

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.06.001

· 院士论坛 ·

个体化新抗原特异性 T 细胞过继免疫：任重道远，砥砺前行

李青, 丁振宇, 魏于全(四川大学华西医院 生物治疗国家重点实验室, 肿瘤中心 生物治疗科, 四川 成都 610041)



魏于全 博士、教授、博士生导师, 中国科学院院士。四川大学生物治疗国家重点实验室主任, 中国医药生物技术协会理事长, 教育部“长江学者奖励计划”特聘教授, 国家自然科学基金创新研究群体负责人, 1997 年国家杰出青年科学基金获得者。主要从事肿瘤生物治疗的基础研究、应用开发与临床实践, 先后承担了国家自然科学基金委员会创新研究群体科学基金、“973”计划、“863”计划等多项课题。主编全国《肿瘤学》八年制统编教材, 在 *Nature*、*Nat Med*、*PNAS*、*Blood*、*Cancer Res*、*Clin Cancer Res* 等杂志发表 SCI 收录论文 200 余篇。申请国家发明专利 50 余项, 获授权专利 30 余项, 已研发多个生物治疗药物。研发的新冠疫苗研究成果在 *Nature* 发表并正在进行 III 期试验。2020 年 9 月荣获“全国抗击新冠肺炎疫情先进个人”称号。



丁振宇 博士, 四川大学华西医院肿瘤中心教授、博士生导师, 长期从事肿瘤生物治疗的临床转化研究, 目前主要研究方向为肿瘤疫苗、免疫检查点抑制剂的临床及基础研究、个体化细胞疫苗的临床转化研究等工作。以第一或通信作者身份在 *Signal Transduct Target Ther*、*J Immuno Ther Cancer*、*Gene Ther* 等杂志上发表 SCI 收录论文 40 篇, 作为主要负责人之一完成负载新抗原的 DC 疫苗治疗晚期肺癌的临床转化研究, 研究成果发表于 *Signal Transduct Target Ther*; 发现 PD-L1/TIM3 和 PD-L1/TIGIT 可有效预测食管鳞癌的预后, 研究成果发表在 *J Immuno Ther Cancer*。参编英文专著两部, 是八年制统编教材《肿瘤学》的第一、第二版编委和第三版编委兼秘书。先后获国家自然科学基金、教育部博士点基金、“863”计划子课题及新药创制重大专项基金支持。

[摘要] 近年来, 肿瘤新抗原掀起了个体化免疫治疗的新篇章, 作为基于新抗原个体化免疫治疗的重要组成部分, 新抗原特异性 T 细胞的过继输注 (ACT) 疗法备受瞩目。本文将首先从新抗原特异性 T 细胞 ACT 治疗应用策略及临床应用现状介绍新抗原特异性 T 细胞 ACT 治疗这一新兴的精准免疫治疗的发展现状, 然后从新抗原的预测、新抗原特异性 T 细胞筛选及扩增等方面系统地总结新抗原 T 细胞 ACT 治疗所面临的阻碍和挑战, 最后从优化新抗原预测、增加新抗原特异性 T 细胞数量和多样性、防止新抗原特异性 T 细胞过度分化或死亡、缩短生产周期和减少生产成本及探索联合治疗方式等五个方面对该领域的未来发展机遇和研究方向进行重点阐述。

[关键词] 肿瘤; 新抗原; T 细胞; 免疫治疗; 细胞过继输注

[中图分类号] R730.51; R730.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2022)06-0509-10

Personalized neoantigen-specific T-cell adoptive immune: a long way to go

LI Qing, DING Zhenyu, WEI Yuquan (Department of Biotherapy, Cancer Center & State Key Laboratory of Biotherapy, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan, China)

[Abstract] In recent years, neoantigens have started a new chapter of individualized immunotherapy. As an important component of neoantigen-based individualized immunotherapy, neoantigen-specific T-cell adoptive transfer (ACT) has attracted much attention. This paper will first introduce the current development of neoantigen-specific T-cell ACT therapy, an emerging precision immunotherapy, in terms of application strategies and current clinical applications of neoantigen-specific T-cell ACT therapy. Then, the obstacles and challenges faced by neoantigen-specific T-cell ACT therapy will be systematically summarized in terms of neoantigen prediction, neoantigen-specific T-cell screening, and expansion. Finally, future development opportunities and research directions will be highlighted in five aspects, including optimizing neoantigen prediction, increasing the number and diversity of neoantigen-specific T

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目资助 (No.82073366); 中国医学科学院临床与转化医学研究基金 (No.2020-I2M-C&T-B-096)

[作者简介] 李青 (1987—), 女, 博士, 讲师, 主要从事肿瘤生物治疗研究, E-mail: liqing@scu.edu.cn

[通信作者] 魏于全, E-mail: yqwei@scu.edu.cn; 丁振宇, E-mail: dingzhenyu@scu.edu.cn

cells, and preventing excessive differentiation or death of neoantigen-specific T cells, shortening the production cycle and reducing production cost, and exploring combination therapy modalities.

[Key words] tumor; neoantigen; T cell; immunotherapy; adoptive cell transfer

[Chin J Cancer Biother, 2022, 29(6):509-518. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.06.001]

T细胞是机体免疫系统的重要组成成分之一,被认为是杀伤肿瘤细胞的主要效应细胞。因此,将肿瘤患者自身的T细胞经体外激活、扩增或修饰后,再回输至患者体内治疗肿瘤的过继性细胞输注(adoptive cell transfer, ACT)疗法已得到了广泛的关注和深入研究^[1]。决定T细胞ACT治疗是否能产生显著抗肿瘤效果的一个关键因素是输注的T细胞能否“精准”识别肿瘤。通过T细胞受体(T cell receptor, TCR)基因修饰T(TCR-T)细胞或嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR)基因修饰T(CAR-T)细胞可使T细胞获得肿瘤特异靶向性,是目前肿瘤免疫治疗研究领域的前沿和热点之一。然而,由于实体肿瘤缺乏高表达的共享抗原,基于TCR或CAR的“现成的活体药物”在实体肿瘤中的应用受到限制^[2]。近年来,肿瘤新抗原(neoantigen)掀起了精准免疫治疗的新篇章。筛选或设计新抗原特异性T细胞进行ACT治疗是目前基于新抗原个体化免疫治疗的重要研究方向之一,并已在部分实体肿瘤治疗中取得成功,展现了良好的应用前景^[3-7]。然而,机遇与挑战并存,新抗原特异性T细胞ACT治疗作为一种新兴的治疗方法尚未成熟,其发展道路上还存在着诸多障碍和挑战。本文基于新抗原特异性T细胞ACT治疗的研发策略、临床转化和应用现状,对新抗原特异性T细胞ACT治疗所面临的困境和挑战以及未来研究方向进行分析。

1 新抗原特异性T细胞是发挥抗肿瘤作用的关键效应细胞

肿瘤新抗原是指由肿瘤细胞基因组突变产生、能够被加工和提呈,并进一步引起特异性免疫应答的突变蛋白^[8](图1)。不同于肿瘤相关抗原(tumor associated antigen, TAA),肿瘤新抗原是在肿瘤发生、发展过程中形成的,不表达于正常组织,是真正的肿瘤特异性抗原(tumor specific antigen, TSA)^[8]。因此,肿瘤新抗原诱导的T细胞免疫反应不会受到中枢免疫耐受的影响,也不会导致自身免疫性疾病,具有高效的肿瘤杀伤特性和良好的安全性^[9-10]。

越来越多的研究^[11-16]发现,免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitor, ICI)治疗后新抗原特异性T细胞的激活和扩增是患者获得临床疗效的关键。2013年, VAN ROOIJ等^[11]通过对1例伊匹单

抗(ipilimumab)治疗后肿瘤消退的晚期黑色素瘤患者进行外显子测序发现,T细胞对两种新抗原的识别是伊匹单抗产生临床疗效的关键。2014年发表在Nature上的一项研究^[12]通过基因组学和生物信息学的方法也证实:肿瘤特异性突变抗原是CTLA-4和PD-1抗体治疗中T细胞的作用靶点,新抗原特异性T细胞是发挥抗肿瘤作用的主要细胞。后续相关的多项研究^[13-16]也得出了类似的结论。还有研究^[17-21]发现,肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte, TIL)过继回输后,新抗原特异性T细胞在获得长期完全缓解的患者中发挥了关键作用,而肿瘤新抗原是TIL的主要作用靶点。因此,直接筛选或设计靶向肿瘤新抗原的T细胞用于ACT治疗是理想的免疫治疗方式之一,极具临床潜力^[22]。

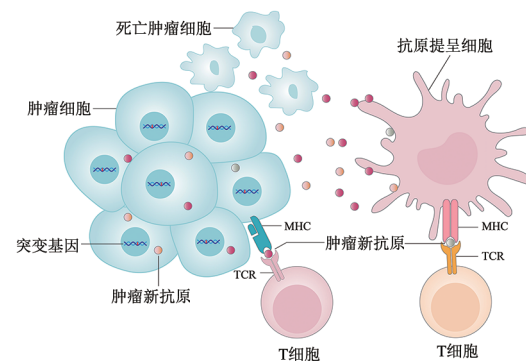


图1 肿瘤新抗原的产生与免疫应答示意图

2 新抗原特异性T细胞ACT治疗应用策略

目前,基于新抗原特异性T细胞ACT治疗常用的策略是从TIL中鉴定出新抗原特异性T细胞,大量扩增后回输患者。这一方法被ROSENBERG研究团队称为“标准TIL筛选方法”^[23](图2)。简而言之,对肿瘤组织与正常组织进行全外显子测序(whole-exome sequencing, WES),通过数据比对筛选出体细胞非同义突变,同时鉴定患者的人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)分型;对每个肿瘤样本进行RNA测序,以确定突变的表达状态;随后通过HLA亲和力评分、突变表位和相对应的野生表位与HLA亲和力对比、肿瘤变异等位基因分数与表达水平等条件逐步过滤后,筛选出候选新抗原表位合成多肽或串联微基因(tandem minigene, TMG)。与此同时,将获得的肿瘤组织剪切为1~2 mm³的小碎块,在体外用

大剂量的白细胞介素-2(interleukin-2, IL-2)对其进行刺激, 获得 TIL。将 TIL 与负载多肽或 TMG 的抗原提呈细胞(antigen-presenting cell, APC)共培

养, 通过检测 T 细胞的活化标志物, 如 OX-40、4-1BB、CD107a 及 IFN- γ 的表达情况筛选出新抗原特异性 T 细胞, 在体外大量扩增后回输给患者。

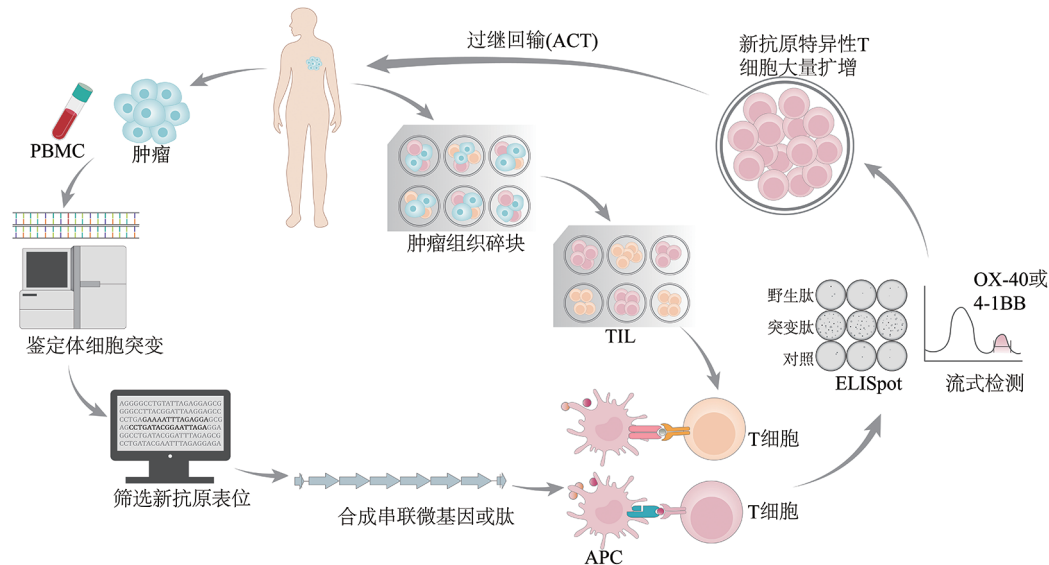


图2 从 TIL 中制备新抗原特异性 T 细胞进行 ACT 治疗示意图

3 新抗原特异性 T 细胞 ACT 治疗临床应用现状

采用“标准 TIL 筛选方法”筛选出新抗原特异性 T 细胞后进行 ACT 治疗已在多种实体肿瘤中获得显著疗效^[3-7]。2014 年, ROSENBERG 研究团队的 TRAN 等^[3]通过对 1 例转移性胆管癌患者回输特异性靶向 ErbB2 相互作用蛋白(ErbB2 interacting protein, ERBB2IP)的 CD4⁺TIL, 使患者肿瘤靶病灶缩小并实现了疾病的长期稳定。2016 年, 该研究团队从 1 例转移性结肠癌患者的 TIL 中鉴定出靶向 KRAS G12D 的 CD8⁺T 细胞, 将其扩增、回输患者, 经治疗后患者的肿瘤消退^[5]。2018 年, 他们从 TIL 中筛选出的新抗原特异性 T 细胞联合 ICI 治疗, 使 1 例转移性乳腺癌患者的病灶持久完全消退^[7]。这些研究结果的报道, 使人们认识到新抗原特异性 T 细胞 ACT 治疗的巨大潜力。

目前, 基于新抗原特异性 T 细胞 ACT 治疗的临床试验正在如火如荼地开展。截至 2022 年 3 月 1 日, 在国际临床试验注册平台(<http://www.clinicaltrials.gov>)上注册的新抗原特异性 T 细胞治疗实体瘤相关的临床试验共计 16 项(关键词: neoantigen, T cells)。其中, 美国共开展了 9 项, 位居首位; 中国开展了 5 项, 位列第二。这些临床研究涵盖了常见的实体肿瘤, 绝大部分是针对标准治疗方案失败的晚期肿瘤。其中有 7 项研究在新抗原特异性 T 细胞 ACT 治疗的基础上联合使用 ICI。然而这些临床研究仍处于 I 期或 II 期, 尚无进入 III 期的临

床研究报道。

4 新抗原特异性 T 细胞 ACT 治疗面临的挑战

4.1 肿瘤新抗原预测

目前, 肿瘤新抗原的预测主要依赖于二代测序(next-generation sequencing, NGS)技术和生物信息学分析技术。随着测序技术和生物信息学技术的快速发展, 肿瘤新抗原的预测在实践中不断完善, 然而仍有一些问题尚未解决: (1) 对于除黑色素瘤以外的大多数上皮源性肿瘤, 用于测序的肿瘤标本通常通过穿刺或切除转移灶获得。在穿刺或切除前, 很难评估肿瘤病灶中基质细胞、血管、坏死组织所占比例和存在部位, 而这些因素都会影响用于测序的肿瘤 DNA 和 RNA 的质量和纯度, 可能导致新抗原预测失败。(2) 对于大部分实体肿瘤患者, 通常只能获得极少的肿瘤标本进行新抗原的预测。由于肿瘤具有异质性, 用于新抗原预测的肿瘤标本可能无法反映肿瘤患者完整的基因突变信息^[24]。(3) 目前常用的测序技术仅对单核苷酸突变的测定较为准确, 而对插入、缺失、剪接位点突变、基因融合等突变的检测能力有限^[25-26]。(4) 现有的预测算法和模型尚不成熟, 准确性相对较低^[27-28], 如只能预测部分 HLA-I 类抗原, 难以预测 HLA-II 类抗原^[9, 29]; 现有数据库容量不足, 仅有部分 HLA 等位基因的亲和力数据; 基于 HLA 亲和力表位预测方法无法纳入肽加工、提呈等影响免疫原性的因素^[9]。(5) 不同的技术平台有各自的算法, 缺乏统

一标准及大规模临床研究的验证等。

4.2 新抗原特异性T细胞筛选

尽管已有大量研究致力于探索新的方法,以期从TIL^[30-33]或外周血淋巴细胞(peripheral blood lymphocyte, PBL)^[34-39]中筛选新抗原特异性T细胞用于ACT治疗,然而新抗原特异性T细胞的筛选仍具挑战。影响新抗原特异性T细胞筛选及ACT治疗效果的因素主要包括以下几个方面:(1)对于除黑色素瘤以外的大多数上皮源性肿瘤,肿瘤突变负荷较低,新抗原特异性T细胞数量较少,筛选新抗原特异性T细胞难度较大^[40-41],从PBL中筛选新抗原特异性细胞则更具挑战性^[35,42]。(2)由于肿瘤微环境的免疫抑制状态,肿瘤患者体内可自发识别新抗原的T细胞有限,导致新抗原特异性T细胞筛选困难及ACT治疗效果欠佳^[43-44]。(3)由于肿瘤异质性,某些新抗原仅在肿瘤中亚克隆表达,如未能筛选到靶向这些新抗原的T细胞,则可能导致肿瘤免疫逃逸^[45-46]。总体上,对于新抗原特异性T细胞的筛选,目前尚缺乏高效、便捷的方法,也缺乏相应的标准化体系。

4.3 新抗原特异性T细胞扩增

由于肿瘤微环境中持续的抗原暴露与免疫抑制因素的影响,来源于TIL的新抗原特异性T细胞多是高分化或终末效应T细胞,表达抑制性或耗竭相关的分子^[47-49]。与分化程度较低的新抗原特异性T细胞相比,这些高分化、“衰老”的新抗原特异性T细胞过继回输后抗肿瘤疗效有限^[50-52]。另外,这些高分化的T细胞增殖潜能受限,在体外扩增足够数量的T细胞用于治疗时,由于“年轻”的非肿瘤反应性T细胞过度增殖,新抗原特异性T细胞的比例会显著下降,影响最终疗效^[33]。此外,扩增的新抗原特异性T细胞在回输患者前,通常没有进行充分检测,而在最后的快速扩增培养过程中,经常出现新抗原特异性T细胞的丢失现象^[53]。因此,临床医生并不知晓输注的细胞中到底有多少新抗原特异性T细胞,给新抗原特异性T细胞ACT治疗带来了不确定性。

4.4 新抗原特异性T细胞ACT治疗生产周期与成本

新抗原特异性T细胞ACT治疗的个体化程度很高,其制备流程从肿瘤标本采集、测序、生物信息学分析、多肽或TMG合成、TIL培养、新抗原特异性T细胞筛选及扩增,一般需要3~4个月,很多晚期肿瘤患者在等待过程中可能失去治疗机会。因此,招募合适的肿瘤患者接受ACT治疗并进一步缩短个体化ACT治疗的新抗原特异性T细胞制备周期是其亟待解决的问题。此外,高度个体化的新抗原特异性T细胞ACT治疗其制备成本十分高昂,对肿瘤患者家庭和国家卫生系统来说都是一个巨大的挑战。目前,已有

数款同样属于个体化治疗的CAR-T细胞疗法获批上市,其定价多超过200万元。个体化的新抗原特异性T细胞ACT治疗的成本远高于CAR-T细胞疗法,其市场价格将会是另一“天文数字”。漫长的制备周期和高昂的成本将会在很大程度上限制个体化新抗原特异性T细胞ACT治疗的临床应用。

5 未来研究方向

5.1 优化新抗原预测

肿瘤新抗原预测的优化和改进可增加输注T细胞靶向肿瘤细胞的机会。作为一种依赖于NGS和生物信息学分析,尤其是预测算法和模型的新技术,新抗原预测还有很大的进步空间。优化测序技术可检测出基因融合、剪接变体、缺失、插入等突变类型,增加可靶向的新抗原数量,这对于突变负荷较低的肿瘤尤为重要^[54]。在新抗原的预测算法中,整合内源性肽的加工和提呈的影响因素有助于更精确地预测出最有可能通过MHC I类分子提呈在细胞表面的新表位^[9]。质谱法(mass spectrometry, MS)的使用使得优化新抗原的预测算法成为可能^[55]。使用特定单等位基因HLA表达细胞系提呈的肽训练的算法更好地整合了内源性抗原加工和提呈过程^[56-57]。通过增加训练的HLA等位基因的数量,还可以进一步优化这些基于MS的算法^[58]。其他影响预测表位免疫原性的因素包括基因表达的总体模式、RNA剪接、蛋白酶体加工等^[59]。通过进一步研究加深对这些因素的理解,对基于新抗原的疗法中的免疫原性优化非常重要,而将这些变量纳入预测算法将使设计更有效的治疗方法成为可能。

由于肽与HLA II类分子结合的混杂程度相对较高,现有的预测算法多针对HLA I类分子抗原^[60]。然而,CD4⁺ T细胞对于记忆性CD8⁺ T细胞的形成必不可少^[61],且CD4⁺ T细胞在新抗原诱导的免疫反应中具有重要作用^[62-65],因此,已有大量的研究致力于开发新的工具预测HLA II类抗原。自2019年以来,伴随着新的预测算法的开发,如MAPTAC^[66]、MixMHC2pred^[67]以及NetMHC II pan算法的更新^[68],HLA II类新抗原预测取得了长足进步。此外,组学大数据、肿瘤免疫大数据和人工智能算法的应用,将极大地推动肿瘤新抗原预测的发展,是未来研究的重要方向。

5.2 增加新抗原特异性T细胞数量和多样性

理论上,筛选到数量更多、种类更丰富的新抗原特异性T细胞进行ACT治疗可改善ACT治疗效果。然而,目前尚缺乏通过改善新抗原特异性T细胞筛选效率来增强ACT治疗效果的相关研究。研究^[27,69-74]显示,新抗原疫苗或肿瘤裂解物疫苗可诱导新抗原特

异性T细胞反应,疫苗免疫后不仅能增加原有的新抗原特异性T细胞,还能诱发新的新抗原特异性T细胞(图3)。最近,还发现疫苗免疫后可诱导表位扩散,新抗原特异性T细胞出现克隆的多样化(图3)^[75-76]。这些临床研究不仅展示了基于新抗原个体化免疫治疗的巨大潜力,也提示了发现新抗原特异性T细胞筛

选及ACT治疗的新思路:使用新抗原疫苗或肿瘤裂解物疫苗免疫后,从外周血中筛选新抗原特异T细胞用于ACT治疗。相对于新抗原疫苗,肿瘤裂解物疫苗不仅制备快速、简便,含有更多的免疫原表位,还可促进并确保CD4⁺T和CD8⁺T细胞的平衡激活^[77]。

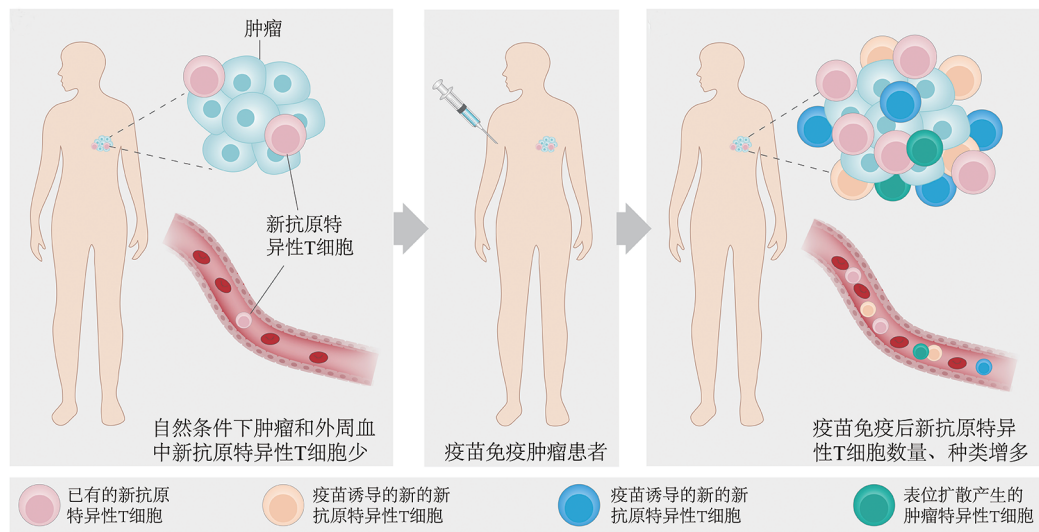


图3 疫苗免疫诱导新抗原特异性免疫示意图

基于筛选新抗原特异性T细胞所面临的困境以及上述临床研究结果的启发,笔者提出了使用肿瘤裂解物疫苗免疫后从外周血中筛选新抗原特异性T细胞用于ACT治疗这一研究设想(图4)。采用上述研究设想,理论上可通过改善新抗原特异性T细胞筛选效率来增强ACT治疗效果:(1)预先使用肿瘤裂解物疫苗免疫,可改善患者的免疫抑制状态,增加已有的新抗原特异性T细胞并诱导新的新抗原特异性T细胞,不仅有利于高效、便捷地筛选出新抗原特异性T细胞,还能筛选出更多的新抗原特异性T细胞用于ACT治疗,防止肿瘤免疫逃逸,提高ACT治疗效果;(2)

肿瘤裂解物疫苗制备简便、快捷,预先使用疫苗免疫,患者能尽早接受疫苗治疗,为后续新抗原特异性T细胞ACT治疗赢得时间;(3)使用肿瘤裂解物疫苗免疫后从外周血中筛选新抗原特异T细胞用于ACT治疗这一研究策略,实质是疫苗和ACT两种治疗方式的联合,患者更有可能从中获益。目前,笔者所在课题组已开展相关研究以验证这一研究设想,既可改善新抗原特异性T细胞筛选效率从而进一步提高ACT治疗效果,又可最大程度为肿瘤患者缩短制备和治疗周期,赢得治疗先机,为后续临床试验的开展奠定基础。

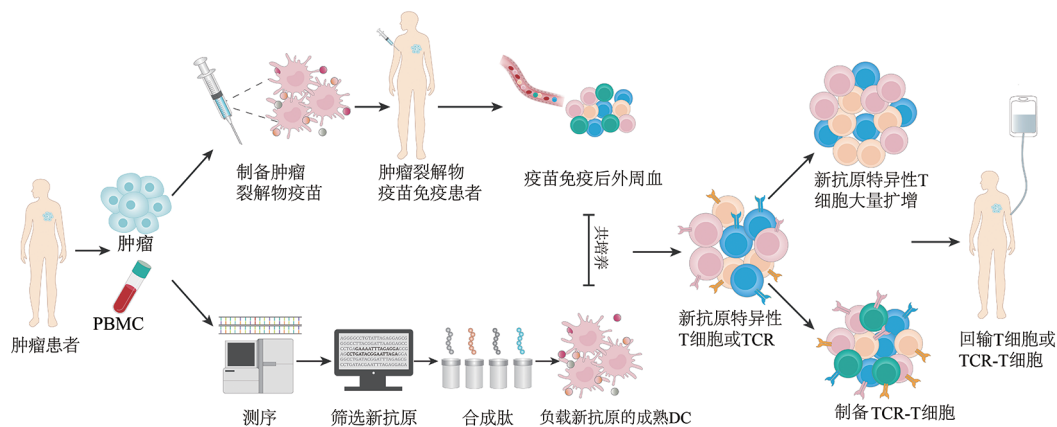


图4 疫苗免疫后从PBMC中筛选新抗原特异性T细胞用于ACT治疗的示意图

5.3 防止新抗原特异性T细胞过度分化或死亡

筛选出新抗原特异性的T细胞后,通过鉴定新抗原特异性T细胞的TCR,转染患者自身的外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cell,PBMC)进行ACT治疗,可有效改善在体外大量扩增TIL时非肿瘤反应性T细胞对新抗原特异性T细胞的影响。目前,ROSENBERG团队已开展相关的临床研究进行探索(NCT03412877)。同时,采用基因工程策略,使研究者可选择所需的T细胞类型,避免输入高分化或调节性T细胞而影响疗效。

另外,还可通过诱导的多能干细胞(induced pluripotent stem cell,iPSC)来产生分化程度较低的新抗原特异性T细胞^[78-79]。“Yamanaka因子”的瞬时表达可以从新抗原特异性TIL中产生iPSC克隆,这些iPSC克隆可以无限扩增,也可分化为保留原始抗原特异性的未成熟T细胞(CD3⁺CD4⁺CD8⁻或CD3⁺CD4⁻CD8⁺淋巴细胞)^[2]。VIZCARDO等^[79]开发了一种新型的三维胸腺器官培养系统,能够使iPSC衍生的未成熟T细胞系进一步分化为新抗原特异性T细胞,这些T细胞与幼稚T细胞有相似之处,并在小鼠肿瘤模型中显示出良好的抗肿瘤作用。YAMAMOTO等^[80]发现,ACT治疗时输注的T细胞所表达的Fas会与肿瘤细胞表面的FasL相互作用,介导T细胞分化和凋亡,从而影响疗效。他们通过利用过表达Fas突变体充当显性负受体(dominant negative receptor,DNR)的方式破坏Fas-FasL相互作用,使T细胞免受破坏从而提高ACT治疗效果。然而,上述两种方法仅在临床前研究中取得突破,尚未在临床研究中开展。

5.4 缩短生产周期和降低生产成本

目前,新抗原特异性T细胞ACT治疗多在标准治疗失败的晚期肿瘤患者中开展。由于新抗原特异性T细胞制备工艺复杂、耗时长,部分肿瘤患者在等待过程中即出现疾病进展甚至死亡,失去治疗机会。招募早期肿瘤患者参加基于新抗原特异性T细胞的ACT疗法或许可以改善患者预后。患者诊断明确后,即获取肿瘤组织进行新抗原预测及新抗原特异性T细胞/TCR鉴定,一旦需要进行T细胞ACT治疗时,能够尽快为患者制备可用的细胞产品。另外,由于化疗、放疗和ICI的使用可能导致T细胞过度分化,在肿瘤诊断初期分离自体T细胞或TIL可以获得高质量、分化程度较低的T细胞。研究^[81]表明,应在实施ICI或其他免疫疗法之前招募患者,以确保在肿瘤切除之前TCR库不会被耗尽。

尽管驱动突变很少产生肿瘤新抗原,但驱动突变产生的肿瘤新抗原是免疫治疗最理想的靶点^[8]。

因为驱动突变产生的新抗原在肿瘤细胞中克隆性表达,设计靶向这种新抗原的T细胞并对患者行过继输注,有可能实现完全清除肿瘤细胞,防止肿瘤免疫逃逸。KRAS G12D突变能够产生与HLA*08:02以高亲和力结合的抗原^[82]。TRAN等^[5]从1例转移性结肠癌患者的TIL中筛选出靶向KRAS G12D的CD8⁺T细胞,将其体外扩增后回输患者,发现患者肺部转移病灶全部消失。研究^[42]发现,KRAS G12D突变产生的新抗原并非仅出现在个别患者体内,而会出现在不同患者体内。因此,通过设计靶向KRAS G12D的“货架产品”TCR转染自体T细胞后行过继回输,可显著缩短制备时间和降低成本,给KRAS G12D突变的患者提供快速有效的治疗方案。总之,开发靶向驱动突变产生的新抗原T细胞ACT治疗可能成为未来发展的一个重要方向。

5.5 探索联合治疗方式

将其他疗法(如ICI、肿瘤疫苗等)与个体化新抗原特异性T细胞ACT治疗进行联合也是未来ACT治疗发展的重要方向之一^[2]。如前所述,来源于TIL的新抗原特异性T细胞大部分是“耗竭”T细胞,这些T细胞高表达PD-1、CTLA-4、LAG3和TIM3等抑制性分子^[83]。ICI联合新抗原特异性T细胞ACT治疗可保护输注的T细胞免受肿瘤微环境中抑制性信号的影响。ZACHARAKIS等^[7]采用靶向肿瘤新抗原的TIL联合帕博利珠单抗(pembrolizumab)方案治疗1例多线治疗失败的晚期乳腺癌患者,使患者获得了长期完全缓解。在目前开展的基于新抗原特异性T细胞ACT治疗的16项临床研究中,有7项研究在新抗原特异性T细胞ACT治疗的基础上联合使用ICI。

作为个体化免疫治疗的另一重要研究方向,新抗原疫苗或肿瘤裂解物疫苗在部分实体肿瘤中取得显著疗效,并显示出良好的安全性^[84-85]。疫苗免疫除可增加TIL和PBL中新抗原特异性T细胞的数量和种类^[27,69-74],有利于新抗原特异性T细胞筛选,还可增强T细胞对肿瘤抗原的识别,避免因为新抗原的交叉提呈不佳或因肿瘤细胞缺乏抗原加工、提呈的能力,从而导致输注的T细胞无法有效识别肿瘤。理论上,将个体化肿瘤疫苗和新抗原特异性T细胞ACT治疗以及ICI进行联合是理想的治疗方式,可以形象地理解联合治疗为提供了肿瘤靶标,增多、增强了抗肿瘤士兵,同时阻断了抑制信号,可使输注的T细胞更好地发挥抗肿瘤作用(图5)。

6 结语

新抗原特异性T细胞ACT治疗的研发和应用还存在诸多的挑战,目前仍需有效的策略来提高新抗

原预测准确性、改善新抗原特异性T细胞的筛选效率、减少输注T细胞的耗竭及规避免疫抑制因素的影响等。随着对肿瘤免疫的深入理解,对新抗原预测研究的持续深入,临床研究数据的不断累积,特别是新的技术、新的免疫治疗方法的不断出现,新抗原特

异性T细胞ACT治疗的研发脚步正在不断加快,预计未来几年将是新抗原特异性T细胞产品上市的重要时期。新抗原特异性T细胞ACT的使用很可能成为转移性实体瘤治愈性治疗的“圣杯”,切实为广大肿瘤患者带来福音。

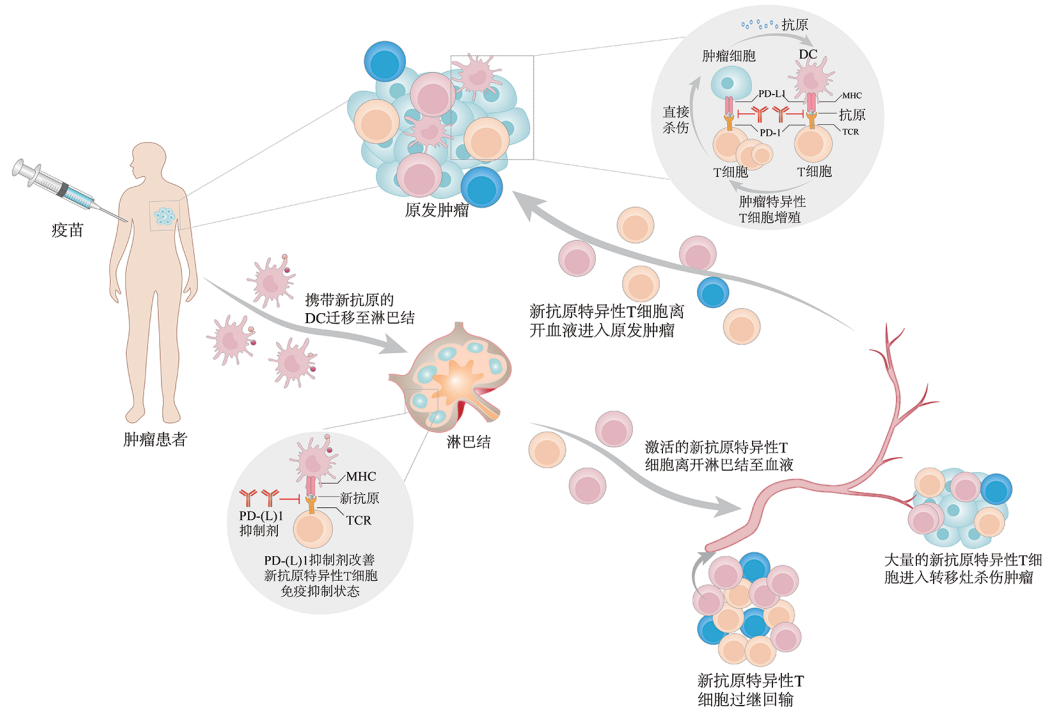


图5 疫苗与ICI联合新抗原特异性T细胞ACT治疗的抗肿瘤机制示意图

[参考文献]

- [1] CHAN J D, LAI J Y, SLANEY C Y, *et al.* Cellular networks controlling T cell persistence in adoptive cell therapy[J]. *Nat Rev Immunol*, 2021, 21(12): 769-784. DOI:10.1038/s41577-021-00539-6.
- [2] YAMAMOTO T N, KISHTON R J, RESTIFO N P. Developing neoantigen-targeted T cell-based treatments for solid tumors[J]. *Nat Med*, 2019, 25(10): 1488-1499. DOI:10.1038/s41591-019-0596-y.
- [3] 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.
- [4] STEVANOVIĆ S, DRAPER L M, LANGHAN M M, *et al.* Complete regression of metastatic cervical cancer after treatment with human papillomavirus-targeted tumor-infiltrating T cells[J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(14): 1543-1550. DOI:10.1200/JCO.2014.58.9093.
- [5] 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. DOI:10.1056/NEJMoa1609279.
- [6] STEVANOVIĆ S, PASETTO A, HELMAN S R, *et al.* Landscape of immunogenic tumor antigens in successful immunotherapy of virally induced epithelial cancer[J]. *Science*, 2017, 356(6334): 200-205. DOI:10.1126/science.aak9510.
- [7] 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.
- [8] SCHUMACHER T N, SCHREIBER R D. Neoantigens in cancer immunotherapy[J]. *Science*, 2015, 348(6230): 69-74. DOI:10.1126/science.aaa4971.
- [9] 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.
- [10] LANG F, SCHRÖRS B, LÖWER M, *et al.* Identification of neoantigens for individualized therapeutic cancer vaccines[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2022, 21(4): 261-282. DOI:10.1038/s41573-021-00387-y.
- [11] 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/OL]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(32): e439-e442[2022-06-04]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24043743/> DOI:10.1200/JCO.2012.47.7521.
- [12] GUBIN M M, ZHANG X L, SCHUSTER H, *et al.* Checkpoint blockade cancer immunotherapy targets tumour-specific mutant antigens[J]. *Nature*, 2014, 515(7528): 577-581. DOI: 10.1038/nature13988.
- [13] LE D T, URAM J N, WANG H, *et al.* PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(26): 2509-

2520. DOI:10.1056/NEJMoa1500596.
- [14] HUGO W, ZARETSKY J M, SUN L, *et al.* Genomic and transcriptomic features of response to anti-PD-1 therapy in metastatic melanoma[J]. *Cell*, 2016, 165(1): 35-44. DOI:10.1016/j.cell.2016.02.065.
- [15] RIAZ N, HAVEL J J, MAKAROV V, *et al.* Tumor and microenvironment evolution during immunotherapy with nivolumab[J]. *Cell*, 2017, 171(4): 934-949.e16. DOI:10.1016/j.cell.2017.09.028.
- [16] SUBUDHI S K, VENCE L, ZHAO H, *et al.* Neoantigen responses, immune correlates, and favorable outcomes after ipilimumab treatment of patients with prostate cancer[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2020, 12(537): eaaz3577 [2022-06-04]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32238575/>. DOI:10.1126/scitranslmed.aaz3577.
- [17] HUANG J P, EL-GAMIL M, DUDLEY M E, *et al.* T cells associated with tumor regression recognize frameshifted products of the CDKN2A tumor suppressor gene locus and a mutated HLA class I gene product [J]. *J Immunol*, 2004, 172(10): 6057-6064. DOI:10.4049/jimmunol.172.10.6057.
- [18] ZHOU J H, DUDLEY M E, ROSENBERG S A, *et al.* Persistence of multiple tumor-specific T-cell clones is associated with complete tumor regression in a melanoma patient receiving adoptive cell transfer therapy[J]. *J Immunother*, 2005, 28(1): 53-62. DOI:10.1097/0002371-200501000-00007.
- [19] LU Y C, YAO X, LI Y F, *et al.* Mutated PPP1R3B is recognized by T cells used to treat a melanoma patient who experienced a durable complete tumor regression[J]. *J Immunol*, 2013, 190(12): 6034-6042. DOI:10.4049/jimmunol.1202830.
- [20] LU Y C, YAO X, CRYSTAL J S, *et al.* Efficient identification of mutated cancer antigens recognized by T cells associated with durable tumor regressions[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(13): 3401-3410. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-14-0433.
- [21] PRICKETT T D, CRYSTAL J S, COHEN C J, *et al.* Durable complete response from metastatic melanoma after transfer of autologous T cells recognizing 10 mutated tumor antigens[J]. *Cancer Immunol Res*, 2016, 4(8): 669-678. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-15-0215.
- [22] LI Q, DING Z Y. The ways of isolating neoantigen-specific T cells [J/OL]. *Front Oncol*, 2020, 10: 1347 [2022-06-04]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32850430/>. DOI:10.3389/fonc.2020.01347.
- [23] ROSENBERG S A, RESTIFO N P. Adoptive cell transfer as personalized immunotherapy for human cancer[J]. *Science*, 2015, 348(6230): 62-68. DOI:10.1126/science.aaa4967.
- [24] BURRELL R A, MCGRANAHAN N, BARTEK J, *et al.* The causes and consequences of genetic heterogeneity in cancer evolution[J]. *Nature*, 2013, 501(7467): 338-345. DOI:10.1038/nature12625.
- [25] 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.
- [26] YANG W, LEE K W, SRIVASTAVA R M, *et al.* Immunogenic neoantigens derived from gene fusions stimulate T cell responses [J]. *Nat Med*, 2019, 25(5): 767-775. DOI: 10.1038/s41591-019-0434-2.
- [27] 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]. *Science*, 2015, 348(6236): 803-808. DOI:10.1126/science.aaa3828.
- [28] VITIELLO A, ZANETTI M. Neoantigen prediction and the need for validation[J]. *Nat Biotechnol*, 2017, 35(9): 815-817. DOI: 10.1038/nbt.3932.
- [29] PETERS B, NIELSEN M, SETTE A. T cell epitope predictions[J]. *Annu Rev Immunol*, 2020, 38: 123-145. DOI: 10.1146/annurev-immunol-082119-124838.
- [30] PARKHURST M, GROS A, PASETTO A, *et al.* Isolation of T-cell receptors specifically reactive with mutated tumor-associated antigens from tumor-infiltrating lymphocytes based on CD137 expression[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(10): 2491-2505. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-2680.
- [31] SELIKTAR-OFIR S, MERHAVI-SHOHAM E, ITZHAKI O, *et al.* Selection of shared and neoantigen-reactive T cells for adoptive cell therapy based on CD137 separation[J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1211. DOI:10.3389/fimmu.2017.01211.
- [32] GROS A, ROBBINS P F, YAO X, *et al.* PD-1 identifies the patient-specific CD8⁺ tumor-reactive repertoire infiltrating human tumors [J]. *J Clin Invest*, 2014, 124(5): 2246-2259. DOI:10.1172/JCI73639.
- [33] YOSSEF R, TRAN E, DENIGER D C, *et al.* Enhanced detection of neoantigen-reactive T cells targeting unique and shared oncogenes for personalized cancer immunotherapy[J/OL]. *JCI Insight*, 2018, 3(19): e122467 [2022-06-04]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30282837/>. DOI:10.1172/jci.insight.122467.
- [34] GROS A, PARKHURST M R, TRAN E, *et al.* Prospective identification of neoantigen-specific lymphocytes in the peripheral blood of melanoma patients[J]. *Nat Med*, 2016, 22(4): 433-438. DOI:10.1038/nm.4051.
- [35] CAFRI G, YOSSEF R, PASETTO A, *et al.* Memory T cells targeting oncogenic mutations detected in peripheral blood of epithelial cancer patients[J/OL]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 449 [2022-06-04]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30683863/>. DOI: 10.1038/s41467-019-08304-z.
- [36] 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.
- [37] WÖFL M, GREENBERG P D. Antigen-specific activation and cytokine-facilitated expansion of naive, human CD8⁺ T cells[J]. *Nat Protoc*, 2014, 9(4): 950-966. DOI:10.1038/nprot.2014.064.
- [38] MARTIN S D, WICK D A, NIELSEN J S, *et al.* A library-based screening method identifies neoantigen-reactive T cells in peripheral blood prior to relapse of ovarian cancer[J/OL]. *OncoImmunology*, 2018, 7(1): e1371895 [2022-06-04]. <http://dx.doi.org/10.1080/2162402X.2017.1371895>. DOI:10.1080/2162402X.2017.1371895.
- [39] COSTA-NUNES C, CACHOT A, BOBISSE S, *et al.* High-throughput screening of human tumor antigen-specific CD4 T cells, including neoantigen-reactive T cells[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(14): 4320-4331. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-18-1356.
- [40] VOGELSTEIN B, PAPADOPOULOS N, VELCULESCU V E, *et al.* Cancer genome landscapes[J]. *Science*, 2013, 339(6127): 1546-1558. DOI:10.1126/science.1235122.
- [41] LAWRENCE M S, STOJANOV P, POLAK P, *et al.* Mutational heterogeneity in cancer and the search for new cancer-associated

- genes[J]. *Nature*, 2013, 499(7457): 214-218. DOI: 10.1038/nature12213.
- [42] 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.
- [43] 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.
- [44] KARPANEN T, OLWEUS J. The potential of donor T-cell repertoires in neoantigen-targeted cancer immunotherapy[J/OL]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1718 [2022-06-04]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29321773/>. DOI:10.3389/fimmu.2017.01718.
- [45] MCGRANAHAN N, SWANTON C. Clonal heterogeneity and tumor evolution: past, present, and the future[J]. *Cell*, 2017, 168(4): 613-628. DOI:10.1016/j.cell.2017.01.018.
- [46] MCGRANAHAN N, FURNESS A J S, ROSENTHAL R, *et al.* Clonal neoantigens elicit T cell immunoreactivity and sensitivity to immune checkpoint blockade[J]. *Science*, 2016, 351(6280): 1463-1469. DOI:10.1126/science.aaf1490.
- [47] AHMADZADEH M, JOHNSON L A, HEEMSKERK B, *et al.* Tumor antigen-specific CD8 T cells infiltrating the tumor express high levels of PD-1 and are functionally impaired[J]. *Blood*, 2009, 114(8): 1537-1544. DOI:10.1182/blood-2008-12-195792.
- [48] SCHEPER W, KELDERMAN S, FANCHI L F, *et al.* Low and variable tumor reactivity of the intratumoral TCR repertoire in human cancers[J]. *Nat Med*, 2019, 25(1): 89-94. DOI: 10.1038/s41591-018-0266-5.
- [49] SIMONI Y, BECHT E, FEHLINGS M, *et al.* Bystander CD8⁺ T cells are abundant and phenotypically distinct in human tumour infiltrates[J]. *Nature*, 2018, 557(7706): 575-579. DOI: 10.1038/s41586-018-0130-2.
- [50] KLEBANOFF C A, GATTINONI L, TORABI-PARIZI P, *et al.* Central memory self/tumor-reactive CD8⁺ T cells confer superior antitumor immunity compared with effector memory T cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(27): 9571-9576. DOI:10.1073/pnas.0503726102.
- [51] HINRICHS C S, BORMAN Z A, GATTINONI L, *et al.* Human effector CD8⁺ T cells derived from naive rather than memory subsets possess superior traits for adoptive immunotherapy[J]. *Blood*, 2010, 117(3): 808-814. DOI:10.1182/blood-2010-05-286286.
- [52] GATTINONI L, LUGLI E, JI Y, *et al.* A human memory T cell subset with stem cell-like properties[J]. *Nat Med*, 2011, 17(10): 1290-1297. DOI:10.1038/nm.2446.
- [53] PARKHURST M R, ROBBINS P F, TRAN E, *et al.* Unique neoantigens arise from somatic mutations in patients with gastrointestinal cancers[J]. *Cancer Discov*, 2019, 9(8): 1022-1035. DOI:10.1158/2159-8290.CD-18-1494.
- [54] 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.
- [55] JURTZ V, PAUL S, ANDREATTA M, *et al.* NetMHCpan-4.0: improved peptide-MHC class I interaction predictions integrating eluted ligand and peptide binding affinity data[J]. *J Immunol*, 2017, 199(9): 3360-3368. DOI:10.4049/jimmunol.1700893.
- [56] ABELIN J G, KESKIN D B, SARKIZOVA S, *et al.* Mass spectrometry profiling of HLA-associated peptidomes in monoallelic cells enables more accurate epitope prediction[J]. *Immunity*, 2017, 46(2): 315-326. DOI:10.1016/j.immuni.2017.02.007.
- [57] BULIK-SULLIVAN B, BUSBY J, PALMER C D, *et al.* Deep learning using tumor HLA peptide mass spectrometry datasets improves neoantigen identification[J/OL]. *Nat Biotechnol*, 2018: 2018Dec17 [2022-06-04]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30556813/>. DOI:10.1038/nbt.4313.
- [58] SARKIZOVA S, KLAEGER S, LE P M, *et al.* A large peptidome dataset improves HLA class I epitope prediction across most of the human population[J]. *Nat Biotechnol*, 2020, 38(2): 199-209. DOI:10.1038/s41587-019-0322-9.
- [59] SCHUMACHER T N, SCHEPER W, KVISTBORG P. Cancer neoantigens[J]. *Annu Rev Immunol*, 2019, 37: 173-200. DOI: 10.1146/annurev-immunol-042617-053402.
- [60] NIELSEN M, LUND O, BUUS S, *et al.* MHC class II epitope predictive algorithms[J]. *Immunology*, 2010, 130(3): 319-328. DOI: 10.1111/j.1365-2567.2010.03268.x.
- [61] LAIDLAW B J, CRAFT J E, KAECH S M. The multifaceted role of CD4(+) T cells in CD8(+) T cell memory[J]. *Nat Rev Immunol*, 2016, 16(2): 102-111. DOI:10.1038/nri.2015.10.
- [62] 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 [2022-06-04]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32938627/>. DOI: 10.1136/jitc-2019-000421.
- [63] OH D Y, KWEK S S, RAJU S S, *et al.* Intratumoral CD4⁺ T cells mediate anti-tumor cytotoxicity in human bladder cancer[J]. *Cell*, 2020, 181(7): 1612-1625. DOI:10.1016/j.cell.2020.05.017.
- [64] BRIGHTMAN S E, NARADIKIAN M S, MILLER A M, *et al.* Harnessing neoantigen specific CD4 T cells for cancer immunotherapy[J]. *J Leukoc Biol*, 2020, 107(4): 625-633. DOI: 10.1002/JLB.SRI0220-603RR.
- [65] 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]. *Cell*, 2021, 184(25): 6101-6118. DOI:10.1016/j.cell.2021.11.007.
- [66] ABELIN J G, HARJANTO D, MALLOY M, *et al.* Defining HLA-II ligand processing and binding rules with mass spectrometry enhances cancer epitope prediction[J]. *Immunity*, 2019, 51(4): 766-779. DOI:10.1016/j.immuni.2019.08.012.
- [67] RACLE J, MICHAUX J, ROCKINGER G A, *et al.* Robust prediction of HLA class II epitopes by deep motif deconvolution of immunopeptidomes[J]. *Nat Biotechnol*, 2019, 37(11): 1283-1286. DOI:10.1038/s41587-019-0289-6.
- [68] REYNISSON B, BARRA C, KAABINEJADIAN S, *et al.* Improved prediction of MHC II antigen presentation through integration and motif deconvolution of mass spectrometry MHC eluted ligand data [J]. *J Proteome Res*, 2020, 19(6): 2304-2315. DOI: 10.1021/acs.jproteome.9b00874.
- [69] TANYI J L, BOBISSE S, OPHIR E, *et al.* Personalized cancer

- vaccine effectively mobilizes antitumor T cell immunity in ovarian cancer[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2018, 10(436): eaao5931[2022-06-04]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29643231/>. DOI: 10.1126/scitranslmed.aao5931.
- [70] 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.
- [71] 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.
- [72] CHEN F J, ZOU Z Y, DU J, *et al.* Neoantigen identification strategies enable personalized immunotherapy in refractory solid tumors[J]. *J Clin Invest*, 2019, 129(5): 2056-2070. DOI: 10.1172/JCI99538.
- [73] HILF N, KUTTRUFF-COQUI S, FRENZEL K, *et al.* Actively personalized vaccination trial for newly diagnosed glioblastoma[J]. *Nature*, 2019, 565(7738): 240-245. DOI:10.1038/s41586-018-0810-y.
- [74] KESKIN D B, ANANDAPPA A J, SUN J, *et al.* Neoantigen vaccine generates intratumoral T cell responses in phase I b glioblastoma trial[J]. *Nature*, 2019, 565(7738): 234-239. DOI: 10.1038/s41586-018-0792-9.
- [75] 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. DOI:10.1038/s41591-020-01206-4.
- [76] OTT P A, HU-LIESKOVAN S, CHMIELOWSKI B, *et al.* A phase I b 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.
- [77] ALSPACH E, LUSSIER D M, MICELI A P, *et al.* MHC- II neoantigens shape tumour immunity and response to immunotherapy[J]. *Nature*, 2019, 574(7780): 696-701. DOI:10.1038/s41586-019-1671-8.
- [78] CROMPTON J G, SUKUMAR M, RESTIFO N P. Uncoupling T-cell expansion from effector differentiation in cell-based immunotherapy[J]. *Immunol Rev*, 2014, 257(1): 264-276. DOI: 10.1111/imr.12135.
- [79] VIZCARDO R, KLEMEN N D, RAFIQUUL ISLAM S M, *et al.* Generation of tumor antigen-specific iPSC-derived thymic emigrants using a 3D thymic culture system[J]. *Cell Rep*, 2018, 22(12): 3175-3190. DOI:10.1016/j.celrep.2018.02.087.
- [80] YAMAMOTO T N, LEE P H, VODNALA S K, *et al.* T cells genetically engineered to overcome death signaling enhance adoptive cancer immunotherapy[J]. *J Clin Invest*, 2019, 129(4): 1551-1565. DOI:10.1172/JCI121491.
- [81] MILLER B C, SEN D R, ABOSY R A, *et al.* Subsets of exhausted CD8⁺ T cells differentially mediate tumor control and respond to checkpoint blockade[J]. *Nat Immunol*, 2019, 20(3): 326-336. DOI: 10.1038/s41590-019-0312-6.
- [82] 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.
- [83] VAN DER LEUN A M, THOMMEN D S, SCHUMACHER T N. CD8⁺ T cell states in human cancer: insights from single-cell analysis[J]. *Nat Rev Cancer*, 2020, 20(4): 218-232. DOI: 10.1038/s41568-019-0235-4.
- [84] CRUNKHORN S. Neoantigen vaccine proven safe and immunogenic[J/OL]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19(12): 838 [2022-06-04]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33139898/>. DOI: 10.1038/d41573-020-00194-x.
- [85] 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] 2022-04-21

[修回日期] 2022-06-05

[本文编辑] 黄静怡,沈志超