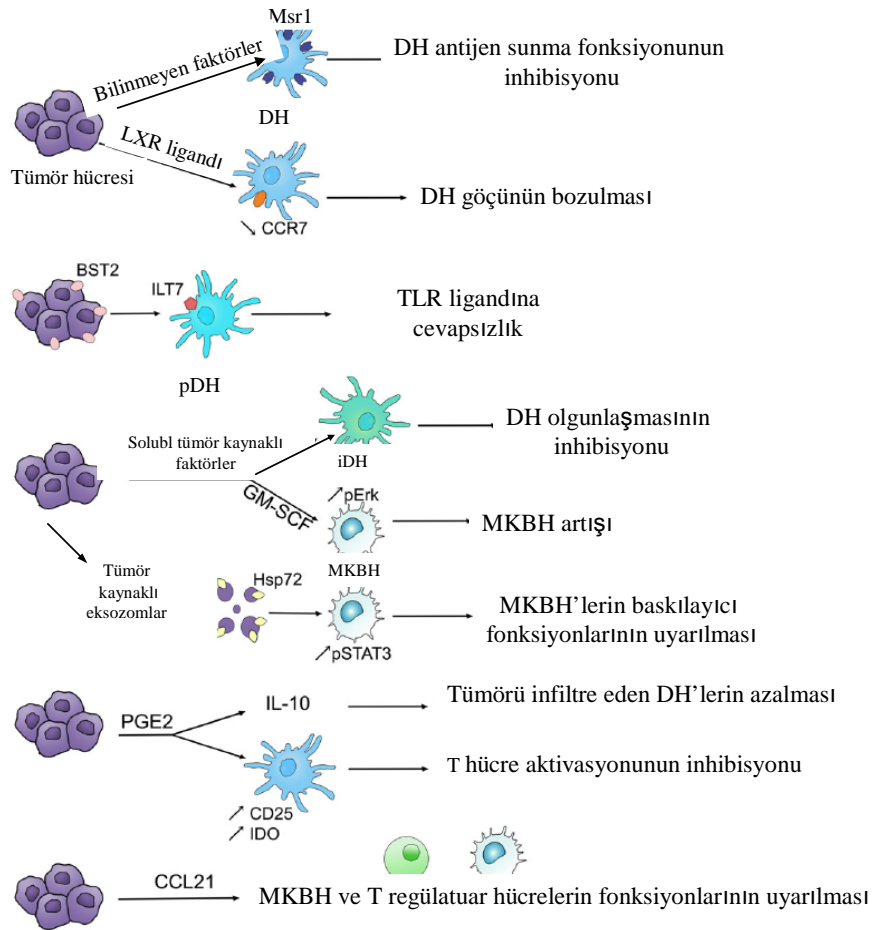
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kanser ve İmmün Sistem

Kanser, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde ölüm nedenlerinin başında gelmektedir. Son zamanlarda kanser tedavisindeki ilerlemelere rağmen, hala hastaların önemli bir kısmında tam iyileşme sağlanamamaktadır. Cerrahi, kemoterapi ve radyoterapi gibi konvansiyonel tedavi yöntemleri ile büyük tümör kitleleri ortadan kaldırılmakla birlikte, hastalığın tekrarlamasını sağlayan rezidüel kanser hücreleri tam olarak temizlenememektedir. Ayrıca bu tedaviler sonucunda ciddi yan etkiler gelişmektedir. Günümüzde amaç normal hücre fonksiyonlarına az zarar veren ve tümör dokusuna spesifik olan tedavi yöntemlerinin geliştirilmesidir (4,5). İmmün sistem tarafından kanser hücrelerinin ortadan kaldırılması ilk kez 1950 yılında Macfarlane Burnet tarafından keşfedilmiş olup son yıllarda kanser biyolojisi ve temel immünolojinin daha iyi anlaşılmasıyla kanser hücrelerin immün sistem ile ortadan kaldırılması üzerinde durulmaya başlanmıştır (6). Kanser hücreleri kostimülatuar molekül ve majör histokompatibilite kompleks (MHC) moleküllerini azaltarak, immün supressif sitokinler salgılayarak ve T regülatuar (Treg) hücre ile miyeloid kaynaklı baskılayıcı hücreleri (MKBH) uyararak immün sistemden kaçabilmekle birlikte, immün sistem kanser hücrelerinin büyümesini ve gelişmesini engellemede önemli rol oynamaktadır (3,4).

DH, humoral ve sitotoksik hücrel immüniteyi uyararak kanser gelişimini engelleyen profesyonel ASH'lerdir (1). Plazmasitoid DH tarafından viral infeksiyon varlığında üretilen tip 1 interferonun (IFN) tümör oluşumunu engellediği ve IFN α/β reseptör eksikliği olan farelerde tümör büyümesini arttırdığının gösterilmesi bu hücrelerin kanser gelişiminin önlenmesinde önemli olduğunu vurgulamaktadır (7). Kanserli hastalarda DH'nin farklılaşması, olgunlaşması ve fonksiyonları çeşitli nedenlerden dolayı bozulmuştur (Şekil-1). Bu hastalarda artan Msr1, DH'de yağ kümeleşmesine ve bunun sonucunda bu hücrenin antijen sunma fonksiyonunun bozulmasına sebep olurken, tümör hücreleri üzerinde bulunan LXR ligandı, CCR7'nin azalmasını sağlayarak DH'nin lenf dokularına göçünü engeller. Ayrıca malin hücre üzerinde bulunan BST2 ligandı ile plazmasitoid DH'nin spesifik reseptörü olan ILT7'nin etkileşimiyle, toll like reseptör (TLR)7 ve TLR9'un uyardığı tip 1 IFN üretimi azalır.

Tümör hücreleri makrofaj koloni stimulan faktör (M-CSF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEBF), interlökin (IL)-6, tümör büyüme faktörü (TGF)- β , CXCL8, ekstrasellüler adenozin gibi proinflamatuvar maddeler salgılayarak, sinyal iletili ve transkripsiyon aktive edici (STAT) 3'ün uyarılması ile DH'nin fonksiyonlarının bozulmasına katkıda bulunur. Diğer taraftan tümör hücrelerinden salgılanan granülosit makrofaj koloni stimulan faktör (GM-CSF) Erk fosforilasyonunu aktive ederek ve tümör kaynaklı eksazomlar STAT3 ve Hsp72'yi uyararak MKBH'lerin artışına sebep olurlar. Tümör hücrelerinden salgılanan prostoglandin (PG) E2 ise IL-10 vasıtasıyla tümörü infiltre eden DH'nin azalmasına ve CD25 ile indolamin 2,3 deoksijenaz (IDO) ekspresyonunu artırarak T hücre aktivasyonunun azalmasına neden olmaktadır. Son olarak tümör kaynaklı CCL21, CD4+ Treg hücre ve MKBH'nin fonksiyonlarını uyararak DH fonksiyonunun bozulmasını sağlar (8-10).

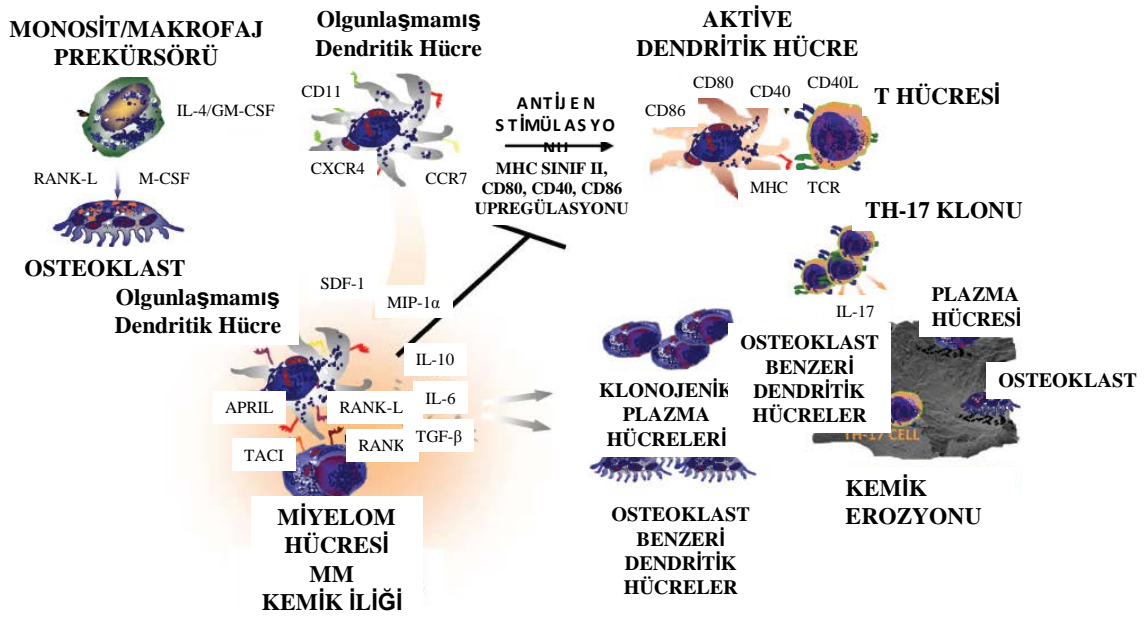


Şekil-1. Kanser gelişiminde DH fonksiyon bozukluğunun nedenleri

2.2. MM ve İmmün Sistem

MM'de immün sistem fonksiyon bozukluğunun yanında, malin plazma hücrelerinin immün cevaba karşı direnci de mevcuttur. Bir taraftan B hücre farklılaşması ve antikör cevabı yetersizken, diğer taraftan sitotoksik T hücre, natural killer (NK) ve natural killer T (NKT) hücrelerin fonksiyonları bozuktur. Ayrıca malin plazma hücreleri tarafından salgılanan IL-6, IL-10, M-CSF, TGF- β ve VEGF gibi sitokin ve büyüme faktörleri DH'nin farklılaşması, olgunlaşması ve fonksiyonlarının bozulmasına neden olurlar (11,12). Özellikle de IL-6, DH'nin monositik öncüllerden farklılaşmasını engelleyerek bu hücrelerin antijen sunma yeteneğinin bozulmasını sağlamaktadır (13). Yapılan çalışmalarda MM hastalarında, olgun DH'de ekspres edilen CD80, CD86 hücre yüzey belirteçlerinde eksiklik olduğu ve olgunlaşmamış DH'nin kemik iliğinde toplandığı gösterilmiştir (14). Sitokinler ve büyüme faktörleri janus protein kinaz (JAK) ve STAT proteinlerini uyararak DH fonksiyon bozukluğuna neden olurken, DH ise transmembran aktivatör ve kalsiyum modulatör siklofilin ligand interaktör-proliferasyon indükleyen ligand (TACI-APRIL) yolunun aktivasyonunu sağlayarak miyelom hücrelerinin çoğalmasına katkıda bulunmaktadır (11).

İmmün sistem ayrıca miyelom kemik hastalığının patogenezinde de önemli rol oynamaktadır. Miyelom kemik hastalığının patogenezi kesin olarak bilinmemesine rağmen, malin plazma hücrelerinin osteoklast öncüllerinin aktivasyonu ve farklılaşmasını sağlayarak litik kemik lezyonlarına neden olduğu düşünülmektedir. Monosit - makrofaj öncüllerinden köken alan osteoklast ve DH'lerin farklılaşması nükleer faktör κ B reseptör aktivatörü-ligand (RANK-L) tarafından düzenlenir (15). DH'ler hem osteoklastogenez uyarıcı hem de nükleer faktör κ B reseptör aktivatörü (RANK)-RANK-L ve trombospondin (TSP)-I-CD47 yoluyla osteoklast benzeri hücrelere farklılaşma özelliğine sahiptirler. Yapılan bir çalışmada MM'li hastalarda, olgunlaşmamış DH'nin kemiğin eroziv lakunasında miyelom hücrelerinin yanında toplandığı gösterilmiştir. DH'ler aynı zamanda T hepler 17 (Th17) klonunun aktivasyonunu sağlayarak IL-17 seviyesini artırıp, miyelom kemik hastalığının gelişmesine katkıda bulunurlar (11, 16) (Şekil-2).



Şekil-2. MM kemik iliği mikroçevresi ile DH arasındaki ilişki

2.3.DH

Kansere karşı immün sistemin gelişmesini sağlayan en güçlü ASH olan DH, ilk kez 1973 yılında Ralph Steinman tarafından farelerin dalağında tespit edilmiştir (17,18). İmmünite ve toleransta önemli rol oynayan bu hücreler farklı lokalizasyon, fenotip ve fonksiyonlarından dolayı heterojen özelliğe sahiptir (19).

2.3.1. DH'nin Fonksiyonları

Vücudumuz patojenlere karşı hem doğal hem de kazanılmış immün mekanizma ile yanıt verir. Doğal immün mekanizma hızlı olmakla birlikte hafıza özelliğine sahip değilken, kazanılmış immün mekanizma günler ya da haftalar içerisinde gelişmesine rağmen hafıza özelliğine sahiptir. Hem doğal hem de kazanılmış immüniteyi uyarma özelliğine sahip olan DH'nin immün sistemde birçok görevi mevcuttur. Bu hücreler periferik dokularda antijenleri yakalayıp bunları lenfoid dokulara taşıyarak hücrel

immün cevabı başlatmak için T lenfositlerine tanıtırlar. Ayrıca NK, NKT ve B lenfositleri aktive ederken, diğer taraftan ekzojen uyarılara karşı IL-12 ve IFN, endojen uyarılara karşı tümör nekroz faktör (TNF)- α , IL-1 ve IFN gibi sitokinler salgılayarak immün sistemin uyarılmasına katkıda bulunurlar. Farklı olarak vücudun kendi kendine uyarılmış T lenfositlerinin anergi ya da delesyonunu sağlayarak ve Treg hücreleri uyararak immün tolerans gelişimine neden olurlar (20-22).

2.3.2. DH'nin Subtipleri

Farklı hücre yüzey belirteçlerine sahip olan DH'nin bu özelliği hem karakterini hem de fonksiyonlarının belirlenmesini sağlar. DH, klasik tip diğer adıyla miyeloid tip ve plazmasitoid tip olmak üzere iki ana gruba ayrılır (19).

Klasik tip DH, lenfoid doku ve lenfoid dışı doku olmak üzere iki kısımda incelenmekte olup, lenfoid doku DH'ler dalakta ve lenf nodlarında bulunurlar (23). Dalakta bulunan DH'lerden biri T hücre bölgesi ve marjinal zonda yerleşen özellikle antijen yakalama özelliğine sahip $CD8^+CD205^+$ olan hücreler iken, diğeri ise kırmızı pulpa ve köprü kanallarında bulunan özellikle sınıf II MHC ile antijen sunma özelliğine sahip $CD8^-33D1^+$ olan hücrelerdir (23-25). Lenf nodunda ise $CD11c^{yüksek}MHCII^+CD8^+CD205^+$ ve $CD11c^{yüksek}MHC II^+CD8^-CD11b^+$ olmak üzere 2 farklı grup bulunur. Ayrıca lenf nodunda periferik dokulardan yakalanan antijenleri lenf noduna taşıma özelliğine sahip olan $CD11c^{orta}MHCII^{yüksek}langerin^+CD40^{yüksek}$ hücrelerde mevcuttur (23, 26).

Lenf dışı doku DH'leri epidermis, dermis, barsak, akciğer, karaciğer ve böbrek gibi organlarda bulunur. Derinin epidermis tabakasında bulunan, güçlü antijen sunma ve T hücrelerini uyarma özelliğine sahip olan Langerhans hücreleri (LH) langerin, DH immünoresptörü (DCIR) ve TLR 1,2,3,6,10 eksprese ederler (19). Ayrıca IL-15 salgılayarak NK, $CD8^+$ ve $CD4^+$ T lenfositlerin çoğalmasını ve aktivasyonunu sağlarlar (19,20). LH'si morfolojik, sınıf II MHC ekspresyonu ve $CD8^+$ sitotoksik T hücrelerini aktive etme yeteneği bakımından DH'ye benzemektedirler (17, 23). Derinin dermis tabakasında $CD1a^+$ DH ve fenotip ve fonksiyonel özellikleri bakımından LH'ye benzeyen $CD14^+$ DH olmak üzere 2 farklı DH tipi bulunur. $CD14^+$ DH'ler DEC205, DCIR, lektin benzeri okside olmuş LDL reseptörü-1 (LOX-1), Dektin-1, DH spesifik intersellüler adezyon molekülü-3-Grabbing non-integrin (DC-SIGN) içeren çok sayıda C-tip lektin eksprese ederler. Bu hücreler $CD40$ vasıtasıyla IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-

12, GM-CSF, membran kofaktör protein-1 (MCP) ve TBF- β sekrete ederler. IL-6 ve IL-12 salgılayarak B lenfositlerin IgM üreten plazma hücrelerine farklılaşmasını sağlarken, ayrıca CD4⁺ T lenfositleri, T foliküler yardımcı hücrelere farklılaşmasına neden olurlar (19). Barsakta peyer plaklarında bulunan CD103⁺CD11b^{düşük}, CD103⁻CD11b^{yüksek} ve barsaklardaki patojen bakterileri mezenterik lenf noduna taşıyan lamina propriada bulunan CD103⁺CD11b⁺ olmak üzere üç farklı DH grubu mevcuttur. (27). Ayrıca akciğer, karaciğer ve böbrekte CD103⁺CD11b⁺ ve CD103⁻CD11b^{yüksek} olmak üzere iki DH grubu bulunur (28).

Plazmasitoid tip DH, TLR7 ve TLR9 vasıtasıyla viral nükleik asitleri tanıyıp, virüslere karşı yüksek miktarda tip1 IFN salgılayarak immünitelerde önemli rol oynarlar (20, 29). Bu hücreler antijen spesifik B ve T lenfositlerin plazma hücreleri ve sitotoksik T lenfositlere farklılaşmasını sağlarlar. IL3R α zinciri (CD123), BDCA2, ILT7 belirteçlerine sahip olan bu hücreler CD2^{yüksek} ve CD2^{düşük} ekspresyonuna göre iki farklı gruba ayrılırlar (19, 30).

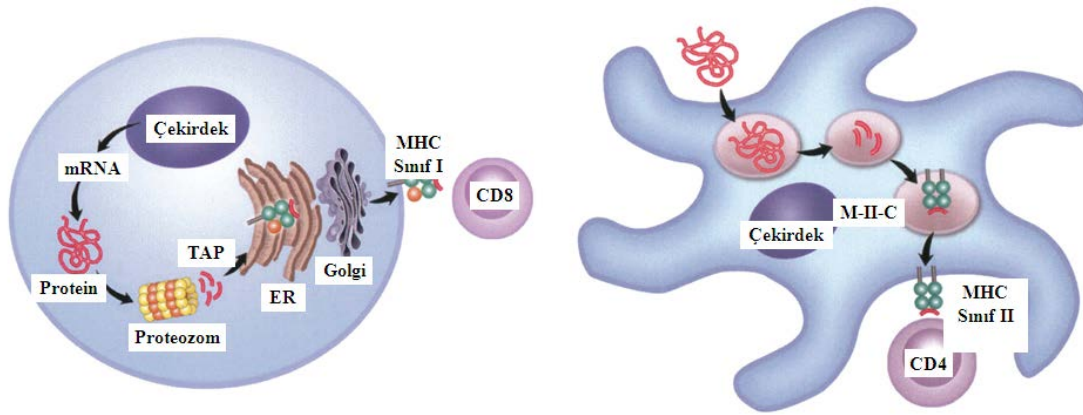
2.3.3. DH Olgunlaşması

DH yüzeyinde bulunan hücre yüzey belirteçleri, hücrelerin maturasyon ve aktivasyon durumu ile yakından ilişkilidir. Olgunlaşmamış DH güçlü endositik ve fagositik kapasiteye ve periferik dokularda antijen yakalama özelliğine sahip olup, MHC sınıf I ve sınıf II, CD80, CD86, CD40 hücre yüzey belirteçlerini düşük düzeyde eksprese ederler. Tersine lenfoid organlarda bulunan olgunlaşmış DH ise antijen sunma özelliğine sahip olup MHC sınıf II, CD80, CD86, CD40, TNF reseptör ailesi eksprese eder ve IL12, IL23 üretirler (17, 31).

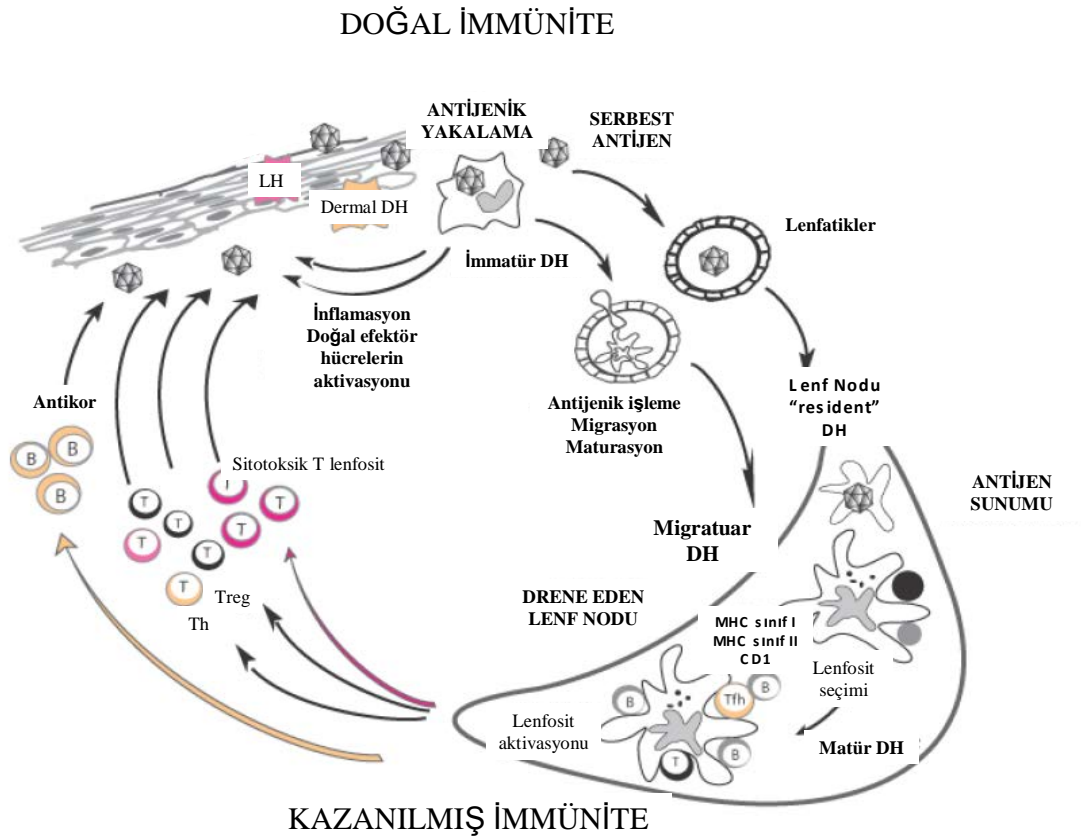
2.3.4. DH Tarafından İmmün Sistemin Uyarılması

Periferik dokularda bulunan olgunlaşmamış DH'ler, antijenleri yakalayıp lenf sistemi vasıtasıyla lenfoid dokulara göç ederler. Burada olgunlaşan DH, klasik yol olan MHC molekülü sınıf I, sınıf II ve klasik yol olmayan CD1 ailesi yoluyla hedef hücre yüzeyindeki antijenleri T lenfositlerine sunarlar (17). Hücre içi sitoplazmik proteinlerden kaynaklanan kısa peptidler, tüm çekidekli hücre yüzeyinde bulunan sınıf I MHC molekülü aracılığıyla CD8⁺ sitotoksik T lenfositlere sunulurken, yutulmuş hücre dışı proteinlerden kaynaklanan uzun peptidler ise profesyonel ASH'de

bulunan sınıf II MHC molekülü aracılığıyla CD4+ yardımcı T lenfositlere sunulur (Şekil-3). Ayrıca antijenler direkt olarak lenf nodlarına göç edebilirler (17, 32, 33). Takiben T lenfositler aktifleşerek tümörü ortadan kaldırmak için kanser hücrelerinin bulunduğu alana gidip anti tümör cevabın başlamasını sağlarlar. Aktifleşmiş CD8+ T lenfositleri direkt bir şekilde kanser hücrelerini öldürürken, aktifleşmiş CD4+ T lenfositleri ise inflamasyonun gelişmesini sağlar, CD8+ T lenfosit ve hafıza hücrelerin uyarılmasına katkıda bulunur ve antikor cevabı oluşturmak için B hücrelerine yardım ederler (Şekil-4) (32-34).



Şekil-3. Hücre içi ve hücre dışı proteinlerin T lenfositlerine sunumu



Şekil-4. İmmün sistem tarafından antijen yakalama ve lenfositlere sunumu

2.4. Kanser Aşısı

Tümör antijenlerinin immün sistem tarafından tanınmasını ve ortadan kaldırılmasını sağlayan tedavi yöntemlerinden biri olan kanser aşısı, hem tümöre karşı spesifik olmasından dolayı konvansiyonel tedavilere göre yan etkisi daha az, hem de hafıza özelliğine sahip olmasından dolayı daha uzun koruma özelliğine sahiptir (6,35). Son zamanlarda tümör immünolojisinin daha iyi anlaşılması, genetik araçların gelişmesi ve tümör antijenlerinin tanımlanmasından sonra kanser aşısında ilerlemeler kaydedilmiştir. Kanser aşıları, önleyici yani profilaktik ve tedavi edici yani terapötik olmak üzere iki şekilde uygulanır. Profilaktik kanser aşısı, normal immün cevaba sahip olan sağlıklı kişilere kansere neden olan virüs ya da tümör antijenleri gibi malin hücre komponentlerine karşı humoral immünitinin geliştirilmesi için yapılırken, terapötik kanser aşısı kanserli hastalara tümöre karşı immün cevabın uyarılması amacıyla uygulanmaktadır. İdeal kanser aşısı, tümörojenik olan ve tümörojenik olmayan hücreleri

birbirinden ayırmalı, primer odakla birlikte rezidüel ve mikrometastatik kanser hücrelerini de ortadan kaldırmalı ve uzun süren immünolojik hafıza özelliğine sahip olmalıdır (34).

2.4.1. Tümör Antijenleri

Tümör antijenleri, sadece tümör hücrelerinde eksprese edilen veya normal dokularda bulunmasına rağmen tümör hücrelerinde daha fazla üretilen aşırı ekspresyon, mutasyon, posttranslasyonel mutasyon ve aberran glikolizasyon sonucunda gelişen proteinlerdir. Ayrıca embriyonik gelişim esnasında germ hücrelerinde de bulunur (36). Günümüzde kanserlerin hem tanısında hem de prognostik markırı olarak kullanılan tümör antijenleri, tümöre spesifik immün cevap oluşturdıklarında dolayı kanser tedavisi için uygun hedeftirler. Tümör antijenleri tümör spesifik viral antijen, tümör spesifik self antijen, kanser testis antijen, aşırı ekspresyon antijen ve diferansiyasyon antijen olmak üzere 5 farklı sınıfta incelenirler (6).

Tümör spesifik viral antijen, değişikliğe uğramış ya da enfekte olmuş hücreler üzerinde eksprese edilen virülan koproteinlerdir. Ebstein Barr virüs (EBV), human papilloma virüs (HPV), hepatit B virüsü (HBV), hepatit C virüsü (HCV), human T lenfosit virüsü (HTLV) ile *Helicobacter pylori* (HP) bakterisi kanser gelişimi ile yakından ilişkili olup, bu enfeksiyöz ajanlara karşı geliştirilen aşılar immün reaksiyonu güçlü bir şekilde uyarırlar (6, 32)

Tümör spesifik self antijen, mutasyona uğramış onkogen ya da değişikliğe uğramış tümör supressör genler olup, tümör hücreleri üzerinde fazla miktarda eksprese edilir ve normal dokularda bulunmazlar (6, 32). Kronik miyeloid lösemi (KML) ve Ph⁺ (Philadelphia) akut lenfoblastik lösemide (ALL) izlenen BCR-ABL füzyon proteini ile promiyelositik lösemide (PML) tespit edilen PML-RAR- α füzyon proteini bu antijenlere örnek verilebilir (37).

Kanser testis antijenleri, kanser hücreleri üzerinde ve testis, over, plesanta gibi germ dokularda eksprese edilen ve genlerin demetilasyonu sonucu oluşan proteinlerdir. Günümüze kadar 100'ün üzerinde kanser testis antijeni keşfedilmiştir ve bunların içerisinde en önemli olanları melanom antijen gen (MAGE) ve NY-ESO 1 antijenleridir (32).

Aşırı ekspresyon antijenleri, tümör hücrelerinde fazla miktarda eksprese edilen normal proteinlerdir. Bu antijenler kanser hücreleri üzerinde yüksek oranda eksprese

edilmesine rağmen normal sağlıklı hücrelerde de bulunduğundan dolayı otoimmün reaksiyona neden olabilirler. Bu antijenlere örnek olarak meme kanserinde HER-2 antijeni, akciğer, over, mide, hematolojik kanserlerde polimorfik epitelyal musin 1 (MUC1) ve Wilms tümörü 1 (WT1) antijenleri verilebilir (32, 37).

Diferansiyasyon antijenleri, onkojenik transformasyon sonucunda gelişen belli doku tiplerine spesifik olan antijenlerdir. Bu antijenlere örnek olarak melanomda görülen tirozinaz, gp 100, MART-1/Melan-A antijenleri verilir (37).

2.4.2. Kanser Aşı Tipleri

Kanser aşıları; tam tümör hücre bazlı kanser aşısı, peptid bazlı kanser aşısı, virüs bazlı kanser aşısı, DNA bazlı kanser aşısı ve DH kanser aşısı olmak üzere 5 farklı şekilde sınıflandırılır (32).

2.4.2.1. Tam Tümör Hücre Bazlı Kanser Aşısı

Tam tümör hücre bazlı kanser aşısı, tümör spesifik CD4+ ve CD8+ T lenfositleri aktive ederek immün sistemi uyarırlar (38). Bu aşılar ile yapılan çalışmalarda melanom, böbrek ve prostat kanserli hastalarda tümöre karşı spesifik immün yanıt gözlenmiştir (32). Birinci nesil tam tümör hücre bazlı kanser aşısı, canlı tümöre radyasyon uygulanarak ya da BCG, sitozin fosfat guanin (CpG), alimünyum gibi adjuvan maddeler ile tümör lizatları oluşturularak hazırlanırken, ikinci nesil tam tümör hücre bazlı kanser aşısı ise sitokinler, büyüme faktörleri, insan lökosit antijen (HLA) gibi moleküllerin genetiği değiştirilerek elde edilirler (39).

2.4.2.2. Peptid Bazlı Kanser Aşısı

Kanser hücreleri üzerinde bulunan tümör antijenlerinin küçük peptid epitoplardan elde edilen peptid bazlı kanser aşısı sitotoksik T hücre cevabını uyararak malin hücreleri ortadan kaldırmasına rağmen, yarı ömürleri kısa olmasından dolayı yeteri kadar yanıt oluşturamazlar. Bu aşılarda kullanılan sentetik peptidler kimyasal olarak stabil olup, bakteri ve virüs kontaminasyonuna neden olmazlar (2). Yapılan bir çalışmada CD138 (+) peptidin antijen spesifik sitotoksik T hücre cevabını uyardığı

gösterilmiştir (40). Ayrıca WT1 peptid kanser aşısının MM'de M proteinlerinde azalma ve solid tümörlerde küçülmeye neden olduğu tespit edilmiştir (41).

2.4.2.3. Virüs Bazlı Kansere Aşısı

Virüs bazlı kanser aşısında retrovirüs, adenovirüs ve pox virüs gibi ajanlar viral vektör olarak kullanılır (32). Prostat kanserli hastalarda yapılan çalışmada, prostat spesifik antijen (PSA) ve B7.1 taşıyan pox virüs aşısı, GM-CSF ve IL-2 ile birlikte verilmiş ve 17 hastanın 13'ünde yeterli miktarda T hücre yanıtının alındığı gözlenmiştir (42).

2.4.2.4. DNA Bazlı Kansere Aşısı

DNA bazlı kanser aşısı, tümör antijenini kodlayan plazmid adı verilen DNA transferi ile yapılır. B hücreli lenfoma ve MM hastalarının tümöründen kaynaklanan V_H ve V_L genlerinden oluşan kimerik immünoglobulin (Ig) molekülünü kodlayan scFc'e dayalı DNA aşılarının hayvan modellerinde başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca foliküler lenfomada (FL), idiyotipik scFv'ı kodlayan DNA aşılması sonrasında hastaların % 38'inde hücre sel ya da humoral immün yanıtın olduğu tespit edilmiştir (43).

2.4.2.5. DH Kansere Aşısı

DH'nin sitotoksik T hücre cevabını aktive eden güçlü bir ASH olduğunun anlaşılmasından sonra, kanser tedavisinde DH kanser aşısı üzerinde durulmaya başlanmıştır. Gıda ve ilaç uygulama (FDA) tarafından prostat kanserli hastalarda Sipuleucel-T (Provenge) kanser aşısı onaylandıktan sonra DH kanser aşısı ile ilgili çalışmalar hız kazanmıştır (44).

2.4.2.5.1. DH Kansere Aşısı Elde Edilmesi

DH kanser aşısının geliştirilmesinde ex vivo ve in vivo DH tedavisi olmak üzere iki yöntem kullanılır. Ex vivo DH tedavisi, vücut dışında tümör antijenlerinin olgun DH'lere yüklenmesi ile gerçekleştirilir (45). Kanserli hastaların periferik kanından

lökoferez yöntemiyle DH elde etmek için periferik kan mononükleer hücre (MNH), monosit ya da CD34⁺ hematopoietik hücreler toplanır (46). Monositler GM-CSF, IL-4 ve IL-13 ile, CD34⁺ hematopoietik hücreler ise GM-CSF, TNF, FLT3 ligand ve c-kit ligand ile kültüre edilerek olgunlaşmamış DH'ye dönüştürülür (45, 47). Olgunlaşmamış DH'lerin IL1 β , IL-6, TNF- α , IFN- α , IL-15 ve PGE2 içeren sitokin kokteyli ile inkübe edilerek olgunlaşması sağlanır. Exvivo olarak elde edilen DH'ye peptid, protein, tümör lizati, apoptotik tümör cisimciği gibi tümör antijenleri yüklenerek DH kanser aşısı elde edilir. Ayrıca tümör hücresi ile birleşmiş DH ve tümör antijeni kodlayan cDNA ya da mRNA transfer edilmiş DH'de aşı metodu olarak kullanılmaktadır (45).

Vücut içerisinde antijenlerin direkt olarak DH'lere sunulmasını sağlayan in vivo DH tedavisinde, DH reseptör Ab ve seçilmiş antijenlerin birleşmesinden oluşan kimerik protein kullanılmaktadır. Hayvan çalışmalarında bu tedavi ile CD4⁺ ve CD8⁺ T hücre immün cevabın arttığı gözlenmiştir (45).

2.4.2.5.2. DH Kanseri Aşısının İmmün Takibi

DH kanser aşısı esnasında T hücrelerine karşı immünolojik cevabı takip etmek için farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bunlar gecikmiş tip hipersensitivite reaksiyonun ölçülmesi, T hücre klonunun ürettiği IFN- γ 'nın ELISPOT yöntemi ile tespiti, efektör T hücre yüzeyinde bulunan fenotipin gösterilmesini içermektedir. Aşı etkinliğinin gösterilmesinde en spesifik metod ise floresan bağlı peptid yüklü HLA molekül multimerlerinin kullanılmasıdır (46).

2.5. MM'de DH Kanseri Aşısı

MM anemi, litik kemik lezyonları, böbrek fonksiyon bozukluğu, hiperkalsemi, hipogammaglobulinemi ve artmış enfeksiyon riski ile giden kemik iliğinde plazma hücrelerinin klonal çoğalması ile karakterize malin bir hastalıktır. MM hematolojik kanserlerin % 10'unu, tüm kanserlerin % 1'ini oluşturan en yaygın görülen malin hematolojik hastalıklar arasında yer almaktadır. (1). MM'de OKHN ile % 22 oranında tam yanıt, % 81 oranında toplam yanıt elde edilmiş ve standart kemoterapiye göre hastalıksız yaşam süresi ve toplam yaşam süresinin daha uzun olduğu saptanmıştır (48,49). Ayrıca yeni geliştirilen ilaçların kullanıma girmesi ile yüksek tedavi yanıt oranlarına ulaşılmasına rağmen, halen uzun süreli tam yanıt sağlanamamaktadır (2).

2.5.1. MM’de DH Kanser Aşı Tipleri

Günümüzde MM’de idiyotip (Id) protein yüklü DH kanser aşısı, miyelom antijeni yüklü DH kanser aşısı ve tüm tümör antijeni yüklü DH kanser aşısı kullanılmaktadır (3).

2.5.1.1. Id Protein Yüklü DH Kanser Aşısı

Malin plazma hücrelerinin monoklonal Ig değişken bölgesinde bulunan Id protein, tümöre karşı humoral ve hücrel immün cevabın uyarılmasını sağlar. Id protein ile yapılan prelinik çalışmalarda kanser hücrelerinin ortadan kaldırıldığı ve hastalığın gerilediği gösterilmiştir (1). Bu antijene GM-CSF gibi adjuvan sitokinlerin eklenmesiyle etkinliği artırılmasına rağmen, zayıf immünolojik özelliği nedeniyle klinik cevaplar yeteri kadar iyi değildir (50, 51).

2.5.1.2. Miyelom Antijeni Yüklü DH Kanser Aşısı

Miyelom antijeni yüklü DH kanser aşısında kanser-testis antijeni, WTI, MUC1, human telomerez revers transkriptaz (hTERT), hiyaluronik asit motilite reseptörü (RHAMM), dickkopf-1 protein (DKK), survivin, HM1.24, P21 aktive eden serin kinaz 2 (PAK2), siklin bağımlı kinaz inhibitörü 1A (CDKN1A) , CYP1BI, sperm protein 17 (SP17), PRAME gibi spesifik olarak immün cevabı uyarıcı çok sayıda tümör antijenleri kullanılmaktadır (1). Miyelom hücreleri üzerinde bulunan MAGE ve NY-ESO-1 antijenlerini içeren kanser testis antijenleri özellikle relaps ve anormal sitogenetik özelliğe sahip olan hastalıkta tespit edilirler (52) MAGE-A geni, Xq28. kromozom üzerinde lokalize olup bu genin 12 farklı üyesi mevcuttur (53). Yapılan bir çalışmada relaps MM’li hastalarda MAGE-A3 antijenin yüksek oranda eksprese edildiği ve bu antijenin apoptozu inhibe ederek patogeneizde rol oynadığı tespit edilmiştir (54). Diğer kanser testis antijeni olan NY-ESO-I antijeninin immünojenik özelliğe oldukça yüksektir. Yapılan çalışmada HLA-A*0201 NY-ESO-1 antijeni içeren MM’li hastaların periferik kanlarında, NY-ESO-1 spesifik T hücreleri tespit edilmiş ve bu hücrelerin miyelom hücrelerini ortadan kaldırdığı gösterilmiştir (55). Ayrıca bir başka çalışmada MM’li hastalarda AKHN sonrasında NY-ESO-I antijenine karşı antikor cevabın olduğu gözlenmiştir (56). Son zamanlarda keşfedilen SPAN-XB adı verilen bir diğer kanser

testis antijeninin CD8+ peptid spesifik T hücrelerin aktivitesini artırdığı saptanmıştır (2). Birçok kanserde eksprese edilen WT1 antijeni ile MM'li hastalarla yapılan bir çalışmada malin plazma hücreleri ve M proteinde azalma, kemik lezyonlarında düzelme tespit edilmiş ve ciddi yan etki izlenmemiştir (57). MM'de aberran olarak eksprese edilen epitelyal hücre antijeni olan MUC1 antijeninin sitotoksik immün cevabı uyardığı ve malin plazma hücrelerini azalttığı tespit edilmiştir. Telemoraz aktivasyonu ile ilişkili olan hTERT antijeninin ise IgG tipi MM hastalarında sitotoksik immün cevabı aktive ettiği saptanmıştır. RHAMM antijeni ile MM'li hastalarda yapılan bir çalışmada hafif zincirde azalma olduğu tespit edilmiştir (2). Wnt/ β katenin sinyal yolağını inhibe eden miyelom hücrelerinden salgılanan bir protein olan DKK proteini, miyelom kemik hastalığı ile yakından ilişkilidir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda DKK antijeninin immünoterapi için iyi bir hedef olabileceği düşünülmüştür (51). SP 17 antijeninin ise sitotoksik T hücre cevabını uyardığı ve bu antijeni taşıyan tümör hücrelerini ortadan kaldırdığı gösterilmiştir (58). Survivin, HM1.24, PAK2, CDKN1A antijenleri, miyelom hücrelerinin yüzeyinde eksprese edilen CD8+ T hücre aktivasyonuna neden olan diğer miyelom antijenleridir (2).

2.5.1.3. Tüm Tümör Antijeni Yüklü DH Kanser Aşısı

Tüm tümör antijeni yüklü DH kanser aşısında miyelom hücre lizatı yüklü DH, miyeloma apoptotik cisimciği yüklü DH, miyelom kaynaklı RNA transfer edilmiş DH, miyelom kaynaklı ısı şok proteinleri yüklü DH ve miyelom hücre ve DH hibridleri gibi çeşitli teknikler kullanılmaktadır. Bu aşılama yöntemiyle, DH üzerinde bulunan MHC molekülüne çok sayıda epitop sunulmasına izin verilerek, bilinmeyen tümör antijenleriyle poliklonal T hücre cevabının uyarılması sağlanmaktadır (3). Miyelom hücre lizatı yüklü DH'nin, Id protein yüklü DH'ye göre malin plazma hücrelerini ortadan kaldırmada daha etkili olduğu tespit edilmiştir (59). Diğer taraftan miyeloma apoptotik cisimciği yüklü DH'nin ise, miyelom hücre lizatı yüklü DH'ye göre sitotoksik T hücre cevabını daha güçlü bir şekilde uyardığı gözlenmiştir (60). Ayrıca miyelom kaynaklı gp96 yüklü DH ile miyelom hücre ve DH hibridlerinin hem yardımcı hem de sitotoksik T hücre cevabını aktive ettiği ve tümör hücrelerini ortadan kaldırdığı saptanmıştır (61, 62). MM immünoterapisinde tüm tümör hücrelerinin kullanıldığı DH aşuları umut vaat etmektedir.

3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Farabi Hastanesi İç Hastalıkları AbD Hematoloji Bilim Dalı ve ATİ Teknoloji tarafından yürütüldü. Çalışma protokolü Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokal Etik Kurulu tarafından onaylandı (04.12.2008 tarih ve 23/2008 sayılı etik kurul toplantısının 7. karar metni ile).

Çalışmaya Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Farabi Hastanesi İç Hastalıkları AbD Hematoloji bilim dalına başvuran 27 MM'li hasta dahil edildi. Tüm hastalardan bilgilendirilmiş onam formu alındı.

Çalışmaya dahil edilen MM hastaları için tanı kriterleri aşağıda belirtilmiştir (63).

Tablo 1. MM tanı kriterleri

Kemik iliğinde plazma hücre oranı \geq % 10 ve/veya serum M proteini \geq 3 g/dl
Aşağıda belirtilen semptomlardan bir ya da daha fazlası olmalı
Serum kalsiyum seviyesi > 11.5 mg/dl
Böbrek yetmezliği (serum kreatinin seviyesi > 2 mg/dl)
Anemi (hemoglobin (hb) < 10 g/dl ya da normal değerden 2 g/dl'den fazla düşük)
Kemik hastalığı (litik lezyonlar, osteopeni, patolojik kırık)
Diğer aktif hastalık bulguları: Tekrarlayan enfeksiyonlar, hiperviskosite, amiloidoz

Çalışmaya yukarıda belirtilen tanı kriterlerine sahip karnofsky skoru % 70 üzerinde, yoğun kemoterapi uygulanabilececek, 65 yaşından küçük MM'li hastalar dahil edildi. Pulmoner yetmezlik, kalp yetmezliği, otoimmün hastalığı ve organ disfonksiyonu (serum kreatinin seviyesi > 2 mg/dl ve serum bilirubin seviyesi > 2 mg/dl) olan hastalar çalışmaya alınmadı.

Çalışmaya dahil edilen semptomatik MM'li hastaların Durie-Salmon ve Uluslararası Sınıflama Sistemi (ISS) kriterlerine göre riskleri değerlendirildi. Durie-Salmon ve ISS kriterleri aşağıda belirtilmiştir (Tablo2-3) (64,65).

Tablo 2. Durie-Salmon kriterleri

Evre I. Aşağıda belirtilen tüm kriterler olmalıdır

Hb değeri > 10 g/dl

Serum kalsiyum değeri normal ya da ≤ 12 mg/dl

Kemik radyografide normal kemik yapısı ya da sadece soliter plazmasitom varlığı

Düşük M protein üretim hızı

IgG değeri < 5 g/dl

IgA değeri < 3 g/dl

Bence-Jones proteini < 4 g/24 saat

Evre II. Evre I ve evre III dışındaki kriterler olmalıdır.

Evre III. Aşağıda belirtilen kriterlerin 1 ya da daha fazlası olmalıdır.

Hb değeri < 8.5 g/dl

Serum kalsiyum değeri > 12 mg/dl

İleri litik kemik lezyonları

Yüksek M protein üretim hızı

IgG değeri > 7 g/dl

IgA değeri > 5 g/dl

Bence-Jones proteini > 12 g/24 saat

A: Normal böbrek fonksiyonu (serum kreatinin seviyesi < 2 mg/dl)

B: Anormal böbrek fonksiyonu (serum kreatinin seviyesi ≥ 2 mg/dl)

Tablo 3. ISS kriterleri

Evre I. Serum β_2 mikroglobülin seviyesi < 3.5 mg/L

Serum albümin seviyesi ≥ 3.5 g/dl

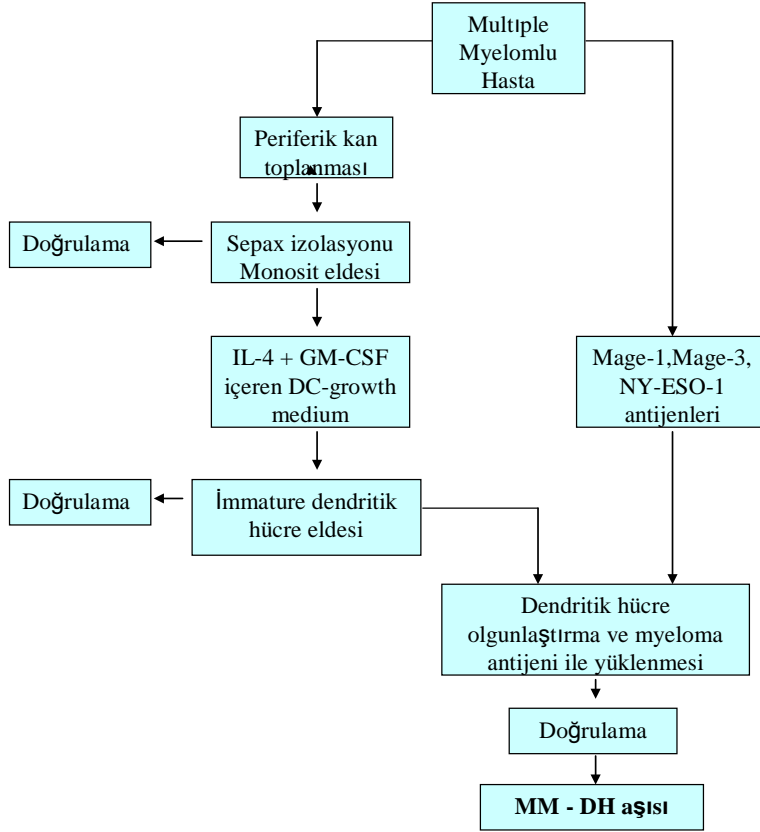
Evre II- Evre I ve evre III dışındaki kriterler

Evre III- Serum β_2 mikroglobülin seviyesi ≥ 5.5 mg/L

Çalışmaya dahil edilen MM'li hastalara 2 ya da 3 kür Vinkristin 0.4 mg/gün intravenöz (IV) devamlı infüzyon şeklinde 1-4 gün, adriamycin 9 mg/m²/gün IV devamlı infüzyon şeklinde 1-4 gün, deksametazon 40 mg/gün IV olmak üzere 1-4, 9-12, 17-20 günler verilen vinkristin-adriamisin-deksametazon (VAD) protokolü ve 2 kür bortezomib 1.3 mg/m²/gün IV bolus şeklinde 1,4,8,11. günler, siklofosfamid 500 mg/m²/gün IV infüzyon şeklinde 1. ve 8. günler, deksametazon 40 mg/gün IV olmak üzere 1,2,4,5,8,9,11,12 günler verilen bortezomib-siklofosfamid-deksametazon (VED) protokolü uygulandı. Tam yanıt (TY) ya da parsiyel yanıt (PY) görülen hastalardan siklofosfamid 2 gr/m²/gün IV 2 gün, ürometoksan 1 gr/m² günde 6 kez IV 2 gün olmak üzere kök hücre mobilizasyon protokolü verildi. Mutlak nötrofil sayısı (MNS) 500'ün altına düştüğünde 10 µg/kg/gün dozunda subkutan G-CSF başlandı. Hastaların periferik kan lökosit sayısı > 1000 µl olduğunda CD34 sayımı yapıldı ve CD34 > 20 µl ya da CD 34 sayımı yapılamayan hastalarda periferik kan lökosit sayısı > 5000 µl olduğu zaman geçici katater takılarak periferik kök hücre toplandı. Ardından hastalara -2. günde melfalan 200 mg/m²/gün verildikten sonra OKHN yapıldı. 10 MM'li hasta OKHN'den 1 ay sonra DH kanser aşısı programına alındı. 7 MM'li hasta OKHN'den 1 ay sonra talidomid 100 mg/gün ağız yoluyla alınacak şekilde ilaç tedavisi koluna alındı. 10 MM'li hasta ise tedavisiz izlem koluna alındı.

Kanser aşısı hazırlanan MM'li hastalar için tümör antijenleri ile yüklü DH kanser aşısının tasarlanması ve doğrulanması tablo 4'de belirtildiği gibi yapılmıştır.

Tablo 4. MM tümör antijenleri ile yüklenmiş DH aşısının doğrulanması ve tasarlanması



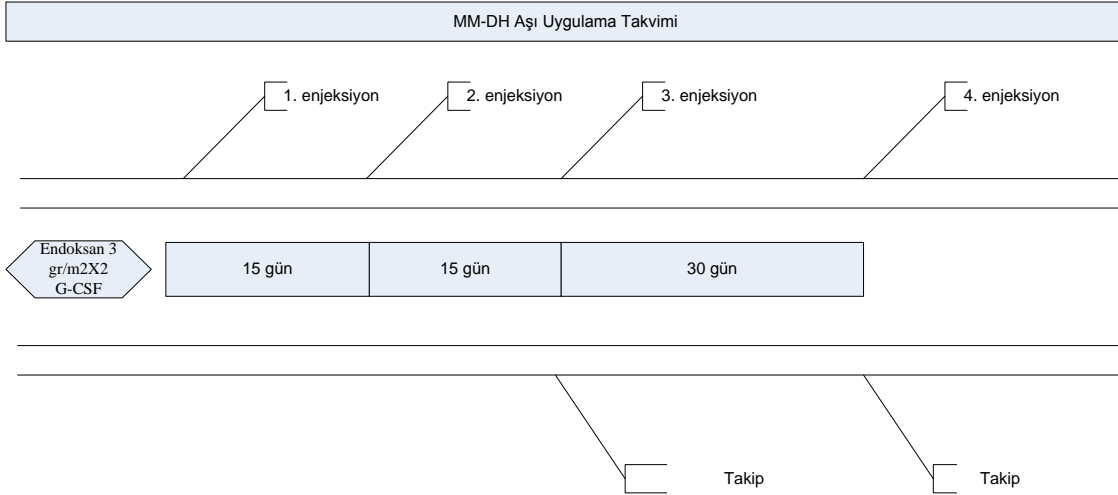
Aşı koluna alınan MM'li hastalardan MNH ve DH elde etmek için aşağıda belirtilen işlemler yapıldı. Hastalardan 150 cc periferik kan örneği alınarak Sepax yöntemi ile MNH'ler elde edildi. Daha sonra bu hücreler kültür flasklarına aktarılarak, monositlerin bu plastik yüzeye yapışması sağlandı ve diğer hücreler yıkanarak ortamdan uzaklaştırıldı. Yüzeye yapışan monositler, 4 gün IL-4 (500 Ü/ml) + GM-CSF (800Ü/ml) ve penisilin, streptomisin içeren serum içermeyen DC growth medium (CellGenix) ile inkübasyona alınarak olgunlaşmamış DH'ler elde edildi. MNH ve DH'lerin eldesinin doğrulanması; hücre sayısı, canlılık testi, sterilité testi, endotoksin ölçümü, fagositik aktivite ölçümü, akım sitometrik analizle yüzey belirteçlerinin gösterilmesi ile yapıldı. Elde edilen olgunlaşmamış DH'ler, 5.gün 350 µgr Mage-1, 350 µgr Mage-3 ve 350 µgr NY-ESO-1 miyelom antijenleri ve olgunlaştırıcı sitokin olan TNF- α (50Ü/ml), IL-1b (500 Ü/ml) ve IL-6 (500 Ü/ml) ile birlikte inkübasyona alınarak 7. günde olgun DH'lere dönüştürüldü. Ardından 100 µg/ml pürifiye protein türevi

(PPD) 50 ml DH ile 12 saat süresince inkübe edildi, inkübasyon sonrası PBS ile 3 kez yıkanan DH'ler % 20 otolog serum, % 10 DMSO4 varlığında, doğrulama ve uygulama çalışmaları sırasında kullanılmak üzere dondurularak saklandı. Kullanılacağı zaman hücreler 37 °C su banyosunda hızla çözündürülüp, 3 kez serum fizyolojikle yıkanarak 10×10^6 /ml hücre içerecek şekilde % 1 human albumin katılan % 0.9 serum fizyolojik ile sulandırıldı. Tümör antijenleri olarak Mage-1, Mage-3 ve NY-ESO-1 olarak bilinen % 90'ın üzerinde miyelom hücrelerinde eksprese edilen ticari antijenler kullanıldı. (ANASPEC, MAGE1 kat. no: 62709, MAGE3 kat. no: 62701, NY-ESO-1 kat. no: 62655) DH aşısı kullanılmadan önce hücre sayımı, canlılık testi, endotoksin ölçümü, hücre akım sitometrik ölçümler, tümörejinite testi ve sterilite testi uygulandı (Tablo 5).

Tablo 5. DH aşısının kalite kontrol testleri

Test	Normal Değerleri
Canlılık	>%90
Hücre sayısı	>5000/ml
CD80	>%60
CD83	>%40
CD86	>%70
CD45	>%90
HLA-DR	>%50
CD11c	>%70
CD1a	>%20
Endotoksin ölçümü	Negatif
Tümörejinite testi	Negatif
Sterilite testi	Negatif

Hastalara MM tümör antijenleri ile yüklenmiş DH kanser aşısının ilk dozu OKHN'den 1 ay sonra uygulandı. 2. dozu 1. aşıdan 15 gün sonra, 3. dozu 2. aşıdan 15 gün sonra ve 4. dozu 3. aşıdan 1 ay sonra intradermal yolla yapıldı. Aşı uygulama takvimi şekil 5'de gösterilmiştir.



Şekil 5. MM tümör antijenleri ile yüklenmiş DH kanser aşısının uygulama takvimi

Çalışmaya alınan hastalar DH kanser aşısını uygulama esnasında haftalık, 6 ay süre ile aylık, daha sonra 3 ayda bir olmak üzere kontrollere çağrılarak 2 yıl süre ile takip edildi. Çalışmaya alınan hastalardan venöz kan örneği alınarak Hb, hematokrit (Hct), beyaz küre (BK), trombosit, kan üre azotu (BUN), kreatinin, kalsiyum, aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), alkalen fosfataz (ALP), total ve direkt bilirubin, serum ve idrar M protein seviyelerine bakıldı. OKHN'den 1 ay sonra ve daha sonra gerekli görülen hastalara 18 gauge kemik iliği iğnesi kullanılarak posterior-süperior iliak kemikten kemik iliği aspirasyonu ve kemik iliği biyopsisi yapıldı. Kemik ağrısı şikayeti olan ve gerekli görülen hastalara ilgili bölgeye direkt kemik grafisi ve gerekli ise manyetik rezonans (MR) çekildi. Hastaların yan etki profili Common Terminology Criteria for Adverse Events v4.0 (CTCAE) sınıflamasına göre değerlendirildi (66).

Çalışmaya alınan MM hastaların tedaviye cevap kriterleri tablo 6'da belirtildiği gibi yapıldı (67).

Tablo 6. MM tedavi yanıt kriterleri

TY	İmmünoфикsasyon yöntemi ile serum ve idrarda M protein olmamalı Plazmasitom olmamalı Kemik iliğinde plazma hücre oranı \leq % 5 olmalı
Çok iyi parsiyel yanıt (ÇİPY)	İmmünoфикsasyon yöntemi ile serum ve idrarda M protein görülebilir fakat Elektroforez yöntemi ile serum M proteini olmamalı ya da $>$ % 90 azalma olmalı 24 saatlik idrar M protein seviyesi $<$ 100 mg olmalı
PY	Serumda M protein düzeyi % 50'den fazla azalmalı ve 24 saatlik idrar M proteini % 90'dan fazla azalmalı ya da 24 saatlik idrar M proteini $<$ 200 mg olmalı Serum ya da idrarda M protein ölçülemiyorsa, hafif zincir seviyesinde % 50'den fazla azalma olmalı Serum ya da idrarda M protein ve hafif zincir seviyesi ölçülemiyorsa, kemik iliğinde plazma hücre oranında % 50'den fazla azalma olmalı Yukarıdakilere ek olarak eğer bazal değeri mevcutsa plazmasitom çapında % 50'den fazla azalma olmalı
Stabil hastalık (SH)	Tam yanıt, parsiyel yanıt ve progresif hastalık kriterleri olmamalı
Progresif hastalık (PH)	Aşağıda belirtilen kriterlerden bir veya daha fazlası olmalı Serum M protein bazal değerinden % 25'den fazla artış olmalı ve/veya 0.5 g/dl'den fazla artış olmalı İdrar M protein bazal değerinden % 25'den fazla artış olmalı ve/veya 24 saatlik idrarda 200 mg'dan fazla artış olmalı Serum ve idrar M protein seviyesi ölçülemiyorsa, hafif zincir seviyesinde 100 mg'dan fazla artış olmalı Kemik iliği plazma hücre oranında % 10'dan fazla artış olmalı Yeni kemik lezyonu, plazmasitom varlığı ya da mevcut kemik lezyonu, plazmasitomda artış olmalı Hiperkalsemi varlığı

MM tümör antijenleri ile yüklenmiş DH kanser aşısının immünizasyon takibi gecikmiş tip hipersensitivite testi ile yapıldı. Tümör hücre aşılımaları sonrasında subkutan (SC) 5µgr PPD uygulandı ve 48 saat sonra 5 mm'den fazla eritem-endurasyon varlığı pozitif olarak kabul edildi.

İstatistiksel Analiz:

İstatistiksel analiz SPSS 13.0 versiyonu kullanılarak yapıldı. $p<0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Gruplara ait parametrelerden kalitatif olanlar n (sayı) ve % olarak, kantitatif olanlar aritmetik ortalama ve standart sapma (\pm) şeklinde gösterildi. Survival analizi Kaplan Meire survival analizi ve Log Rank analizleri ile yapıldı.

4. BULGULAR

Çalışmaya alınan DH kanser aşısı uygulanan hastaların 8'i erkek, 2'si kadın olup, yaş ortalaması 55 ± 5 idi. Hastaların 4'ü IgG kappa, 4'ü IgG lambda, 1'i IgA kappa, 1'i non sekretuar tipindeydi. Durie-Salmon evrelemesine göre hastaların 3'ü evre 2, 7'si evre 3 iken, ISS evrelemesine göre hastaların 1'i evre 1, 6'sı evre 2, 3'ü evre 3 idi.

Talidomid tedavisi alan hastaların 3'ü erkek, 4'ü kadın olup yaş ortalaması 55 ± 7 idi. Hastaların 1'i IgG kappa, 1'i IgG lambda, 2'si IgA kappa, 1'i IgA lambda, 2'si nonsekretuar tipindeydi. Durie-Salmon evrelemesine göre hastaların 4'ü evre 2, 3'ü evre 3 iken, ISS evrelemesine göre ise hastaların 3'ü evre 1, 2'si evre 2, 2'si evre 3 idi.

Tedavisiz izlenen hastaların 7'si erkek, 3'ü kadın olup yaş ortalaması 52 ± 8 idi. Hastaların 6'sı IgG kappa, 1'i IgG lambda, 2'si IgA kappa, 1'i nonsekretuar tipindeydi. Durie-Salmon evrelemesine göre hastaların 5'i evre 2, 5'i evre 3 iken, ISS evrelemesine göre ise hastaların 2'si evre 1, 8'i evre 2 idi.

MM hastalarına ait klinik özellikler tablo 7'de görülmektedir.

Tablo 7. MM hastalarının klinik özellikleri

	DH kanser aşısı olan hastalar (10)	Talidomid alan hastalar (7)	Tedavisiz izlenen hastalar (10)
Yaş (yıl)	55 ± 5	55 ± 7	52 ± 8
Cinsiyet (E / K)	8 / 2	3 / 4	7 / 3
Albümin <3 g/dl	2	1	1
B ₂ -mikroglobülin ≥ 3,5 mg/L	7	2	4
MM tipi			
IgG kappa	4	1	6
IgG lambda	4	1	1
IgA kappa	1	2	2
IgA lambda		1	
Nonsekratuar	1	2	1
Durie-Salmon evre			
Evre 2	3	4	5
Evre 3	7	3	5
ISS evre			
Evre 1	1	3	2
Evre 2	6	2	8
Evre 3	3	2	

Veriler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

Kanser aşısı olan hastalara uygulanan hücre sayısı, canlılık oranı ve akım sitometri ile CD80, CD83, CD86, HLADR, CD1a, CD11c, CD45 düzeyleri tablo 8’de görülmektedir.

Tablo 8. Kanser aşısı olan hastaların hücre sayısı, canlılık oranı ve akım sitometrik analizleri

Hücre sayısı ($\times 10^6$)	$7 \pm 2,4$
Canlılık oranı (%)	$93,7 \pm 1,3$
CD80	$85,4 \pm 9,9$
CD83	$55,8 \pm 13,6$
CD86	$87,3 \pm 8,1$
HLADR	$73,2 \pm 22,1$
CD1a	$49,1 \pm 17,4$
CD11c	$89,5 \pm 9,6$
CD45	$97,2 \pm 2,2$

Veriler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir.

OKHN öncesinde DH kanser aşısı olan hastaların 4’ünde ÇİPY, 6’sında PY izlenirken, talidomid tedavisi alan hastaların 3’ünde ÇİPY, 4’ünde PY, tedavisiz takip edilen hastaların ise 3’ünde ÇİPY, 7’sinde PY saptandı (Tablo 9). OKHN sonrasında ise DH kanser aşısı olan hastaların 6’sında ÇİPY, 4’ünde PY saptanırken, talidomid tedavisi alan hastaların 4’ünde ÇİPY, 3’ünde PY, tedavisiz takip edilen hastaların ise 6’sında ÇİPY, 4’ünde PY izlendi (Tablo 10). DH kanser aşısı olan hastaların aşı sonrasında ise 8’inde ÇİPY, 2’sinde PY yanıt sağlandı (Tablo 11).

Tablo 9. MM hastalarının OKHN öncesi tedavi yanıtları

	DH kanser aşısı olan hastalar (10)	Talidomid alan hastalar (7)	Tedavisiz izlenen hastalar (10)
ÇİPY	4	3	3
PY	6	4	7

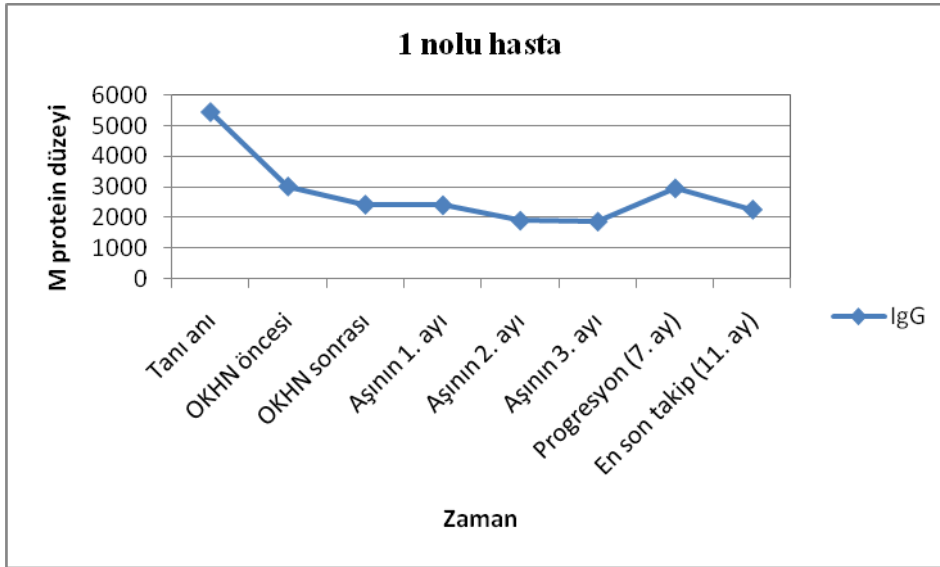
Tablo 10. MM hastalarının OKHN sonrası tedavi yanıtları

	DH kanser aşısı olan hastalar (10)	Talidomid alan hastalar (7)	Tedavisiz izlenen hastalar (10)
ÇİPY	6	4	6
PY	4	3	4

Tablo 11. MM hastalarının DH kanser aşısı sonrasında tedavi yanıtları

	DH kanser aşısı olan hastalar (10)
ÇİPY	8
PY	2

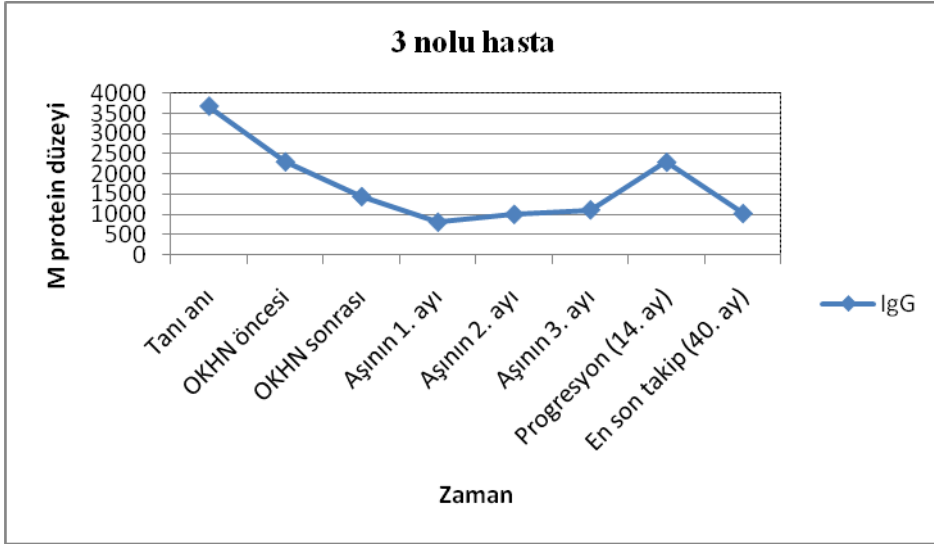
DH kanser aşısı yapılan 1 nolu hasta; 47 yaşında kadın, IgG kappa MM. Hastada OKHN öncesinde PY, OKHN sonrasında PY, aşı sonrasında PY mevcuttu. Hastada OKHN'den 7 ay sonra progresyon izlendi. Hastaya bortezomib 1.3 mg/m²/gün IV bolus şeklinde 1,4,8,11. günler, deksametazon 40 mg/gün IV olmak üzere 1-4, 9-12, 17-21. günler verilen bortezomib -deksametazon (VD) tedavisi uygulandı. Hasta SH ile takip edilirken OKHN'den 11 ay sonra hastalık dışı ölüm gerçekleşti. Hastanın tedavi süresinde M protein düzeyleri şekil 6 'da görülmektedir.



Şekil 6. 1 nolu hastanın tedavi süresinde M protein düzeyleri

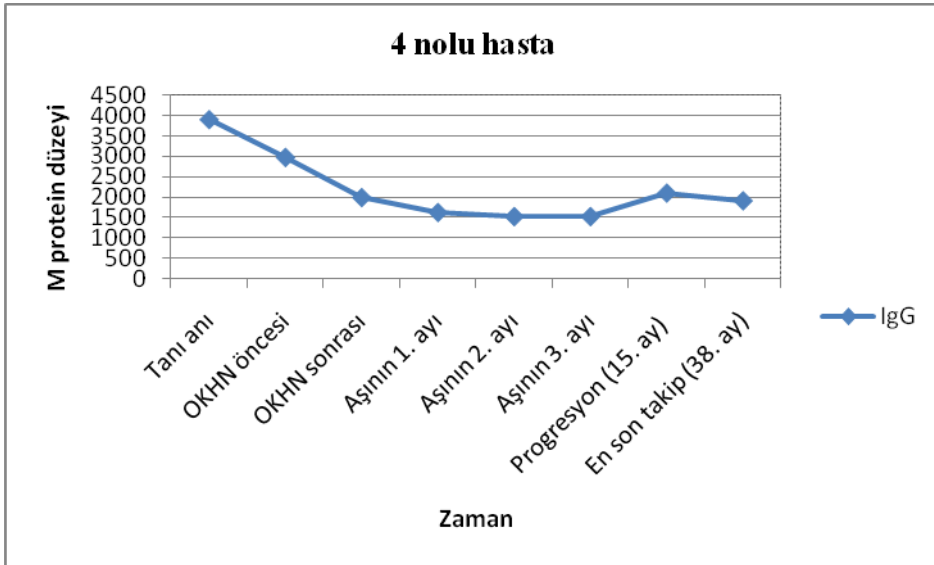
DH kanser aşısı yapılan 2 nolu hasta; 58 yaşında erkek, nonsekretuar MM. Hastada OKHN öncesinde ÇİPY, OKHN sonrasında ÇİPY, aşı sonrasında ÇİPY mevcuttu. Hastada progresyon gözlenmedi ve 42 aydır ÇİPY ile takip edilmektedir. Hasta nonsekretuar tipte olduğu için M protein düzeyleri grafiksel olarak gösterilememiştir.

DH kanser aşısı olan 3 nolu hasta; 56 yaşında erkek, IgG kappa MM. Hastada OKHN öncesinde PY, OKHN sonrasında ÇİPY, aşı sonrasında ÇİPY mevcuttu. Hastada OKHN'den 14 ay sonra progresyon izlendi. Hastaya VED tedavisi başlandı, yanıt gözlenmediğinden lenalidomid tedavisine geçildi ve tedavi ile ÇİPY izlendi. Hasta halen ÇİPY ile takip edilmekte olup, tedavi süresinde M protein düzeyleri şekil 7'de görülmektedir.



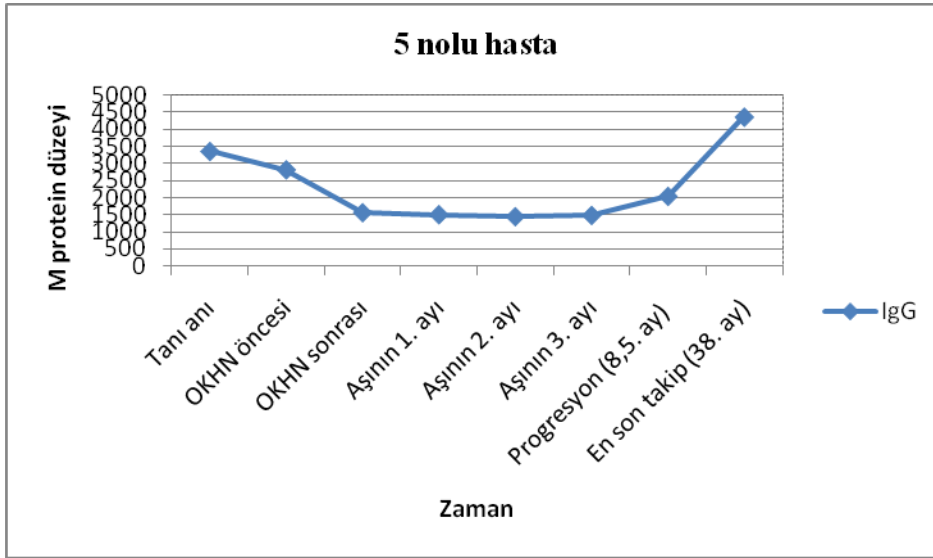
Şekil 7. 3 nolu hastanın tedavi süresinde M protein düzeyleri

DH kanser aşısı yapılan 4 nolu hasta; 57 yaşında erkek, IgG kappa MM. Hastada OKHN öncesinde PY, OKHN sonrasında PY, aşı sonrasında ÇİPY sağlandı. OKHN'den 15 ay sonra progresyon izlendi. Hastaya progresyon sonrasında VED tedavisi başlandı, yanıtız olması nedeniyle lenalidomid tedavisine geçildi ve tedavi sonrası PY izlendi. Hasta halen SH ile takip edilmekte. Hastanın tedavi süresinde M protein düzeyleri şekil 8'de görülmektedir.



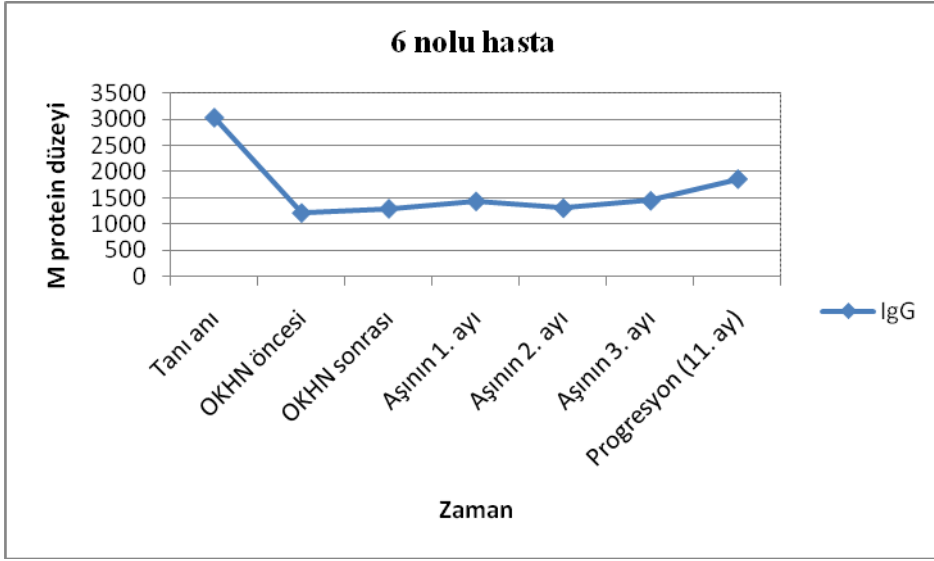
Şekil 8. 4 nolu hastanın tedavi süresinde M protein düzeyleri

DH kanser aşısı yapılan 5 nolu hasta; 59 yaşında erkek, IgG lambda MM. Hastada OKHN öncesinde PY, OKHN sonrasında PY, aşı sonrasında ÇİPY sağlandı. OKHN'den 8,5 ay sonra progresyon izlendi. Hastaya progresyon sonrasında lenalidomid tedavisi başlandı, tedavi sonrasında PY sağlandı. Tekrar progresyon olması nedeniyle VED tedavisine geçildi. Hasta halen PH ile takip edilmektedir. Hastanın tedavi süresinde M protein düzeyleri şekil 9'de görülmektedir.



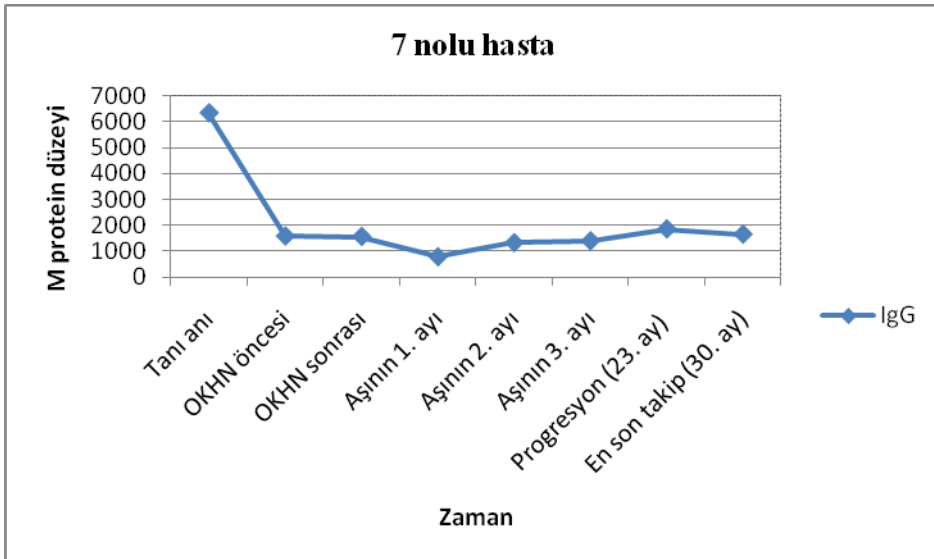
Şekil 9. 5 nolu hastanın tedavi süresinde M protein düzeyleri

DH kanser aşısı olan 6 nolu hasta; 60 yaşında erkek IgG kappa MM. Hastada OKHN öncesinde ÇİPY, OKHN sonrasında ÇİPY, aşı sonrasında ÇİPY mevcuttu. OKHN'den 11 ay sonra progresyon izlendi. Hastaya progresyon sonrasında lenalidomid tedavisi başlandı. Lenalidomid tedavisi sonrası ÇİPY izlendi. Ardından hasta takip dışı kaldı. Hastanın tedavi süresinde M protein düzeyleri şekil 10'de görülmektedir.



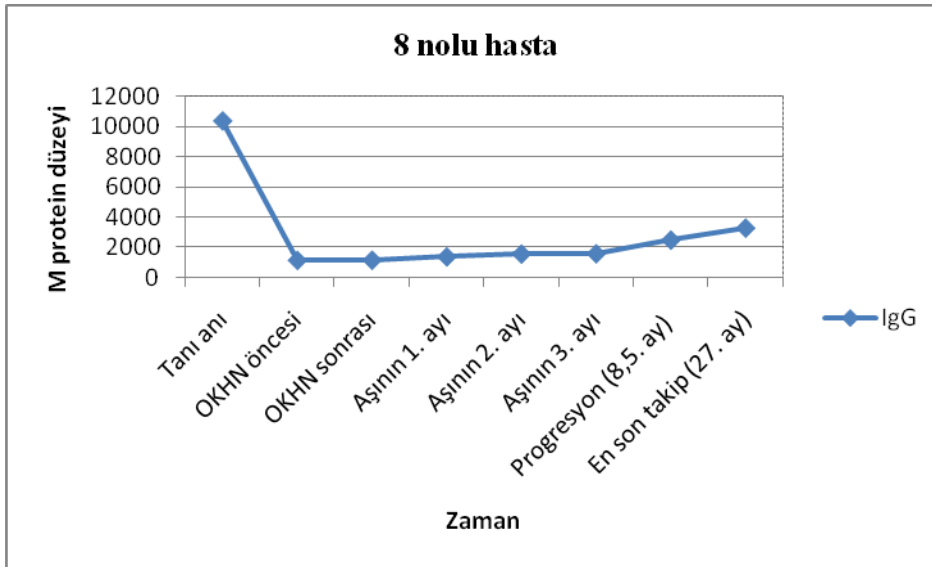
Şekil 10. 6 nolu hastanın tedavi süresinde M protein düzeyleri

DH kanser aşısı olan 7 nolu hasta; 47 yaşında erkek IgG lambda MM. Hastada OKHN öncesinde ÇİPY, OKHN sonrasında ÇİPY, aşı sonrasında ÇİPY mevcuttu. OKHN'den 23 ay sonra progresyon izlendi. Hastaya lenalidomid ve deksametazon tedavisi başlandı. Hasta şu anda stabil hastalık ile takip edilmektedir. Hastanın tedavi süresinde M protein düzeyleri şekil 11'de görülmektedir.



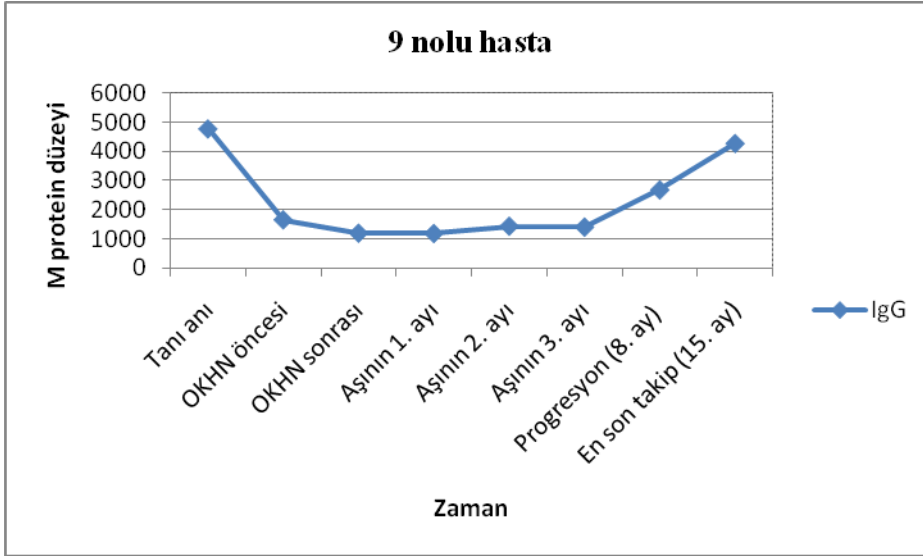
Şekil 11. 7 nolu hastanın tedavi süresinde M protein düzeyleri

DH kanser aşısı yapılan 8 nolu hasta; 59 yaşında erkek IgG lambda MM. Hastada OKHN öncesinde ÇİPY, OKHN sonrasında ÇİPY, aşı sonrasında ÇİPY mevcuttu. OKHN'den 8,5 ay sonra progresyon izlendi. Progresyon sonrasında lenalidomid tedavisi başlandı ve tedavi ile ÇİPY sağlandı. Lenalidomid tedavisi sonrasında progresyon olan hastaya bortezomib 1.3 mg/m²/gün IV bolus şeklinde 1,4,8,11. günler, doksorubisin 9 mg/m²/gün IV infüzyon şeklinde 1-4. günler, deksametazon 40 mg/gün IV olmak üzere 1,2,4,5,8,9,11,12 günler verilen bortezomib-doksorubisin-deksametazon (PAD) tedavisi başlandı. Hasta halen PH ile takip edilmekte. Hastanın tedavi süresinde M protein düzeyleri şekil 12'de görülmektedir.



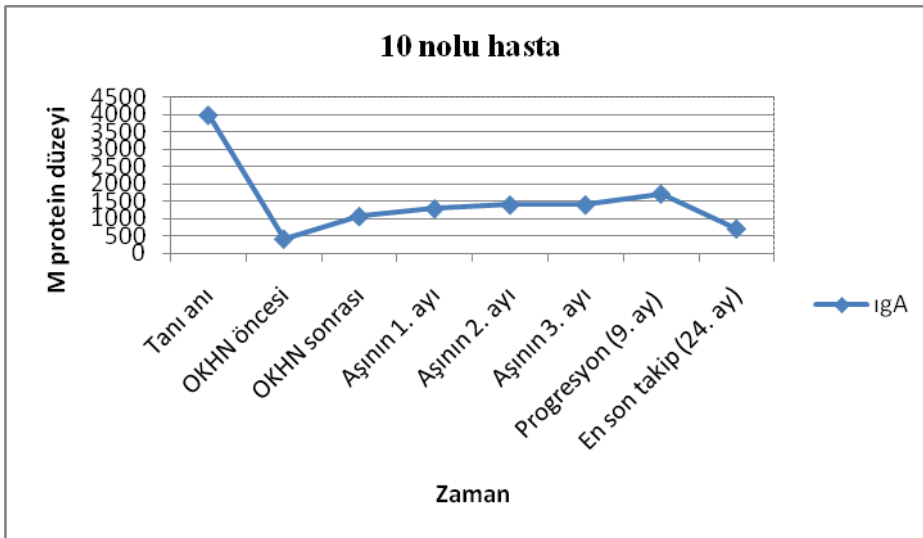
Şekil 12. 8 nolu hastanın tedavi süresinde M protein düzeyleri

DH kanser aşısı yapılan 9 nolu hasta; 54 yaşında kadın IgG lambda MM. Hastada OKHN öncesinde PY, OKHN sonrasında ÇİPY, aşı sonrasında ÇİPY mevcuttu. OKHN'den 8 ay sonra progresyon izlendi. Progresyon sonrası lenalidomid tedavisi başlandı. PH ile takip edilen hastada akut böbrek yetmezliği, pnömoni gelişti ve OKHN'den 15 ay sonra hasta öldü. Hastanın tedavi süresinde M protein düzeyleri şekil 13'de görülmektedir.



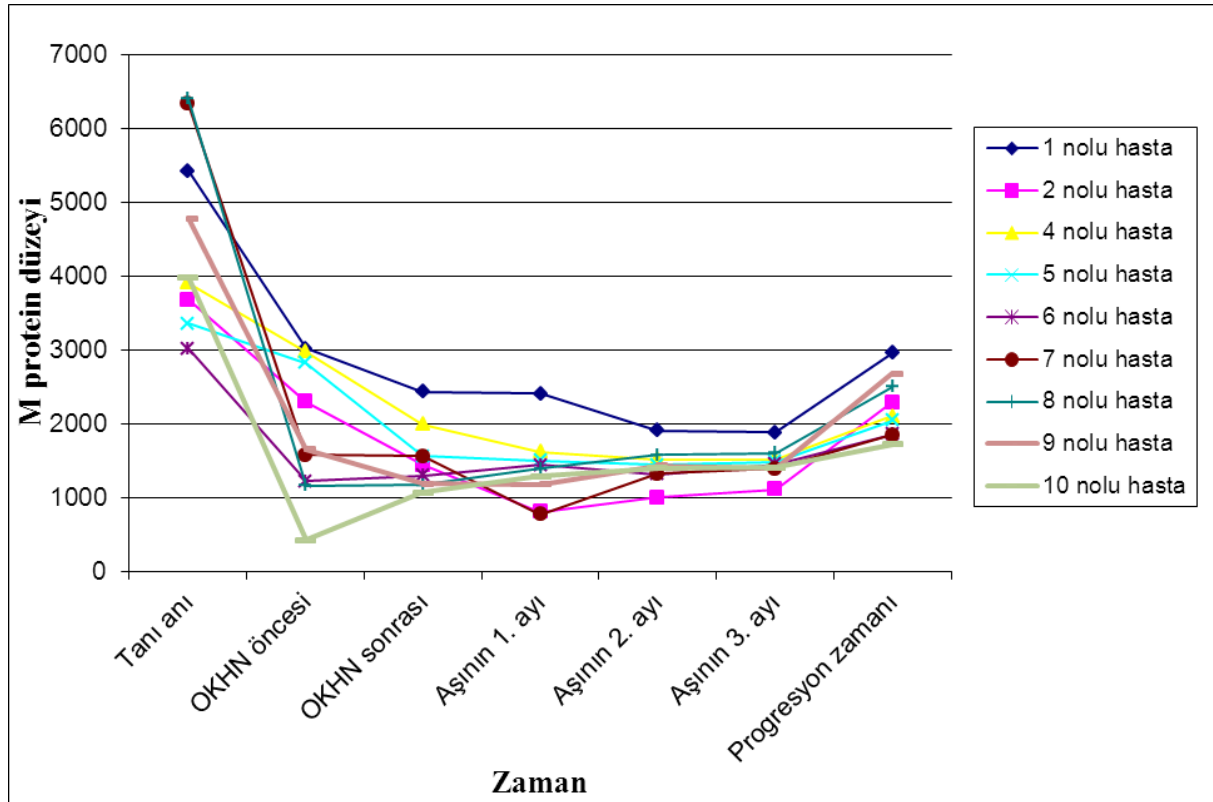
Şekil 13. 9 nolu hastanın tedavi süresinde M protein düzeyleri

DH kanser aşısı yapılan 10 nolu hasta; 56 yaşında erkek IgA kappa MM. Hastada OKHN öncesinde PY, OKHN sonrasında PY, aşı sonrasında PY mevcuttu. OKHN'den 9 ay sonra progresyon izlendi. Progresyon sonrasında lenalidomid tedavisi başlandı, tedaviye cevapsız olması nedeniyle VD tedavisine geçildi. Hasta şu anda SH ile takip edilmekte. Hastanın tedavi süresinde M protein düzeyleri şekil 14'de görülmektedir.



Şekil 14. 10 nolu hastanın tedavi süresinde M protein düzeyleri

DH kanser aşısı yapılan tüm hastaların tedavi süresinde M protein düzeyleri şekil 15’de görülmektedir.



Şekil 15. DH kanser aşısı olan tüm hastaların tedavi süresinde M protein düzeyleri

Talidomid tedavisi alan 1 nolu hasta; 59 yaşında kadın IgA lambda MM. Hastada OKHN öncesinde PY, OKHN sonrasında ÇİPY mevcuttu. Talidomid tedavisi altında OKHN’den 3 ay sonra progresyon izlendi. Talidomid tedavisi esnasında zona zoster enfeksiyonu, lökopeni ve bacaklarda ödem saptandı. Hastaya VD tedavisi verildi. Hasta halen stabil hastalık ile takip edilmektedir.

Talidomid tedavisi alan 2 nolu hasta; 57 yaşında kadın IgG kappa MM. Hastada OKHN öncesinde PY, OKHN sonrasında PY mevcuttu. Talidomid tedavisi altında OKHN’den 3 ay sonra progresyon izlendi. Talidomid tedavisi esnasında lökopeni ve bacaklarda ödem şikayetleri gözlemlendi. Hastaya melfalan–prednol tedavisi verildi. Hasta halen stabil hastalık ile takip edilmekte.

Talidomid tedavisi alan 3 nolu hasta; 47 yaşında kadın IgG lambda MM. Hastada OKHN öncesinde ÇİPY, OKHN sonrasında ÇİPY mevcuttu. Hastada tedavi esnasında bacaklarda ödem şikayeti gözlendi. Hasta 28 aydır ÇİPY ile takip edilmekte.

Talidomid tedavisi alan 4 nolu hasta; 44 yaşında erkek IgA kappa MM. Hastada OKHN öncesinde PY, OKHN sonrasında PY mevcuttu. Talidomid tedavisi altında OKHN'den 7,5 ay sonra progresyon izlendi. Hastada tedavi esnasında nötropeni ve trombositopeni gelişti. Hastaya melfalan-prednol tedavisi başlandı. Takiplerde hasta hastalık progresyon nedeniyle öldü.

Talidomid tedavisi alan 5 nolu hasta; 62 yaşında kadın nonsekretuar MM. Hastada OKHN öncesinde PY, OKHN sonrasında PY mevcuttu. Talidomid tedavisi altında OKHN'den 18,5 ay sonra progresyon izlendi. Tedavi esnasında lökopeni ve nöropati şikayetleri saptandı. Hastaya VD tedavisi başlandı. Hasta halen stabil hastalık ile takip edilmektedir.

Talidomid tedavisi alan 2 hastada ise OKHN öncesinde ÇİPY, OKHN sonrasında ÇİPY izlenmesine rağmen, derin ven trombozu ve ciddi nötropeni gelişmesi nedeniyle talidomid tedavisi kesildi.

Tedavisiz takip edilen hasta grubunda OKHN öncesinde PY, OKHN sonrasında PY izlenen 4 hastada nakilden 2, 3, 3.5 ve 7 ay sonra progresyon izlenirken, OKHN öncesinde PY, OKHN sonrasında ÇİPY izlenen 3 hastada nakilden 4, 10 ve 10.5 ay sonra progresyon gözlendi. OKHN öncesinde ÇİPY, OKHN sonrasında ÇİPY izlenen 3 hastada ise OKHN'den 3, 4 ve 13 ay sonra progresyon izlendi.

2 yıl sonunda DH kanser aşısı yapılan hastaların 1'inde ÇİPY mevcutken 9'unda progresyon izlendi. Talidomid tedavisi alan 2 hastada, ilaç yan etki nedeniyle kesildi. Geri kalan 5 hastanın 1'inde ÇİPY mevcutken 4'ünde progresyon saptandı. Tedavisiz takip edilen hastaların tümünde progresyon gözlendi.

MM hastalarının 2 yıl sonunda tedavi yanıtları tablo 12'de görülmektedir.

Tablo 12. MM hastalarının 2 yıl sonunda tedavi yanıtları

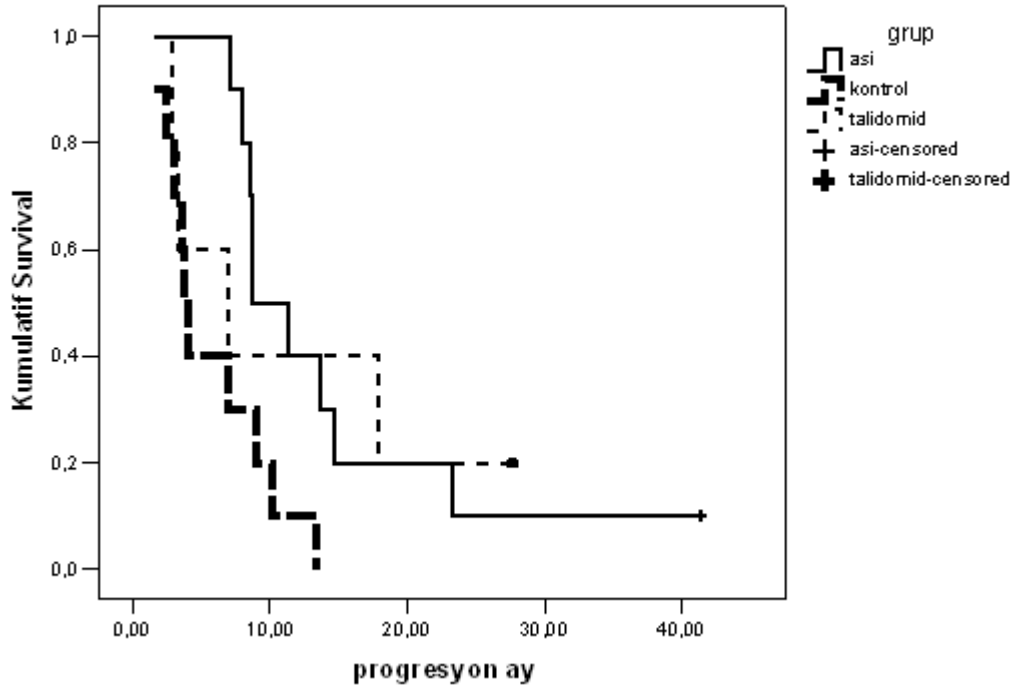
	DH kanser aşısı olan hastalar (10)	Talidomid alan hastalar (5)	Tedavisiz izlenen hastalar (10)
ÇİPY	1	1	
PH	9	4	10

OKHN sonrasında progresyona kadar geçen süre, DH kanser aşısı yapılan hastalarda 15 ay, talidomid tedavisi alan hastalarda 12 ay, tedavisiz takip edilen hastalarda 6 ay olarak tespit edildi. Talidomid tedavisi alan hastalar ile tedavisiz takip edilen hastalar arasında OKHN sonrasında progresyona kadar geçen süre açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmezken, DH kanser aşısı yapılan hastalarda tedavisiz takip edilen hastalara göre OKHN sonrasında progresyona kadar geçen sürenin daha uzun olduğu tespit edildi ($p<0.05$). DH kanser aşısı olan hastalar ile talidomid tedavisi alan hastalar arasında OKHN sonrasında progresyona kadar geçen süre açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi. Ancak, kanser aşısı yapılan hastalarda aşıya bağlı ciddi yan etki ve tedaviyi bırakma izlenmezken, talidomid tedavisi alan 7 hastada ilaca bağlı yan etki gelişimi saptandı ve 2 hastada yan etkiye bağlı ilaç kesildi.

MM hastalarının OKHN sonrasında progresyona kadar geçen süre tablo 13’de ve şekil 16’de görülmektedir.

Tablo 13. MM hastalarının OKHN sonrasında progresyona kadar geçen süre

	DH kanser aşısı olan hastalar (10)	Talidomid alan hastalar (5)	Tedavisiz izlenen hastalar (10)
Progresyona kadar geçen süre (ay)	15	12	6



Şekil 16. MM hastalarının OKHN sonrasında progresyona kadar geçen süre

DH kanser aşısı yapılan hastalarda immünizasyon takibi için uygulanan PPD'nin değerlendirilmesinde 1 hastada 1 mm, 2 hastada 2 mm, 1 hastada 6 mm endürasyon izlenirken 6 hastada endürasyon tespit edilmedi. 6 mm endürasyon izlenen hasta DH kanser aşısı sonrasında halen ÇİPY ile takip edilmektedir.

DH kanser aşısı yapılan hastalarda kısa süreli olarak 3'ünde aşı yeri reaksiyonu, 1'inde hem aşı yeri reaksiyonu hem de ateş, 1'inde kas ağrısı gözlenirken 5 hastada herhangi bir yan etki izlenmedi. DH kanser aşısı hastalar tarafından genelde iyi tolere edildi.

DH kanser aşısı olan hastalarda izlenen yan etkiler tablo 14'de görülmektedir.

Tablo 14. DH kanser aşısı olan hastalarda izlenen yan etkiler

Yan etki	DH kanser aşısı olan hastalar (5)
Aşı yeri reaksiyonu (eritem, kaşıntı)	
Grade I	3
Aşı yeri reaksiyon + ateş	
Grade I	1
Kas ağrısı	
Grade I	1

Talidomid tedavisi alan hastalarda lökopeni, nötropeni, trombositopeni, bacaklarda ödem, zona zoster enfeksiyonu, derin ven trombozu ve nöropati izlendi. Derin ven trombozu ve grade III nötropeni gelişen 2 hastanın talidomid tedavisi kesildi.

Talidomid tedavisi alan hastalarda izlenen yan etkiler tablo 15’de görülmektedir.

Tablo 15. Talidomid tedavisi alan hastalarda izlenen yan etkiler

Yan etki	Talidomid alan hastalar (7)
Nötropeni + trombositopeni	
Grade I	1
Grade III	1
Lökopeni + bacaklarda ödem	
Grade I	1
Bacaklarda ödem	
Grade I	1
Derin ventrombozu + bacaklarda ödem	
Grade II	1
Zona zoster enfeksiyonu + ödem + lökopeni	
Grade I	1
Nöropati + lökopeni	
Grade I	1

5. TARTIŞMA

MM, hematolojik kanserlerin % 10'unu, tüm kanserlerin % 1'ini oluşturan en yaygın görülen malin hematolojik hastalıktır (1). Yeni geliştirilen ilaçların kullanıma girmesi ve OKHN ile yüksek tedavi yanıt oranlarına ulaşılmasına rağmen, halen uzun süreli tam kür sağlanamayan bir hastalık olmaya devam etmektedir (2). AKHN ve DLİ yapılan bazı MM hastalarında, GVM etkisiyle tam kür sağlandığının gösterilmesinden sonra immünoterapi yaklaşımları MM'de önem kazanmaya başlamıştır. Fakat allo-reaktif cevabın spesifik olmaması sonucu GVHH sık gözlenmiş ve AKHN sonrasında yüksek oranda mortalite ve morbidite oranları izlenmiştir. Bu nedenle malin plazma hücrelerini ortadan kaldırmak için miyeloma spesifik immün cevabı sağlayacak tedaviler üzerinde durulmaya başlanmıştır (1). Takip eden çalışmalarda MM'de kanser aşılarının, tümöre spesifik T hücreleri uyararak ve T hücre toleransını azaltarak minimal rezidüel hastalığı ortadan kaldırabileceği gösterilmiştir (3).

Kanser aşılarının ileri evre prostat ve böbrek kanserinde yaşam süresini uzattığının gösterilmesinden sonra immünoterapiye olan ilgi artmaya başlamıştır (44). Non-hodgkin lenfoma (NHL)'da da kanser aşıları ile tümöre karşı immün cevabın arttığı ve klinik cevabın düzeldiği gösterilmiştir. Relaps ya da refrakter NHL'li hastalarda yapılan bir çalışmada, OKHN'i takiben Id peptid yüklü DH kanser aşısı sonrasında 12 hastanın 10'da antijen spesifik humoral ve hücrel immün cevabın geliştiği ve bu hastaların 7'sinin uzun süreli remisyonda kaldığı gözlenmiştir (68). Benzer şekilde, FL ve B hücreli kronik lenfositik lösemili (KLL) hastalarda yapılan çalışmalarda da DH kanser aşlarıyla tümör spesifik immün cevabın geliştiği ve immün cevap gelişen hastaların hastalıksız ve toplam yaşam sürelerinin daha uzun olduğu bildirilmiştir (69,70).

DH kanser aşılarının NHL'de immün cevabı artırdığının gösterilmesinden sonra MM'de de etkinliği araştırılmaya başlanmıştır. MM'de yapılan ön çalışmalarda kanser aşılarının humoral ve hücrel immün cevabı uyardığının gösterilmesine rağmen, elde edilen sonuçların kliniğe yansımaları yeterince olamamaktadır (3). Liso ve arkadaşları, OKHN'yi takiben Id protein yüklü DH kanser aşısı uyguladıkları 26 hastanın 34 aylık izleminde 17 hastanın yaşadığını ve bunların 5'inin TY, 7'sinin PY, 5'nin de PH olduğunu, 9 hastanın ise 7'sinin progresyon, 2'sinin akut miyeloid lösemiye (AML)

dönüşüm nedeni ile öldüğünü bildirmişlerdir (71). Buna karşılık yapılan bir başka çalışmada, OKHN'yi takiben Id protein yüklü DH kanser aşısı sonrası 12 hastanın 2'sinde 25 ay ve 29 ay süresince PY elde edilmiş, 10 hastada ise PH izlenmiştir (72). Başka bir çalışmada ise, OKHN'yi takiben Id protein yüklü DH kanser aşısı sonrasında MM hastaları ortalama 6,5 yıl süre ile takip edilmiş, 26 hastanın 6'sında TY, 2'sinde PY, 18'unda SH tespit edilmiştir. Bu hastaların toplam yaşam süresi 5,3 yıl olup kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek tespit edilirken, progresyona kadar geçen süre ve progresyonsuz yaşam süresi açısından fark tespit edilmemiştir (73). Yüksek doz tedavi sonrası idame tedavisi olarak Id peptid yüklü DH kanser aşı uygulanan hastalarda hastaliksız yaşam süresi 40 ay, toplam yaşam süresi 82 ay olarak izlenmiştir (74). DH ve tümör hücresi füzyon kanser aşısı yapılan 15 hastalık bir çalışmada, 11 hastada miyelom hücrelerine karşı CD4 ve CD8+ T lenfositlerinde artış tespit edilmiş ve hastaların SD'de kaldığı gözlenmiştir (75).

DH kanser aşısı için Id protein antijeninin haricinde NY-ESO1, MAGE1 ve MAGE3 gibi kanser testis antijenleri de kullanılmaktadır. MAGE, kanser testis antijenlerin en geniş ailesi olup MAGE A, MAGE B, MAGE C gibi farklı antijenik özelliklere sahip gruplara ayrılırlar. Lösemi ve NHL gibi hematolojik kanserlerde kanser testis antijenleri nadiren bulunmasına karşın, MAGE A3, MAGE C1/CT7 gibi antijenler miyelom hücrelerinde sıklıkla eksprese edilmektedir. Yapılan bir çalışmada MM hastalarında MAGE A3'ün % 41, MAGE A1'in % 26 oranında eksprese edildiği gösterilmiştir (76). Ayrıca MAGE A3 ve MAGE C1/CT7 antijenlerinin miyelom hücrelerinin yaşam süresini artırdığı, kendiliğinden ya da kemoterapi sonrası oluşan apoptozu azalttığı saptanmıştır (77). Ek olarak MM hastalarında MAGEA1/A2/A3 antijenlerinin CD8 (+) sitotoksik T hücre cevabını uyardığı gözlenmiştir (78). Bir başka kanser testis antijeni olan NY-ESO1 antijeni ise çeşitli tümör hücrelerinde, plasenta ve testis dokularında eksprese edilip, normal dokularda sınırlı oranda bulunmaktadır. Bu antijen miyelom hücrelerinde % 60'dan fazla oranda eksprese edilir. NY-ESO1'nin MM'li hastalarda hem humoral hem de CD8+ T hücre cevabını uyardığı gösterilmiştir (56). Ayrıca NY-ESO1'e karşı gelişen antikor cevabının ileri evre kanserlerde % 25-% 50 oranında olduğu ve bu antikor cevabının hastalığın ilerlemesi ile artıp, gerilemesi ile azaldığı saptanmıştır (55). MM hastalarında yapılan bir başka çalışmada, AKHN sonrasında NY-ESO1'e karşı hem humoral hem de hücrel immün cevabın arttığı

tespit edilmiştir (79). Miyelom hücrelerinde olduğu gibi tümör hücrelerinde ekspresyonu olan buna karşılık normal hücrelerde ekspresse edilmeyen bu antijenik yapılar, miyelom Id proteinlerine göre kanser aşılılarıyla tümör dokusuna karşı oluşacak immüniteyi belirgin olarak artırabilmektedirler.

Bizim çalışmamızda da NY-ESO1, MAGE1 ve MAGE3 ile yapılan miyelom DH kanser aşısı uygulaması değerlendirildi. DH kanser aşısı uygulaması ile OKHN sonrası PY yanıt izlenen 4 hastanın 2'sinin de ÇİPY'ye dönüşmesi ile çalışmaya alınan 10 hastanın 8'inde ÇİPY sağlandı. Oysaki talidomid alan grupta OKHN sonrası PY remisyon saptanan hastaların hiç birinin ÇİPY'ye dönüşmediği izlendi. DH kanser aşısı yapılan hastaların 3'ünde yaklaşık 8 ay, diğerlerinde ise sırasıyla 7, 9, 11, 14, 15 ve 23 ay sonra hastalık progresyonu saptandı. PPD uygulamasını takiben reaksiyon saptanan hastada ise 42 aylık izlemde hastalık progresyonu saptanmadı. Buna karşılık OKHN sonrasında talidomid tedavisi alan hastaların 2'sinde 3 ay, diğerlerinde ise sırasıyla 7 ve 18. aylarda hastalık progresyonu tespit edilirken 1'inde ise 28 aylık takipte hastalık progresyonu izlenmedi. Oysaki OKHN sonrasında tedavisiz izlenen hastaların OKHN sonrası PY olan 4 hastada 2-7 ay içinde, ÇİPY sağlanan 6 hastada ise 3-13 ay içinde hastalık progresyonu izlendi. Talidomid alan hastaların tümünde ilaç kullanıma bağlı yan etki gelişimi izlenirken, 2 hastada yan etkiye bağlı ilacın bırakılmasına gerek duyuldu. Buna karşılık DH kanser aşısı uygulanan hastalarda gelişen yan etkiler kısa süreli ve tolere edilebilir düzeyde olup, hiçbir hastada tedavinin bırakılmasına neden olmadı. OKHN sonrasında progresyona kadar geçen süre değerlendirildiğinde DH kanser aşısı yapılan hastalarda ortalama 15 ay, talidomid tedavisi alan hastalarda 12 ay ve tedavisiz izlenen hastalarda 6 ay olarak saptandı. DH kanser aşısı ile immünmodülatör bir ilaç olan talidomid kullanan hastalarda progresyon zamanı kanser aşısında daha uzun olmakla birlikte belirgin olarak farklı değilken, tedavi almayan hastalarda DH kanser aşısına göre belirgin olarak kısaydı. Bu durum bize immün sistemin spesifik yada non-spesifik uyarımının hastalık kontrolünde önemli olduğunu göstermekteydi. Ancak bu uyarımın kanser aşısı gibi tümöre spesifik ve yan etkisiz olması, bize kanser aşısının daha etkin olduğunu telkin etmekteydi.

Adjuvan ajanlar, doğal ve kazanılmış immüniteyi uyararak etkin şekilde tümöre karşı immün cevabın gelişmesini sağlayan maddelerdir. Zayıf immünojenik yapıya sahip olan tümör antijenlerine karşı gelişecek immün cevabın etkinliğini artırmak için

çeşitli adjuvan ajanlar kullanılmaktadır. Kanser aşısı hazırlamada GM-CSF ve IL-4 gibi sitokinlerin kullanımı sitotoksik T hücre ve NK hücreleri uyarmakta, ASH'nin farklılaşmasını ve uyarılmasını sağlamakta ve tümör hücreleri üzerindeki HLA sınıf I moleküllerinin ekspresyonunu artırmaktadır (34). Çalışmamızda GM-CSF ve IL-4, olgunlaştırıcı sitokin olarak TNF- α , IL-1b ve IL-6 kullanılmasıyla elde edilen DH'lerin PPD ile inkübe edilerek tümör antijenitesinin uyarılması hedeflenmiş ve bir hastada belirgin amnestik yanıt elde edilirken amnestik yanıt alınan hastada da progresyon izlenmemiştir. Bu durum bize tümöre karşı immün yanıtı artıran adjuvan yapıların önemini göstermekteydi. Melanomalı hastalarda yapılan çalışmalarda DH, NK hücre, monosit ve makrofajı uyaran, antitümör aktiviteye sahip sitokinleri artıran, DH'nin olgunlaşmasını ve göçünü sağlayan, MHC ve kostimülatuar maddeleri artıran TLR'nin adjuvan olarak kullanılması ile başarılı sonuçların elde edilmesi bu durumu desteklemektedir (34). Ayrıca DH'nin olgunlaşmasında kullanılan sitokin kokteylindeki farklılıklarda kanser aşılarının etkinliğini etkilemektedir. Yapılan bir çalışmada INF- α , polyI:C, IL-1 β , TNF, INF- γ kokteyli ile aktive edilen DH'ler, IL-1 β , TNF, IL-6, PGE2 kokteyli ile aktive edilen DH'lere göre tümör spesifik sitotoksik T hücre cevabını daha iyi uyardığı gösterilmiştir (80).

DH kanser aşısının etkinliğini artırmak için tümör antijenlerine karşı gelişen immün tolerans ve tümör tarafından geliştirilen immün kaçış mekanizmalarını azaltan yöntemlerde faydalı olabilmektedir. Treg hücreleri T ve B lenfositlerin, NK hücrelerinin ve diğer immün hücrelerin fonksiyonlarını azaltarak immün tolerans gelişmesine yol açmaktadır. Yapılan bir çalışmada, DH aşılama sırasında Treg hücrelerinin azaltılmasının tümöre karşı immün cevabı arttırdığı gösterilmiştir (81). Bunu takiben kanser aşılarının etkinliğini artırmak için Treg hücrelerini azaltan düşük doz siklofosfamid, anti CD25 antikoru ya da Treg hücre inhibitörleri gibi yeni tedavi stratejileri planlanmıştır (82). MM'de malin plazma hücrelerinden salgılanan TGF- β gibi sitokinler, DH olgunlaşmasını ve göçünü engelleyerek efektör T hücrelerin fonksiyonlarını bozar ve tümöre karşı olan immün cevabı baskırlar (83). Lenalidomid, talidomid gibi immünomodülatör ilaçlar, kostimülatuar molekülleri artırarak, inflamasyonu azaltarak, T hücre ve NK hücreleri artırarak, Treg hücrelerin çoğalmasını ve fonksiyonlarını baskılayarak kanser aşılarının etkisini artırabilmektedir (84-86). MM hastalarında yapılan bir çalışmada, lenalidomid tedavisinin pnömokokal 7-valent konjüge aşısı (PVC)

alan hastalarda miyeloma spesifik INF- γ (+) T hücreleri artırdığı ve Th17 hücreleri azalttığı ve tümöre spesifik immün cevabı artırdığı gösterilmiştir (87). Dolayısıyla kanser aşılılarıyla birlikte lenalidomid, talidomid gibi immünomodülatuar ajanların kullanımı oluşacak immün yanıtı artırarak kanser aşılarının etkililiğinin artışına neden olabilecektir. Nitekim bizim çalışmamızda da kanser aşısı sonrası progresyon izlenen 7 hastaya, lenalidomid verildiğinde 3 hastada ÇİPY, 2 hastada PY sağlandığı gözlemlendi.

Sonuç olarak, MM'de DH kanser aşısının OKHN sonrasında idame tedavisi olarak etkin ve güvenli bir tedavi şekli olduğu, kanser aşısı hazırlamada yeni sitokin ve adjuvanların kullanılması ve Treg hücrelerinin azaltılmasıyla etkinliğinin daha da artabileceği kanaatine varıldı.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. Yeni tanı almış 27 MM'li hasta çalışmaya alındı. Uygun tedavi sonrası OKHN yapılan 10 hastaya DH kanser aşısı, 7 hastaya talidomid tedavisi uygulandı. 10 hasta ise herhangi bir tedavi almaksızın takip edildi. OKHN sonrasında, DH kanser aşısı yapılan hastaların 6'sında ÇİPY, 4'ünde PY, talidomid tedavisi alan hastaların 4'ünde ÇİPY, 3'ünde PY ve tedavisiz takip edilen hastaların 6'sında ÇİPY, 4'ünde PY mevcuttu. Ayrıca, OKHN sonrası PY yanıt izlenen 2 hastada DH kanser aşısı uygulaması sonrası ÇİPY'ye dönüşüm izlendi.
2. 2 yıllık takip sonunda DH kanser aşısı yapılan hastaların 3'ünde yaklaşık 8 ay, diğerlerinde ise sırasıyla 7, 9, 11, 14, 15 ve 23 ay sonra hastalık progresyonu saptanırken, 1'inde ise 42 aylık izlem sonunda hastalık progresyonu gözlenmedi. Buna karşılık OKHN sonrasında talidomid tedavisi alan hastaların 2'sinde 3 ay, diğerlerinde ise sırasıyla 7 ve 18 aylarda hastalık progresyonu tespit edilirken 1'inde ise 28 aylık takipte hastalık progresyonu izlenmedi. OKHN sonrasında tedavisiz izlenen hastaların OKHN sonrası PY olan 4 hastada 2-7 ay içinde, ÇİPY sağlanan 6 hastada 3-13 ay içinde hastalık progresyonu tespit edildi.
3. OKHN sonrasında hastalık progresyonuna kadar geçen süre değerlendirildiğinde, DH kanser aşısı yapılan hastalarda ortalama 15 ay, talidomid tedavisi alan hastalarda 12 ay ve tedavisiz izlenen hastalarda 6 ay olarak saptandı. DH kanser aşısı ile talidomid kullanan hastalarda OKHN sonrasında progresyona kadar geçen süre DH kanser aşısında daha uzun olmakla birlikte istatistiksel olarak farklı değilken, tedavi almayan hastalarda DH kanser aşısına göre belirgin olarak kısaydı.
4. Talidomid alan hastaların tümünde ilaç kullanıma bağlı yan etki gelişimi izlenirken, 2 hastada yan etkiye bağlı ilaç tedavisi sonlandırıldı. Buna karşılık DH kanser aşısı uygulanan hastalarda gelişen yan etkiler kısa süreli ve tolere edilebilir düzeyde olup, hiçbir hastada tedavi bırakılmadı.
5. Sonuç olarak MM'de DH kanser aşısının OKHN sonrasında idame tedavisi olarak etkin ve güvenli bir tedavi şekli olduğu, kanser aşısı hazırlamada yeni sitokin ve adjuvanların kullanılması ve Treg hücrelerinin azaltılmasıyla etkinliğinin daha da artabileceği kanaatine varıldı.

7. ÖZET

MM yeni ilaçların kullanıma girmesi ve OKHN ile yüksek tedavi yanıt oranlarına ulaşılmasına rağmen, halen uzun süreli tam kür sağlanamayan bir hastalık olmaya devam etmektedir. MM'de AKHN ve DLİ sonrasında GVM etkisiyle tam kür sağlanmasına rağmen, allo-reaktif cevabın spesifik olmaması nedeniyle sıklıkla gelişen GVHH'ye bağlı olarak yüksek mortalite ve morbidite oranları izlenmiştir. Bu nedenle malin plazma hücrelerini ortadan kaldırmak için miyeloma spesifik immün cevabı sağlayacak tedaviler üzerinde durulmaya başlanmıştır. MM'de kanser aşılarının tümöre özgül T hücreleri uyararak ve T hücre toleransını azaltarak minimal rezidüel hastalığı ortadan kaldıracak şekilde gösterilmesine rağmen, elde edilen sonuçların tedaviye yansımaları yeterince olamamıştır. Bu çalışmada MM hastalarında tümör antijeni yüklü DH kanser aşısının etkinliği ve güvenilirliğinin değerlendirilmesi planlandı.

Bu amaçla yeni tanı almış 27 MM'li hasta çalışmaya alındı. Uygun tedavi sonrası OKHN yapılan 10 hastaya DH kanser aşısı, 7 hastaya talidomid tedavisi uygulandı. 10 hasta ise herhangi bir tedavi almaksızın takip edildi. OKHN sonrasında, DH kanser aşısı yapılan hastaların 6'sında ÇİPY, 4'ünde PY, talidomid tedavisi alan hastaların 4'ünde ÇİPY, 3'ünde PY ve tedavisiz takip edilen hastaların 6'sında ÇİPY, 4'ünde PY mevcuttu. Ayrıca, OKHN sonrası PY yanıt izlenen 2 hastada DH kanser aşısı uygulaması sonrası ÇİPY'ye dönüşüm izlendi. Tüm hastaların tedavi yanıtları, hastalık progresyon zamanları ve tedaviye bağlı yan etkileri değerlendirildi. 2 yıllık takip sonunda DH kanser aşısı yapılan hastaların 3'ünde yaklaşık 8 ay, diğerlerinde ise sırasıyla 7, 9, 11, 14, 15 ve 23 ay sonra hastalık progresyonu saptanırken, 1'inde ise 42 aylık izlem sonunda hastalık progresyonu gözlenmedi. Buna karşılık OKHN sonrasında talidomid tedavisi alan hastaların 2'sinde 3 ay, diğerlerinde ise sırasıyla 7 ve 18 aylarda hastalık progresyonu tespit edilirken 1'inde ise 28 aylık takipte hastalık progresyonu izlenmedi. OKHN sonrasında tedavisiz izlenen hastaların OKHN sonrası PY olan 4 hastada 2-7 ay içinde, ÇİPY sağlanan 6 hastada 3-13 ay içinde hastalık progresyonu tespit edildi. OKHN sonrasında hastalık progresyonuna kadar geçen süre değerlendirildiğinde, DH kanser aşısı yapılan hastalarda ortalama 15 ay, talidomid tedavisi alan hastalarda 12 ay ve tedavisiz izlenen hastalarda 6 ay olarak saptandı. DH kanser aşısı ile talidomid kullanan hastalarda OKHN sonrasında progresyona kadar geçen süre DH kanser aşısında daha uzun olmakla birlikte istatistiksel olarak farklı değilken, tedavi almayan hastalarda DH kanser aşısına göre belirgin olarak kısaydı ($p<0.05$). Talidomid alan hastaların tümünde ilaç kullanıma bağlı yan etki gelişimi izlenirken, 2 hastada yan etkiye bağlı ilaç tedavisi sonlandırıldı. Buna karşılık DH kanser aşısı uygulanan hastalarda gelişen yan etkiler kısa süreli ve tolere edilebilir düzeyde olup, hiçbir hastada tedavi sonlandırılmadı.

Sonuç olarak MM'de DH kanser aşısının OKHN sonrasında idame tedavisi olarak etkin ve güvenli bir tedavi şekli olduğu, kanser aşısı hazırlamada yeni sitokin ve adjuvanların kullanılması ve Treg hücrelerinin azaltılmasıyla etkinliğinin daha da artabileceği kanaatine varıldı.

SUMMARY

Multiple myeloma (MM) is a disease that has not provided a long term complete cure, despite use of new drugs and high response rates with autologous stem cell transplantation (autoSCT). Complete response is obtained with the effects of graft versus myeloma (GVM) in MM treatment with allogeneic stem cell transplantation (alloSCT) and donor lymphocyte infusion (DLI). However, allo-reactive response is not specific and high mortality and morbidity rates are observed due to the graft-versus-host disease (GVHD). Therefore, therapeutic investigations are focused on treatment alternatives providing specific immune response in MM. Though cancer vaccines eliminate minimal residual disease in MM by stimulating tumor-specific T cells and decreasing tolerance of T cells, it is not sufficiently reflected to result of treatment. In the study, we designed to evaluate the efficacy and safety of dendritic cell (DC) cancer vaccine pulsed with tumor antigen in MM patients.

For this purpose, 27 patients diagnosed with MM were enrolled in the study. After appropriate treatment, autoSCT was performed in all patients. DC cancer vaccine was administered to 10 patients, thalidomide treatment was provided to 7 patients. 10 patients were followed-up without any treatment. Following autoSCT, in DC cancer vaccine group very good partial response (VGPR) was obtained in 6 of the patients while partial response (PR) was found in 4 patients, in patients receiving thalidomide treatment VGPR was determined in 4 patients while PR was seen in 3 patients and in patients without any treatment VGPR was found in 6 patients and PR was seen in 4 patients. In addition, after autoSCT, improvement to VGPR was observed after administration of DC cancer vaccine in 2 patients with PR. Response to treatment, time to disease progression and treatment-related side effects were evaluated in all patients. At the end of follow-up period of 2 years, progression of disease was observed in approximately 8 months in 3 patients in DC cancer vaccine group while the corresponding time of disease progression in other cases were determined as 7, 9, 11, 14, 15 and 23 months, respectively; no progression of disease was found in 1 patient in 42th week of follow up. On the other hand, progression of disease was found in 3rd month in 2 patients who received thalidomide after autoSCT while the corresponding time of disease progression was detected as 7 and 18th months in other patients; no disease progression was found in 1 patient during a follow-up period of 28 months. Among patients with no additional treatment following autoSCT, progression of disease was found during 2-7 months after autoSCT in 4 patients with PR and within 3-13 months in 6 patients with VGPR. Assessment of time to disease progression after autoSCT showed a duration of 15 months in patients who received DC cancer vaccine, 12 months in patients treated with thalidomide and 6 months in patients followed up without any further treatment. While time to disease progression after autoSCT were longer in DC cancer vaccine and thalidomide groups, difference was statistically insignificant; however, in untreated patients was significantly shorter than DC cancer vaccine group ($p < 0.05$). Treatment-associated side effects were observed in all patients treated with thalidomide, leading to stop of treatment in 2 patients. On the other hand, side effects in DC cancer vaccine group were transient and tolerable while no stop of treatment was observed in any of the patients.

In conclusion, DC cancer vaccine was demonstrated to be safe and effective as a maintenance treatment following autoSCT in MM cases and it is suggest that utilization of new cytokines and adjuvants in formulation of cancer vaccine and reduction of T regulatory cells (Treg) will be able to provide more improvement in efficacy.

9. KAYNAKLAR

1. Rosenblatt J and Avigan D: Cellular immunotherapy for multiple myeloma. *Best Pract Res Clin Haematol*, 21(3): 559-577,2008.
2. Zhou FL, Meng S, Zhang WG, Wei YC, Cao XM, Bai GG, Wang BY: Peptide-based immunotherapy for multiple myeloma: Current approaches. *Vaccine*, 28(37): 5939-5946,2010.
3. Nguyen-Pham TN, Lee YK, Lee HJ, Kim MH, Yang DH, Kim HJ, Yang DH, Kim HJ, Lee JJ: Cellular immunotherapy using dendritic cells against multiple myeloma. *Korean J Hematol*, 47(1): 17-27,2012.
4. Kalinski P, Urban J, Narang R, Berk E, Wiecekowsk E, Muthuswamy R: Dendritic cell-based therapeutic cancer vaccines: what we have and what we need. *Future Oncol*, 5(3): 379-390,2009.
5. Aly HA: Cancer therapy and vaccination. *J Immunol Methods*, 382(1-2): 1-23,2012.
6. Aldrich JF, Lowe DB, Shearer MH, Winn RE, Jumper CA, Kennedy RC: Vaccines and immunotherapeutics for the treatment of malignant disease. *Clin Dev Immunol*, 2010: 697158,2010.
7. Picaud S, Bardot B, De Maeyer E, Seif I: Enhanced tumor development in mice lacking a functional type I interferon reseptor. *J Interferon Cytokine Res*, 22(4): 457-462,2002.
8. Cho M, Ishida K, Chen J, Ohkawa J, Chen W, Namiki S, Kotaki A, Arai N, Arai K, Kamogawa-Schifter Y: SAGE library screening reveals ILT7 as a specific plasmacytoid dendritic cell marker thet regulates type I IFN production. *Int Immunol*, 20(1): 155-164,2008.
9. Apetoh L, Locher C, Ghiringhelli F, Kroemer G, Zitvogel L: Harnessing dendritic cell in cancer. *Semin in Immunol*, 23(1): 42-49,2011.
10. Zou W: Immunosuressive networks in the tumour environment and their therapeutic relevance. *Nat Rev Cancer*, 5(4): 263-274,2005.
11. Tucci M, Stucci S, Strippoli S, Dammacco F, Silvestris F: Dendritic cells and malignant cells: an alliance in multiple myeloma tumor progression ? *Oncologist*, 16(7): 1040-1048,2011.
12. Mitsiades CS, Mitsiades NS, Munshi NC, Richardson PG, Anderson KC: The role of the bone microenvironment in the pathophysiology and therapeutic management of multiple myeloma: interplay of growth factors, their receptors and stromal interactions. *Eur J Cancer*, 42(11): 1564-1573,2006.
13. Chomarat P, Banchereau J, Davoust J, Palucka AK: IL-6 switches the differentiation of monocytes from dendritic cells to macrophages. *Nat Immunol*, 1(6): 510-4,2000.
14. Brown RD, Pope B, Murray A, Esdale W, Sze DM, Gibson J, Ho PJ, Hart D, Joshua D: Dendritic cells from patients with myeloma are numerically normal but functionally defective as they fail to up-regulate CD80 (B7-1) expression after huCD40LT stimulation

because of inhibition by transforming growth factor- β 1 and interleukin-10. *Blood*, 98(10): 2992-2998,2001.

15. Alnaeeli M, Park J, Mahamed D, Penninger JM, Teng YT: Dendritic cells at the osteo-immune interface: Implications for inflammation-induced bone loss. *J Bone Miner Res*, 22(6): 775-780,2007.

16. Kryezek I, Banerjee M, Cheng P, Vatan L, Szeliga W, Wei S, Huang E, Finlayson E, Simeone D, Welling TH, Chang A, Coukos G, Liu R, Zou W: Phenotype, distribution, generation, and functional and clinical relevance of Th17 cells in the human tumor environments. *Blood*, 114 (6): 1141-1149,2009.

17. Palucka AK, Ueno H, Fay J, Banchereau J: Dendritic cells: a critical player in cancer therapy? *J Immunother*, 31(9): 793-805,2008.

18. Steinman RM, Cohn ZA: Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution. *J Exp Med*, 137 (5): 1142-1162,1973.

19. Ueno H, Klechevsky E, Schmitt N, Ni L, Flamar AL, Zurawski S, Zurawski G, Palucka K, Banchereau J, Oh S: Targeting human dendritic cell subsets for improved vaccines. *Semin Immunol*, 23(1): 21-27,2011.

20. Le DT, Pardoll DM, Jaffee EM: Cellular vaccine approaches. *Cancer J*, 16(4): 304-310,2010.

21. Jego G, Pascual V, Paluska A, Banchereau J: Dendritic cells control B cell growth and differentiation. *Curr Dir Autoimmun*, 8: 124-139,2005.

22. Kaushansky K, Lichtman MA, Beutler E: Williams Hematology, Dhodapkar M, Steinman RM: Dendritic cells and the control of innate and adaptive immunity. Mc Graw Hill Medical. New York, 8th ed. 2010,pp 273-280.

23. Liu Kang, Nussenzweig MC: Origin and development of dendritic cells. *Immunol Rev*, 234 (1): 45-54,2010.

24. Idoyaga J, Suda N, Suda K, Park CG, Steinman RM: Antibody to Langerin/CD207 localizes large numbers of CD8 alpha+ dendritic cells to the marginal zone of mouse spleen. *Proc Natl Acad Sci USA*, 106(5): 1524-1529,2009.

25. Dudziak D, Kamphorst AO, Heidkamp GF, Buchholz VR, Trumpfheller C, Yamazaki S, Cheong C, Liu K, Lee HW, Park CG, Steinman RM, Nussenzweig MC: Differential antigen processing by dendritic cell subsets in vivo. *Science*, 315(5808): 107-111,2007.

26. Allan RS, Waithman J, Bedoui S, Jones CM, Villadangos JA, Zhan Y, Lew AM, Shortman K, Heath WR, Carbone FR: Migratory dendritic cells transfer antigen to a lymph node-resident dendritic cell population for efficient CTL priming. *Immunity*, 25(1): 153-162,2006.

27. Varol C, Vallon-Eberhard A, Elinav E, Aychek T, Shapira Y, Luche H, Fehling HJ, Hardt WD, Shakhar G, Jung S: Intestinal lamina propria dendritic cell subsets have different origin and functions. *Immunity*, 31(3): 502-512,2009.

28. Ginhoux F, Liu K, Helft J, Bogunovic M, Greter M, Hashimoto D, Price J, Yin N, Bromberg J, Lira SA, Stanley ER, Nussenzweig M, Merad M: The origin and development of nonlymphoid tissue CD103⁺ DCs. *J Exp Med*, 206(13): 3115-3130,2009.
29. Liu YJ: IPC: professional type 1 interferon-producing cells and plasmacytoid dendritic cell precursors. *Annu Rev Immunol*, 23: 275-306,2005.
30. Palucka K, Ueno H, Roberts , Fay J, Banchereau J: Dendritic cell subsets as vectors and targets for improved cancer therapy. *Curr Top Microbiol Immunol*, 344: 173-192,2011.
31. Huang FP, Chen YX, To CK: Guiding the 'misguided'- functional conditioning of dendritic cells for the DC-based immunotherapy against tumours. *Eur J Immunol*, 41(1): 18-25,2011.
32. Dermime S, Armstrong A, Hawkins RE, Stem PL: Cancer vaccines and immunotherapy. *Br Med Bull*, 62: 149-62,2002.
33. Ribas A, Butterfield LH, Glaspy JA, Economou JS: Current developments in cancer vaccines and cellular immunotherapy. *J Clin Oncol*, 21(12): 2415-2432,2003.
34. Aly HA: Cancer therapy and vaccination. *J Immunol Methods*, 382(1-2): 1-23, 2012.
35. Van De Velde AL, Berneman ZN, Van Tendeloo VF: Immunotherapy of hematological malignancies using dendritic cells. *Bull Cancer*, 95(3): 320-326,2008.
36. Khazaie K, Bonertza A, Beckhovea P: Current developments with peptide-based human tumor vaccines. *Current Opinion in Oncology*, 21(6):524–530,2009.
37. Linley AJ, Ahmad M, Rees RC: Tumour-associated antigens: considerations for their use in tumour immunotherapy. *Int J Hematol*, 93(3): 263–273,2011.
38. Chiang CL, Kandalaft LE, Coukos G: Adjuvants for enhancing the immunogenicity of whole tumor cell vaccines. *Int Rev Immunol*, 30(2-3):150-182, 2011.
39. Mackiewicz J, Mackiewicz A: Design of clinical trials for therapeutic cancer vaccines development. *Eur J Pharmacol*, 625(1-3):84-89,2009.
40. Bae J, Tai YT, Anderson KC, Munshi NC: Novel epitope evoking CD138 antigen-specific cytotoxic T lymphocytes targeting multiple myeloma and other plasma cell disorders. *Br J Haematol*, 155(3):349-361,2011.
41. Oka Y, Tsuboi A, Fujiki F, Li Z, Nakajima H, Hosen N, Shirakata T, Nishida S, Oji Y, Kawase I, Sugiyama H: WT1 peptide vaccine as a paradigm for "cancer antigen-derived peptide"-based immunotherapy for malignancies: successful induction of anti-cancer effect by vaccination with a single kind of WT1 peptide. *Anticancer Agents Med Chem*, 9(7):787-797,2009.
42. Gulley JL, Arlen PM, Bastian A, Morin S, Marte J, Beetham P, Tsang KY, Yokokawa J, Hodge JW, Ménard C, Camphausen K, Coleman CN, Sullivan F, Steinberg SM, Schlom J, Dahut W: Combining a recombinant cancer vaccine with standard definitive radiotherapy in patients with localized prostate cancer. *Clin Cancer Res*, 11(9): 3353-3362,2005.

43. Rice J, Ottensmeier CH, Stevenson FK: DNA vaccines: precision tools of activating effective immunity against cancer. *Nature Reviews Cancer*, 8(2): 108-120,2008.
44. Kantoff PW, Higano CS, Shore ND, Berger ER, Small EJ, Penson DF, Redfern CH, Ferrari AC, Dreicer R, Sims RB, Xu Y, Frohlich MW, Schellhammer PF: Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer. *N Engl J Med*, 363(5):411-422,2010.
45. Fujii S, Takayama T, Asakura M, Aki K, Fujimoto K, Shimizu K: Dendritic cell-based cancer immunotherapies. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 57(3):189-198,2009.
46. Fromm PD, Gottlieb D, Bradstock KF, Hart DN: Cellular therapy to treat haematological and other malignancies: progress and pitfalls. *Pathology*, 43(6): 605-615,2011.
47. Banchereau J, Klechevsky E, Schmitt N, Morita R, Palucka K, Ueno H: Harnessing human dendritic cell subsets to design novel vaccines. *Ann N Y Acad Sci* 1174: 24-32,2009.
48. Child JA, Morgan GJ, Davies FE, Owen RG, Bell SE, Hawkins K, Brown J, Drayson MT, Selby PJ: High-dose chemotherapy with hematopoietic stem-cell rescue for multiple myeloma. *N Engl J Med*, 348(19):1875-1883,2003.
49. Attal M, Harousseau JL: Randomized trial experience of the Intergroupe Francophone du Myélome. *Semin Hematol*, 38(3):226-230,2001.
50. Osterborg A, Yi Q, Henriksson L, Fagerberg J, Bergenbrant S, Jeddi-Tehrani M, Rudén U, Lefvert AK, Holm G, Mellstedt H: Idiotype immunization combined with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in myeloma patients induced type I, major histocompatibility complex-restricted, CD8- and CD4-specific T-cell responses. *Blood*, 91(7): 2459-2466,1998.
51. Yi Q. Novel immunotherapies. *Cancer J*, 15(6): 502-510,2009.
52. Dhodapkar MV, Osman K, Teruya-Feldstein J, Filippa D, Hedvat CV, Iversen K, Kolb D, Geller MD, Hassoun H, Kewalramani T, Comenzo RL, Coplan K, Chen YT, Jungbluth AA: Expression of cancer/testis (CT) antigens MAGE-A1, MAGE-A3, MAGE-A4, CT-7, and NYESO-1 in malignant gammopathies is heterogeneous and correlates with site, stage and risk status of disease. *Cancer Immun*, 3: 9,2003.
53. Sang M, Lian, Y, Zhou X, Shan B: MAGE-A family. attractive targets for cancer immunotherapy. *Vaccine*, 29(47): 8496-8500,2011.
54. Nardiello T, Jungbluth AA, Mei A, Diliberto M, Huang X, Dabrowski A, Andrade VC, Wasserstrum R, Ely S, Niesvizky R, Pearse R, Coleman M, Jayabalan DS, Bhardwaj N, Old LJ, Chen-Kiang S, Cho HJ: MAGE-A inhibits apoptosis in proliferating myeloma cells through repression of Bax and maintenance of survivin. *Clin Cancer Res*, 17(13):4309-4319,2011.
55. van Rhee F, Szmania SM, Zhan F, Gupta SK, Pomtree M, Lin P, Batchu RB, Moreno A, Spagnoli G, Shaughnessy J, Tricot G: NY-ESO-I is highly expressed in poor-prognosis multiple myeloma and induces spontaneous humoral and cellular immune responses. *Blood*, 2005; 105(10): 3939-3944, 2005.
56. Szmania S, Tricot G, van Rhee F: NY-ESO-I immunotherapy for multiple myeloma. *Leuk Lymphoma*, 47(10): 2037-2048,2006.

57. Oka Y, Tsuboi A, Oji Y, Kawase I, Sugiyama H: WT1 peptide vaccine for the treatment of cancer. *Curr Opin Immunol*, 20(2):211–220,2008.
58. Chiriva-Internati M, Wang Z, Salati E, Bumm K, Barlogie B, Lim SH: Sperm protein 17 (Sp17) is a suitable target for immunotherapy of multiple myeloma. *Blood*, 100(3):961-965,2002.
59. Wen YJ, Min R, Tricot G, Barlogie B, Yi Q: Tumor lysate-specific cytotoxic T lymphocytes in multiple myeloma: promising effector cells for immunotherapy. *Blood*, 99(9): 3280-3285,2002.
60. Hayashi T, Hideshima T, Akiyama M, Raje N, Richardson P, Chauhan D, Anderson KC: Ex vivo induction of multiple myeloma-specific cytotoxic T lymphocytes. *Blood*, 102(4):1435-1442,2003.
61. Qian J, Hong S, Wang S, Zhang L, Sun L, Wang M, Yang J, Kwak LW, Hou J, Yi Q: Myeloma cell line-derived, pooled heat shock proteins as a universal vaccine for immunotherapy of multiple myeloma. *Blood*, 114(18):3880-3889,2009.
62. Vasir B, Borges V, Wu Z, Grosman D, Rosenblatt J, Irie M, Anderson K, Kufe D, Avigan D: Fusion of dendritic cells with multiple myeloma cells results in maturation and enhanced antigen presentation. *Br J Haematol*, 129(5):687-700,2005.
63. Anderson KC, Alsina M, Bensinger W, Biermann JS, Chanan-Khan A, Cohen AD, Devine S, Djulbegovic B, Faber EA Jr, Gasparetto C, Huff CA, Kassim A, Medeiros BC, Meredith R, Raje N, Schriber J, Singhal S, Somlo G, Stockerl-Goldstein K, Treon SP, Tricot G, Weber DM, Yahalom J, Yunus F; National Comprehensive Cancer Network: Multiple Myeloma. *J Natl Compr Canc Netw*, 9(10): 1146-1183, 2011.
64. Durie BG, Salmon SE: A clinical staging system for multiple myeloma. Correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment, and survival. *Cancer*, 36(3): 842-854, 1975.
65. Greipp PR, San Miguel J, Durie BG, Crowley JJ, Barlogie B, Bladé J, Boccadoro M, Child JA, Avet-Loiseau H, Kyle RA, Lahuerta JJ, Ludwig H, Morgan G, Powles R, Shimizu K, Shustik C, Sonneveld P, Tosi P, Turesson I, Westin J: International staging system for multiple myeloma. *J Clin Oncol*, 23(25): 3412-3420,2005.
66. Common Terminology Criteria for Adverse Events v4.0 (CTCAE). Publish Date: May 28, 2009, (<http://www.meddrmsso.com>).
67. Durie BG, Harousseau JL, Miguel JS, Bladé J, Barlogie B, Anderson K, Gertz M, Dimopoulos M, Westin J, Sonneveld P, Ludwig H, Gahrton G, Beksac M, Crowley J, Belch A, Boccadoro M, Cavo M, Turesson I, Joshua D, Vesole D, Kyle R, Alexanian R, Tricot G, Attal M, Merlini G, Powles R, Richardson P, Shimizu K, Tosi P, Morgan G, Rajkumar SV; International Myeloma Working Group: International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia*, 2(9): 1467-1473,2006.
68. Davis TA, Hsu FJ, Caspar CB, Davis TA, Hsu FJ, Caspar CB, van Beckhoven A, Czerwinski DK, Liles TM, Taidi B, Benike CJ, Engleman EG, Levy R: Idiotype vaccination following ABMT can stimulate specific anti-idiotype immune responses in patients with B-cell lymphoma. *Biol Blood Marrow Transplant*, 7(9): 517-522,2001.

69. Hus I, Roliński J, Tabarkiewicz J, Wojas K, Bojarska-Junak A, Greiner J, Giannopoulos K, Dmoszyńska A, Schmitt M: Allogeneic dendritic cells pulsed with tumor lysates or apoptotic bodies as immunotherapy for patients with early-stage B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*, 19(9): 1621-1627,2005.
70. Hsu FJ, Benike C, Fagnoni F, Liles TM, Czerwinski D, Taidi B, Engleman EG, Levy R: Vaccination of patients with B-cell lymphoma using autologous antigen-pulsed dendritic cells. *Nat Med*, 2(1): 52-58,1996.
71. Liso A, Stockerl-Goldstein KE, Auffermann-Gretzinger S, Benike CJ, Reichardt V, van Beckhoven A, Rajapaksa R, Engleman EG, Blume KG, Levy R: Idiotypic vaccination using dendritic cells after autologous peripheral blood progenitor cell transplantation for multiple myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant*, 6(6): 621-627,2000.
72. Reichardt VL, Milazzo C, Brugger W, Einsele H, Kanz L, Brossart P: Idiotypic vaccination of multiple myeloma patients using monocyte-derived dendritic cells. *Haematologica*, 88(10) :1139-1149,2003.
73. Lacy MQ, Mandrekar S, Dispenzieri A, Hayman S, Kumar S, Buadi F, Dingli D, Litzow M, Wettstein P, Padley D, Kabat B, Gastineau D, Rajkumar SV, Gertz MA: Idiotypic-pulsed antigen-presenting cells following autologous transplantation for multiple myeloma may be associated with prolonged survival, *Am J Hematol*, 84(12): 799-802,2009.
74. Coscia M, Mariani S, Battaglio S, Di Bello C, Fiore F, Foglietta M, Pileri A, Boccadoro M, Massaia M: Long-term follow-up of idiotype vaccination in human myeloma as a maintenance therapy after high-dose chemotherapy. *Leukemia*, 18(1) :139-145,2004.
75. Rosenblatt J, Vasir B, Uhi L, Blotta S, MacNamara C, Somaiya P, Wu Z, Joyce R, Levine JD, Dombagoda D, Yuan YE, Francoeur K, Fitzgerald D, Richardson P, Weller E, Anderson K, Kufe D, Munshi N, Avigan D: Vaccination with dendritic cell/tumor fusion cells results in cellular and humoral antitumor immune responses in patients with multiple myeloma. *Blood*, 117(2): 393-402,2011.
76. Andrade VC, Vettore AL, Felix RS, Almeida MS, Carvalho F, Oliveira JS, Chauffaille ML, Andriolo A, Caballero OL, Zago MA, Colleoni GW: Prognostic impact of cancer/testis antigen expression in advanced stage multiple myeloma patients. *Cancer Immun*, 8: 2,2008.
77. Atanackovic D, Hildebrandt Y, Jadcak A, Cao Y, Luetkens T, Meyer S, Kobold S, Bartels K, Pabst C, Lajmi N, Gordic M, Stahl T, Zander AR, Bokemeyer C, Kröger N. Cancer-testis antigens MAGE-C1/CT7 and MAGE-A3 promote the survival of multiple myeloma cells. *Haematologica*, 95(5): 785-793,2010.
78. Goodyear OC, Pratt G, McLarnon A, Cook M, Piper K, Moss P: Differential pattern of CD4+ and CD8+ T-cell immunity to MAGE-A1/A2/A3 in patients with monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and multiple myeloma. *Blood*, 112(8): 3362-3372,2008.
79. Atanackovic D, Arfsten J, Cao Y, Gnjatic S, Schnieders F, Bartels K, Schilling G, Faltz C, Wolschke C, Dierlamm J, Ritter G, Eiermann T, Hossfeld DK, Zander AR, Jungbluth AA, Old LJ, Bokemeyer C, Kröger N: Cancer-testis antigens are commonly expressed in multiple myeloma and induce systemic immunity following allogeneic stem cell transplantation. *Blood*, 109(3): 1103-1112,2007.

80. Mailliard RB, Wankowicz-Kalinska A, Cai Q, , Cai Q, Wesa A, Hilkens CM, Kapsenberg ML, Kirkwood JM, Storkus WJ, Kalinski P: Alpha-type-1 polarized dendritic cells: a novel immunization tool with optimized CTL-inducing activity. *Cancer Res*, 64(17): 5934-5937,2004.
81. Prasad SJ, Farrand KJ, Matthews SA, Chang JH, McHugh RS, Ronchese F: Dendritic cells loaded with stressed tumor cells elicit long-lasting protective tumor immunity in mice depleted of CD4+CD25+ regulatory T cells. *J Immunol*, 174(1): 90-98,2005.
82. Gulley JL, Madan RA, Arlen PM: Enhancing efficacy of therapeutic vaccinations by combination with other modalities. *Vaccine*, 25:89-96,2007.
83. Teicher BA: Transforming growth factor-beta and the immune response to malignant disease. *Clin Cancer Res*, 13(21): 6247-6251,2007.
84. Bartlett JB, Dredge K, Dalglish AG: The evolution of thalidomide and its IMiD derivatives as anticancer agents. *Nat Rev Cancer*, 4(4): 314-322,2004.
85. Liu WM, Dalglish AG: The potential beneficial effects of drugs on the immune response to vaccination. *Semin Oncol*, 39(3): 340-347,2012.
86. Galustian C, Meyer B, Labarthe MC, Dredge K, Klaschka D, Henry J, Todryk S, Chen R, Muller G, Stirling D, Schafer P, Bartlett JB, Dalglish AG: The anti-cancer agents lenalidomide and pomalidomide inhibit the proliferation and function of T regulatory cells. *Cancer Immunol Immunother*: 58(7): 1033-1045,2009.
87. Noonan K, Rudraraju L, Ferguson A, Emerling A, Pasetti MF, Huff CA, Borrello I: Lenalidomide-induced immunomodulation in multiple myeloma: impact on vaccines and antitumor responses. *Clin Cancer Res*, ;18(5): 1426-1434, 2012.