

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2022.01.001

· 院士论坛 ·

个性化新抗原肿瘤疫苗：道阻且长，未来可期

虞淦军, 吴艳峰, 曹雪涛(海军军医大学 免疫学研究所暨医学免疫学国家重点实验室, 上海 200433)



吴艳峰 博士、副教授、硕士生导师, 海军军医大学免疫学教研室副主任, 国家863主题项目“生物治疗新型前沿技术及新型产品研发”首席专家。主要从事免疫治疗与基因治疗及其相关机制研究, 作为第一负责人承担国家863项目和国家自然科学基金项目(4项); 作为副组长承担国家科技重大专项项目, 与曹雪涛院士、万涛教授共同负责中国第一个大肠癌DC治疗性疫苗的临床研究, 完成II期临床研究并获得III期临床试验批文, 建立了标准化的DC疫苗临床免疫学评价体系; 作为核心骨干参加国家药品监督管理局政策研究调研, 从科学监管的角度, 分析和提出了对我国细胞和基因治疗制品监管的政策建议, 参与有关细胞治疗指导原则的制定[免疫细胞治疗产品药学研究与评价技术指导原则(征求意见稿)等]。在*Cell Mol Immunol*、*Cancer Res*、*Nanoscale*等杂志发表论文9篇, 申请国家发明专利6项(授权3项), 作为核心成员获得首届全国创新争先奖(2017年)。



曹雪涛 博士、教授、博士生导师, 中国工程院院士、德国科学院院士、美国国家医学科学院院士、美国人文与科学院院士、法国医学科学院院士、英国医学科学院院士。现任南开大学校长、海军军医大学医学免疫学国家重点实验室主任、中国医学科学院免疫治疗中心主任、政协第十三届全国教科卫体委员会副主任。曾任中国医学科学院院长、北京协和医学院院长、全球慢性疾病防控联盟主席、亚洲大洋洲免疫学会联盟主席、中国科协生命科学联合体主席、中国免疫学会理事长。目前兼任亚洲大洋洲免疫学会联盟秘书长、中国生物医学工程学会理事长。主要从事免疫识别与免疫调节的基础研究、肿瘤等重大疾病的免疫治疗转化应用研究和医学科学发展战略研究等, 发现了数种新型免疫分子和细胞亚群, 揭示了固有免疫识别与应答调控新机制, 提出了免疫炎症消退新观点, 鉴定了预测肿瘤转移与患者预后的标志物分子, 建立了肿瘤免疫治疗新途径并开展DC疫苗临床试验治疗晚期肿瘤患者III期临床试验。以通信作者身份发表SCI收录论文250余篇, 他引10 000多次。以第一完成人获国家自然科学二等奖1项(2003年)、上海市自然科学一等奖3项、中国高校十大科技进展6项, 曾获何梁何利科学与技术进步奖、教育部长江学者成就奖、中国青年科学家奖、中国工程院光华工程科技奖、中国科学院陈嘉庚科学奖、*Nature*杰出导师终身成就奖、全国首届创新争先奖等。获得国家发明专利30余项, 国家II类新药证书2个。任*Cell*、*Immunity*、*eLife*、*Cell Res*等杂志编委, 任*Cell Mol Immunol*共同主编、*Cancer Immunol Res*副主编、《中华医学杂志》主编、《中国肿瘤生物治疗杂志》主编。

[摘要] 个性化新抗原肿瘤疫苗逐渐崭露头角, 在恶性黑色素瘤、肺癌、脑胶质瘤等肿瘤治疗领域取得了突破, 展现了良好的应用前景。随着测序成本的降低、人工智能技术的不断突破和对肿瘤免疫理解的不深入, 对一个肿瘤患者进行全过程动态跟踪和捕捉其肿瘤相关体细胞突变的克隆多样性已成为可能, 随之研发的新抗原肿瘤疫苗则成为肿瘤治疗的前沿热点, 未来可期。本文从新抗原的筛选鉴定、新抗原相关的肿瘤疫苗及其临床应用现状、个性化新抗原肿瘤疫苗面临的挑战和未来发展趋势等五个方面, 系统地总结了个性化新抗原肿瘤疫苗这一新兴的精准免疫治疗方法的研究脉络及进展, 并对未来重点走向进行了展望。

[关键词] 新抗原; 肿瘤疫苗; 免疫治疗; 肿瘤微环境; 异质性; 精准医疗

[中图分类号] R730.51 [文献标识码] A [文章编号] 1007-385X(2022)01-0001-10

Personalized neoantigen vaccines for tumor immunotherapy: a long hard journey to promising land

YU Ganjun, WU Yanfeng, CAO Xuetao (National Key Laboratory of Medical Immunology & Institute of Immunology, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] Personalized neoantigen cancer vaccines have gradually emerged, with breakthroughs being made in the treatment of cancers such as melanoma, lung cancer and glioma, demonstrating potential and promising prospects. With the decrease in sequencing

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金项目(No.81901686); 国家自然科学基金面上项目(No.82071796)

[作者简介] 虞淦军(1990—), 男, 博士, 讲师, 主要从事肿瘤免疫学研究, E-mail: yugj@immunol.org

[通信作者] 曹雪涛, E-mail: caoxt@immunol.org; 吴艳峰, E-mail: wuyf@immunol.org

costs, continuous breakthroughs in artificial intelligence (AI) technology and the deepened understanding of tumor immunotherapy, it is feasible to conduct dynamic whole-process monitoring and to capture the clone diversity of tumor-related somatic mutations in tumor patients, along with which the developed neoantigen cancer vaccines have become the current research hotspot with promising future. This review systematically summarizes the research context and progress as well as looks into the future key development of the personalized neoantigen cancer vaccines, an emerging precise immunotherapy, from the aspects of screening and validation of neoantigens, clinical application, challenges, and future trends.

[Key words] neoantigen; cancer vaccine; immunotherapy; tumor microenvironment; heterogeneity; precision medicine

[Chin J Cancer Biother, 2022, 29(1): 1-10. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.01.001]

新抗原(neoantigen)通常是指由肿瘤细胞突变基因编码产生的,并能被免疫细胞所识别,激活机体免疫应答的一类异常蛋白质^[1]。此外,致癌病毒整合进基因组而编码产生的蛋白质也可称之为新抗原。近年来,高通量基因组测序和生物信息学分析技术的飞速发展极大地推动了新抗原的筛选和鉴定,对于将其应用于缺乏肿瘤特异性抗原作为优质靶标的肿瘤免疫治疗具有重要的意义。随着以新抗原为基础的肿瘤治疗性疫苗取得了一定的临床疗效,并展示了良好的应用前景,肿瘤免疫治疗2.0时代正在拉开大幕^[2]。然而,作为一种新兴的治疗方法,个性化新抗原肿瘤疫苗还尚未成熟,依然面临着诸多阻碍和挑战。如何克服这些挑战,最终切实提高实体瘤的治疗有效率和延长患者的生存时间,是目前亟待解决、也是决定个性化新抗原肿瘤疫苗发展走向的重要问题。综观新抗原肿瘤疫苗从抗原筛选、疫苗设计到临床应用及评价的完整链条,本文从新抗原的鉴定、新抗原肿瘤疫苗、临床应用现状、面临的挑战和未来发展趋势与策略等五个方面,系统地总结个性化新抗原肿瘤疫苗这一新兴的个性化免疫治疗方法的发展历程,并分析其未来发展方向。

1 新抗原的鉴定

新抗原具有以下特点:(1)高度特异性,与传统的肿瘤相关抗原相比,新抗原只表达于肿瘤组织而不表达于正常组织,具有高度特异性;(2)显著外源性,致癌病毒作为外源性病原体,其基因编码产生的新抗原与机体自身组织细胞的蛋白质差异较大,而肿瘤细胞突变产生的新抗原,通常未经胸腺阴性选择,因此,具有显著的外源性;(3)突变随机性,根据目前的认知,肿瘤突变的位点和类型是随机的,并无规律可循,这也给新抗原的预测带来了极大的困难和不确定性;(4)分布集落性,大多数的肿瘤细胞都存在新抗原的表达,由于突变随机性的存在,并非所有肿瘤细胞表达的新抗原是相同的,因此,新抗原在肿瘤中的分布通常是集落性或克隆性的^[2]。通常,新抗原被认为是肿瘤特异性抗原,是免疫治疗的理想靶标。

1.1 鉴定方法

早期新抗原的鉴定主要采用cDNA文库筛选的方

法,但是此方法费时费力、效率低下,因此难以推广。随着测序技术和生物信息学的发展,使得快速有效地筛选个性化新抗原成为可能,为新抗原疫苗的临床应用奠定了良好的基础。目前,新抗原的鉴定主要依赖于二代测序技术和生物信息学分析平台。

新抗原鉴定的一般流程是采集患者的肿瘤组织和非肿瘤组织(如癌旁组织或外周血单个核细胞),将提取的组织细胞DNA进行二代测序,对测序结果进行比对分析,根据肿瘤类型,通常可以找到大量肿瘤特异性突变;再结合RNA测序的结果,分析突变基因的表达丰度,进一步确认突变的有效性。然后通过生物信息学分析平台,对突变基因编码产生的新抗原进行预测分析,筛选出可能具有免疫原性的新抗原^[3]。

目前,主流的新抗原鉴定方法之一是根据基因测序结果进行比对,找到非同义突变的位点,通过计算机算法和分析,预测该位点可能形成的新抗原表位。根据抗原提呈机制,目前新抗原预测算法主要考虑的因素包括蛋白酶体对突变蛋白的剪切、肽段转运及与MHC I类分子的亲和力等^[4-5]。通常认为,与HLA有较强亲和力($IC_{50} < 150$ nmol/L)的多肽更有可能诱导CD8⁺T细胞应答。迄今为止,新抗原预测主要关注MHC I类分子结合表位,MHC II类分子结合表位由于其弹性较大、复杂性更强而甚少进行预测。

另一种新抗原鉴定方法是基于质谱测序的筛选预测模型^[6-8],其原理是将细胞表面的抗原肽从HLA分子上洗脱下来进行质谱测序。这种方法的优点是极大地缩小了新抗原的候选范围,并且不具偏向性。但该法的显著缺点是灵敏度低,一些低丰度的肽段容易被忽略。有研究^[9-12]报道,基于对肿瘤细胞表面真实新抗原(true neoantigen)肽段的质谱测序数据,配合HLA分型信息,建立计算机深度学习(deep learning)模型,可能进一步提高预测的灵敏度和准确性。

目前,许多研究机构和生物技术公司都建立了各自的MHC I类途径提呈表位预测算法平台,包括利用质谱进一步改进预测算法。代表性分析工具有:(1)NetChop,通过计算机人工神经网络预测人类蛋白酶体的剪切位点;(2)NetMHC,通过计算机人工神经网络预测肽段和MHC I类分子结合的亲和力;(3)NetMHCpan,

同时整合了亲和力以及质谱洗脱配体(MS eluted ligand)数据进行训练,预测结果更加可靠;(4)NetCTL, 预测蛋白酶体剪切位点、TAP转运效率,以及肽段与MHC I类分子结合的亲和力。

随着测序深度的不断提高和生物信息学的不断发展,更多鉴定新抗原的新型高通量筛选方法也逐渐被建立,如JOGLEKAR等^[13]利用NFAT-GFP报告系统开发了一种基于TCR与pMHC相互作用的T细胞抗原平台——SABR(signaling and antigen-presenting bifunctional receptor);KISIELOW等^[14]开发的专门针对MHC II类分子抗原表位的MCR(MHC-TCR chimeric receptor)等技术。但这些方法目前还处于概念验证阶段,存在一定的局限性。例如,SABR和MCR方法需要知道TCR的序列信息,构建信号转导和抗原提呈双功能受体的实验设计复杂、操作繁琐及不易推广应用。

总体来说,新抗原鉴定的流程相对简单,其难点是基于对抗原提呈途径的理解而开发的生物信息分析和算法及其系统化和标准化。由于现有的认知限制,蛋白酶体对新抗原剪切、加工成多肽表位的过程相当于一个“黑匣子”,也成了限制新抗原预测准确性的瓶颈之一。此外,鉴于HLA的多态性,新抗原的预测不仅要考虑其本身的特性,如外源性、集落性、表达丰度等,还应考虑与其对应的MHC I类分子的表达丰度和亲和力^[15-18]。

1.2 验证方法

对预测、筛选得到的新抗原,还需评估和验证其免疫原性^[19]。目前,大多采用酶联免疫斑点(ELISPOT)、四聚体(tetramer)等细胞免疫应答相关的检测技术,通过体内外实验来验证新抗原免疫原性和免疫反应性;小样本的临床研究结果也提供了重要且宝贵的验证数据。这些验证数据将为真实新抗原数据库的建立和新抗原预测筛选体系的完善提供重要的依据,但新抗原的个性化特性给验证带来了较大的挑战,如人源化动物模型的构建、T细胞来源、靶细胞的选择及来源等。

总体上,对于新抗原的验证,目前尚缺乏高通量、有效、快速的方法,也缺乏相应的标准化体系。较为合理、可行的方法是建立和扩大真实新抗原数据库,即体外或动物或临床试验中已验证的新抗原数据库,通过海量数据积累并结合人工智能神经网络学习算法,不断总结和分析真实新抗原的特征,进而提高新抗原的预测准确性。准确性的提高则将有助于缩小新抗原筛选范围、集中筛选目标,进而提高筛选的效率,最大限度地地为肿瘤患者的治疗争取时间。

2 新抗原肿瘤疫苗

不同于传统的预防性疫苗,肿瘤治疗性疫苗是指在肿瘤患者体内,通过诱导机体自身的特异性的细胞或体液免疫应答,达到控制或清除肿瘤的天然、人工合成或用基因重组技术表达的产品或制品。肿瘤疫苗由于其主动性和特异性,被认为是最安全、有效的肿瘤免疫治疗手段,其关键点在于疫苗中的肿瘤抗原信息。但是,长期以来,肿瘤特异性抗原的缺乏是阻碍肿瘤免疫治疗的瓶颈,基于肿瘤新抗原的疫苗是一种真正的个性化治疗方案,不仅能增强特异性抗肿瘤免疫反应,还可以降低或彻底规避脱靶效应的风险,疫苗中所包含的肿瘤特异性信息被免疫系统提呈、识别,并激发特异性抗肿瘤免疫应答。新抗原作为一种高度个性化的肿瘤特异性抗原,以其为基础的治疗性疫苗在肿瘤精准治疗策略中必将占有非常重要的地位。

2.1 疫苗类型

新抗原肿瘤疫苗有多种形式,主要有多肽/蛋白疫苗、DC疫苗和核酸疫苗等,目前以多肽/蛋白疫苗居多^[20-22]。

多肽/蛋白疫苗目前在新抗原肿瘤疫苗中应用最为广泛。多肽疫苗序列明确、易于制备和保存,其化学性质稳定,不经APC提呈过程即可直接与MHC分子结合,激活T细胞,产生较强的CD8⁺T细胞反应。普通的多肽抗原由于所含表位单一、分子量小及易降解等因素导致免疫原性较弱,不能获得理想的抗肿瘤效果,故通常采用佐剂配合或设计长肽疫苗的方法提高其免疫原性。而蛋白疫苗相较于多肽疫苗含有更多的抗原表位信息,免疫原性和稳定性强于多肽疫苗,且可以同时诱导CD8⁺T和CD4⁺T细胞反应,在新抗原测序比对的过程中可以直接选取差异表达的蛋白进行设计。但是新抗原疫苗的高度个性化特点导致多肽/蛋白的生产周期较长,且很多预测得到的表位序列往往无法达到临床级的生产要求,在实际应用中受到一定的限制。

DC作为体内抗原提呈能力最强的细胞,处于人体免疫应答的中心环节,可以负载多种形式的抗原,如肿瘤裂解物、多肽、mRNA等,具有广泛的免疫刺激活性,免疫应答更持久,其制成的DC疫苗是主动性免疫治疗策略中最重要方法。多种DC疫苗已经在临床应用和研究中证实了其有效性。新抗原负载的DC疫苗无疑是非常理想的主动治疗性疫苗。

核酸疫苗主要有DNA和mRNA两种形式。DNA疫苗具有生产方便、制剂稳定和可编码所有表位等优势,且DNA疫苗具有内在佐剂效应,可以更好地激发抗肿瘤免疫应答。但是DNA疫苗也存在插入致突变的潜在风险,且DNA转染效率低。mRNA疫苗具有高

效、不良反应少和生产成本低等优势,已经在新型冠状病毒等传染病和肿瘤临床试验中验证和应用。RNA合成技术、低温/常温保存技术和递送载体技术的进步扫清了多个阻碍mRNA疫苗开发的障碍,如基因翻译、易降解和体内递送效率低等问题,还进一步改善了mRNA的免疫原性^[23]。mRNA疫苗是一种多用途且功能强大的平台,已被广泛证明是一种富有前景的免疫治疗手段^[24]。

2.2 疫苗设计与免疫方案

新抗原肿瘤疫苗通常包含肿瘤抗原、免疫佐剂、辅料和递送工具等^[20],其递送形式是疫苗设计首先要考虑的因素。不同类型的肿瘤疫苗设计需要考虑的因素也不尽相同,如多肽/蛋白疫苗的设计要考虑新抗原表位的理化属性、合成纯化的可行性、免疫佐剂的选择、是否与DC联用等。

新抗原肿瘤疫苗的制备周期是目前其临床应用的一个限制因素。不同疫苗平台的制备周期不同,最快的是核酸疫苗,其次是多肽/蛋白疫苗和DC疫苗。对于晚期肿瘤患者,生存期往往较短,过长的疫苗制备周期可能导致患者错失治疗机会。

除了新抗原疫苗的设计,免疫方案的制订也是影响疗效的关键^[2]。根据免疫学基础理论,抗原进入机体的量、途径、次数、频率等均可显著影响机体对抗原的免疫应答类型和强度。因此,免疫方案的制订包括免疫剂量、免疫方式、免疫时间、免疫周期等。适中的抗原剂量可诱导免疫应答,而过低或过高的抗原剂量可诱导免疫耐受。另外,免疫剂量的选择还应综合考虑免疫方式、临床有效性和安全性等因

素。皮内注射和皮下注射最容易诱导免疫应答,肌肉注射次之,而静脉注射效果较差,但是免疫方式的选择还应考虑疫苗类型和临床应用实际情况。疫苗的起效通常需要较长的时间,且依赖于患者本身的免疫功能状态,因此最好在肿瘤的早期进行新抗原疫苗治疗。另外,当新抗原疫苗与其他治疗方式联用时,还应考虑其他治疗对疫苗疗效的影响,如许多化疗药物使用前会进行糖皮质激素的预处理,这会大大抑制免疫系统的功能,进而影响疫苗的疗效^[25]。

3 新抗原疫苗的临床应用现况

肿瘤治疗性疫苗历经多年发展,其出现称得上是肿瘤治疗领域的一次革命。而新抗原将掀开肿瘤个性化免疫治疗的新篇章,使得患者的免疫细胞如T细胞能够像导弹一样自主追踪和精准攻击肿瘤细胞。多肽疫苗、DC疫苗、mRNA疫苗等不同路径的尝试,已经在恶性黑色素瘤、肺癌、脑胶质瘤等肿瘤治疗领域取得了一定的临床疗效,展示了良好的应用前景(表1)。截至2021年12月31日,在国际临床试验注册平台(<http://www.clinicaltrials.gov>)上注册的新抗原疫苗相关的临床试验共90项(关键词:neoantigen vaccine)。其中,美国49项居首位,中国24项位列第二。在适应证方面,主要集中在突变负荷较高的恶性黑色素瘤(12%)、肺癌(9%)等实体瘤类型中。在疫苗类型方面,一半以上(47项)的临床试验采用的是多肽/蛋白疫苗,其次是DC疫苗(20项)和核酸疫苗(DNA疫苗10项,mRNA疫苗7项)。在研究进展方面,大部分(86项)的临床试验仍处于I期或II期,只有少数几项进入III期。

表1 代表性的新抗原肿瘤疫苗临床研究

疫苗类型	肿瘤类型(n)	治疗方案	疗效
多肽疫苗 ^[26-30]	恶性黑色素瘤(8)	多肽+ Poly-ICLC	术后4年多(55个月)的随访中,8例患者全部存活,其中3例患者仍未出现复发
	肺癌(24)	多肽疫苗+多西他赛	总体:中位PFS为59d,中位OS为320d;无免疫反应组:中位PFS为41d,中位OS为181d;有免疫反应组:中位PFS为84d,中位OS为427d
	胃癌(22)	多肽疫苗+替吉奥	12例(55%)患者达到PR,10例患者为SD,DCR达100%,中位PFS为9.6个月,平均OS为14.2个月
	胰腺癌(32)	多肽疫苗/GM-CSF+吉西他滨	中位DFS为16.1个月,中位OS为33.4个月,23例(72%)患者在手术后2年仍然生存
	脑胶质瘤(32)	靶向IDH1(R132H)的多肽疫苗	ORR为27例(84.4%)。在随访分析中,3年PFS和OS率分别为63%和84%。接受了疫苗治疗但未出现免疫应答的2例患者在2年内出现了PD,而有免疫应答组的2年PFS率为82%
mRNA疫苗 ^[31]	恶性黑色素瘤(13)	TAA mRNA疫苗+新抗原mRNA疫苗	8例患者1年内未出现复发迹象,其他5例在接受疫苗治疗时即已经出现扩散,其中2例在接受疫苗治疗后肿瘤缩小,另外1例患者在接受抗PD-1单抗治疗后肿瘤完全消退
DC疫苗 ^[32]	肺癌(12)	新抗原多肽负载的DC疫苗	6例(50%)靶病灶缩小,9例(75%)疾病得到控制,3例(25%)出现PD;中位PFS为5.5个月,中位OS为7.9个月

目前,以新抗原为基础的肿瘤疫苗临床试验正在如火如荼地开展,在不同肿瘤类型中取得疗效突破的好消息也不断传来。个性化新抗原肿瘤疫苗已经在延长晚期实体瘤患者生存期方面展现了不错的实力。

4 肿瘤新抗原疫苗面临的挑战

4.1 异质性

4.1.1 肿瘤异质性 肿瘤的异质性非常复杂,包括空间异质性和时间异质性^[33-34]。空间异质性一般是指不同肿瘤类型之间的异质性、相同肿瘤在不同患者之间的异质性、肿瘤原发灶与转移灶之间的异质性、同种肿瘤在同一器官组织的不同原发灶之间的异质性和肿瘤内部细胞间的异质性等。时间异质性是指同一肿瘤病灶在不同的发生发展阶段可能呈现不同的表型和特征。这种高度复杂的异质性,很大程度上限制了肿瘤免疫治疗的疗效。现有的免疫治疗方法几乎不可能覆盖肿瘤中所有肿瘤细胞的表型或靶点。另外,用于肿瘤新抗原预测的样本只是肿瘤病灶的极小部分,无法呈现肿瘤的完整基因突变信息,增加了新抗原肿瘤疫苗疗效的不确定性。肿瘤异质性是个性化肿瘤新抗原疫苗所面临的最主要问题之一。

4.1.2 患者HLA异质性 肿瘤新抗原的提呈和识别具有MHC限制性,而MHC具有高度多态性和显著的个体差异,这种异质性不仅增加了新抗原筛选和鉴定的难度,也导致不同个体对肿瘤抗原的亲合力和反应性千差万别,直接影响抗肿瘤免疫应答的产生和强度^[35]。这是以新抗原为基础的免疫治疗高度个性化的重要原因之一,也在很大程度上限制了新抗原肿瘤疫苗的广泛应用^[36-37],尤其对未来肿瘤新抗原疫苗成为“货架产品”提出了挑战。

4.2 肿瘤微环境

肿瘤微环境是肿瘤免疫治疗研究的重要影响因素,其与肿瘤本身构成完整的生态系统,具有异质性、抑制性、相对独立性和综合性等特点,是实体瘤免疫治疗取得突破性疗效所必须逾越的一座大山^[38-40]。高压、低氧、偏酸的恶劣环境,一方面使免疫细胞很难进入,另一方面也使浸润的免疫细胞很难发挥正常的功能。此外,成纤维细胞、间质细胞等将肿瘤细胞团团包裹,形成了一个相对独立的“肿瘤器官”^[39]。在肿瘤的发生发展过程中,肿瘤与免疫系统不断博弈,由抑制性分子(如PD-L1、TIM-3等)、抑制性细胞(如Treg细胞、MDSC、TAM等)、抑制性细胞因子(如IL-10、TGF- β 等)等成分组成的免疫抑制性环境逐渐形成,为肿瘤细胞自身的发展和免疫逃逸创造

了良好的生长环境。为了逃避免疫监视,肿瘤细胞还会下调MHC I类分子的表达,即使有新抗原的产生,也无法提呈到肿瘤细胞表面供免疫细胞识别^[36]。针对实体瘤,新抗原疫苗与其他种类的免疫治疗方法一样,都需要克服肿瘤微环境的阻碍^[41]。

4.3 新抗原的预测和验证

新抗原的预测主要依赖于二代测序技术和生物信息学分析,尤其是预测算法和模型。目前的算法还存在诸多不足,如主流的二代测序技术仅对单核苷酸突变的测定结果较为准确,而对插入、缺失等突变的检测能力非常有限^[42];HLA的高度异质性加大了新抗原表位肽的筛选难度,只能部分预测MHC I类分子抗原,难以预测MHC II类分子抗原;库容量不足,仅有部分MHC等位基因的亲和力和数据等。这些因素都限制了算法预测肿瘤新抗原的准确性。不同的技术平台有不同的算法,由于没有统一的流程和标准,因此结果的准确性无法判别。总体来说,目前新抗原预测的准确性都相对较低,且缺乏大规模临床研究的验证。以常用的NetMHCpan/NetMHC算法为例,统计数据^[19]显示,该算法预测出的新抗原可被提呈到细胞表面的不足5%,而能被MHC结合并识别的还不到1%。在一项临床试验^[43]中,研究者对3例黑色素瘤患者的组织标本进行了新抗原预测分析,结果共预测出HLA-A*02:01限制性新抗原表位46~111个/例,根据其表达情况进一步筛选得到11~24个/例,再经过一系列算法,选出7个/例新抗原表位制备成DC疫苗并予以治疗,最终在患者体内只检测到了针对9个新抗原表位的免疫反应。多项临床试验数据统计结果^[8,44]显示,真正能激发机体特异性免疫应答的新抗原不足突变总量的1%。

目前,基于人工智能的算法能够快速聚焦,节省成本,如Neon Therapeutics公司开发的RECONTM Bioinformatics Engine和Gritstone Oncology公司开发的EDGE人工智能分析平台。但由于缺乏海量的数据库验证,人工智能算法还需要进一步发展和完善。

4.4 生产周期与成本

与化学药物和抗体药物等的生产方式不同,免疫治疗常常具有个性化的特点,其制备周期往往较长。以目前制备体系较为成熟的个性化CAR-T细胞为例,其平均生产周期在2~4周,有超过30%的患者最终无法接受治疗。新抗原肿瘤疫苗的个性化程度更高,其制备流程从采集肿瘤标本、测序、生物信息学分析至疫苗制备,一般需要3~5个月^[26,31],很多晚期肿瘤患者等不到疫苗的“出世”便已经遗憾离世。如何缩短个性化新抗原肿瘤疫苗的制备周期是其投

入临床应用迫切需要解决的问题^[45]。

此外,高度个性化的新抗原肿瘤疫苗通常需要“一对一”定制,导致其制备成本高昂,令绝大多数肿瘤患者家庭望而却步,同时还要面对预测失败而导致疫苗“无效”的风险。据粗略估算,一位患者的新抗原肿瘤疫苗的成本在6万~10万美元,同样属于个性化治疗的CAR-T细胞疗法(Kymriah)的成本在4万~10万美元,新抗原肿瘤疫苗的定价应该不会低于Kymriah。高昂的价格和漫长的制备周期将会在很大程度上限制个性化新抗原肿瘤疫苗的临床应用。

4.5 疗效评价体系

肿瘤治疗性疫苗,包括新抗原肿瘤疫苗,属于主动性免疫疗法,具有其特殊的药物动力学和药效学,疫苗本身的有效成分(新抗原)激发和诱导机体自身产生的特异性T细胞或抗体等免疫效应物质而发挥抗肿瘤作用需要一定的时间,在此期间,患者甚至可能表现出因炎性细胞的浸润而带来的肿瘤假性进展的现象。

对于肿瘤治疗性疫苗的疗效评估中的免疫学检测,目前应用的大多是间接反映免疫应答产生并发挥效能的指标,如一些细胞因子的分泌等。尽管目前有免疫相关反应标准来评价肿瘤免疫疗法的疗效^[46-47],但还缺乏一些可测量的直接的免疫学效应指标,以及可提示临床疗效的可靠免疫应答生物标志物来监测疫苗诱导的免疫应答反应。尤其是当患者出现肿瘤假性进展时,具有预测价值的标志物更为至关重要,其直接决定患者下一步治疗方案的制定。

从现有的肿瘤治疗性疫苗的临床试验中观察到,以WHO或RECIST疗效评价标准来评价疫苗的疗效并不完全客观。肿瘤治疗性疫苗的安全性优于其他治疗方式,引发的免疫应答反应持续时间较长,在短期应答和肿瘤消退方面可能并不显著,但对延长患者OS贡献明显。对于肿瘤治疗性疫苗的疗效,以OS联合其他的免疫指标作为评价标准更为科学和客观。

5 未来发展趋势与研究策略

5.1 寻找通用型新抗原

新抗原为基础的疫苗是一种高度个性化的新型治疗方法。由于突变的随机性,每一个个体的和每一种肿瘤突变产生的新抗原几乎是独一无二的^[48],高度特异性的优势同时也伴随着制备周期长和生产成本高的劣势,大大限制了其临床应用。是否也如同目前科学家所热衷研发的第五代CAR-T细胞即通用型CAR-T细胞一样,寻找及制备通用型新抗原,从而使通用型新抗原疫苗的“货架产品”成为可能。

实际情况是,在不同患者之间存在通用型新抗原的概率非常小,不同肿瘤个体出现相同新抗原的概率不到0.005%。一项大规模的研究结果^[49]显示,在大约20 000个恶性黑色素瘤标本中只发现了21种新抗原,在其中存在通用型抗原的概率则更低。虽然结果有些令人沮丧,但依然能够从中发现一些规律和启示。

驱动基因是与肿瘤发生发展相关的关键必需基因。如果驱动基因发生突变并产生新抗原,那么同一肿瘤灶内几乎所有肿瘤细胞都可能表达该新抗原,以此推测,诱导针对该新抗原的特异性杀伤性T细胞就有可能完全清除该肿瘤。遗憾的是,驱动基因突变很少产生新抗原,目前已知绝大部分(92%)的新抗原来自非驱动基因突变,而只有8%的新抗原来自驱动基因突变^[1]。尽管数量少、概率低,但这些驱动基因突变产生的新抗原确实展现了其应用价值,如KRAS(G12D)、TP53(R175H)^[50-51]、IDH1(R132H)^[27]等,并且已经得到了验证^[50,52-54]。而且,这些突变在肿瘤中并不罕见,如KRAS(G12D)突变在胰腺导管癌中占33.8%,在胆管癌中占10.9%,在直肠癌中占12.0%^[55]。基于驱动基因突变产生的通用型新抗原制备的肿瘤疫苗可能成为“货架产品”,显著缩短了制备时间和成本,给特定基因突变的患者人群提供快速有效的治疗^[56-57],因此可能成为新抗原肿瘤疫苗未来发展的一个重要方向。

5.2 提高预测准确性

目前的新抗原预测算法应用还比较局限,以预测MHC I类分子抗原表位为主,且不同的平台算法不一,准确性各异。新抗原预测算法需要进一步统一化和标准化,并纳入基因融合、缺失、插入等影响因素,同时也要加大MHC II类分子新抗原的比重,寻找与发现非编码区新抗原等^[58]。研究^[59-62]发现,CD4⁺ T细胞对新抗原肿瘤疫苗的反应也具有至关重要甚至决定性的作用,提高其相关分子新抗原的筛选比重也有助于提升预测的效率和准确性^[63]。

此外,通过大数据和人工智能分析,一些经验证的具有强免疫原性新抗原的共同特征逐渐被挖掘,如新抗原与MHC形成复合物的稳定性高^[64]、突变位点暴露于可溶性环境中更易被TCR识别^[8]、新抗原表位疏水性高的更易被提呈和识别^[65-67]等。随着新抗原预测和鉴定技术的发展,新抗原的共同特征经过整合,再结合人工智能平台,将极大地推动通用型新抗原的发现,进而扩大新抗原疫苗的适用人群和范围^[68-69]。

5.3 优化疫苗设计

尽管已有研究证实,单一的新抗原即可激发机

体产生特异性抗肿瘤免疫应答, 并取得良好的疗效^[70-71], 但是单一新抗原可能很快会引起肿瘤免疫逃逸、形成免疫耐受, 导致肿瘤复发。因此, 采用多表位疫苗可以覆盖更广泛的肿瘤细胞, 降低免疫逃逸的可能性^[72-74]。

此外, 免疫佐剂具有增强免疫原性、改变免疫反应类型、调节免疫反应强度等作用, 是肿瘤疫苗重要组成部分^[75]。常见的佐剂有 Montanide、Poly-ICLC、CPG-ODN、STING 激动剂等。新型佐剂的出现无疑增加了疫苗的应用范围及效能, 如热激蛋白家族的 HSP70L1 分子所具有的 Th1 型佐剂样效应可以显著增强抗原的 MHC I 类分子提呈, 同时还有刺激 DC 成熟的效应^[76]。肿瘤治疗性疫苗与不同的佐剂配伍, 或与不同的佐剂组合联用, 可能会有不同的效果, 借助佐剂发挥疫苗最大的效应, 也是提高新抗原免疫原性的重要策略^[22]。

5.4 探索联合治疗方案

联合治疗才是治愈肿瘤的有效方式已经成为共识。鉴于肿瘤治疗性疫苗本身的作用机制, 其可以和多种治疗手段相配合, 并成为优秀的抗肿瘤“助手”^[77-79]。例如, 肿瘤治疗性疫苗可以诱导抗肿瘤特异性 T 细胞的产生, 为 PD-1 单抗等免疫检查点抑制剂提供更多的“兵源”, 发挥协同抗肿瘤的效应^[80-81]; 在与化疗联用时, 可以降低化疗药物的剂量和不良反应的发生率, 提高患者的生活质量; 和靶向药物联用可通过减小肿瘤负荷及瘤内压力获得更好疗效。

在一项新抗原疫苗联合化疗治疗脑胶质瘤的临床试验^[82]中, 患者接受靶向 pp65 的 DC 疫苗与剂量强化的替莫唑胺联合治疗后, 中位 PFS 达到了 25.3 个月, OS 达到了 41.1 个月, 两者都远高于初诊胶质瘤患者的中位 OS (小于 15 个月)。另一项新抗原 mRNA 疫苗与 PD-1 抑制剂派姆单抗 (pembrolizumab) 联合治疗 20 例不可切除的晚期实体瘤患者的临床试验^[83]中, 观察到 5 例 PR (包括 2 例先前接受免疫检查点抑制剂治疗的患者)、6 例 SD。目前, 多项临床研究数据^[84-87]均表明, 新抗原肿瘤疫苗与免疫检查点抑制剂等疗法联用, 可延缓和控制肿瘤的进展, 比单一的治疗方式产生更大的临床益处, 是未来肿瘤治疗的重要发展方向。

总的来说, 肿瘤新抗原疫苗可能是取得肿瘤治疗长期疗效的下一个首选联合伙伴。它具有较低的生物毒性和良好的安全性, 可以很容易地与其他肿瘤治疗方法结合起来, 并发挥协同效应^[88-89]。

随着肿瘤和免疫相互作用机制的深入理解, 肿瘤新抗原疫苗将开启精准治疗的新时代。尽管个性化新抗原肿瘤疫苗的研发和应用还存在诸多的挑

战, 但是随着对新抗原预测研究的持续深入和验证数据库不断积累, 以及 DC 疫苗、mRNA 疫苗等不同路径的尝试已经在临床上得到积极验证, 新抗原肿瘤疫苗的研发脚步正在不断加快, 预计未来几年将迎来飞速发展, 给广大肿瘤患者带来福音。

[参考文献]

- [1] SCHUMACHER T N, SCHREIBER R D. Neoantigens in cancer immunotherapy[J]. *Science*, 2015, 348(6230): 69-74. DOI:10.1126/science.aaa4971.
- [2] BLASS E, OTT P A. Advances in the development of personalized neoantigen-based therapeutic cancer vaccines[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2021, 18(4): 215-229. DOI:10.1038/s41571-020-00460-2.
- [3] VOGELSTEIN B, PAPADOPOULOS N, VELCULESCU V E, *et al.* Cancer genome landscapes[J]. *Science*, 2013, 339(6127): 1546-1558. DOI:10.1126/science.1235122.
- [4] WELLS D K, VAN BUUREN M M, DANG K K, *et al.* Key parameters of tumor epitope immunogenicity revealed through a consortium approach improve neoantigen prediction[J/OL]. *Cell*, 2020, 183(3): 818-834. e13[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7652061/>. DOI:10.1016/j.cell.2020.09.015.
- [5] BROWN S D, HOLT R A. Neoantigen characteristics in the context of the complete predicted MHC class I self-immunopeptidome [J/OL]. *Oncoimmunology*, 2018, 8(3): 1556080[2022-01-01]. <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/2162402X.2018.1556080>. DOI:10.1080/2162402X.2018.1556080.
- [6] BULIK-SULLIVAN B, BUSBY J, PALMER C D, *et al.* Deep learning using tumor HLA peptide mass spectrometry datasets improves neoantigen identification[J]. *Nat Biotechnol*, 2019, 37(1): 55-63. DOI:10.1038/nbt.4313.
- [7] CHEN R, FULTON K M, TWINE S M, *et al.* Identification of MHC peptides using mass spectrometry for neoantigen discovery and cancer vaccine development[J]. *Mass Spectrom Rev*, 2021, 40(2): 110-125. DOI:10.1002/mas.21616.
- [8] YADAV M, JHUNJHUNWALA S, PHUNG Q T, *et al.* Predicting immunogenic tumour mutations by combining mass spectrometry and exome sequencing[J]. *Nature*, 2014, 515(7528): 572-576. DOI: 10.1038/nature14001.
- [9] HUNDAL J, KIWALA S, FENG Y Y, *et al.* Accounting for proximal variants improves neoantigen prediction[J/OL]. *Nat Genet*, 2019, 51(1): 175-179[2022-01-01]. DOI: 10.1038/s41588-018-0283-9.
- [10] RIEDER D, FOTAKIS G, AUSSERHOFER M, *et al.* nextNEOpI: a comprehensive pipeline for computational neoantigen prediction [J/OL]. *Bioinformatics*, 2021, 2021: btab759[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6309579/>. DOI: 10.1093/bioinformatics/btab759.
- [11] LI Y Y, WANG G Z, TAN X X, *et al.* ProGeo-neo: a customized proteogenomic workflow for neoantigen prediction and selection [J/OL]. *BMC Med Genomics*, 2020, 13(Suppl 5): 52[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7118832/>. DOI: 10.1186/s12920-020-0683-4.
- [12] SCHENCK R O, LAKATOS E, GATENBEE C, *et al.* NeoPredPipe:

- high-throughput neoantigen prediction and recognition potential pipeline[J/OL]. *BMC Bioinformatics*, 2019, 20(1): 264[2020-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6532147/>. DOI:10.1186/s12859-019-2876-4.
- [13] JOGLEKAR A V, LEONARD M T, JEPPSON J D, *et al.* T cell antigen discovery via signaling and antigen-presenting bifunctional receptors[J]. *Nat Methods*, 2019, 16(2): 191-198. DOI: 10.1038/s41592-18-304-8.
- [14] KISIELOW J, OBERMAIR F J, KOPF M. Deciphering CD4⁺ T cell specificity using novel MHC-TCR chimeric receptors[J]. *Nat Immunol*, 2019, 20(5): 652-662. DOI:10.1038/s41590-019-0335-z.
- [15] BALACHANDRAN V P, LUKSZA M, ZHAO J N, *et al.* Identification of unique neoantigen qualities in long-term survivors of pancreatic cancer[J/OL]. *Nature*, 2017, 551(7681): 512-516[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6145146/>. DOI: 10.1038/nature24462.
- [16] SNEDDON S, RIVE C M, MA S K, *et al.* Identification of a CD8⁺ T-cell response to a predicted neoantigen in malignant mesothelioma [J/OL]. *Oncoimmunology*, 2019, 9(1): 1684713[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6959430/>. DOI: 10.1080/2162402X.2019.1684713.
- [17] JOU J, HARRINGTON K J, ZOCCA M B, *et al.* The changing landscape of therapeutic cancer vaccines—novel platforms and neoantigen identification[J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(3): 689-703. DOI:10.1158/1078-0432.ccr-20-0245.
- [18] KAST F, KLEIN C, UMAÑA P, *et al.* Advances in identification and selection of personalized neoantigen/T-cell pairs for autologous adoptive T cell therapies[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2021, 10(1): 1869389[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7808433/>. DOI:10.1080/2162402X.2020.1869389.
- [19] VITIELLO A, ZANETTI M. Neoantigen prediction and the need for validation[J]. *Nat Biotechnol*, 2017, 35(9): 815-817. DOI: 10.1038/nbt.3932.
- [20] SAXENA M, VAN DER BURG S H, MELIEF C J M, *et al.* Therapeutic cancer vaccines[J]. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21(6): 360-378. DOI:10.1038/s41568-021-00346-0.
- [21] CHU Y H, LIU Q, WEI J, *et al.* Personalized cancer neoantigen vaccines come of age[J/OL]. *Theranostics*, 2018, 8(15): 4238-4246 [2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6096398/>. DOI:10.7150/thno.24387.
- [22] MASCOLA J R, FAUCI A S. Novel vaccine technologies for the 21st century[J]. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20(2): 87-88. DOI: 10.1038/s41577-019-0243-3.
- [23] GEBRE M S, BRITO L A, TOSTANOSKI L H, *et al.* Novel approaches for vaccine development[J]. *Cell*, 2021, 184(6): 1589-1603. DOI:10.1016/j.cell.2021.02.030.
- [24] PARDI N, HOGAN M J, PORTER F W, *et al.* mRNA vaccines - a new era in vaccinology[J/OL]. *Nat Rev Drug Discov*, 2018, 17(4): 261-279[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5906799/>. DOI:10.1038/nrd.2017.243.
- [25] KERR M D, MCBRIDE D A, CHUMBER A K, *et al.* Combining therapeutic vaccines with chemo- and immunotherapies in the treatment of cancer[J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2021, 16(1): 89-99. DOI:10.1080/17460441.2020.1811673.
- [26] OTT P A, HU Z T, KESKIN D B, *et al.* An immunogenic personal neoantigen vaccine for patients with melanoma[J/OL]. *Nature*, 2017, 547(7662): 217-221[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5577644/>. DOI:10.1038/nature22991.
- [27] PLATTEN M, BUNSE L, WICK A, *et al.* A vaccine targeting mutant IDH1 in newly diagnosed glioma[J]. *Nature*, 2021, 592(7854): 463-468[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8046668/>. DOI:10.1038/s41586-021-03363-z.
- [28] TAKAYAMA K, SUGAWARA S, SAIJO Y, *et al.* Randomized phase II study of docetaxel plus personalized peptide vaccination versus docetaxel plus Placebo for patients with previously treated advanced wild type EGFR non-small-cell lung cancer[J/OL]. *J Immunol Res*, 2016, 2016: 1745108[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4870343/>. DOI:10.1155/2016/1745108.
- [29] MASUZAWA T, FUJIWARA Y, OKADA K, *et al.* Phase I / II study of S-1 plus cisplatin combined with peptide vaccines for human vascular endothelial growth factor receptor 1 and 2 in patients with advanced gastric cancer[J]. *Int J Oncol*, 2012, 41(4): 1297-1304. DOI:10.3892/ijo.2012.1573.
- [30] PALMER D H, VALLE J W, MA Y T, *et al.* TG01/GM-CSF and adjuvant gemcitabine in patients with resected RAS-mutant adenocarcinoma of the pancreas (CT TG01-01): a single-arm, phase 1/2 trial[J/OL]. *Br J Cancer*, 2020, 122(7): 971-977[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7109101/>. DOI: 10.1038/s41416-020-0752-7.
- [31] SAHIN U, DERHOVANESSIAN E, MILLER M, *et al.* Personalized RNA mutanome vaccines mobilize poly-specific therapeutic immunity against cancer[J]. *Nature*, 2017, 547(7662): 222-226. DOI:10.1038/nature23003.
- [32] DING Z Y, LI Q, ZHANG R, *et al.* Personalized neoantigen pulsed dendritic cell vaccine for advanced lung cancer[J/OL]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 26[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7817684/>. DOI:10.1038/s41392-020-00448-5.
- [33] VITALE I, SHEMA E, LOI S, *et al.* Intratumoral heterogeneity in cancer progression and response to immunotherapy[J]. *Nat Med*, 2021, 27(2): 212-224. DOI:10.1038/s41591-021-01233-9.
- [34] DAGOGO-JACK I, SHAW A T. Tumour heterogeneity and resistance to cancer therapies[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(2): 81-94. DOI:10.1038/nrclinonc.2017.166.
- [35] HOV J R, LLEO A, SELMI C, *et al.* Genetic associations in Italian primary sclerosing cholangitis: heterogeneity across Europe defines a critical role for HLA-C[J]. *J Hepatol*, 2010, 52(5): 712-717. DOI: 10.1016/j.jhep.2009.11.029.
- [36] MCGRANAHAN N, ROSENTHAL R, HILEY C T, *et al.* Allele-specific HLA loss and immune escape in lung cancer evolution[J/OL]. *Cell*, 2017, 171(6): 1259-1271.e11[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5720478/>. DOI:10.1016/j.cell.2017.10.001.
- [37] KRISTENSEN V N. The antigenicity of the tumor cell - context matters[J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(5): 491-493. DOI: 10.1056/NEJMcibr1613793.
- [38] LINXWEILER M, KUO F S, KATABI N, *et al.* The immune microenvironment and neoantigen landscape of aggressive salivary gland carcinomas differ by subtype[J/OL]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(12): 2859-2870[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7918996/>. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-19-3758.

- [39] KAYMAK I, WILLIAMS K S, CANTOR J R, *et al.* Immunometabolic interplay in the tumor microenvironment[J/OL]. *Cancer Cell*, 2021, 39(1): 28-37[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7837268/>. DOI:10.1016/j.ccell.2020.09.004.
- [40] CLARA J A, MONGE C, YANG Y Z, *et al.* Targeting signalling pathways and the immune microenvironment of cancer stem cells - a clinical update[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2020, 17(4): 204-232. DOI:10.1038/s41571-019-0293-2.
- [41] ROSENBAUM S R, WILSKI N A, APLIN A E. Fueling the fire: inflammatory forms of cell death and implications for cancer immunotherapy[J]. *Cancer Discov*, 2021, 11(2): 266-281. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-20-0805.
- [42] TURAJLIC S, LITCHFIELD K, XU H, *et al.* Insertion-and-deletion-derived tumour-specific neoantigens and the immunogenic phenotype: a pan-cancer analysis[J]. *Lancet Oncol*, 2017, 18(8): 1009-1021. DOI:10.1016/S1470-2045(17)30516-8.
- [43] CARRENO B M, MAGRINI V, BECKER-HAPAK M, *et al.* Cancer immunotherapy. A dendritic cell vaccine increases the breadth and diversity of melanoma neoantigen-specific T cells [J/OL]. *Science*, 2015, 348(6236): 803-808[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4549796/>. DOI: 10.1126/science.aaa3828.
- [44] VAN ROOIJ N, VAN BUUREN M M, PHILIPS D, *et al.* Tumor exome analysis reveals neoantigen-specific T-cell reactivity in an ipilimumab-responsive melanoma[J]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(32): e439-e442. DOI:10.1200/JCO.2012.47.7521.
- [45] SHEMESH C S, HSU J C, HOSSEINI I, *et al.* Personalized cancer vaccines: clinical landscape, challenges, and opportunities[J/OL]. *Mol Ther*, 2021, 29(2): 555-570[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7854282/>. DOI:10.1016/j.jymthe.2020.09.038.
- [46] WOLCHOK J D, HOOS A, O'DAY S, *et al.* Guidelines for the evaluation of immune therapy activity in solid tumors: immune-related response criteria[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(23): 7412-7420. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-09-1624.
- [47] HOOS A. Development of immuno-oncology drugs - from CTLA4 to PD1 to the next generations[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2016, 15(4): 235-247. DOI:10.1038/nrd.2015.35.
- [48] TRAN E, ROBBINS P F, ROSENBERG S A. 'Final common pathway' of human cancer immunotherapy: targeting random somatic mutations[J]. *Nat Immunol*, 2017, 18(3): 255-262. DOI: 10.1038/ni.3682.
- [49] FORBES S A, BEARE D, GUNASEKARAN P, *et al.* COSMIC: exploring the world's knowledge of somatic mutations in human cancer[J/OL]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(Database issue): D805-D811[2022-01-01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25355519/>. DOI:10.1093/nar/gku1075.
- [50] HSIUE E H C, WRIGHT K M, DOUGLASS J, *et al.* Targeting a neoantigen derived from a common TP53 mutation[J/OL]. *Science*, 2021, 371(6533): eabc8697[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8208645/>. DOI:10.1126/science.abc8697.
- [51] MALEKZADEH P, PASETTO A, ROBBINS P F, *et al.* Neoantigen screening identifies broad TP53 mutant immunogenicity in patients with epithelial cancers[J/OL]. *J Clin Invest*, 2019, 129(3): 1109-1114[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6391139/>. DOI:10.1172/JCI123791.
- [52] JUNE C H. Drugging the undruggable Ras-immunotherapy to the rescue?[J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(23): 2286-2289. DOI:10.1056/NEJMe1612215.
- [53] TRAN E, ROBBINS P F, LU Y C, *et al.* T-cell transfer therapy targeting mutant KRAS in cancer[J/OL]. *N Engl J Med*, 2016, 375(23): 2255-2262[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5178827/>. DOI:10.1056/nejmoa1609279.
- [54] SUN T, HE Y F, LI W D, *et al.* neoDL: a novel neoantigen intrinsic feature-based deep learning model identifies IDH wild-type glioblastomas with the longest survival[J/OL]. *BMC Bioinformatics*, 2021, 22(1): 382[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8299600/>. DOI:10.1186/s12859-021-04301-6.
- [55] LI S Q, BALMAIN A, COUNTER C M. A model for RAS mutation patterns in cancers: finding the sweet spot[J]. *Nat Rev Cancer*, 2018, 18(12): 767-777. DOI:10.1038/s41568-018-0076-6.
- [56] THOL K, MCGRANAHAN N. Potential use of shared frameshift mutations in 'off-the-shelf' neoantigen vaccines[J]. *Trends Cancer*, 2021, 7(3): 175-177. DOI:10.1016/j.trecan.2021.01.002.
- [57] ZHAO W Y, WU J C, CHEN S Q, *et al.* Shared neoantigens: ideal targets for off-the-shelf cancer immunotherapy[J]. *Pharmacogenomics*, 2020, 21(9): 637-645. DOI:10.2217/pgs-2019-0184.
- [58] DE MATTOS-ARRUDA L, VAZQUEZ M, FINOTELLO F, *et al.* Neoantigen prediction and computational perspectives towards clinical benefit: recommendations from the ESMO Precision Medicine Working Group[J]. *Ann Oncol*, 2020, 31(8): 978-990. DOI:10.1016/j.annonc.2020.05.008.
- [59] PENG P, HU H M, LIU P, *et al.* Neoantigen-specific CD4⁺ T-cell response is critical for the therapeutic efficacy of cryo-thermal therapy[J/OL]. *J Immunother Cancer*, 2020, 8(2): e000421[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7497524/>. DOI:10.1136/jitc-2019-000421.
- [60] OH D Y, KWEK S S, RAJU S S, *et al.* Intratumoral CD4⁺ T cells mediate anti-tumor cytotoxicity in human bladder cancer[J/OL]. *Cell*, 2020, 181(7): 1612-1625.e13[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7321885/>. DOI:10.1016/j.cell.2020.05.017.
- [61] BRIGHTMAN S E, NARADIKIAN M S, MILLER A M, *et al.* Harnessing neoantigen specific CD4 T cells for cancer immunotherapy[J/OL]. *J Leukoc Biol*, 2020, 107(4): 625-633[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7793607/>. DOI:10.1002/JLB.5RI0220-603RR.
- [62] CUI C, WANG J W, FAGERBERG E, *et al.* Neoantigen-driven B cell and CD4 T follicular helper cell collaboration promotes anti-tumor CD8 T cell responses[J/OL]. *Cell*, 2021, 184(25): 6101-6118.e13[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8671355/>. DOI:10.1016/j.cell.2021.11.007.
- [63] CHEN B B, KHODADOUST M S, OLSSON N, *et al.* Predicting HLA class II antigen presentation through integrated deep learning [J/OL]. *Nat Biotechnol*, 2019, 37(11): 1332-1343[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7075463/>. DOI: 10.1038/s41587-019-0280-2.
- [64] STRØNEN E, TOEBES M, KELDERMAN S, *et al.* Targeting of cancer neoantigens with donor-derived T cell receptor repertoires [J]. *Science*, 2016, 352(6291): 1337-1341. DOI: 10.1126/science.aaf2288.
- [65] KALAORA S, NAGLER A, NEJMAN D, *et al.* Identification of

- bacteria-derived HLA-bound peptides in melanoma[J]. *Nature*, 2021, 592(7852): 138-143. DOI:10.1038/s41586-021-03368-8.
- [66] CHOWELL D, KRISHNA S, BECKER P D, *et al.* TCR contact residue hydrophobicity is a hallmark of immunogenic CD8⁺ T cell epitopes[J/OL]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(14): E1754-E1762[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4394253/>. DOI:10.1073/pnas.1500973112.
- [67] VIGNERON N, ABI HABIB J, VAN DEN EYNDE B J. Learning from the proteasome how to fine-tune cancer immunotherapy[J]. *Trends Cancer*, 2017, 3(10): 726-741. DOI:10.1016/j.trecan.2017.07.007.
- [68] SHI Y, GUO Z H, SU X B, *et al.* DeepAntigen: a novel method for neoantigen prioritization via 3D genome and deep sparse learning [J]. *Bioinformatics*, 2020, 36(19): 4894-4901. DOI: 10.1093/bioinformatics/btaa596.
- [69] WU J C, WANG W Z, ZHANG J C, *et al.* DeepHLApan: a deep learning approach for neoantigen prediction considering both HLA-peptide binding and immunogenicity[J/OL]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2559[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6838785/>. DOI:10.3389/fimmu.2019.02559.
- [70] XU P J, LUO H Q, KONG Y, *et al.* Cancer neoantigen: boosting immunotherapy[J/OL]. *Biomedicine Pharmacother*, 2020, 131: 110640[2022-01-01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32836075/>. DOI:10.1016/j.biopha.2020.110640.
- [71] MCGRANAHAN N, SWANTON C. Neoantigen quality, not quantity [J/OL]. *Sci Transl Med*, 2019, 11(506): eaax7918[2022-01-01]. <https://www.researchgate.net/publication/335325133>. DOI:10.1126/scitranslmed.aax7918.
- [72] ROSENTHAL R, CADIEUX E L, SALGADO R, *et al.* Neoantigen-directed immune escape in lung cancer evolution[J/OL]. *Nature*, 2019, 567(7749): 479-485[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6954100/>. DOI:10.1038/s41586-019-1032-7.
- [73] CHEN X T, YANG J, WANG L F, *et al.* Personalized neoantigen vaccination with synthetic long peptides: recent advances and future perspectives[J/OL]. *Theranostics*, 2020, 10(13): 6011-6023[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7255011/>. DOI: 10.7150/thno.38742.
- [74] YANG X Y, FAN J S, WU Y, *et al.* Synthetic multiepitope neoantigen DNA vaccine for personalized cancer immunotherapy[J/OL]. *Nanomedicine*, 2021, 37: 102443[2022-01-01]. <https://ascopubs.org/dhttps://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34303839/>. DOI: 10.1016/j.nano.2021.102443.
- [75] REED S G, ORR M T, FOX C B. Key roles of adjuvants in modern vaccines[J]. *Nat Med*, 2013, 19(12): 1597-1608. DOI: 10.1038/nm.3409.
- [76] WU Y F, WAN T, ZHOU X Y, *et al.* Hsp70-like protein 1 fusion protein enhances induction of carcinoembryonic antigen-specific CD8⁺ CTL response by dendritic cell vaccine[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(11): 4947-4954. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-3912.
- [77] GALON J, BRUNI D. Approaches to treat immune hot, altered and cold tumours with combination immunotherapies[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2019, 18(3): 197-218. DOI:10.1038/s41573-018-0007-y.
- [78] YAP T A, PARKES E E, PENG W Y, *et al.* Development of immunotherapy combination strategies in cancer[J]. *Cancer Discov*, 2021, 11(6): 1368-1397. DOI:10.1158/2159-8290.CD-20-1209.
- [79] 周炜均, 李玉华. 个体化新抗原疫苗临床转化的机遇与挑战[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2019, 26(1): 16-21. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.01.004.
- [80] OTT P A, HU-LIESKOVAN S, CHMIELOWSKI B, *et al.* A phase 1b trial of personalized neoantigen therapy plus anti-PD-1 in patients with advanced melanoma, non-small cell lung cancer, or bladder cancer[J]. *Cell*, 2020, 183(2): 347-362.e24. DOI:10.1016/j.cell.2020.08.053.
- [81] RIZVI N A, HELLMANN M D, SNYDER A, *et al.* Cancer immunology. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer[J/OL]. *Science*, 2015, 348(6230): 124-128[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4993154/>. DOI:10.1126/science.aaa1348.
- [82] BATICH K A, REAP E A, ARCHER G E, *et al.* Long-term survival in glioblastoma with *Cytomegalovirus* pp65-targeted vaccination [J/OL]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(8): 1898-1909[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5559300/>. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-2057.
- [83] BURRIS H A, PATEL M R, CHO D C, *et al.* A phase 1, open-label, multicenter study to assess the safety, tolerability, and immunogenicity of mRNA-4157 alone in subjects with resected solid tumors and in combination with pembrolizumab in subjects with unresectable solid tumors (Keynote-603)[J/OL]. *J Glob Oncol*, 2019, 5(suppl): 93[2022-01-01]. <https://ascopubs.org/doi/abs/10.1200/JGO.2019.5.suppl.93>. DOI:10.1200/jgo.2019.5.suppl.93.
- [84] LI S M, SIMONI Y, ZHUANG S, *et al.* Characterization of neoantigen-specific T cells in cancer resistant to immune checkpoint therapies[J/OL]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2021, 118(30): e2025570118[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8325261/>. DOI:10.1073/pnas.2025570118.
- [85] MCGRANAHAN N, FURNESS A J S, ROSENTHAL R, *et al.* Clonal neoantigens elicit T cell immunoreactivity and sensitivity to immune checkpoint blockade[J/OL]. *Science*, 2016, 351(6280): 1463-1469[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4984254/>. DOI:10.1126/science.aaf1490.
- [86] ANAGNOSTOU V, SMITH K N, FORDE P M, *et al.* Evolution of neoantigen landscape during immune checkpoint blockade in non-small cell lung cancer[J/OL]. *Cancer Discov*, 2017, 7(3): 264-276[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5733805/>. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-16-0828.
- [87] ŁUKSZA M, RIAZ N, MAKAROV V, *et al.* A neoantigen fitness model predicts tumour response to checkpoint blockade immunotherapy[J/OL]. *Nature*, 2017, 551(7681): 517-520[2022-01-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6137806/>. DOI:10.1038/nature24473.
- [88] CRUNKHORN S. Neoantigen vaccine proven safe and immunogenic [J/OL]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19(12): 838[2022-01-01]. https://www.researchgate.net/publication/347488984_Neoantigen_vaccine_proven_safe_and_immunogenic. DOI:10.1038/d41573-020-00194-x.
- [89] HU Z T, OTT P A, WU C J. Towards personalized, tumour-specific, therapeutic vaccines for cancer[J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18(3): 168-182. DOI:10.1038/nri.2017.131.

[收稿日期] 2022-01-02

[修回日期] 2021-01-10

[本文编辑] 党瑞山