

新生抗原在精准肿瘤免疫治疗中的研究进展

梁霄, 陈枢青^{*}(浙江大学药学院, 杭州 310058)

摘要: 个体化精准医疗是肿瘤免疫治疗中非常重要的一部分。新生抗原是一类特异的存在于肿瘤细胞表面主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC)上的抗原表位肽, 经由突变的体细胞基因编码、转录和翻译而成的具有特异性氨基酸序列变异的抗原肽。肿瘤细胞的突变“千人千面”, 根据新生抗原设计治疗方案, 就会造成“一人一药”的“定制化”局面。基于新生抗原的个体化肿瘤疫苗疗法是对以 PD-1/PD-L1 抗体为代表的免疫药物疗法和以 CAR-T 为代表的免疫细胞疗法的发展。本文从新生抗原的发现过程、新生抗原疫苗在肿瘤免疫治疗方面的临床试验等进行了综述。

关键词: 精准医疗; 免疫治疗; 新生抗原; 肿瘤疫苗

中图分类号: R73 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2021)08-0897-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2021.08.001

引用本文: 梁霄, 陈枢青. 新生抗原在精准肿瘤免疫治疗中的研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(8): 897-903.

Research Progress of Neoantigen in Precision Tumor Immunotherapy

LIANG Xiao, CHEN Shuqing^{*} (College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

ABSTRACT: Personalized precision medicine is vital part of tumor immunotherapy. Neoantigen is kind of epitope peptides on major histocompatibility complex(MHC) which is specially located on surface of tumor cells. They are a kind of antigenic peptides with specific amino acid sequence variation, which are encoded, transcribed and translated by mutated somatic genes. There are a thousand Hamlets in a thousand people's eyes, so as the tumor mutations. Neoantigen is one of the important ways to realize “personalized” therapy. Neoantigen therapy is a supplement to represented by PD-1/PD-L1 antibody and CAR-T. This article reviews the discovery process of neoantigen, the application of neoantigen vaccine in tumor immunotherapy and clinical trials.

KEYWORDS: precision medicine; immunotherapy; neoantigen; tumor vaccine

在进入 21 世纪后,随着科学技术的飞速发展, DNA 测序技术的进步促进了精准医疗时代的到来。20 世纪的人类基因组计划让人们认识到疾病的发生发展存在着个体差异,从而意识到根治一些罕见病、难治病或许可以从 DNA 入手。因此,基因诊断、基因治疗、基因编辑、个体化精准医疗应运而生。这些疗法的出现为许多疾病的治疗提供了新的思路,例如,CLN7 基因型贝敦氏症,这是一种由于 CLN7 基因突变导致表达产物错误剪接产生一种无活性的溶酶体蛋白,造成溶酶体清除废物能力下降,会杀死正常脑细胞,从而导致失明、抽搐和癫痫等症状的疾病。因此,美国波士顿儿童医院有研究团队使用一段根据患者的基因突变设计单核苷酸组成的反义核苷酸,与患

者的基因匹配修正错误剪接方式,产生正常的溶酶体蛋白^[1],对疾病产生治疗作用。

新生抗原是一类存在于肿瘤细胞表面主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC)上的抗原表位肽,经由突变的体细胞基因编码、转录和翻译而成的具有特异性氨基酸序列变异的抗原肽。相对于基因组巨量的位点数,突变的发生是低概率事件,因此,新生抗原一般都具有很高的特异性,因而能够被 T 细胞所识别并引起免疫反应。肿瘤细胞是由突变体细胞增殖而来,因此肿瘤细胞携带了体细胞的所有早期突变^[2]。随着测序技术的飞速发展,测序成本的大幅度下降,对于新生抗原在“定制化”免疫治疗中的应用越来越被人们看好。

基金项目: 国家自然科学基金项目(U20A20409)

作者简介: 梁霄,女,硕士 Tel: (0571)88208410
(0571)88208411 E-mail: chenshuqing@zju.edu.cn

E-mail: 11819043@zju.edu.cn

^{*}通信作者: 陈枢青,男,博士,教授 Tel:

1 新生抗原与肿瘤的免疫治疗

肿瘤抗原一般分为肿瘤相关抗原(tumor associated antigen, TAA)和肿瘤特异性抗原(tumor specific antigen, TSA)。TAA 一般是指正常细胞低表达, 肿瘤细胞高表达的抗原; 而 TSA 则是指肿瘤细胞特有, 正常细胞不表达的抗原, 也就包含了新生抗原。开发以 TAA 或 TSA 为靶标的药物目前在免疫治疗领域内非常活跃, 例如利妥昔单抗, 通过靶向 B 细胞上的 CD20 抗原治疗非霍奇金淋巴瘤。但是 TAA 靶向的疫苗药物目前存在 2 个主要问题: ①由于 TAA 在自身正常细胞上的存在会造成免疫系统产生中枢耐受, 也就是说免疫系统将带有这些抗原的肿瘤细胞当作“自家人”, 不会进行杀伤; ②在某些条件下, 如果对 TAA 产生了强烈的免疫反应, 可能会引起强烈的不良反应, 这也是 TAA 靶向特异性差的后果之一。基于这些因素, 催生出新生抗原作为肿瘤治疗的新靶点。其中一些突变的多肽可以在肿瘤细胞表面表达、加工和呈递, 随后被 T 细胞识别。由于正常组织不具有这些突变, 新生抗原特异性 T 细胞不会产生中枢和外周免疫耐受, 也缺乏诱导正常组织被破坏的能力。

2 新生抗原的筛选与验证

肿瘤细胞一般携带着大量的突变, 使用新生抗原作为靶点来制作肿瘤疫苗时, 该如何进行合理的筛选呢? 在初期, 研究主要集中在 BRAF^[3]、KRAS^[4]和 p53^[5]等蛋白的研究中, 已有研究证明一些共同突变造成了新生抗原, 将这些突变合成短肽用来刺激从患者或者健康捐献者血液中分离出来的 T 细胞, 并研究扩增 T 细胞对携带有这些突变的肿瘤的杀伤能力; 但是肿瘤细胞携带的大量突变不仅说明突变可能与肿瘤的发生有关, 也说明其抗原的免疫原性较低, 否则这些携带突变的细胞都会被自身的免疫细胞所消灭。因此共有性新生抗原设计疫苗的效果不会太理想; 此外, 大部分携带能激活 T 细胞的新生抗原的患者之间并没有共享这些突变, 因此, 对于个性化的新生抗原免疫治疗需求越来越强烈。

近几十年来抗原主要通过 cDNA 文库进行筛选和鉴定, 主要是将 cDNA 文库和 MHC 分子在细胞系中过量表达, 然后与 T 细胞共培养, 再根据细胞因子的分泌等方法来确定 T 细胞是否能被激活。还有一种方法是利用质谱对从肿瘤细胞表面

分离的人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)分子洗脱出的多肽进行测序, 从而鉴定出突变的和非突变的 T 细胞表位^[6]。这 2 种方法鉴定出的新生抗原(部分)见表 1。

表 1 部分新生抗原的发现及方法

Tab. 1 Methods and discovery of part neoantigens

肿瘤类型	发现年份	突变基因名称	发现方法	T 细胞来源	参考文献
黑色素瘤	1998	<i>TPI</i>	色谱提纯	TIL	[7]
黑色素瘤	2000	<i>ASCC3</i>	cDNA 文库	PBL	[8]
黑色素瘤	2003	<i>PTPRK</i>	cDNA 文库	TIL	[9]
黑色素瘤	2011	<i>CLPP</i>	cDNA 文库	TIL	[10]
肺癌	1998	<i>EF2</i>	色谱提纯	PBL	[6]
肺癌	2001	<i>ACTN4</i>	cDNA 文库	TIL	[11]
肺癌	2006	<i>NF-YC</i>	cDNA 文库	PBL	[12]
肾癌	2005	<i>KIAA1440</i>	cDNA 文库	PBL	[13]

注: PBL—外周血淋巴细胞; TIL—肿瘤浸润淋巴细胞。

Note: PBL—peripheral blood lymphocyte; TIL—tumor infiltrating lymphocyte.

新一代测序技术(next generation sequence, NGS)的出现使得新生抗原筛选进入了飞速发展的时期, 这种方法可以一次性对几十万甚至几百万条 DNA 序列进行读取, 并且大大降低了时间及费用成本。DNA 编码了蛋白质, 基因突变决定了蛋白质中氨基酸的改变。因此, 仅仅靠 DNA 的测序是不够的, 还需要进行转录组测序。DNA 测序可以发现突变; 转录组分析则可以确定其是否表达; 其次, HLA 分型决定突变片段是否会被递呈。新生抗原只有被人体的 HLA 分子递呈后才可能具有抗原活性, 因此还需要确定患者 HLA 分型与多肽的亲和力, 这部分目前只能通过基于数据库的人工智能分析确定。递呈后的短肽序列免疫原性的预测及验证等预示着如何筛选到合适的新生抗原并不是一件容易的事情。以 MC-38 小鼠肿瘤细胞系为例, 首先对 MC-38 小鼠肿瘤细胞系进行全外显子测序发现 28 439 突变, 其中 4 285 个外显子编码区突变; 然后基于选择高可信度突变选择 RNA-seq 的变体, 至少存在 20% 的等位基因频率并与外显子突变取交集, 筛选出 1 290 个突变; 接下来, 使用 NETMHC-3.4(HLA-Binding affinity)算法在 MC-38 细胞系中鉴定了 170 个预测的新生抗原, 并结合质谱验证发现, 仅有 7 个在 MHCI 上递呈, 对免疫原性进行预测及验证, 最终得到 2 条具有免疫原性的新生抗原肽^[14]。

3 新生抗原在肿瘤免疫治疗中的应用

目前新生抗原的研究主要集中在肿瘤疫苗和

过继 T 细胞治疗 2 种形式。

3.1 新生抗原肿瘤疫苗

新生抗原肿瘤疫苗是目前个性化免疫治疗的重要部分。肿瘤疫苗最早可追溯到 19 世纪末^[15]，医师对 1 例晚期肉瘤患者治疗时发现化脓性链球菌毒素可以引起患者对肿瘤的免疫反应；之后通过 cDNA 文库筛选出了第一个人肿瘤特异性抗原——黑色素瘤相关抗原 1。

疫苗设计流程见图 1，分别对肿瘤细胞及正常细胞进行测序，然后进行数据分析，挑选出新生抗原，进行疫苗的制备并进行后续的免疫。疫苗除了抗原以外通常还包含免疫佐剂、递送工具等等，形式非常多，目前研究较多的有多肽疫苗、RNA 疫苗、DNA 疫苗、肿瘤全细胞疫苗和树突状细胞疫苗等，根据不同标准可以分为不同类型，每种类型疫苗均有其优势和难点，具体情况见表 2。

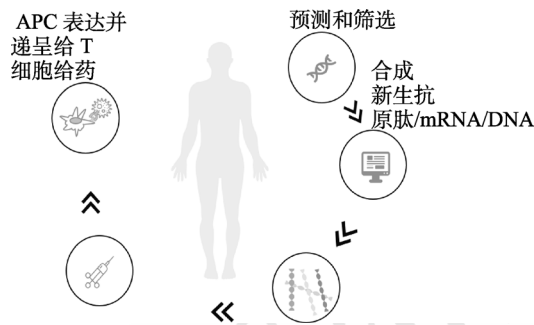


图 1 疫苗设计流程图

Fig. 1 Process of vaccine design

表 2 不同类型新生抗原疫苗比较

Tab. 2 Comparison of different types of neoantigen vaccine

疫苗类型	优势	难点
肿瘤全细胞疫苗	①研究广泛 ②含有肿瘤的所有抗原 ③制备简单	①免疫原性差 ②存在致癌可能性
DC 疫苗	①本身具有抗原递呈功能 ②可加载不同抗原	①分离方法复杂 ②花费高昂
多肽疫苗	①自动合成 ②诱导体液免疫及细胞免疫 ③与多种佐剂组合,形式多样 ④可完全降解且产物安全	①免疫原性差 ②理化性质难以控制 ③可能到达靶部位之前降解
DNA 疫苗	①成本低 ②编码任意表位	①可能导致插入突变 ②需要入核发挥作用
mRNA 疫苗	①通过 TLR3、TLR 等 Toll 样受体实现佐剂作用 ②完全降解且产物安全 ③编码任意表位	①稳定性不够 ②体内递送

树突状细胞(dendritic cells, DC)是人体免疫应答的重要环节，具有很强的获取和处理抗原并递呈给 T 细胞的能力，同时还可以表达高水平的共

刺激或共抑制因子，而这些分子决定了免疫的激活或消失。目前临床试验中使用的 DC 主要来源有由单核细胞前体或 CD34⁺造血前体细胞分化、体内扩增循环或是分离和富集循环血中的 DC 亚群，由单核细胞前体或 CD34⁺造血前体细胞分化而来的 DC 是临床前和临床中最常使用的方法^[15]。成熟的 DC 可以增强共刺激分子的表达，产生有效激活 T 细胞反应所需的细胞因子和趋化因子^[16]，并迁移到淋巴组织^[17]。在临床研究中，只有成熟的、负载有多肽的 DC 才有能力在健康受试者和转移性黑色素瘤患者中诱导抗原特异性 T 细胞反应^[18]。多肽直接装载在 DC 表面的 MHC 分子上，而肿瘤细胞的蛋白需要在装载到 MHC 分子之前加工成多肽。CD8⁺T 细胞的表位肽长度一般为 8~10 个氨基酸，因此在临床实验中选择合成的新生抗原长度大多在此范围内；不过近些年有研究表明长度在 28~35 个氨基酸的合成肽(synthesis long peptide, SLP)会优先被 DC 通过交叉递呈^[19]，激活 CD4⁺T 细胞和 CD8⁺T 细胞。

DC 疫苗通常针对病毒抗原、肿瘤-睾丸抗原(cancer-testis antigens, CT 抗原)、过度表达抗原和分化抗原^[20]。有研究表明，在黑色素瘤^[21]患者体内装载了新生抗原肽的成熟 DC 成功激活了 CD8⁺T 细胞的反应；这也就证明了 DC 疫苗可以刺激患者新生抗原特异性 T 细胞反应。测序技术的发展使得在肿瘤基因组的蛋白质编码部分识别独特的突变和预测潜在的抗原成为可能。2020 年 5 月 21 日，《Clinical Cancer Research》刊登了首个关于肿瘤新生抗原个体化多肽疫苗单药治疗泛癌种晚期实体瘤的临床结果，入组的 22 例标准治疗失败的泛癌种晚期实体瘤患者，经多次皮下注射个体化多肽疫苗 iNeo-Vac-P01 后发现，80%的 iNeo-Vac-P01 多肽疫苗激发了抗原特异性的免疫响应。此外，还发现肿瘤浸润淋巴细胞数量及比例，特别是激活的 CD8⁺T 细胞和 CD4⁺T 细胞均有大幅提高。患者疾病控制率(disease control rates, DCR)为 71.4%(15/21)，中位无进展生存期(progression free survival, PFS)为 4.6 个月，12 个月的总生存比例为 55.1%^[22]。

DC 疫苗有皮内、皮下、静脉、结节内或瘤内给药途径，但最佳给药途径尚未确定。将抗原直接靶向体内的 DC 绕过了需要耗费大量时间、劳动成本且难以标准化和扩大的体外 DC 生成过程。体

内靶向可以更大规模地生产疫苗,更重要的是,可以直接激活体内多个部位的自然 DC 亚群。体内靶向 DC 的方法有刺激肿瘤细胞分泌粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)^[23],使用 CD40^[15]和 C 型凝集素受体(C lectin receptor, CLR)^[24]或脂质体^[25]等,例如静脉注射编码黑色素瘤 4 种 TAA 的脂质体包裹 RNA 疫苗后,患者体内出现干扰素 α 上升和抗原特异性的 T 细胞反应。到目前为止,在绝大多数的临床试验中,DC 疫苗对受试者来说是安全的,少数患者会出现轻微到中度的不良反应,例如发热、红斑、流感样症状、皮疹等。

3.2 过继 T 细胞治疗

过继 T 细胞治疗是指将肿瘤特异性淋巴细胞在体外扩增激活后,回输至患者体内的疗法。这种疗法的关键在于如何选择在体外扩增的淋巴细胞。一种是选择新生抗原激活的 T 细胞进行扩增或是直接扩增 TIL 进行治疗;有研究表明从转移性结直肠癌患者体内分离到的 TIL 中鉴定出针对 Kras G12D 的 T 细胞,在体外进行扩增并回输,观察到肿瘤消退^[26]。另一种方法是对 T 细胞受体进行基因工程改造(T cell receptor-gene engineered T cells, TCR-T),即对 TCR 进行改造,使其能够识别新生抗原再进行扩增回输。2018 年 10 月 15 日,香雪生命科学和 Athenex 公布针对 TAEST 技术产生的具有强亲和力的、针对抗原 NY-ESO-1 且 HLA-A2.1 T 细胞 TCR-T 的初步临床结果,在标准治疗失败的 9 例晚期癌症患者中:2 例患者(1 例乳腺癌,1 例滑膜肉瘤)的肿瘤大小减少了 40%以上;其中 2 例患有乳腺癌的患者皮肤转移性溃疡愈合。另外 2 例患者(1 例患有切除术后腹膜后复发的肝癌患者,1 例患有甲状腺癌的患者)表现稳定,这 2 例患者在治疗后不久都表现出明显的肿瘤坏死,局部疼痛症状缓解。其余 2 例癌症患者在治疗后病情稳定>60 d。2019 年 6 月 11 日,美国食品药品监督管理局(FDA)批准 Ziopharm 公司利用睡美人(Sleeping Beauty)非病毒基因转移技术平台表达新生抗原特异性 TCR,即使用电穿孔将 DNA 质粒转到 T 细胞以表达多种新生抗原特异性 TCR,进行研究型新药(investigational new drug, IND)开发。

除此之外,新生抗原或许可以成为继程序性细胞死亡配体 1(programmed cell death-ligand1, PD-L1)表达率、肿瘤突变负荷(tumor mutation

burden, TMB)和微卫星不稳定(microsatellite instability, MSI)后预测免疫检查点抑制剂的另一个指标。有研究表明,对结直肠癌患者的跟踪治疗及检测发现,具有较高新生抗原符合和较多 CD8⁺T 细胞的肿瘤浸润的患者生存期较长^[27];在黑色素瘤^[28]和非小细胞肺癌^[21]中也存在类似现象。

3.3 新生抗原疫苗全球研发现状

自 2014 年 FDA 批准 PD-1 抗体(Opdivo[®]和 Keytruda[®])用于肿瘤临床治疗后,分别以 PD-1/PD-L1 抗体和以 CAR-T 为代表的免疫药物疗法和免疫细胞疗法,正在逐步对传统的手术、化疗等治疗方式进行革新。但这 2 种疗法也都还存在一些不足:PD-1/PD-L1 药物的作用机制非常复杂,部分患者还可能耐存在耐药和加速进展、有效率太低(通常是 20%~30%)、不良反应较多且严重等情况,可能是因为免疫检查点抑制剂会非特异性激活免疫作用,导致严重的肺炎、心肌炎和肝炎等致死性不良反应的风险。CAR-T 疗法涉及基因工程改造,还可能会引发细胞因子风暴,在实体瘤中效果不佳。因此为了弥补上述 2 种免疫疗法的不足,开发个性化肿瘤疫苗,就成为迫切的需要。

尽管这些年肿瘤疫苗的研究呈现爆发式的增长,在 clinicaltrials 关于“cancer immune therapy”的记录多达 11 200 条,新生抗原临床试验 147 例,见表 3,其中非小细胞肺癌为 26 例,结直肠癌 25 例,黑色素瘤 24 例,见图 2。但是,目前 FDA 仅批准 3 种治疗性肿瘤疫苗:①芽孢杆菌卡介苗(TheraCys[®])治疗非肌肉浸润性膀胱癌;②FDA 批准的首个 DC 疫苗 PROVENGE[®](普列威, Sipuleucel-T),用于晚期前列腺癌的治疗,该药成为第 1 个在美国被批准用于治疗的 DC 疗法;③溶瘤疱疹病毒疫苗(talimogene laherparepvec, T-VEC 或 Imlygic),用于治疗黑色素瘤。Cimavax-EGF 是目前在古巴上市用于治疗非小细胞肺癌的重组蛋白疫苗。NEO-PV-01 是 Neon Therapeutics 公司(2020 年 5 月被 BioNTech 公司收购)开发的新生抗原疫苗候选药物之一,2020 年 10 月 15 日在 Cell 上发表了关于 NEO-PV-01 与 PD-1 联用阻断晚期黑色素瘤、非小细胞肺癌或膀胱癌患者 Ib 期临床试验(NCT02897765)结果:没有观察到与治疗相关的严重不良事件,82 例患者接种后均观察到新生抗原特异性 CD4⁺和 CD8⁺T 细胞反应^[29]。NeoVax

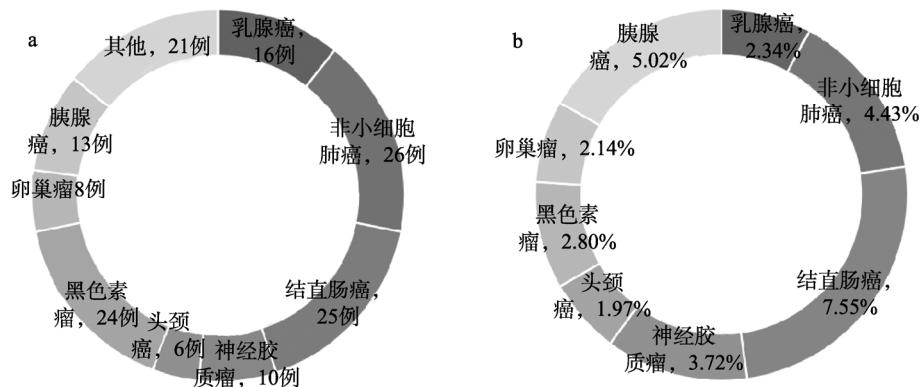


图2 新生抗原在临床试验中的研究现状

a-不同肿瘤新生抗原的临床案例数；b-不同癌种新生抗原在对应肿瘤临床免疫治疗中占比。数据来源：Clinical trials。

Fig. 2 Research status of neoantigen in clinical trials

a-number of clinical cases of neoantigens in different cancer types; b-proportion of neoantigens of different cancer types in the clinical immunotherapy of corresponding tumors. Data from Clinicaltrials.

表3 新生抗原部分临床试验

Tab. 3 Partial clinical trials of neoantigen

序号	免疫治疗类型	肿瘤类型	Clinical trials ID	状态
1	新抗原反应性 T 细胞+SHR-1210	晚期难治性实体瘤	NCT03171220	1 期
2	新生抗原 DNA 疫苗	实体瘤	NCT03914872	2 期
3	新生抗原特异性 T 细胞+白介素/环磷酰胺/氟达拉滨	实体瘤	NCT03658785	未知
4	新生抗原肽疫苗+GM-CSF	晚期恶性肿瘤	NCT03662815	1 期
5	基因编辑的自体肿瘤抗原靶向 TCRT 细胞+尼伏单抗/IL-2	实体瘤	NCT03970382	1 期
6	新生抗原个性化疫苗	转移性恶性黑色素瘤；转移性非小细胞肺癌；转移性膀胱尿路上皮癌	NCT03715985	1 期
7	新抗原治疗性肿瘤疫苗+尼伏单抗/伊匹单抗	非小细胞肺癌；结直肠癌；胰腺癌实体瘤；共享新生抗原阳性实体瘤	NCT03953235	2 期
8	ASV® AGEN2017(新生抗原疫苗)+QS-21 Stimulon®佐剂	实体瘤	NCT03673020	1 期
9	个体化新抗原过继细胞治疗(GEN-011)+氟达拉滨/环磷酰胺	黑色素瘤；非小细胞肺癌；头颈部鳞状细胞癌；尿路上皮癌；肾细胞癌；小细胞肺癌；皮肤鳞状细胞癌；肛门鳞状细胞癌	NCT04596033	1 期
10	个性化疫苗 GEN-009+尼伏单抗/彭布罗利珠单抗	皮肤黑色素瘤；非小细胞肺癌；头颈部鳞状细胞癌；尿路上皮癌；肾癌	NCT03633110	1 期
11	肿瘤特异性抗原诱导的细胞毒性 T 淋巴细胞治疗+环磷酰胺/氟达拉滨	实体瘤	NCT02959905	2 期
12	YE-NEO-001(基于酵母的个性化新生表位疫苗)	结直肠癌；乳腺癌；头颈部鳞状细胞癌；黑色素瘤；非小细胞肺癌；胰腺癌；肝癌	NCT03552718	1 期
13	NEO-PTC-01(用于过继细胞治疗的自体个性化 T 细胞产品)	不能切除的黑色素瘤；转移性黑色素瘤	NCT04625205	1 期
14	个性化新生抗原疫苗+彭布罗利珠单抗	晚期实体瘤	NCT03568058	1 期

注：数据来源：Clinical trials。

Note: Data from Clinical trials.

是由 Dana Farber 肿瘤研究中心研发的一种新生抗原的长肽疫苗，针对 8 名手术切除的 IIIb/c 期或 IVM1a/b 期黑色素瘤患者的临床试验(NCT01970358)结果于 2021 年 1 月 21 日发表在《Nature Medicine》上，其中提到新生抗原特异性的 T 细胞反应长期存在，并且随着时间的推移还呈现出新生抗原特异性 T 细胞克隆的多样性。此

外，在疫苗接种后，检测到新生抗原特异性 T 细胞克隆发生肿瘤浸润^[30]。Tedopi(OSE-2101)是 5 种在非小细胞肺癌中高表达的抗原，从这 5 种抗原中优化并选择出 10 条表位肽的疫苗。2020 年 4 月 1 日，OSE Immunotherapeutics 宣布 Tedopi 的临床试验(NCT02654587)结果，入组患者均为 HLA-A2 阳性且 PD-1 治疗失败。试验结果表明没有发现明

显的不良反应；注射部位的轻度红斑和疼痛是最常见的不良反应；治疗组 1 年生存率为 60%，中位生存期为 17.3 个月。新冠疫苗中迅速崛起的 mRNA 疫苗，在肿瘤疫苗上早有布局，例如 BioNTech 公司的 IVAC[®] mutation 是一种针对单个患者独特突变特征的多新表位编码 RNA 疫苗；I 期临床试验(NCT02035956)已于 2020 年 1 月 18 日结束，但是具体结果尚未向外界公布。

美国新生抗原临床在研项目数为 86 项，中国紧随其后为 26 项，见图 3。纽安津生物科技有限公司是国内新生抗原个体化免疫治疗的新药研发领导者之一，其在研项目主要分为 3 部分：个体化肿瘤多肽疫苗——iNeo-VacTM-P01，主要针对主干突变及肿瘤各亚克隆突变，目前对胰腺癌(NCT03645148)和晚期恶性实体瘤(NCT03662815)已进入临床阶段；个性化 DC 疫苗+T 细胞——iNeo-VacTM-T01，个体化肿瘤新生抗原特异性自体免疫细胞产品。该产品需采集患者自身免疫细胞，经体外激活、培养后得到大量能够识别肿瘤新生抗原的免疫细胞，通过回输患者体内后，达到杀伤肿瘤细胞目的。通用型肿瘤新生抗原多肽疫苗——iNeo-Vac-S01，主要以驱动基因产生的新生抗原为研究对象，驱动基因产生的新生抗原在一定比例患者肿瘤中共有，因此，这些患者可利用预先制备的多肽疫苗进行治疗，无需定制。斯微生物是国内较早专注于 mRNA 药物的公司，目前正在进行的临床试验有编码新生抗原的 mRNA 个性化肿瘤疫苗治疗晚期恶性实体瘤(ChiCTR1900023000)、用于无法手术切除的晚期或复发/转移的消化系统肿瘤(NCT03468244)、个性化 mRNA 肿瘤疫苗用于标准治疗失败或标准治疗不适用的转移性或局部晚期食管癌和非小细胞肺癌

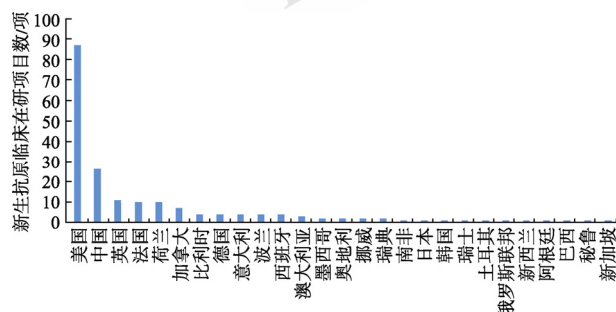


图 3 新生抗原在肿瘤中的临床研究全球分布图(数据来源: Clinical trials)

Fig. 3 Global distribution of neoantigens in tumor clinical studies(Data from Clinical trials)

(NCT03908671)。此外，裕策生物、华大吉诺因等企业的新生抗原研究也进入临床试验阶段。

4 挑战与展望

新生抗原目前面临的挑战是能否准确预测，算法是其中的核心，哪些突变会被 APC 递呈、哪些能被免疫系统识别，并引起足够强烈的免疫反应。预测的算法和流程没有统一标准且分析过程非常复杂，其中涉及基因数据预处理、突变检测、HLA 分型鉴定、表达定量、neo-peptide 预测、蛋白裂解、MHC 亲和力预测、新生抗原筛选和实验验证等等。

肿瘤本质上是积累的一系列基因变异导致的复杂慢性病，这意味着肿瘤的基因组是动态变化的，且存在着高度异质性。精准医疗的本质是一种个性化医疗，非常适用于恶性肿瘤的临床治疗。随着研究的积累，相信在不久的将来，基于新生抗原的免疫疗法会为恶性肿瘤治疗带来里程碑式的突破。

REFERENCES

- [1] KIM J, HU C, MOUFAWAD EL ACHKAR C, et al. Patient-customized oligonucleotide therapy for a rare genetic disease[J]. N Engl J Med, 2019, 381(17): 1644-1652.
- [2] MCGRANAHAN N, FURNESS A J, ROSENTHAL R, et al. Clonal neoantigens elicit T cell immunoreactivity and sensitivity to immune checkpoint blockade[J]. Science, 2016, 351(6280): 1463-1469.
- [3] SHARKEY M S, LIZÉE G, GONZALES M I, et al. CD4(+) T-cell recognition of mutated B-RAF in melanoma patients harboring the V599E mutation[J]. Cancer Res, 2004, 64(5): 1595-1599.
- [4] KUBUSCHOK B, SCHMITS R, HARTMANN F, et al. Use of spontaneous Epstein-Barr virus-lymphoblastoid cell lines genetically modified to express tumor antigen as cancer vaccines: mutated p21 ras oncogene in pancreatic carcinoma as a model[J]. Hum Gene Ther, 2002, 13(7): 815-827.
- [5] ICHIKI Y, TAKENOYAMA M, MIZUKAMI M, et al. Simultaneous cellular and humoral immune response against mutated p53 in a patient with lung cancer[J]. J Immunol, 2004, 172(8): 4844-4850.
- [6] HOGAN K T, EISINGER D P, CUPP S B, et al. The peptide recognized by HLA-A68.2-restricted, squamous cell carcinoma of the lung-specific cytotoxic T lymphocytes is derived from a mutated elongation factor 2 gene[J]. Cancer Res, 1998, 58(22): 5144-5150.
- [7] PIEPER R, CHRISTIAN R E, GONZALES M I, et al. Biochemical identification of a mutated human melanoma antigen recognized by CD4(+) T cells[J]. J Exp Med, 1999, 189(5): 757-766.
- [8] BAURAIN J F, COLAU D, VAN BAREN N, et al. High frequency of autologous anti-melanoma CTL directed against

- an antigen generated by a point mutation in a new helicase gene[J]. *J Immunol*, 2000, 164(11): 6057-6066.
- [9] NOVELLINO L, RENKVIST N, RINI F, et al. Identification of a mutated receptor-like protein tyrosine phosphatase kappa as a novel, class II HLA-restricted melanoma antigen[J]. *J Immunol*, 2003, 170(12): 6363-6370.
- [10] CORBIÈRE V, CHAPIRO J, STROOBANT V, et al. Antigen spreading contributes to MAGE vaccination-induced regression of melanoma metastases[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(4): 1253-1262.
- [11] ECHCHAKIR H, MAMI-CHOUAIB F, VERGNON I, et al. A point mutation in the alpha-actinin-4 gene generates an antigenic peptide recognized by autologous cytolytic T lymphocytes on a human lung carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2001, 61(10): 4078-4083.
- [12] TAKENIYAMA M, BAURAIN J F, YASUDA M, et al. A point mutation in the NFYC gene generates an antigenic peptide recognized by autologous cytolytic T lymphocytes on a human squamous cell lung carcinoma[J]. *Int J Cancer*, 2006, 118(8): 1992-1997.
- [13] ZHOU X Z, JUN D Y, THOMAS A M, et al. Diverse CD8+ T-cell responses to renal cell carcinoma antigens in patients treated with an autologous granulocyte-macrophage colony-stimulating factor gene-transduced renal tumor cell vaccine[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(3): 1079-1088.
- [14] 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.
- [15] COLEY W B. The treatment of malignant tumors by repeated inoculations of erysipelas. With a report of ten original cases. 1893[J]. *Clin Orthop Relat Res*, 1991(262): 3-11.
- [16] SABADO R L, BALAN S, BHARDWAJ N. Dendritic cell-based immunotherapy[J]. *Cell Res*, 2017, 27(1): 74-95.
- [17] BANCHEREAU J, BRIERE F, CAUX C, et al. Immunobiology of dendritic cells[J]. *Annu Rev Immunol*, 2000(18): 767-811.
- [18] DE VRIES I J, KROOSHOO P D J, SCHARENBOG N M, et al. Effective migration of antigen-pulsed dendritic cells to lymph nodes in melanoma patients is determined by their maturation state[J]. *Cancer Res*, 2003, 63(1): 12-17.
- [19] DE VRIES I J, LESTERHUIS W J, SCHARENBOG N M, et al. Maturation of dendritic cells is a prerequisite for inducing immune responses in advanced melanoma patients[J]. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(14): 5091-5100.
- [20] BIJCKER M S, VAN DEN EEDEN S J, FRANKEN K L, et al. Superior induction of anti-tumor CTL immunity by extended peptide vaccines involves prolonged, DC-focused antigen presentation[J]. *Eur J Immunol*, 2008, 38(4): 1033-1042.
- [21] OBEID J, HU Y N, SLINGLUFF C L Jr. Vaccines, adjuvants, and dendritic cell activators: Current status and future challenges[J]. *Semin Oncol*, 2015, 42(4): 549-561.
- [22] 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.
- [23] FANG Y, MO F, SHOU J W, et al. A *Pan*-cancer clinical study of personalized neoantigen vaccine monotherapy in treating patients with various types of advanced solid tumors[J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(17): 4511-4520.
- [24] JINUSHI M, HODI F S, DRANOFF G. Enhancing the clinical activity of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-secreting tumor cell vaccines[J]. *Immunol Rev*, 2008(222): 287-298.
- [25] KRANZ L M, DIKEN M, HAAS H, et al. Systemic RNA delivery to dendritic cells exploits antiviral defence for cancer immunotherapy[J]. *Nature*, 2016, 534(7607): 396-401.
- [26] TRAN E, ROBBINS P F, LU Y C, et al. T-cell transfer therapy targeting mutant KRAS in cancer[J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(23): 2255-2262.
- [27] LE D T, DURHAM J N, SMITH K N, et al. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade[J]. *Science*, 2017, 357(6349): 409-413.
- [28] VAN ALLEN E M, MIAO D, SCHILLING B, et al. Genomic correlates of response to CTLA-4 blockade in metastatic melanoma[J]. *Science*, 2015, 350(6257): 207-211.
- [29] 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.e24.
- [30] HU Z T, LEET D E, ALLESØE R L, et al. Personal neoantigen vaccines induce persistent memory T cell responses and epitope spreading in patients with melanoma[J]. *Nat Med*, 2021, 27(3): 515-525.

收稿日期: 2021-03-08
(本文责编: 曹粤锋)