

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.02.008

· 综述 ·

三阴性乳腺癌肿瘤新抗原相关研究进展

Advance of tumor neoantigen in triple-negative breast cancer

朱晔 综述; 佟仲生, 赵伟鹏 审阅(天津医科大学肿瘤医院乳腺肿瘤内科 国家肿瘤临床医学研究中心 天津市肿瘤防治重点实验室 天津市恶性肿瘤临床医学研究中心 乳腺癌防治教育部重点实验室, 天津 300060)

[摘要] 三阴乳腺癌作为乳腺癌的一种独立临床病理类型, 具有总生存期短、恶性程度高、侵袭能力强及早期复发率高等特点, 目前治疗仍以化疗为主。新抗原是由体细胞DNA突变产生的肿瘤特异性抗原, 在免疫治疗中与疗效和预后具有一定的相关性, 肿瘤新抗原的研究有望进一步揭示免疫治疗的机制, 近年来已经成为肿瘤领域研究热点。本文综述了肿瘤新抗原的鉴定识别、新抗原与免疫治疗的关系、新抗原疫苗及在三阴性乳腺癌中的相关进展。

[关键词] 肿瘤新抗原; 三阴性乳腺癌; 免疫治疗; 肿瘤疫苗

[中图分类号] R737.9; R730.51 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2022)02-0135-07

肿瘤相关抗原(TAA)是倾向于在肿瘤细胞中优先表达或异常表达的自身抗原, 在部分正常细胞中也可表达。与TAA不同, 肿瘤特异性抗原(TSA)由致癌病毒表达的抗原和癌症突变编码的新抗原组成, 在正常组织中不存在。而肿瘤新抗原(neoantigen)是体细胞DNA突变产生的TSA, 他们不仅具有很强的肿瘤特异性, 而且具有很高的免疫原性, 因此高亲和力的T细胞才可能存在并被这些抗原强烈激活^[1]。新抗原通常对主要组织相容性复合物(MHC)分子具有高亲和力, 大多数新抗原是个别患者的肿瘤所特有的, 并且不受免疫耐受机制的影响^[1-3]。肿瘤免疫治疗是近年来癌症领域研究的热点, 抗原提呈细胞提呈肿瘤细胞表面特异性新抗原表位, 这些新抗原进一步被T细胞识别, 激活机体免疫系统, 从而达到消灭肿瘤的效果。三阴性乳腺癌(TNBC)约占新诊断乳腺癌的10%~20%, 由于其生物学侵袭性以及病理和分子水平上的异质性, 使其更容易扩散和复发, 患者存活率往往低于其他病理类型的乳腺癌^[4]。患有TNBC的患者不能从内分泌治疗或靶向治疗中受益, 化疗是目前治疗TNBC的主要手段, 而免疫治疗与肿瘤新抗原研究为TNBC治疗开辟了新思路^[4-5]。

1 TNBC免疫治疗现状及前景

近期的几项研究为利用免疫检查点抑制剂联合化疗治疗TNBC提供了依据。IMpassion130(NCT02425891)^[6]是一项随机、安慰剂对照、双盲的3期临床试验, 研究表明, 与接受白蛋白结合性紫杉醇加安慰剂的患者相比, 接受抗PD-L1阿特珠单抗和白蛋白结合性紫杉醇的TNBC患者观察到无进展生存期(PFS)显著改善, 中位总生存期

(OS)值显著提高[PD-L1⁺肿瘤浸润性免疫细胞阳性(IC⁺)人群中, 阿特珠单抗组和安慰剂组PFS分别为7.5个月和5.3个月, 中位OS分别为25个月和18个月]。

IMpassion031(NCT03197935)研究^[7]证实, 在意向治疗人群(ITT)中, 同安慰剂联合化疗相比, 阿特珠单抗联合化疗组患者的病理完全缓解率(pCR)提升16.5%, 差异具有临床和统计学意义($P=0.0044$)。另一项来自III期KEYNOTE-355的试验^[8]研究了抗PD-1药物帕博利珠单抗联合化疗对比安慰剂联合化疗用于初治的局部复发且不可手术或转移性TNBC(mTNBC), 数据显示, 帕博利珠单抗联合化疗组治疗mTNBC(患者PD-L1的CPS评分 ≥ 10)可显著改善患者PFS, 帕博利珠单抗-化疗和安慰剂-化疗组的中位PFS分别为9.7个月和5.6个月, 具统计学和临床意义($P=0.0012$)。以上研究说明, 免疫疗法对TNBC治疗有效且值得进一步的试验和应用。

2 TNBC基因突变与新抗原

TNBC表现出多样的突变模式, SHAH等^[9]对149例原发TNBC冷冻标本进行研究发现, 与其他突变相比, TP53、PIK3CA和PTEN突变尤为多见。在TNBC中, TP53和PIK3CA的突变频率分别为82%和10%, 而且TP53突变的类型主要是无义突变和移码突

[基金项目] 国家自然科学基金项目(No.81472183); 天津市卫生行业重点攻关项目(No.16KG128); 天津市科技计划项目(No.12ZCDZSY16200); 天津市自然科学基金项目(No.18JCYBJC91600); 深圳微芯生物科研合作基金

[作者简介] 朱晔(1996—), 女, 硕士生, 主要从事乳腺癌的综合治疗与基础研究, E-mail: fighting_mu@163.com

[通信作者] 赵伟鹏, E-mail: zhaoweipeng@tjmuch.com

变^[10-11]。同样,另一项针对104例TNBC样本的测序研究结果^[12]显示,TP53的突变频率为82.7%。

BARECHE等^[13]对公开数据库METABRIC (Molecular Taxonomy of Breast Cancer International Consortium)和TCGA (The Cancer Genome Atlas)分析发现,在485例TNBC肿瘤样本中获得了447例测序数据,从而鉴定出了2 273个体细胞突变,包括1 994个点突变和279个小插入/缺失突变(INDel)。这项研究表明,在全球TNBC队列中,TP53、MUC16和PIK3CA是最常见的外显子区域突变基因。2019年ZHANG等^[14]使用一个由33个乳腺癌相关基因组组成的集合对中国广东省人民医院乳腺癌患者的基因组进行靶向测序,并进一步将结果与TCGA中453名乳腺癌患者的结果进行了比较。在TNBC组中,80%的样本含有TP53突变,突变频率最高的基因是TP53 (45%),其次是PIK3CA (44%)、GAT A3 (18%)和MAP3K1 (10%),两组的TP53突变频率无明显差异,但广东省的数据显示TP53突变类型主要是错义突变和无义突变,与国外的研究结果略有差异。

在预后方面,POP等^[15]利用NGS技术对TNBC患者队列中46个在癌症中起作用的基因进行测序,生存曲线分析显示,AKT1、TP53、KDR、KIT、BRCA1、BRCA2突变与不良预后相关。北京大学肿瘤医院研究者^[16]检测了187名MBC(转移性乳腺癌)患者血液样本中循环游离DNA的TP53突变谱。在TNBC组中,TP53突变患者的中位DFS(无病生存期)显著短于TP53野生型患者($P=0.023$),说明TP53突变患者的预后明显较TP53野生型患者更差。由于TP53在大多数TNBC病例中发生突变,表明它是抗肿瘤治疗的一个有吸引力的候选靶点。已经研发了几种针对TP53突变的化合物,其中一些化合物,特别是PRIMA-1、4-246 PK11007和COTI-2,已被发现在乳腺癌临床前模型中显示出抗癌活性^[17-18]。

体细胞非同义突变产生的新抗原是肿瘤特异性T细胞的关键靶点,但只有少数具有免疫原性的突变是由MHC分子在癌细胞上呈现的。TMB(肿瘤突变负荷)一般指特定基因组区域内每兆碱基对(Mb)体细胞非同义突变的个数,理论上来说,具有高TMB水平的肿瘤具有高的新抗原水平,TMB可以间接反映肿瘤产生新抗原的能力和程度^[19]。NARANG等^[20]的工作在乳腺癌中验证了这一点,研究显示,TMB在乳腺癌各亚型之间有很大的差异。总体而言,TNBC患者样本中非同义突变负荷的中位数最高(中位数=63)。作者把与患者特异性HLA I类分子等位基因结合亲和力 ≤ 500 nmol/L的表位称为潜在结合新表位(potential binding neoepitopes),在三种乳腺癌亚型

中,neoepitopes的数量以TNBC组最高(中位数=26)。同时,研究还发现,在所有乳腺癌样本包括TNBC中,Neoepitopes与TMB高度相关($R^2=0.84$; $P<0.001$),验证了上述观点。

3 新抗原与免疫治疗预测指标

目前,针对TNBC已经开发和试验了多种免疫疗法,包括使用免疫检查点抑制剂、诱导细胞毒性T淋巴细胞(CTL)、过继细胞免疫疗法以及通过调节肿瘤微环境以增强CTL的免疫活性^[4]。越来越多的研究者发现,T细胞对新抗原的识别是实现各种免疫疗法的关键,如果能够直接找出肿瘤细胞上MHC分子呈递的新抗原以及对新抗原产生反应的T细胞,就可以利用新抗原作为靶点进行精准治疗,但是现在还没有这种技术。TNBC除了高度的侵袭性,其不良预后还在于缺乏治疗反应的预测生物标志物^[21]。作为新抗原形成的指标,一些临床研究^[22]已经检验了TMB与肿瘤免疫治疗的相关性。在一项对非小细胞肺癌的免疫治疗研究^[23]和另外一项对晚期癌症患者的免疫治疗研究^[24]中发现,较高的体细胞TMB与较好的生存率相关。RIZVI等^[25]对使用pembrolizumab治疗的非小细胞肺癌的研究也验证了上述结论。同样,在转移性TNBC中也有类似的发现,接受抗PD-1/PD-L1治疗的患者中,高TMB和PTEN改变分别与较长和较短的生存期相关^[26],但是这些观察需要在更大的数据集中进行验证。KESKIN等^[27]在一项I/Ib期试验中发现,接受新抗原疫苗的胶质母细胞瘤患者可以产生新抗原特异性CD4⁺和CD8⁺T细胞反应,这说明对于像胶质母细胞瘤这种突变负担较低的肿瘤,新抗原疫苗也是一种可行的疗法。然而,综合多种检测指标才能更准确地预测患者对免疫治疗的反应。在一项研究新辅助化疗联合帕博利珠单抗治疗高危、早期TNBC的Ib期试验^[28]中发现,肿瘤PD-L1表达和肿瘤间质淋巴细胞浸润水平与病理完全缓解呈正相关。新抗原是癌细胞通过非同义突变产生的一种异常蛋白质^[29],或许这些研究间接证明了新抗原作为肿瘤免疫治疗预测指标的可行性。

4 T细胞对肿瘤新抗原的识别

肿瘤新抗原领域的快速发展得益于测序技术和生物信息学的进步,新的技术使预测和新抗原鉴定的准确性和可靠性不断提高。2012年^[30]和2013年^[31]的两项研究利用全外显子组测序(WES)技术分别在小鼠和人类黑色素瘤中证实了肿瘤新抗原特异性T细胞的存在并评估了这些T细胞的反应性。随后这

种 T 细胞的反应性在消化道肿瘤中也得到了证实^[32-33]。越来越多的研究证明 T 细胞对肿瘤新抗原的识别是实现免疫治疗的关键。但是,在大量预测到的新抗原中,仅有少数能被患者自体 T 细胞识别^[34]。

COHEN 等^[35]第一次成功地在免疫治疗前从患者外周血中分离出突变反应性 T 细胞,他们利用 WES、RNA 测序等技术在 5 名转移性黑色素瘤患者中鉴定出 9 个突变表位并分离出与其中 8 个表位可以产生反应的 T 细胞。不久之后的一项研究^[34]证明,健康供者外周血中的 T 细胞也可以有效识别患者来源的新抗原表位,甚至是在患者体内被自身肿瘤浸润淋巴细胞忽略的表位。这些成果为设计个性化免疫疗法奠定了基础。

在突变率较低的乳腺癌方面,ZACHARAKIS 等^[36]在一例化疗耐药的激素阳性转移性乳腺癌中发现了新抗原特异性 T 细胞并联合 IL-2 和免疫检查点抑制剂介导了肿瘤的完全持久消退。NARANG 等^[20]开发了一种快速的生物信息学筛选策略“EpitopeHunter”,通过对体细胞突变的分析来优先识别临床相关新抗原表位,并将其应用于来自 TCGA 的 870 例乳腺癌样本包括 TNBC。EpitopeHunter 表位筛选流程大致分为以下步骤:(1)收集并筛选肿瘤组和正常组外显子测序数据的差异体细胞突变;(2)分析体细胞突变并生成新表位候选列表。这一步骤将为每个非同义的肿瘤特异性突变产生总共 38 个潜在的新表位,长度从 8 到 11 个氨基酸不等;(3)HLA 分型:HLA 分型可以使用任何一个可用于 MHC I 类的 HLA 分类程序来执行,这里作者使用 Polysolver^[37];(4)基于 IEDB(The Immune Epitope Database)^[38]分筛选候选表位。使用 IEDB 结合亲和力预测算法预测哪些新表位与患者特定的 HLA 等位基因结合的可能性较高,并根据 RNAseq 表达筛选高亲和力结合的等位基因。在另外一项研究中,ZHANG 等^[39]对来自 TNBC 患者的异种移植物 WHIM30 进行外显子测序得到一个体细胞突变列表,然后通过 RNA 测序进行表达分析,接下来通过 HLA I 类肽结合算法 NetMHC v3.2^[40-41]进行评估,以预测与患者 HLA 等位基因高亲和力结合的新抗原,最后进行体外和体内免疫分析验证新抗原的免疫原性。研究结果表明,对乳腺癌新抗原富集的人类 CD8⁺ T 细胞能够保护小鼠免受来自患者自身的异种移植物的肿瘤攻击,他们还发现来自 TNBC 患者的异种移植 WHIM30 的体细胞突变远远高于来自 Luminal 亚型乳腺癌患者的 WHIM35 和 WHIM37。

总结下来,对新抗原的鉴定大致可以分为三步,首先对患者正常组织和肿瘤组织进行 DNA 和 RNA

测序分析,找出非同义体细胞突变和异常蛋白;其次利用计算机模型分析预测抗原的免疫原性并确定其与 MHC 分子的结合能力,然后合成与预测表位相对应的多肽;最后设计免疫学实验对预测的新抗原进行验证^[22, 42-43],见图 1。

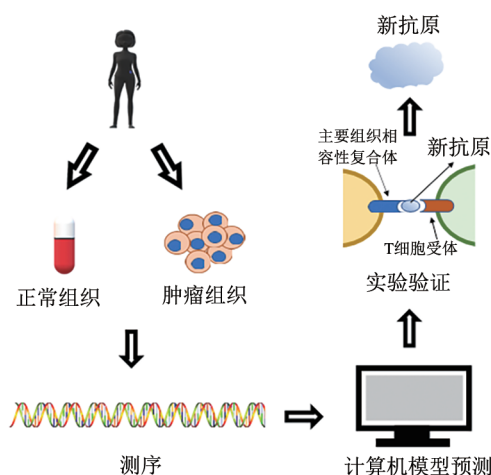


图 1 新抗原的识别鉴定流程示意图

5 新抗原疫苗进展

新抗原疫苗可以引起患者体内新抗原特异性 T 细胞的反应,增强免疫系统对肿瘤的杀伤作用。FDA 于 2010 年批准了首个治疗性癌症疫苗 Sipuleucel-T 用于治疗前列腺癌^[44]。2017 年的两项针对黑色素瘤开发的新抗原疫苗均取得了良好的疗效^[45-46]。2020 年 OTT 等^[47]的另一项对晚期黑色素瘤、非小细胞肺癌或膀胱癌的临床试验证明了一种基于新抗原的个性化疫苗联合免疫治疗可以刺激机体产生新抗原特异性 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞,而且这些细胞具有细胞毒性并能够向肿瘤转移。KARASAKI 等^[48]也证明了肺癌中新抗原疫苗的有效性。以上的这些研究证明了个人新抗原疫苗是安全、可行的,并且能够在临床环境中激发强烈的 T 细胞反应。此外,在乳腺癌、胶质母细胞瘤和胃肠道肿瘤中均有新抗原疫苗的研究^[27, 49-50]。在 TNBC 方面,也有多种在研的新抗原疫苗,见表 1。

NCT02427581^[51]是旨在评估个性化合成肽乳腺癌疫苗在新辅助化疗后持续 TNBC 患者中的安全性和免疫原性的 I 期临床试验。研究人员将在第 1 天、第 4 天、第 8 天、第 15 天、第 22 天、第 50 天和第 78 天对患者注射个性化合成肽疫苗。

NCT03199040^[52]是一项单独使用新抗原 DNA 疫苗与新抗原 DNA 疫苗联合 durvalumab 治疗 TNBC 的随机 I 期临床研究。患者被随机分为两组,第一组

患者在第1天、第29±7天、第57±7天、第85±7天、第113±7天和第141±7天接种新抗原DNA疫苗,每次间隔至少21 d。第二组患者在此基础上,将在第85天前评估新抗原特异性T细胞反应,如果出现新抗原特异性T细胞反应,Durvalumab将在第85天开始注射,

在60 min的疗程中以1 500 mg的剂量每四周给予一次。如果没有新抗原特异性T细胞反应,这些患者将被替换,但是仍有可能继续接受新抗原DNA疫苗治疗。

表1 针对TNBC的新抗原疫苗临床试验(Home - ClinicalTrials.gov)

NCT代码	受试人群	试验分期	干预	状态	参考文献
02427581	TNBC	单臂 I 期	肽疫苗	暂停	[51]
03199040	TNBC	平行试验 I 期	DNA 疫苗	正在进行、暂停招募	[52]
04105582	Breast Cancer TNBC	单臂 I 期	DC 疫苗	正在进行、暂停招募	[53]
02316457	TNBC	单臂 I 期	RNA 疫苗	正在进行、暂停招募	[54]
03606967	mTNBC	平行试验 II 期	肽疫苗	招募中	[55]
02348320	TNBC	单臂 I 期	DNA 疫苗	完成	[56]
04024800	晚期 TNBC	单臂 II 期	肽疫苗	正在进行、暂停招募	[57]

NCT04105582^[53]是一项对已经完成常规治疗(化疗和/或手术)的患者接种含有合成肽的树突状细胞疫苗的试验,利用含有肿瘤自身突变的合成肽对TNBC患者进行接种,这些突变将由自体树突状细胞提呈,以评估这种类型个体化疫苗的免疫原性(最后一次接种后6个月,通过ELISPOT或ELISA检测T细胞对肿瘤特异性新抗原的反应)和安全性(接种疫苗一年后,用CTCAEv4.0评估与治疗相关的不良事件的患者人数)。

NCT02316457^[54]是一项针对TNBC中RNA疫苗的研究。IV AC_W_brel_uID(也称为IVAC Warehouse)是一种个体化的癌症疫苗,IVAC WAREHOUSE是现成的针对共享的肿瘤相关抗原的RNA疫苗。IVAC_M_uID(也被称为IVAC MUTANOME),它是通过NGS技术来鉴定肿瘤特异性突变并按需制造出的RNA疫苗,用于单个患者,以针对来自突变表位的多个新抗原。患者在接种RNA疫苗后,RNA被抗原提呈细胞呈递给T细胞,蛋白质由MHC I/II类分子提呈,从而激活细胞毒性T淋巴细胞和针对肿瘤特异性抗原的记忆T细胞的免疫反应。

NCT03606967^[55]旨在评估转移性TNBC患者对白蛋白紫杉醇+durvaluaxel(MEDI4736)+tremelimumab+新抗原疫苗与白蛋白紫杉醇+durvaluaxel(MEDI4736)+tremelimumab的不同临床反应和安全性。将患者随机分为2组,第一组患者在第1、4、8、15、22、50和78天接受个体化合成肽疫苗治疗;在第1~4周期(28 d为1周期)的第1天接受tremelimumab治疗超过60 min;在第1天接受durvalumab治疗超过60 min;在第1、8和15天接受白

蛋白紫杉醇治疗超过30 min。第二组患者除了不接受个体化合成肽疫苗治疗,其他治疗与第一组相同。治疗结束后,每3个月对患者进行一年的随访,之后每年进行一次。

NCT02348320^[56]是一项评估新辅助化疗后持续性TNBC患者接受个体化多表位DNA疫苗安全性和免疫原性的I期临床研究。这项研究的目标是招募30名患者,他们将在第1天、第29天+(1~7)天和第57天±7天接受4 mg个性化多表位DNA疫苗的治疗,两次注射至少间隔21 d。

NCT04024800^[57]旨在建立AE37疫苗与pembrolizumab联合使用的推荐生物剂量,以增强肿瘤特异性免疫反应,并证明对晚期TNBC患者的疗效。这项研究将分两部分进行,第一阶段的13名患者将接受AE37疫苗治疗1 000 µg,在每个周期(21 d为1周期)的第1天分两次皮内注射,连续5周期;在每个周期第1天静脉注射200 mg pembrolizumab,连续2年(21 d为1周期),以确定AE37疫苗和pembrolizumab联合使用的推荐剂量。第二阶段将队列扩大为16名患者继续使用第一阶段确定的AE37的推荐剂量。

6 结 语

T细胞对新抗原的识别作为免疫治疗的重要一环发挥了不可替代的作用,新抗原来源于突变,但不是所有的突变都可以产生新抗原。只有少数由MHC分子提呈在癌细胞表面被T细胞识别并产生免疫应答的多肽才可以称为新抗原。因此,体细胞突变是否能产生新抗原取决于以下的关键因素:体细胞突变是否在蛋白质水平上表达;突变的蛋白是否可以

自然加工成合适的肽来提呈;突变肽与患者自身MHC分子的结合亲和力;突变肽/MHC复合物与T细胞受体的亲和力。随着高通量检测突变相关表位的方法以及新表位预测的生物信息学工具的出现,目前对于新抗原的鉴定识别已经在多个癌种中实现,现在还需要更加精准的筛选策略来检测出更多有效的新抗原表位,从而生产出针对个体的新抗原疫苗。近年来对新抗原疫苗的研究证明这是一种有效、有针对性的个体化治疗。对于TNBC这种没有特异性疗法的难治性癌症,不论是DNA疫苗、RNA疫苗、DC疫苗还是肽疫苗,不论是单独应用还是联合免疫检查点抑制剂一起治疗都已经有了多种在研临床试验。但是对于肿瘤患者来说,还需要更加经济有效的、适用于更多人的治疗方法。相信在未来,随着对TNBC的核心临床困境和生物学特征进一步深入研究,基于新抗原的治疗能带来更多惊喜。

[参 考 文 献]

- [1] HOLLINGSWORTH R E, JANSEN K. Turning the corner on therapeutic cancer vaccines[J/OL]. *NPJ Vaccines*, 2019, 4: 7 [2021-09-19]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30774998/>. DOI:10.1038/s41541-019-0103-y.
- [2] 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.
- [3] LI L, GOEDEGEBUURE S P, GILLANDERS W E. Preclinical and clinical development of neoantigen vaccines[J]. *Ann Oncol*, 2017, 28(suppl_12): xii11-xii17. DOI:10.1093/annonc/mdx681.
- [4] JIA H Y, TRUICA C I, WANG B, *et al.* Immunotherapy for triple-negative breast cancer: existing challenges and exciting prospects [J]. *Drug Resist Updat*, 2017, 32: 1-15. DOI: 10.1016/j.drug.2017.07.002.
- [5] FOULKES W D, SMITH I E, REIS-FILHO J S. Triple-negative breast cancer[J]. *N Engl J Med*, 2010, 363(20): 1938-1948. DOI: 10.1056/nejmra1001389.
- [6] SCHMID P, RUGO H S, ADAMS S, *et al.* Atezolizumab plus nab-paclitaxel as first-line treatment for unresectable, locally advanced or metastatic triple-negative breast cancer (IMpassion130): updated efficacy results from a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2020, 21(1): 44-59. DOI: 10.1016/S1470-2045(19)30689-8.
- [7] MITTENDORF E A, ZHANG H, BARRIOS C H, *et al.* Neoadjuvant atezolizumab in combination with sequential nab-paclitaxel and anthracycline-based chemotherapy versus placebo and chemotherapy in patients with early-stage triple-negative breast cancer (IMpassion031): a randomised, double-blind, phase 3 trial [J]. *Lancet*, 2020, 396(10257): 1090-1100. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31953-X.
- [8] CORTES J, CESCION D W, RUGO H S, *et al.* Pembrolizumab plus chemotherapy versus placebo plus chemotherapy for previously untreated locally recurrent inoperable or metastatic triple-negative breast cancer (KEYNOTE-355): a randomised, placebo-controlled, double-blind, phase 3 clinical trial[J]. *Lancet*, 2020, 396(10265): 1817-1828. DOI:10.1016/S0140-6736(20)32531-9.
- [9] SHAH S P, ROTH A, GOYA R, *et al.* The clonal and mutational evolution spectrum of primary triple-negative breast cancers[J]. *Nature*, 2012, 486(7403): 395-399. DOI:10.1038/nature10933.
- [10] LEHMANN B D, PIETENPOL J A. Clinical implications of molecular heterogeneity in triple negative breast cancer[J]. *Breast*, 2015, 24 (Suppl 2): S36-S40. DOI:10.1016/j.breast.2015.07.009.
- [11] NETWORK C G A. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours[J]. *Nature*, 2012, 490(7418): 61-70. DOI: 10.1038/nature11412.
- [12] KRIEGSMANN M, ENDRIS V, WOLF T, *et al.* Mutational profiles in triple-negative breast cancer defined by ultradeep multigene sequencing show high rates of PI3K pathway alterations and clinically relevant entity subgroup specific differences[J]. *Oncotarget*, 2014, 5 (20): 9952-9965. DOI:10.18632/oncotarget.2481.
- [13] BARECHE Y, VENET D, IGNATIADIS M, *et al.* Unravelling triple-negative breast cancer molecular heterogeneity using an integrative multiomic analysis[J]. *Ann Oncol*, 2018, 29(4): 895-902. DOI:10.1093/annonc/mdy024.
- [14] ZHANG G C, WANG Y L, CHEN B, *et al.* Characterization of frequently mutated cancer genes in Chinese breast tumors: a comparison of Chinese and TCGA cohorts[J/OL]. *Ann Transl Med*, 2019, 7(8): 179 [2021-09-19]. <https://doi.org/10.21037/atm.2019.04.23>. DOI:10.21037/atm.2019.04.23.
- [15] POP L A, COJOCNEANU-PETRIC R M, PILECZKI V, *et al.* Genetic alterations in sporadic triple negative breast cancer[J]. *Breast*, 2018, 38: 30-38. DOI:10.1016/j.breast.2017.11.006.
- [16] BAI H, YU J J, JIA S D, *et al.* Prognostic value of the TP53 mutation location in metastatic breast cancer as detected by next-generation sequencing[J]. *Cancer Manag Res*, 2021, 13: 3303-3316. DOI:10.2147/CMAR.S298729.
- [17] DUFFY M J, SYNNOTT N C, CROWN J. Mutant p53 in breast cancer: potential as a therapeutic target and biomarker[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2018, 170(2): 213-219. DOI: 10.1007/s10549-018-4753-7.
- [18] SYNNOTT N C, MURRAY A, MCGOWAN P M, *et al.* Mutant p53: a novel target for the treatment of patients with triple-negative breast cancer? [J]. *Int J Cancer*, 2017, 140(1): 234-246. DOI: 10.1002/ijc.30425.
- [19] 中国抗癌协会肿瘤标志专业委员会遗传性肿瘤标志物协作组, 中国抗癌协会肿瘤病理专业委员会分子病理协作组. 肿瘤突变负荷检测及临床应用中国专家共识(2020年版)[J]. *中国癌症防治杂志*, 2020, 12(5): 485-494. DOI:10.3969/j.issn.1674-5671.2020.05.01.
- [20] NARANG P, CHEN M X, SHARMA A A, *et al.* The neoepitope landscape of breast cancer: implications for immunotherapy[J/OL]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 200 [2021-09-19]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30832597/>. DOI:10.1186/s12885-019-5402-1.
- [21] CORTI C, GIUGLIANO F, NICOLÒ E, *et al.* Antibody-drug conjugates for the treatment of breast cancer[J/OL]. *Cancers*, 2021, 13(12): 2898 [2021-09-19]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34207890/>. DOI:10.3390/cancers13122898.
- [22] SCHUMACHER T N, SCHEPER W, KVISTBORG P. Cancer neoantigens[J]. *Annu Rev Immunol*, 2019, 37: 173-200. DOI:

- 10.1146/annurev-immunol-042617-053402.
- [23] HELLMANN M D, NATHANSON T, RIZVI H, *et al.* Genomic features of response to combination immunotherapy in patients with advanced non-small-cell lung cancer[J]. *Cancer Cell*, 2018, 33(5): 843-852. DOI:10.1016/j.ccell.2018.03.018.
- [24] LIU L, BAI X, WANG J, *et al.* Combination of TMB and CNA stratifies prognostic and predictive responses to immunotherapy across metastatic cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(24): 7413-7423. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-19-0558.
- [25] 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]. *Science*, 2015, 348(6230): 124-128. DOI:10.1126/science.aaa1348.
- [26] BARROSO-SOUSA R, KEENAN T E, PERNAS S, *et al.* Tumor mutational burden and PTEN alterations as molecular correlates of response to PD-1/L1 blockade in metastatic triple-negative breast cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(11): 2565-2572. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-19-3507.
- [27] KESKIN D B, ANANDAPPA A J, SUN J, *et al.* Neoantigen vaccine generates intratumoral T cell responses in phase Ib glioblastoma trial[J]. *Nature*, 2019, 565(7738): 234-239. DOI: 10.1038/s41586-018-0792-9.
- [28] SCHMID P, SALGADO R, PARK Y H, *et al.* Pembrolizumab plus chemotherapy as neoadjuvant treatment of high-risk, early-stage triple-negative breast cancer: results from the phase Ib open-label, multicohort KEYNOTE-173 study[J]. *Ann Oncol*, 2020, 31(5): 569-581. DOI:10.1016/j.annonc.2020.01.072.
- [29] PENG M, MO Y Z, WANG Y A, *et al.* Neoantigen vaccine: an emerging tumor immunotherapy[J/OL]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 128 [2021-09-19]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31443694/>. DOI:10.1186/s12943-019-1055-6.
- [30] MATSUSHITA H, VESELY M D, KOBOLDT D C, *et al.* Cancer exome analysis reveals a T-cell-dependent mechanism of cancer immunoediting[J]. *Nature*, 2012, 482(7385): 400-404. DOI:10.1038/nature10755.
- [31] ROBBINS P F, LU Y C, EL-GAMIL M, *et al.* Mining exomic sequencing data to identify mutated antigens recognized by adoptively transferred tumor-reactive T cells[J]. *Nat Med*, 2013, 19(6): 747-752. DOI:10.1038/nm.3161.
- [32] TRAN E, TURCOTTE S, GROS A, *et al.* Cancer immunotherapy based on mutation-specific CD4⁺ T cells in a patient with epithelial cancer[J]. *Science*, 2014, 344(6184): 641-645. DOI:10.1126/science.1251102.
- [33] TRAN E, AHMADZADEH M, LU Y C, *et al.* Immunogenicity of somatic mutations in human gastrointestinal cancers[J]. *Science*, 2015, 350(6266): 1387-1390. DOI:10.1126/science.aad1253.
- [34] 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.
- [35] COHEN C J, GARTNER J J, HOROVITZ-FRIED M, *et al.* Isolation of neoantigen-specific T cells from tumor and peripheral lymphocytes [J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(10): 3981-3991. DOI:10.1172/JCI82416.
- [36] ZACHARAKIS N, CHINNASAMY H, BLACK M, *et al.* Immune recognition of somatic mutations leading to complete durable regression in metastatic breast cancer[J]. *Nat Med*, 2018, 24(6): 724-730. DOI:10.1038/s41591-018-0040-8.
- [37] SHUKLA S A, ROONEY M S, RAJASAGI M, *et al.* Comprehensive analysis of cancer-associated somatic mutations in class IHLA genes[J]. *Nat Biotechnol*, 2015, 33(11): 1152-1158. DOI:10.1038/nbt.3344.
- [38] VITA R, ZAREBSKI L, GREENBAUM J A, *et al.* The immune epitope database 2.0[J/OL]. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(Database issue): D854-D862 [2021-09-19]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19906713/>. DOI:10.1093/nar/gkp1004.
- [39] ZHANG X L, KIM S, HUNDAL J, *et al.* Breast cancer neoantigens can induce CD8⁺ T-cell responses and antitumor immunity[J]. *Cancer Immunol Res*, 2017, 5(7): 516-523. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-16-0264.
- [40] LUNDEGAARD C, LAMBERTH K, HARND AHL M, *et al.* NetMHC-3.0: accurate web accessible predictions of human, mouse and monkey MHC class I affinities for peptides of length 8-11[J/OL]. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36(Web Server issue): W509-W512 [2021-09-19]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18463140/>. DOI:10.1093/nar/gkn202.
- [41] NIELSEN M, LUNDEGAARD C, WORNING P, *et al.* Reliable prediction of T-cell epitopes using neural networks with novel sequence representations[J]. *Protein Sci*, 2003, 12(5): 1007-1017. DOI:10.1110/ps.0239403.
- [42] GUBIN M M, ARTYOMOV M N, MARDIS E R, *et al.* Tumor neoantigens: building a framework for personalized cancer immunotherapy[J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(9): 3413-3421. DOI: 10.1172/JCI80008.
- [43] XU P J, LUO H Q, KONG Y, *et al.* Cancer neoantigen: boosting immunotherapy[J/OL]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 131: 110640 [2021-09-19]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32836075/>. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110640.
- [44] CHEEVER M A, HIGANO C S. PROVENGE (Sipuleucel-T) in prostate cancer: the first FDA-approved therapeutic cancer vaccine [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(11): 3520-3526. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-10-3126.
- [45] OTT P A, HU Z T, KESKIN D B, *et al.* An immunogenic personal neoantigen vaccine for patients with melanoma[J]. *Nature*, 2017, 547(7662): 217-221. DOI:10.1038/nature22991.
- [46] 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.
- [47] OTT P A, HU-LIESKOVAN S, CHMIELOWSKI B, *et al.* A phase Ib 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. DOI: 10.1016/j.cell.2020.08.053.
- [48] KARASAKI T, NAGAYAMA K, KAWASHIMA M, *et al.* Identification of individual cancer-specific somatic mutations for neoantigen-based immunotherapy of lung cancer[J]. *J Thorac Oncol*, 2016, 11(3): 324-333. DOI:10.1016/j.jtho.2015.11.006.
- [49] LI X Y, BU X. Progress in vaccine therapies for breast cancer[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 1026: 315-330. DOI:10.1007/978-981-10-6020-5_15.
- [50] CAFRI G, GARTNER J J, ZAKS T, *et al.* mRNA vaccine-induced neoantigen-specific T cell immunity in patients with gastrointestinal cancer[J]. *J Clin Invest*, 2020, 130(11): 5976-5988. DOI: 10.1172/JCI134915.

- [51] Washington University School of Medicine. Safety and immunogenicity of a personalized synthetic long peptide breast cancer vaccine strategy in patients with persistent triple-negative breast cancer following neoadjuvant chemotherapy [EB/OL]. (2021-06-16) [2021-09-19]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02427581?cond=02427581&draw=2&rank=1>.
- [52] Washington University School of Medicine. Neoantigen DNA vaccine alone vs. neoantigen DNA vaccine plus durvalumab in triple negative breast cancer patients following standard of care therapy [EB/OL]. (2017-06-26) [2021-09-19]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03199040?cond=03199040&draw=2&rank=1>.
- [53] Universidad Nacional de Colombia. Breast cancer neoantigen vaccination with autologous dendritic cells [EB/OL]. (2019-09-26) [2021-09-19]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04105582?term=NCT04105582&draw=2&rank=1>.
- [54] BioNTech SE. RNA-Immunotherapy of IVAC_W_bre1_uID and IVAC_M_uID (TNBC-MERIT) [EB/OL]. (2021-02-10) [2021-09-19]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02316457?cond=02316457&draw=2&rank=1>.
- [55] National Cancer Institute. Testing the addition of an individualized vaccine to nab-paclitaxel, durvalumab and tremelimumab and chemotherapy in patients with metastatic triple negative breast Cancer [EB/OL]. (2018-07-31) [2021-09-19]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03606967?term=03606967&draw=2&rank=1>.
- [56] Washington University School of Medicine. Safety and immunogenicity of a personalized polypeptide DNA vaccine strategy in breast cancer patients with persistent triple-negative disease following neoadjuvant chemotherapy [EB/OL]. (2020-07-01) [2021-09-19]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02348320?cond=02348320&draw=2&rank=1>.
- [57] NuGenerex Immuno-Oncology. Establishing the recommended biological dose for AE37 peptide vaccine in combination with pembrolizumab that will enhance the tumor-specific immune response and demonstrate efficacy in patients with advanced triple-negative breast cancer (NSABP FB-14) [EB/OL]. (2021-06-02) [2021-09-19]. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04024800?term=04024800&draw=1&rank=1>.

[收稿日期] 2021-09-19

[修回日期] 2022-02-09

[本文编辑] 黄静怡