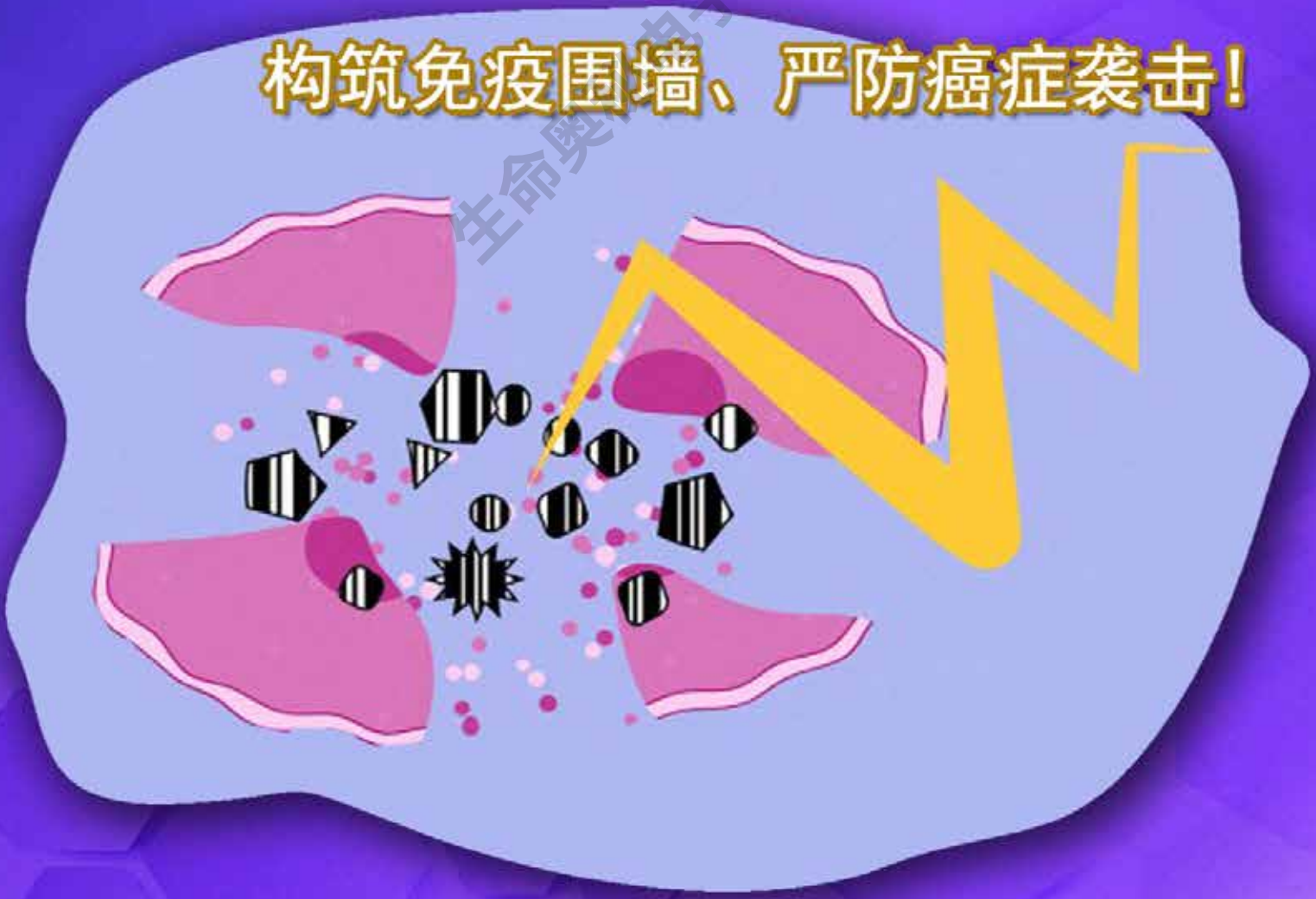
生命奥秘

总154期 2024/09
LIFEOMICS

癌症疫苗：

构筑免疫围墙、严防癌症袭击！



生命奥秘杂志

无奇不有
生命世界
你读生命
走进科学

生命奥秘电子杂志

目录 CONTENTS

专题：

癌症疫苗：构筑免疫围墙、严防癌症袭击！

前言.....2

一、如何构建癌症疫苗.....5

二、mRNA 引发癌症研究革命.....7

1. 多管齐下.....8

2. 加快研究.....9

三、癌症疫苗：免疫治疗的下一个前沿.....10

1. 预定义抗原.....13

2. 体外或原位匿名抗原.....23

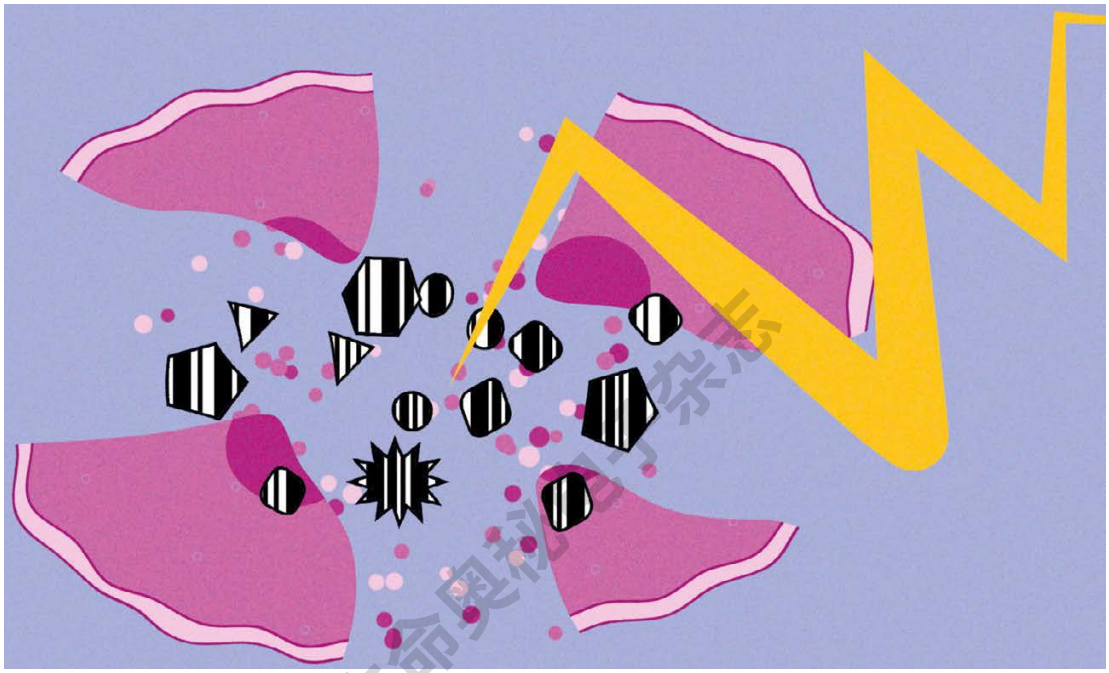
3. 展望.....35

生命奥秘电子杂志

本刊所载文章，版权归作者本人和本刊所有，如需转载，请注明作者及出处《生命奥秘》。

本刊提供的任何信息都不能作为医疗凭证和依据，仅供科研参考。

癌症疫苗：构筑免疫围墙、严防癌症袭击！



生命奥秘杂志

前言

一般来说，免疫接种是预防传染病的一种方法。疫苗含有蛋白质，免疫系统通过其识别病原体，如病毒，使身体在未来面对病毒可能的入侵做出强有力的反应。其实免疫系统不仅能抵御外来入侵者，还会对来自身体内部的威胁，如癌症细胞做出反馈。

虽然免疫系统可以不断检测、并破坏突变细胞（通常防止肿瘤发展），但是有些癌症细胞获得了特定机制，能够逃避免疫系统。为了有效治愈癌症，一些研究人员转而研究癌症疫苗。几十年来，研究人员一直致力开发针对癌症患者的疫苗，但收效甚微。幸运的是，有几个解决方案给研究人员带来了一些启发。

最初的癌症疫苗研发与传统疫苗相似，即将一种或几种通常由特定癌症表达的蛋白运到体内，从而激活免疫系统。然而随着在 21 世纪 10 年代中期，几个大型临床实验中共享的抗原疫苗的失败，研究人员转而研究更为个性化的方案。

其中最有希望的方案是基于 mRNA 技术的新抗原（neoantigens）疫苗。这种疫苗在新冠肺炎大流行期间的研发逐渐成熟。新抗原是一种由个体癌症特异性突变产生的蛋白。首先，研究人员对肿瘤样本进行基因测序；然后，计算机模型优选出几十种可能诱发强烈免疫反应的新型抗原。这些抗原可以通过 mRNA、DNA 或蛋白的形式被注射进体内。

其它方案则无需识别癌症抗原。如体外细胞疫苗是将肿瘤样本导入培养基中的树突状细胞（一种免疫细胞）。这些细胞在激活和指导杀伤肿瘤的 T 细胞的过程中起着至关重要的作用，它们会摄取肿瘤中的大量新抗原。然后，被激活的树突状细胞被递送进个体体内。

还有另外一种方法，与传统免疫接种方法迥然不同，即进行原位疫苗接种，整个过程发生在个体体内。这种方法不是采用注射的方式递送抗原，而是充分利用肿瘤中存在的抗原。研究人员采用放射疗法或病毒来杀死癌症细胞，局部释放新抗原。与此同时，他们给病人用药，激活树突状细胞，从而使其摄取这些新抗原并诱发免疫反应。

生命奥秘电子杂志

临床试验的不断推进将凸显上述每种方法的优点。除了功效外，生产成本等因素也将影响疫苗的实际临床应用。但是，无论采用哪种方法，单独采用疫苗技术可能都不足以使免疫系统突破肿瘤的防御机制——许多正在进行中的试验将疫苗与增强 T 细胞功能的药物结合使用。随着几项早期试验取得的令人鼓舞的成果，肿瘤学家对免疫疗法即将带来的变革性进展更加乐观。

生命奥秘电子杂志
开启阅读

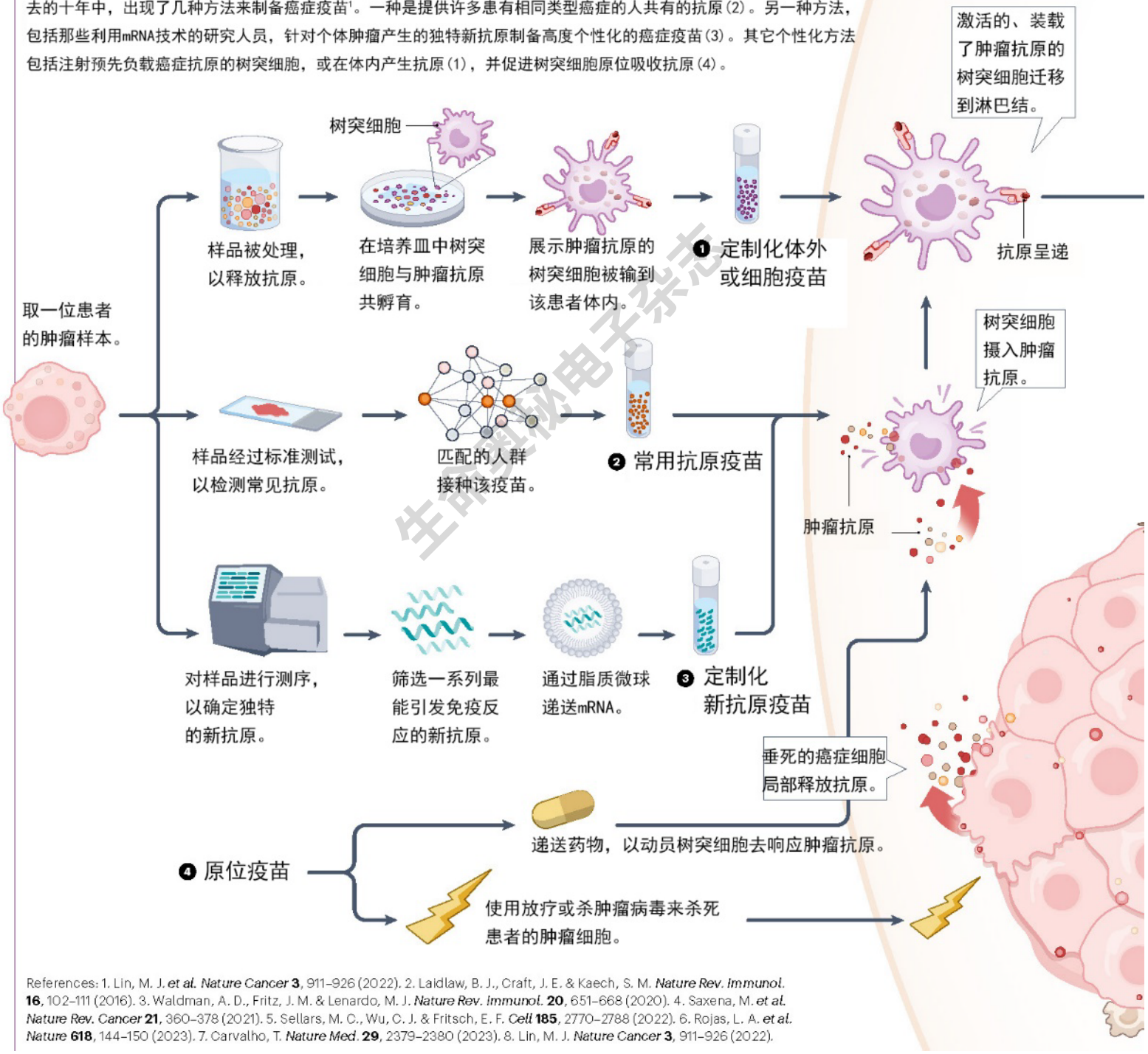
一、如何构建癌症疫苗

经过几十年的缓慢进展，指导免疫系统攻击肿瘤的治疗性疫苗可能很快成为癌症治疗的常规手段。

多种方法

疫苗通常用于预防传染病。癌症治疗疫苗是不同的。这些疫苗不是教导免疫系统在感染前识别病原体，而是使用识别癌症细胞产生的蛋白质，即抗原，来激发对现有肿瘤的强大免疫反应。

第一步是将抗原传递给名为树突细胞的免疫细胞。这些树突细胞将抗原呈递给其它免疫细胞，并刺激免疫反应。在过去的十年中，出现了几种方法来制备癌症疫苗[1]。一种是提供许多患有相同类型癌症的人共有的抗原(2)。另一种方法，包括那些利用mRNA技术的研究人员，针对个体肿瘤产生的独特新抗原制备高度个性化的癌症疫苗(3)。其它个性化方法包括注射预先负载癌症抗原的树突细胞，或在体内产生抗原(1)，并促进树突细胞原位吸收抗原(4)。

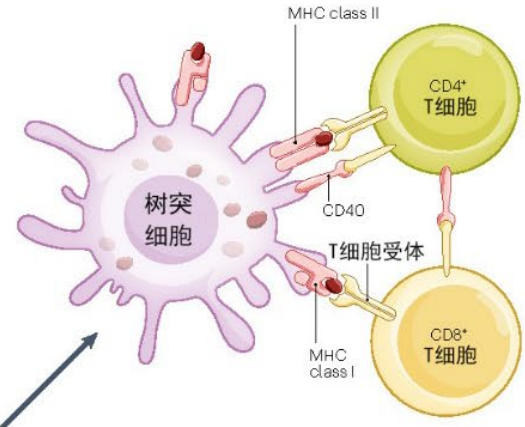


References: 1. Lin, M. J. *et al. Nature Cancer* **3**, 911–926 (2022). 2. Laidlaw, B. J., Craft, J. E. & Kaech, S. M. *Nature Rev. Immunol.* **16**, 102–111 (2016). 3. Waldman, A. D., Fritz, J. M. & Lenardo, M. J. *Nature Rev. Immunol.* **20**, 651–668 (2020). 4. Saxena, M. *et al. Nature Rev. Cancer* **21**, 360–378 (2021). 5. Sellars, M. C., Wu, C. J. & Fritsch, E. F. *Cell* **185**, 2770–2788 (2022). 6. Rojas, L. A. *et al. Nature* **618**, 144–150 (2023). 7. Carvalho, T. *Nature Med.* **29**, 2379–2380 (2023). 8. Lin, M. J. *Nature Cancer* **3**, 911–926 (2022).

生命奥秘电子杂志

增强免疫响应

预防性疫苗主要侧重于激活产生抗体的B细胞，与此不同，治疗性癌症疫苗必须产生强烈的T细胞反应。载有肿瘤抗原的树突细胞结合并激活CD8阳性、细胞毒性T细胞，然后可以攻击肿瘤[2]。



为了达到最大效果，树突细胞也刺激CD4+辅助性T细胞，有助于激活CD8+T细胞和细胞记忆。

克服障碍

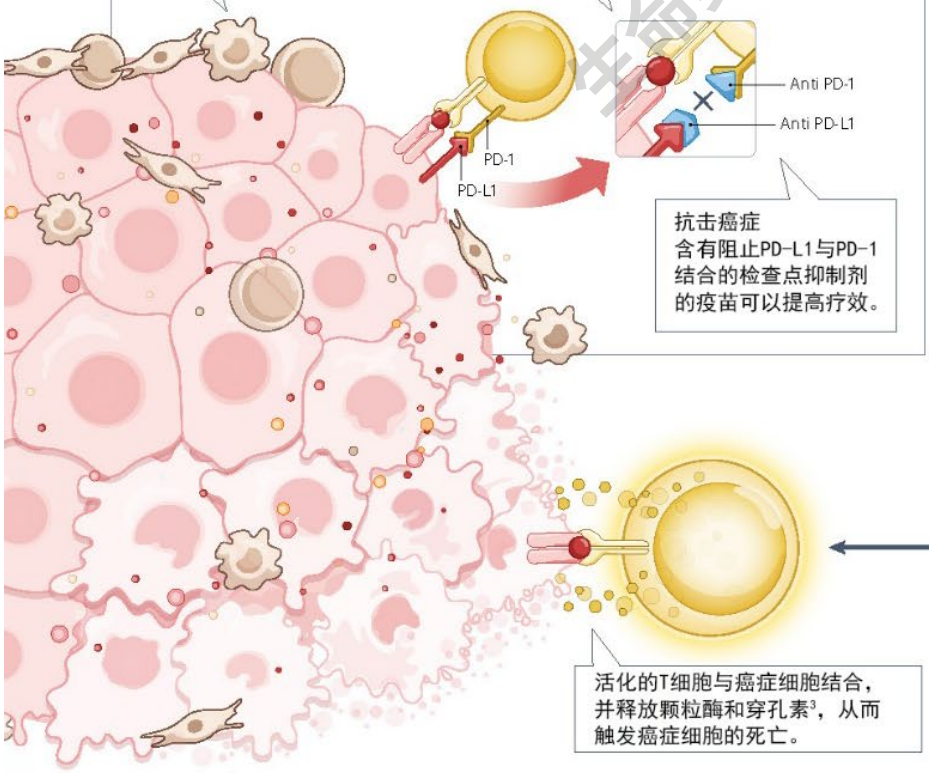
虽然T细胞有能力摧毁大肿瘤，但癌症细胞可以获得逃避免疫攻击的方法。这些障碍可能是许多早期癌症治疗性疫苗试验失败的原因[4]，必须克服这些障碍才能发挥其潜力。

免疫抑制细胞

肿瘤微环境中的调节性T细胞、巨噬细胞、成纤维细胞和其它细胞可以抑制免疫反应[5]。

固有抵抗

癌症细胞可以减少抗原表达以躲避免疫细胞，并经常表达抑制肿瘤攻击T细胞的分子，如检查点蛋白PD-L1。



抗击癌症
含有阻止PD-L1与PD-1结合的检查点抑制剂的疫苗可以提高疗效。

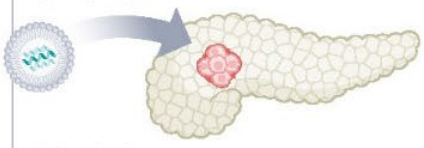
活化的T细胞与癌症细胞结合，并释放颗粒酶和穿孔素[3]，从而触发癌症细胞的死亡。

积极结果

在多种方法的基础上，许多癌症治疗疫苗在试验中显示出令人鼓舞的结果。

胰腺癌症

在一项个性化mRNA疫苗的1期试验中，一半的参与者形成了靶向癌症新抗原的T细胞[6]。与没有反应的患者相比，该组患者的无复发生存期更长。



黑色素瘤

一项个性化信使核糖核酸疫苗的2期试验显示，手术后复发或死亡的风险降低了44%[7]。3期试验正在进行中，预计2029年会有最终结果。

淋巴瘤

一项将动员和激活树突细胞的信号分子的原位疫苗与放疗结合的1/2期试验显示，在11名接受治疗的患者中，有8人的肿瘤消退[8]。

前路漫漫

癌症治疗性疫苗的未来发展和临床应用将受到几个因素的影响。

非现场试验

测试多种药物组合使临床试验更加复杂。另一个复杂因素是相对于手术等其他干预措施，何时接种疫苗。

免疫监测

追踪获得性免疫对评估疫苗效力很重要。对于癌症疫苗，需要新的T细胞监测技术。

可扩展性

个性化的癌症疫苗可能会带来后勤方面的挑战。精简生产对于保持低成本和高可用性至关重要。

生命奥秘电子杂志

二、mRNA 引发癌症研究革命

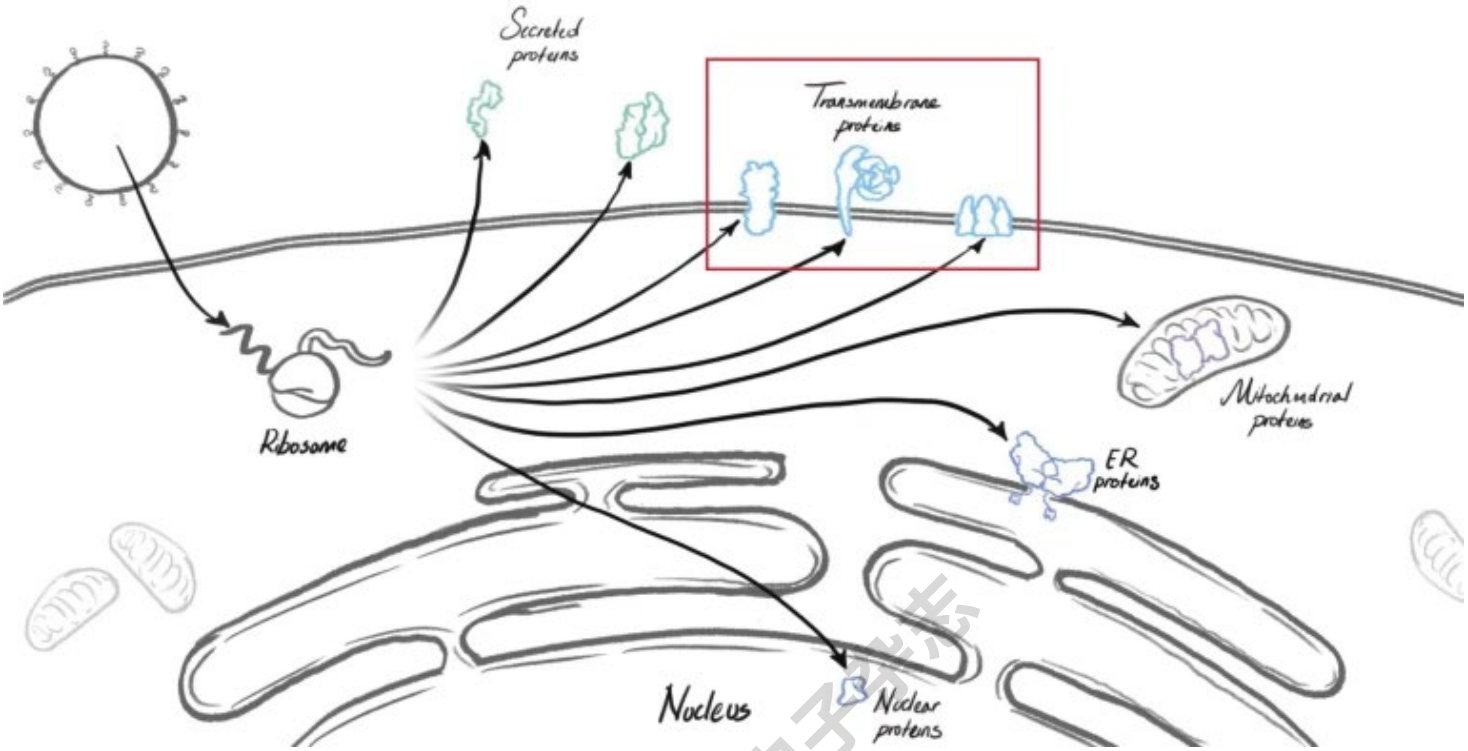


图. mRNA 的前景。mRNA 疗法是可以实现疫苗抗原设计和细胞定位的多种方法，具有靶向细胞内和细胞外广泛的过程的潜力。

生命奥秘电子杂志

mRNA 领域的创新使新冠肺炎疫苗得以快速开发，这增强了人们对研究基于 mRNA 的癌症治疗方法的兴趣。

之前研究人员开发癌症疫苗的尝试曾遭遇许多障碍：个体之间基因突变的异质性、抗原的有效识别、免疫系统逃避机制以及抑制性肿瘤微环境中的其它障碍。

mRNA 技术的改进、对癌症生物学的不断理解和技术的进步为我们应对这些挑战提供了支持。研究人员从 mRNA 研究与制造和 T 细胞反应数据相关的开发中吸取经验，不断改进设计和测试新型癌症治疗模式。研究人员通过 mRNA 技术（图. mRNA 的前景）指导免疫系统检测、攻击癌症细胞，从而使患者临床受益。这包括针对每位癌症患者的个性化治疗，以及适用于多个癌症患者的目标或途径的定制化疗法。

1. 多管齐下

mRNA 技术的适应性意味着研究人员可以采取多种策略来对抗癌症。随着几项针对各种实体瘤的肿瘤学临床试验的进行，人们正致力于将科学转化为疗法。研究人员正在评估我们的 mRNA 平台的使用以及从研究和临床经验中获得的科学知识，为患者带来尽可能大的影响。例如根据每位患者独特的癌症突变指纹定制治疗。癌细胞产生的突变可能会带来选择性优势，例如导致生长失控或逃避免疫破坏的突变。这种独特的癌症突变在患者的肿瘤中产生新抗原，免疫系统可以将其识别为异常。

大多数新抗原及其抗原呈递分子对每位患者都是独特的。然而，过去的方法使用的是更常见的已被鉴定的肿瘤相关抗原来产生 T 细胞反应。第二代测序技术的进步所采用的个性化方法可以识别以肿瘤为中心的突变，考虑患者新抗原库的计算算法可以预测最有可能对患者的癌症细胞发起免疫反应的突变，从而可能引发具有临床意义的 T 细胞反应。

早期结果为新抗原靶向模式提供了概念证明，并支持 mRNA 疗法在肿瘤学中产生影响的潜力。一系列临床试验也正在探索这种新方法（NCT05933577、NCT06077760、NCT03313778、NCT03897881）。

mRNA 技术不只可以为个体患者提供量身定制治疗的机会，还可以应用于治疗已知会导致逃避正常免疫反应的靶点，并可在许多癌症中广泛表达。这种方法可以靶向常见的致癌途径或引导抗原呈递细胞靶向免疫检查点蛋白。然后，T 细胞可以识别过表达这些检查点蛋白的癌症细胞，并破坏表达这些蛋白质的肿瘤细胞，它还可以识别并破坏展示相同蛋白的免疫抑制性 T 调节细胞。一项探索这种研究方法的临床研究正在进行中（NCT05533697）。

mRNA 科学的进步和 mRNA 平台的适应性可用于评估癌症研究疗法的创新和多样化组合，包括个性化方法、靶向更广泛表达抗原的模式以及编码免疫调节蛋白。

生命奥秘电子杂志

2. 加快研究

尽管在肿瘤学研究取得了重大进展，但是癌症仍然是全球巨大的疾病负担。2020 年，国际癌症研究机构估计，癌症对全球的影响升级至 1900 多万例新增病例和 1000 万例死亡病例，这意味着数千万患者需要治疗。

mRNA 具有非凡的潜力，研究人员致力探索使用 mRNA 来进行癌症治疗并仍然致力于加速肿瘤学领域的研发——希望利用 mRNA 的力量，努力创造变革性疗法，为世界各地的患者带来希望。

生命奥秘电子杂志

三、癌症疫苗：免疫治疗的下一个前沿

经过几十年的发展，治疗性癌症疫苗现已显示出疗效和潜力，可应用于对其它标准免疫疗法产生耐药性的患者。但癌症疫苗目前尚未充分发挥潜力，且并未扩大肿瘤治疗的范围。Matthew 等人根据患者癌细胞已知的抗原、表达这些抗原的肿瘤类型以及抗原与抗原呈递细胞的共定位情况对癌症疫苗进行分类，从而划分出预定义疫苗（共有或个性化）和匿名抗原疫苗（体外或原位）。为了加快临床开发，Matthew 等人强调需要对早期试验进行准确的免疫监测，以确认治疗成败并推进研发最有前景的疫苗。

旨在预防传染病的疫苗是 20 世纪最伟大的医学进展之一，但疫苗接种的基本意义并不局限于预防。随着研究者对基础免疫学的理解不断深入，疫苗配方的效力不断提高，旨在治疗感染的疫苗已进入后临床试验阶段，并取得了可喜的成果。

使用疫苗治疗已确诊的恶性肿瘤可以追溯到 20 世纪 10 年代，William Coley 将灭活的链球菌和沙雷氏菌注射进肿瘤中。到了 20 世纪 50 年代，Lloyd Old 用类似的方法治疗恶性肿瘤，不同点在于其注射的是卡介苗（Bacillus Calmette–Guérin, BCG）。

尽管最近出现了一些疫苗诱导较大肿瘤全身消退并延长生存期的试验，但这些临床试验由于规模小、边际生存效益微乎其微、采用资源密集型方法等因素，阻碍了癌症疫苗在该领域中大规模推广，并引发了大量质疑。这与现有成功的癌症免疫疗法的研发进程相似，尽管屡屡受挫，但仍为患有实体和血液恶性肿瘤的患者带来了新的希望。例如，在 1997 年利妥昔单抗（rituximab）取得最终成功之前，许多单克隆抗体试验在近 20 年里未出现可重复的疗效；在纳武单抗（nivolumab）数据发表之前，抗程序性细胞死亡蛋白 1（programmed cell death protein 1, PD-1）抗体数据多年来缺乏临床疗效；长久以来无效的嵌合抗原受体 T 细胞（chimeric antigen receptor T cell, CAR T 细胞）临床数据为其最终的成功奠定了基础。

Matthew 等人认为，虽然癌症疫苗目前的临床进展有限，但已提供了进一步开发的明确理由和令人信服的临床前数据，其也同样有望取得最终成功。本文中，Matthew 等人回顾了这些证据，并推测在

生命奥秘电子杂志

不久的将来疫苗可能成为癌症治疗的标准手段。

尽管癌症疫苗具有显著益处，但其它免疫疗法的成功转移了人们的注意力。CAR T 细胞可以有效识别并治疗具有特异肿瘤表面抗原的癌症，疫苗还可额外靶向更广泛的细胞内抗原；检查点阻断疗法可治疗“热”肿瘤亚群（即肿瘤内部反应性 T 细胞浸润并激活），而癌症疫苗则有可能重新激活肿瘤反应性 T 细胞。

此外，更便捷疗法的进展也降低了研究人员对癌症疫苗的热情。例如，当 sipuleucel-T 疫苗获得批准并带来微小的生存获益时，而恩杂鲁胺（enzalutamide，一种口服治疗药物）使高风险患者获得了更长的生存期。类似地，将糖蛋白 100（glycoprotein 100, gp100）疫苗与高剂量白细胞介素（interleukin, IL）-2 联合使用，住院患者的生存率获得了显著改善。同年获得批准的伊匹单抗（ipilimumab，门诊治疗药物），也显示出显著的生存益处，而这种益处并没有因与 gp100 疫苗联合使用而得到增强。

同样，一项特异型疫苗试验证明，虽然与积极的化疗方案相结合可增加无进展生存期（progression-free survival, PFS），但后来被一种更温和、更有效的化疗方案所取代。关于癌症疫苗的历史，已经有很多出色的综述，其中大多数都集中在所引入抗原的物理结构，例如：整个肿瘤、肿瘤细胞、蛋白质、肽（长肽或短肽）、RNA 或 DNA（直接或病毒）；以及引入抗原的佐剂：载体蛋白、细胞（例如树突状细胞（Dendritic cell, DC））、蛋白质（例如 CD40 配体（CD40 ligand, CD40L））或化学物质（例如油水乳剂和 Toll 样受体（Toll-like receptor, TLR）激动剂）。

Matthew 等人根据以下几点对目前的癌症疫苗进行了不同的分类:（1）对肿瘤特异性免疫原的认知；（2）表达肿瘤特异性抗原的患者肿瘤类型；（3）抗原如何与专业抗原呈递细胞（antigen-presenting cell, APC）共定位。

疫苗可以包含预定义（已知）和匿名（未知）抗原（图 1a）。前者包括预定义的共有抗原（在许多患者肿瘤中表达）或预定义的个性化抗原（为每个患者定制）。匿名抗原疫苗可在体外（实验室）或原位（肿瘤部位）与 APC 共同定位（图 1a）。

Matthew 等人考虑了两种类型的肿瘤特异性抗原（tumor-specific antigen, TSA），包括病毒抗原和非同义体细胞突变产生的新表位、以及两种类型的肿瘤相关抗原（tumor-associated antigen, TAA）：组织特异性抗原和发育特异性抗原（表 1）。

所有讨论的疫苗都可动员 T 细胞针对 TSA 和 TAA 做出响应，但预定义的个性化抗原疫苗通常仅靶向 TSA。在后一种情

生命奥秘电子杂志

况下，癌症相关基因的热点突变可能存在于不同患者的肿瘤中，这些患者共享人类白细胞抗原（human leukocyte antigen, HLA）分子。APC 对肿瘤抗原的摄取是一个关键事件（图 1b）。大多数 TAA 位于细胞内，因此很难通过体液反应或单克隆抗体、CAR T 细胞或双特异性 T 细胞接合剂等衍生疗法进行靶向治疗。

尽管 TAA 特异性 T 细胞可以通过肿瘤细胞上的 HLA 分子检测到细胞内的 TAA，但肿瘤共刺激分子的缺陷通常会导致 T 细胞失能或耗竭。因此，以 DC 为代表的 APC 对于抗肿瘤 T 细胞的启动至关重要。

cDC1（type 1 conventional DC，1 型常规 DC）亚群（或 Batf3 依赖性 $CD103^{+}XCR1^{+}CD141^{+}Clec9A^{+}$ DC）具有特定的交叉呈递能力，即：吸收外源抗原并将其在 HLA-I 上呈递给 $CD8^{+}$ T 细胞。因此，通过激活负载肿瘤抗原的 DC，癌症疫苗可以诱导针对胞内抗原的免疫反应。从这个角度来看，不同疫苗类型的区别在于肿瘤抗原与交叉呈递 DC 的共定位方法（图 1b）。

生命奥秘电子杂志

1. 预定义抗原

预定义抗原可以根据不同患者群体的表达频率进一步分类。共有抗原是在足够比例的患者中表达的抗原，以便疫苗学家可以使用标准测试锁定这些患者群体（通常为某些肿瘤类型的患者亚群）。因此，共有抗原疫苗可以同时靶向 TSA 和 TAA。

例如，新表位 TSA 表皮生长因子受体变体 III（epidermal growth factor receptor variant III, EGFRvIII）在约 25%的 EGFR 过表达胶质母细胞瘤（glioblastomas, GBM）中表达、病毒性 TSA 人乳头瘤病毒 E6 和 E7 蛋白（human papilloma virus E6 and E7 proteins, HPVE6 HPVE7）在约 60%的口咽癌和几乎所有宫颈癌中表达、TAA 维尔姆斯肿瘤蛋白（wilms' tumor protein, WT1）在大多数急性髓系白血病（acute myeloid leukemias, AML）、乳腺癌和维尔姆斯肿瘤中过表达。

共有抗原疫苗与个性化抗原疫苗的区别在于，前者可通过细胞学、免疫组织化学和流式细胞术等标准测试进行评估。自 20 世纪 90 年代以来，预定义的共有抗原疫苗一直是临床前和临床研究的主要焦点，并为之后的研究奠定了基础。个性化抗原对于接种疫苗的患者而言是独一无二的。个性化抗原疫苗随着现代高通量基因测序时代的到来而发展，通常由 TSA 新表位组成，与共有的 TSA EGFRvIII 或 Kirsten 大鼠肉瘤病毒（kirsten rat sarcoma virus, KRAS）G12D 相比，这些新表位并不常见，无法适用于大量患者。

这种方法可使免疫系统以缺乏已知共有抗原的肿瘤为目标，但也给疫苗学家带来了反复确定最佳免疫原性表位的负担。免疫原性表位必须与 HLA 分子的肽沟和反应性 T 细胞受体（T cell receptor, TCR）的互补决定区充分结合。

肽-HLA（在较低程度上也包括 TCR）亲和力可以在计算机中针对个体患者的肿瘤突变组进行建模和估算，不过这些算法仍在改进中。

上述方法还造成了对肿瘤进行活检以进行外显子组和 RNA 测序，以及对患者 HLAI 类分子实际呈现的肽进行蛋白质组分析的负担。这些技术还需要在疫苗设计和随后的个性化新表位库的生产中投入大量的时间和资源。

共有抗原疫苗方法需要相同的肿瘤基因组、转录组和蛋白质组流程，即利用公共数据集（如癌症基因组图谱），从先前患者的活检资料中进行汇编（图 1b）。

生命奥秘电子杂志

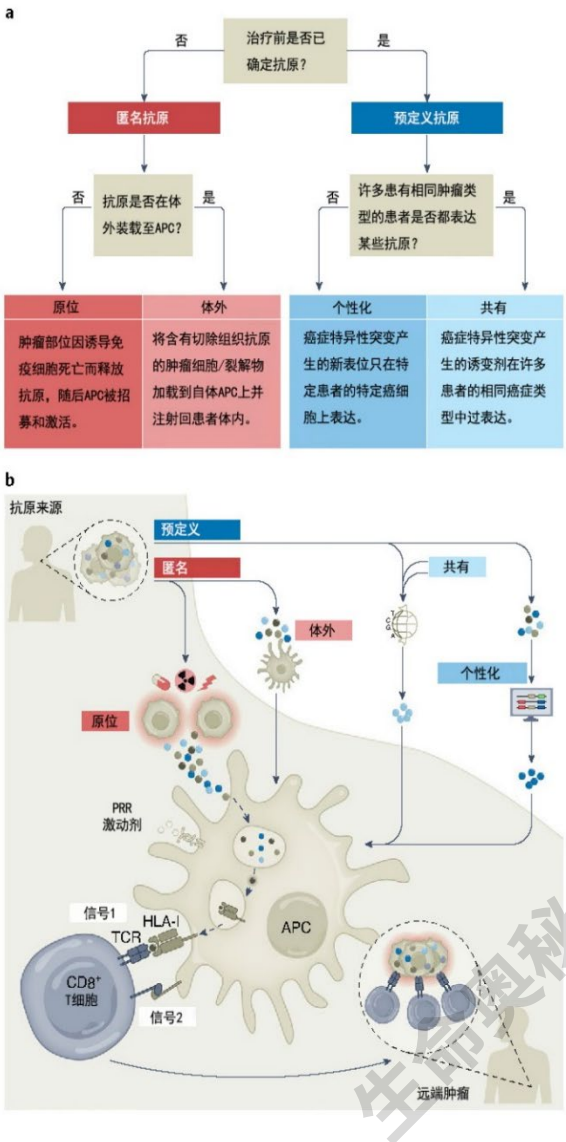


图 1 症疫苗类型。a，四种疫苗类型的示意图。预定义疫苗需要通过肿瘤活检和计算分析（个性化）或跨肿瘤类型的集合特征（共有）来识别抗原。匿名抗原疫苗可以在实验室（体外）或直接在肿瘤部位（原位）将抗原与 APC 共定位。b，四种疫苗类型的分类：根据 TAA 的已知情况（预定义与匿名）、患者肿瘤表达 TAA 类型（共有与个性化）以及 APC 如何识别和加载 TAA（体外与原位）。

预定义共享抗原疫苗。共享抗原疫苗可被用于“成品”疗法，与个性化疫苗相比，其资源密集度和时间消耗较少。至此，作者将根据早期试验中累积的临床和免疫学数据，重点介绍一些在免疫学或临床方面均取得了重大成果的最佳共享抗原（表 2）。

TSA 仅存在于肿瘤细胞中，通常会驱动肿瘤的发生，而病毒抗原是其中的亚型之一。Epstein-Barr 病毒编码包括潜伏膜蛋白（Latent membrane protein, LMP1 和 LMP2）在内的多种抗原，可表达于鼻咽癌细胞、自然杀伤（Natural killer, NK）-T 细胞、淋巴瘤和其它肿瘤细胞。

临床前 LMP1 疫苗研究和成功的 T 细胞转移研究为临床疫苗试验提供了灵感。尽管如此，表达 LMP1 和 LMP2 的自体 DC 并不能诱导鼻咽癌患者体内的抗原特异性 T 细胞。最近，表达 Epstein-Barr 核抗原（EBNA）-LMP2 融合蛋白的改良安卡拉病毒疫苗（Modified vaccinia Ankara, MVA）显示可增强 $CD4^+$和 $CD8^+$ T 细胞的反应，这进一步促使对其开展更大规模的后续研究（NCT01800071）。同样，HPV E6 和 E7 是病毒 TSA，可隔离肿瘤蛋白 53（p53）和 Rb 蛋白，促进鳞状上皮细胞增殖和肿瘤发生。

生命奥秘电子杂志

合成长肽（Synthetic long peptide, SLP）疫苗（ISA101）可在大多数外阴上皮内瘤变患者中引发T细胞应答并促使肿瘤消退，因此一项将 ISA101 与抗 PD-1 疗法相结合的研究表明，即使在程序性细胞死亡配体 1 阴性（PD-L1-）肿瘤中，ISA101 的临床反应也高于单独使用其中任何一种疗法所产生的效应。

E6/E7 质粒（VGX-3100）和 E6/E7/Fms 样酪氨酸激酶 3 配体（E6/E7/ Fms-like tyrosine kinase 3 ligand, Flt3L）质粒（GX-188E）疫苗均可诱导与临床疗效相关的 T 细胞应答，一项使用 E6/E7/IL-2 MVA 载体疫苗的随机 2 期试验在高级别宫颈上皮内瘤变中显示出卓越的疗效。表达 E7 的 LCMVi 载体也证明能有效诱导 E7 特异性 T 细胞。这些研究表明，利用最佳（例如病毒）抗原，接种治疗性疫苗可诱导低负荷肿瘤的临床缓解，且动员 DC 可能会增强抗肿瘤效应。

过表达的突变自体蛋白是 TSA 的另一个亚类。EGFRvIII 是一种组成型活性、体细胞突变的 EGFR 变体，通常在 GBM 和非小细胞肺癌（Non-small cell lung cancer, NSCLC）中表达。

抗 EGFRvIII CAR T 细胞治疗 GBM 患者的早期研究结果令人振奋，验证了这一靶点的有效性。一项 2 期试验使用 EGFRvIII 14-mer 聚体肽疫苗（Rindopepimut）引发了体液免疫反应，该疫苗联合了粒细胞-单核细胞集落刺激因子（Granulocyte - monocyte colony - stimulating factor, GM-CSF）和替莫唑胺（Temozolomide）。

尽管 3 期试验出现了显著的体液反应，但未能显示出临床益处。一项将其与贝伐珠单抗（Bevacizumab）联合的随机 2 期试验具有更好的体液反应和总体生存（Overall survival, OS）益处，此结果作为次要的终点。这些数据表明，疫苗的抗肿瘤体液反应多寡，结局成功与否取决于是否选择了最佳的联合疗法。相比之下，虽然 TAA 并非只存在于肿瘤组织中，但最优先发现于肿瘤，并且可能形成异常表达或过度表达的蛋白质。这一大类可分为发育特异性（即癌胚、癌症-睾丸）、组织类型特异性或肿瘤富集蛋白。

WT1 是一种发育特异性转录因子，可促使肿瘤发生。WT1 短肽（九聚体）疫苗的初步试验显示出了免疫和临床反应，特别是使用 HLA 亲和力更强的“异体”WT1 肽（Galinpepimut-S）进行疫苗接种，在大多数 AML 患者中诱导了 T 细胞应答并促成了正在进行的 3 期试验（NCT04229979）。

使用 GM-CSF 或通过注射离体肽负载 DC 来增加疫苗位点 DC，可产生更大的免疫功效，这表明抗原-DC 共定位可能对于增强临床功效十分重要。

生命奥秘电子杂志

纽约食管癌 1（New York-esophageal cancer 1, NY-ESO-1）是一种癌症-睾丸抗原，在胚胎、性腺和癌细胞中低表达，功能尚不清楚。其在滑膜肉瘤中高表达，在黑色素瘤、卵巢癌和食道癌中异质性表达。值得注意的是，虽然患者经常出现自发的抗 NY-ESO-1 免疫反应，但正如其它综述中所述，但是仍有 20 多项疫苗试验总体以失败告终。

失败可能归因于疫苗设计欠佳和异质肿瘤抗原表达，其中滑膜肉瘤（一种具有同质抗原表达的罕见肿瘤）的靶向效果令人印象深刻。为了提高基于蛋白质疫苗的免疫原性，科研人员测试了长肽疫苗接种，结果发现 $CD4^+$ T 细胞应答频繁，但 $CD8^+$ T 细胞却应答不足。研究人员通过联合使用 NY-ESO-1 与 TLR9 激动剂进一步来增加 DC 抗原呈递和 $CD8^+$ T 细胞应答，但结果仍不理想。

和 NY-ESO-1 缀合的 DC 靶向（抗 DEC-205）单克隆抗体的蛋白共轭物（CDX-1401）与 TLR 激动剂相结合，在大多数患者中诱导了 $CD8^+$ T 细胞应答，同时肿瘤消退，这表明需要足够的 DC 才能从这种方法中获益。事实上，一项对 CDX-1401 是否与 DC 动员重组 Flt3L46 的随机研究表明，与 Flt3L 结合使用时，$CD8^+$ 细胞应答大约增加了三倍（86%对比 29%）。尽管该研究并未针对临床复发差异提供证据，但它有力地证明有效的 $CD8^+$细胞应答需要高水平的 DC 动员、抗原负载和激活。

黑色素瘤相关抗原 3（Melanoma-associated antigen 3, MAGE-A3）是一种具有抗凋亡功能的癌症-睾丸抗原，优先表达于黑色素瘤、非小细胞肺癌和骨髓瘤中。

在一项小型随机研究中，TLR4 激动剂辅助（AS02B）MAGE-A3 蛋白疫苗可诱导体液抗肿瘤反应，但无显著临床获益；然而，一项在同一疫苗中添加 TLR9 激动剂（AS15）的随机 2 期试验则显示出更强的体液和 $CD4^+$ T 细胞应答，并具有更有效的临床反应和更长的生存期。不过令人不解的是，随机化超过 6000 名患者的大型随访试验并未显示出临床益处。

对于这种失败的一种解释可能是 MAGE-A3 的表达异质性，因此，靶向单一异质抗原可能会促使抗原逃逸。为了解决这一问题，在一项针对 NSCLC 患者的随机研究的亚组分析中，多价 MAGE-A3–CEA–HER2–p53 疫苗（Tedopi）改善了生存率，但仍需进行前瞻性验证。同样，在一项大型随机试验中，包含 MAGE-A3、melanA、gp100 和酪氨酸酶的多价黑色素瘤疫苗（seviprotimut-L）改善了部分年轻患者的临床结局。

美国路德维希研究所（Ludwig Institute）于 2022 年初合作启动了一项针

生命奥秘电子杂志

对肺癌患者 MAGE-A3 和 NY-ESO-1 的腺病毒（ChAdOx1）/MVA 疫苗的早期临床试验（NCT04908111）。人表皮生长因子受体 2（Human epidermal growth factor receptor 2, HER2/Neu）是 EGFR 家族的一种激酶，在约 30%的乳腺癌以及较小比例的胃肠道和卵巢肿瘤中过表达，而抗 HER2 单克隆抗体可以靶向杀伤上述肿瘤。诱导瞬时 $CD8^+$ T 细胞应答的单表位 HLA-I 限制性九聚体多肽疫苗（nelipepimut-S）未能显示出临床益处，与此同时，虽然单表位 HLA-II 限制性十五聚体多肽疫苗（AE37）可诱导 $CD4^+$ T 细胞应答，也并无临床益处。

相比之下，多表位、结合 HLA-I 和 HLA-II 的 HER2 多肽疫苗可诱导患者产生持久（大于 1 年）的 $CD8^+$ T 细胞应答，这表明最佳的免疫反应发生于 $CD4^+$ T 细胞和 $CD8^+$ T 细胞同时启动时，并且靶向多个抗原表位时效果更佳。上述经验可能适用于使用脉冲直流细胞和阿尔法病毒载体的早期 HER2 疫苗，其初步免疫和临床结果令人鼓舞。gp100 在黑色素体和黑色素瘤中富集，当 gp100 重定向 T 细胞疗法诱导生存时间延长时，证明了其靶点有效性。

在早期试验中，异质 gp100 多肽疫苗与高剂量 IL-2 联合使用，在大多数患者中诱导肿瘤反应性 T 细胞，总体缓解率（Overall response rate, ORR）为 42%，远高于单独使用 IL-2。根据这一结果，联合使用 IL-2 和 gp100 疫苗的 3 期试验增加了患者 ORR（16%对比 6%）和生存获益（18 个月对比 11 个月），但 IL-2 相关的高毒性和死亡率浇灭了人们的热情。此外，一项随机试验未能显示单独使用 gp100 疫苗或与伊匹单抗（Ipilimumab）联合使用的临床获益。由于 gp100 多肽疫苗单一疗法的 ORR 小于 2%，这表明，即使是经过验证的抗原靶标也需要有效的 T 细胞启动（例如 IL-2 提供的启动作用）。

前列腺酸性磷酸酶（Prostatic acid phosphatase, PAP）在前列腺上皮细胞中表达，并随着癌症进展而成比例增加，同时在其它组织中也有表达。经过几项较小规模的试验后，Sipuleucel-T（一种 PAP 脉冲的自体 GM-CSF 刺激的单核细胞混合物）的 3 期试验表明，与未脉冲的 APC 疫苗接种相比，其可延长患者 4 个月的生存期。

由于缺乏明确的免疫或客观反应、个性化疗法的高昂费用和不实用性、以及更简单和更有效的替代品的同步开发，导致食品与药物管理局（Food and Drug Administration）批准的这一具有良好前景的成分对临床的影响微乎其微。为了解决这些缺陷，一种成品的 DNA PAP 疫苗已在更大比例的患者中增加了 PAP 特异性 T 细胞，并通过正电子发射断层扫描成像证

生命奥秘电子杂志

明了客观反应，目前正在与 PD-1 阻断结合进行测试（NCT03600350）。针对单一、不完全特异的抗原接种疫苗所面临的障碍以及成品疗法优于个性化疗法的现实可能会掩盖疫苗所证明的延长生存期的效果。p53 在半数癌症中发生改变，并且经常在肿瘤中表达缺失，同时还会发生有害的突变和过度表达。

鉴于靶向个性化突变的复杂性，野生型（Wild type, WT）p53 的小型试验（包括病毒载体编码的、基于 DC 的和长肽库疫苗以及与检查点抑制的组合），在大多数患者中显示出抗 p53 T 细胞应答，但却鲜少发生临床缓解。相反，一项针对突变型 p53 疫苗的结直肠癌患者的研究表明，与相应的 WT 肽相比，T 细胞对突变型肽的反应更强，这进一步表明自身肽的耐受性。另一种经常富集的 TAA，吲哚胺 2,3-双加氧酶 1（Indoleamine 2,3-dioxygenase 1, IDO），已被小分子抑制剂靶向并用作多肽疫苗。这些研究为 IDO 和/或 PD-L1 疫苗接种与 PD-1 阻断相结合的试验提供了理论依据，结果显示肽特异性 T 细胞和 42% 的完全缓解率（Complete response, CR），显著高于单独的抗 PD-1 疗法。总之，这些数据表明，即使是那些在肿瘤中过表达的蛋白，在诱导 T 细胞靶向自身蛋白时也需要提高免疫反应才能获得最大功效。

以上研究为已明确表征的肿瘤抗原的预定义共享疫苗提供了一种广泛应用的方法，但受到异质表达、免疫原性不足或次优配合疗法的限制，因此更有前景的方法正试图弥补这些缺陷（例如 Tedopi、seviprotimut-L、MELITAC）。

生命奥秘电子杂志

表 1 | TSA 和 TAA 分为四组并附示例

TSA	**TAA**		
病毒	**自身突变**	**发育特异性**	**组织特异性**
LMP1、LMP2	EGFRvIII	WT1	HER2/Neu
HPV E6/E7	$KRAS^{G12C}$	MAGE-A3	MUC1
	$BRAF^{V600E}$	NY-ESO-1	gp100

$BRAF^{V600E}$（v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1 V600E mutation）：v-raf 鼠肉瘤病毒癌基因同源物 B1V600E 突变；MUC1（mucin 1）：粘蛋白 1。

表 2 | 选定的预定义共享抗原癌症疫苗试验和结果

靶点	癌症	阶段	方法	结果
病毒，TSA				
LMP1、LMP2	鼻咽癌	2	通过腺病毒转导自体 DC	1/12 名患者部分缓解（PR），2/12 名病情稳定（SD）
		1b, NCT01800071	接种 MVA-EBNA1-LMP2 疫苗	主要指标：采用 ELISPOT 定量法检测 EBNA1/LMP2
HPV E6/E7	外阴/肛门鳞癌	4, NCT03051516	接种预防性疫苗 Gardasil	主要结果：HSIL 复发
	宫颈癌	3, NCT03284866	HIV^+/HPV^+患者接种 HPV 疫苗	主要结果：患上 HSIL 或宫颈癌
	外阴上皮内瘤变	2	接种 12 支 HPV16 E6/E7 合成长肽（ISA101）疫苗	15/19 名患者获得临床缓解，9/19 名完全缓解（CR）
	HPV^+肿瘤或癌前病变	1, NCT02821494	接种 TLR-2 激动剂缀合的合成长肽（Hespecta）	主要结果：出现疫苗诱导的生物反应
	CIN	2b	通过体内电穿孔递送 E6/E7 合成质粒（VGX-3100）	接种疫苗后，53/107 名患者出现组织病理学缓解，安慰剂组有 11/36 名患者出现组织病理学缓解。T 细胞应答与伴随出现的缓解和病毒清除有关
		2	接种 MVA-E6/E7–IL-2（tapkinogen sovacivec）	在 6 个月的随访中发现，17/31 名接种患者完全缓解
自身突变，TSA				
EGFRvIII	GBM	2	Temozolomide + Rindopepimut 联合接种	65 名患者的抗体反应随着治疗时间的延长而增加，同时与历史对照相比，中位无进展生存时间（PFS）（9.2 个月）和总生存期（OS）（21.8 个月）均有延长
		3	Temozolomide + Rindopepimut 联合接种	治疗组中，745 名患者都出现抗体应答，但 PFS 或 OS 均没有延长
		2	Rindopepimut ± Bevacizumab 联合接种	16/36 名患者都出现与延长生存期相关的高抗体滴度
发育特异性，TAA				
WT1	AML	1	接种 Galinpepimut-S 疫苗	9/14 名患者出现了与 5 年生存率相关的免疫反应
		3, NCT04229979	接种 Galinpepimut-S 疫苗	主要指标：OS
		2	$GM\text{-}CSF^+$ WT1 肽+ KLH 联合接种	10/19 名患者病情稳定，1/19 在初始进展后完全缓解
		1/2	接种编码 WT1 的 mRNA 电穿孔的 DC 疫苗	13/30 名患者化疗后，疾病得到预防或延迟复发
MAGE-A3	非小细胞肺癌	2	重组 $MAGE\text{-}A3^+$ + TLR4 激动剂联合接种	疫苗组中 MAGE 特异性抗体被大量诱导；无临床益处
		3	接种 AS15	无病生存期（DFS）没有延长
		1/2, NCT04908111	Prime ChAdOx1-MAGE-A3-NYESO-1 + 增强剂 MVA MAGE-A3 联合接种	主要指标：安全性和耐受性
	黑色素瘤	2	重组 $MAGE\text{-}A3^+$ + TLR9 激动剂（AS15）联合接种	3 名患者完全缓解，1 名患者部分缓解，这些都与抗体和 $CD4^+$ T 细胞增加相关

续下表

生命奥秘电子杂志

表 2 | 选定的预定义共享抗原癌症疫苗试验和结果

靶点	癌症	阶段	方法	结果
发育特异性，TAA				
NY-ESO-1	卵巢癌	1	ESO157-ESO170 肽 + IFA 联合接种	13/16 名患者中的抗肿瘤 T 细胞与 19 个月的 PFS 相关
	黑色素瘤	1	DC 用 NY-ESO-1 长肽脉冲并负载 NK 细胞激活剂	7/8 名患者产生抗原特异性外周 $CD4^+$ T 细胞
组织特异性，TAA				
HER2/Neu（ERBB2）	乳腺癌	2	接种 AE37 ± GM-CSF	298 名患者的肽特异性 T 细胞应答增加，其中 TNBC 患者的 DFS 延长
		2b	Nelipepimut-S + Trastuzumab 联合接种	接种疫苗的 TNBC 患者与对照组的风险比为 0.26
		2, NCT03632941	接种表达 HER2 RNA（VRP-HER2）的甲病毒样复制子颗粒	主要指标：TIL 和 HER2 特异性抗体的数量
病毒，TSA				
gp100	黑色素瘤	1	WT 或改良 gp100 脉冲 DC + KLH 联合接种	7/15 名患者响应 WT 疫苗，而 2/12 名患者响应改良肽-DC 疫苗
		1	接种负载黑色素 A 和 gp100 的 DC 疫苗	在 4/25 名病情稳定的患者中，3/25 名病情部分缓解
		3	gp100 肽疫苗 + IL-2 联合接种	与仅使用 IL-2（11.1 个月）相比，中位 OS 获改善（17.8 个月）
		3	Ipilimumab + gp100 联合接种	与 Ipilimumab 单药治疗相比无改善
PAP	前列腺癌	3	接种用 PAP 抗原（sipuleucel-T）脉冲 GM-CSF 刺激的单核细胞	治疗组的三年生存率为 31.7%，而安慰剂组为 23.0%
		2	在 sipuleucel-T 治疗前给予放射治疗（RT）敏化	在 sipuleucel-T 治疗前 1 周进行 RT 敏化，不会影响测量反应的免疫参数
		1	用编码 PAP 的 DNA 重复加强注射	6/16 名患者在 2 年内保持无转移；中位 PSA 倍增时间 + 1.6 倍
		2, NCT03600350	接种编码 PAP +（抗 PD-1）的 DNA	主要结果：PSA 分泌减少
肿瘤富集，TAA				
p53	SCLC	2	腺病毒感染的 DC 与 WTp53 共注射	1 名患者部分缓解，7 名患者病情稳定
	上皮性卵巢癌	1	p53MVA + gemcitabine 联合接种	6/11 名患者出现 $CD8^+$ T 细胞应答；免疫反应性与 PFS 相关
	实体瘤	1	p53MVA + pembrolizumab 联合接种	在 3/11 名病情稳定患者中，2/3 名 p53 反应性 $CD8^+$ T 细胞增加
	结直肠癌	1/2	接种 10 支重叠的 p53 合成长肽	在 p53 特异性 T 细胞诱导的 9/10 名患者中，6/9 的患者的反应持续 6 个月。无临床结果
IDO	黑色素瘤	1/2	IDO 和 PD-L1 肽疫苗 + nivolumab 联合接种	ORR 为 80% ，其中 CR 比例为 42%；曾接受抗 PD-1 治疗的 ORR 则为 41%，其中 CR 比例为 12%

CIN：宫颈上皮内瘤变；KLH：钥孔血蓝蛋白；SCLC：小细胞肺癌；HSIL：高级鳞状上皮内病变；TNBC：三阴性乳腺癌；PSA：前列腺特异性抗原；IFA：不完全弗氏佐剂；ERBB2：编码 HER2/Neu 的原癌基因。

生命奥秘电子杂志

预定义的个性化抗原疫苗。与存在于大多数人群中的共享抗原不同，个性化抗原为患者所独有，并且最常见的是新表位 TSA（图 1a）。

以个性化抗原为靶点可实现精湛的治疗特异性，释放出可规避胸腺阴性选择的 T 细胞，并与检查点阻断相结合，可在应答患者体内产生广泛的 T 细胞应答。二代测序技术的进步和附加免疫刺激因子（例如 DC 募集和激活、骨髓抑制、辅助性 $CD4^+$细胞）的结合使该方法的整体流程更加可行和有效。因此，设计个性化抗原疫苗包括从肿瘤和胚系组织中提取 DNA 和 RNA、进行外显子和 RNA 测序以及 HLA 分型（图 1b）。体细胞突变应选择存在于肿瘤但不存在于胚系中、具有较低的“错误发现率”、并可导致非同义蛋白质变化的突变形式。

使用类似于 NetMHC 算法的方法，通过计算机预测其与患者 HLA 等位基因的结合程度，从体细胞突变中选择潜在的免疫原性新表位。通过评估肿瘤 RNA 测序数据确定高表达新表位的优先次序（通常从中选择多达 20 个新表位），生产良好生产规范（Good manufacturing practice, GMP）级的新表位多肽、RNA 或病毒载体。新表位疫苗可以与佐剂一起使用，以优化 APC 摄取（例如脂质体）或 APC 激活（例如模式识别受体（Pattern-recognition receptor, PRR）激动剂，从而增强其免疫原性。

虽然上述方法耗时耗力，但增加的测序带宽和新算法（包括用于表位预测的机器学习算法）不断使这些疗法变得更有前景。作者在表 3 中重点介绍了几种方法。一种使用编码 10 个新表位候选靶标的合成 RNA 疫苗的早期个性化疫苗，在转移性黑色素瘤患者中激发了大部分 $CD4^+$和一些 $CD8^+$新表位特异性 T 细胞应答以及无对照客观应答率。这些多特异性反应可以通过阻断 PD-1 来增强，也可通过肿瘤细胞 HLA I 类呈递缺失而减弱，可能有助于显著减少纵向转移事件。

类似的研究如一项提供 13-20 个预测新表位长肽（NEO-PV-01）的学术试验，诱导了比 $CD8^+$突变肽特异性更多的 $CD4^+$细胞应答。一项针对 60 名黑色素瘤、非小细胞肺癌和膀胱癌患者的新表位疫苗与抗 PD-1 联合的大型研究也指出，新抗原特异性 T 细胞应答和临床反应可能高于单独使用抗 PD-1 疗法的预期反应。为了确认预测的新肽是否存在于肿瘤 HLA 中，一项小型研究使用肽洗脱和质谱分析，然后用新肽脉冲的 DC（自体可分泌 IL-12）进行疫苗接种，结果显示疫苗诱导了多克隆、抗原特异性 T 细胞应答。其它小型研究通过将新抗原与聚肌苷酸胞苷酸、多聚赖氨酸和羧甲基纤维素（carboxymethylcellulose, poly-ICLC）

生命奥秘电子杂志

（Neo Vax）相结合，实现疫苗位点 DC 的激活，从而产生了不同的 T 细胞库。一项 mRNA 疫苗研究（CONSORT）使用了新的新表位选择平台，该平台优先考虑肿瘤浸润淋巴细胞（Tumor-infiltrating lymphocyte, TIL）反应候选者，发现了突变特异性 T 细胞，包括靶向常见突变 $KRAS^{G12D}$ 的 T 细胞。为了促进新表位 RNA 疫苗的递送，使用脂质体的包装方法也已进入 2 期试验（NCT03815058、NCT04267237），并且初步的免疫和临床反应数据也反映了该方法具有十足的前景。为了最大限度地缩短个性化疫苗的治疗时间，在 GBM 患者中，GAPVAC-101 将非突变“共享”抗原疫苗与个性化新表位疫苗相结合。这一策略诱导了中央记忆 $CD8^+$T 细胞和 1 型辅助 T（Type 1 helper T, TH1）细胞应答，该试验的患者存活率优于历史对照。

最近的另一项研究表明，临床前肺癌新表位疫苗可以通过改善 $CD8^+$T 细胞对次优势抗原的反应并防止其向功能失调的 $CCR6^+TCF1^+T_C17$ 样细胞分化，来增强检查点阻断疗法的效果。其它正在进行的 1 期研究包括使用重组热灭活酵母表达新表位（YE-NEO-001、NCT03552718）、表达患者突变体的工程化 RNA 构建体（IVAC mutanome、NCT02035956），或通过脂蛋白复合物靶向 APC 运送 RNA（Lipo-MERIT, NCT02410733）。

最近，用表达新抗原位点的腺病毒和编码相同抗原的自扩增 mRNA（GO-004 和 GO-005）制成的原代增强疫苗在少数患者中证实了新抗原特异性 $CD8^+$ T 细胞（NCT03639714、NCT03953235；表 3）。

另一种肿瘤特异性突变虽然本身不致癌，但却是由基因位点重排和体细胞高突变产生的独特免疫球蛋白或 TCR 特异型，这些突变通常存在于转化的细胞以及由此产生的骨髓瘤、淋巴瘤或白血病中。根据临床前研究的进展，淋巴瘤患者的肿瘤独特型抗体已被作为疫苗进行了测试。Favrille 和 Genitope 3 期试验给接受利妥昔单抗或化疗治疗的患有与 KLH 相关的特异型淋巴瘤的患者接种 GM-CSF，但与安慰剂相比，两项研究均未产生临床获益。另一项采用相同疫苗策略的 3 期试验（NCI-Biovest）表明，当给化疗后完全缓解的患者施用疫苗时，可显著提高无病生存率，但由于患者在接种前频繁退出，因此混淆了结果的意义。由于抗独特型抗体疗法具有有效性，特异型疫苗的多种结果可能是实施上的缺陷而非概念上的不足。尽管 GM-CSF 已被认为可以动员一些 APC 亚群，但像 Flt3L 等其他方法在引发适应性免疫反应方面更有效。

预定义的个性化抗原疫苗利用了通过现有最佳计算方法识别、最具特异性的

生命奥秘电子杂志

肿瘤诱变剂。但如何减少为每个个体生产个性化疫苗所需的资源量、避免异质性肿瘤的免疫逃逸以及建立有效的抗肿瘤 $CD8^+$ T 细胞免疫仍是一项挑战。

2. 体外或原位匿名抗原

匿名抗原可以根据 APC 装载的方法和位置而非其抗原识别进行分类。匿名抗原活体外疫苗源于切除的肿瘤细胞，然后我们将其裂解并递送至自体 APC（图 1b）。

匿名抗原原位疫苗依赖于内源性 APC，这些 APC 可能在治疗诱导的免疫原性细胞死亡后被诱导在肿瘤部位或附近对抗原进行摄取。与预定义抗原疫苗相反，匿名抗原疫苗可能包含大量抗原，甚至新的抗原类型，例如肽融合表位和转录后产生的表位，这些表位在技术上难以识别，并且不包含于大多数新表位生产线中。

活体外匿名抗原疫苗与 APC 共定位。体外抗原分离需要提取肿瘤细胞（切除活检），将原始组织加工成更具抗原性的形式并与 APC 共定位。注射的肿瘤细胞可以被吸收，并且其抗原可以由 APC 呈递，患者肿瘤细胞自身可以将抗原呈递给 T 细胞。

该方法的显著特征是抗原的体外分离以及与 APC 的共定位（图 1b 和表 4）。gp96、HSP70 和 HSP110 等 HSP 已被证明可以协同 APC 摄取和交叉呈递新表位，而本身不具有免疫原性，临床前肿瘤衍生的 HSP 疫苗可诱导抗肿瘤免疫反应，为临床开发提供证据。大型随机试验表明，接种自体肿瘤衍生肽-gp96 复合物（HSPPC-96）未能提高黑色素瘤或肾细胞癌患者的生存率。随后对接受 HSPPC-96 治疗的 GBM 患者进行的研究表明，肿瘤 PD-L1 表达与生存率呈负相关，这促使了一项将 HSPPC-96 与抗 PD-1 抗体相结合的后续临床研究（NCT03018288）的开展。

基于同种异体肿瘤细胞的疫苗源自肿瘤活检组织，随后转化为永生化细胞系，富集常见突变的 TAA（例如 p53、KRAS、EGFR）。尽管更大规模的随机试验（例如 Canvaxin、Melacine、前列腺 GVAX、Lucanix）总体上并不尽如人意，但是一些工程异体肿瘤细胞疫苗的早期试验仍支持匿名抗原疫苗所带来的获益。在这种情况下，同种异体抗原的免疫优势值得注意。

尽管大量试验显示接种疫苗后肿瘤免疫浸润效果良好，但在移植造血干细胞后输注到患者体内的自体肿瘤细胞（转染表达 GM-CSF，个性化 GVAX）并没有为 AML 患者提供生存获益。使用自体肿瘤细胞转染表达 GM-CSF，并用抗弗林蛋白酶

生命奥秘电子杂志

shRNA 来阻止转化生长因子（Transforming growth factor, TGF）-β，在尤文氏肉瘤的单臂试验中显示出良好疗效。在一项针对卵巢癌患者的随机 2b 期试验中，gegenovatucel-T 队列尽管表现不佳且宏观残留病灶较多，但仍展示出改善无复发生存（Recurrence-free survival, RFS）的趋势（风险比为 0.69，P＝0.078），且相比 BRCA-WT 疾病患者的 RFS 和 OS 更长（风险比为 0.51，P＝0.020），这表明需要对该队列进行专门研究。而掺入肿瘤细胞的卡介苗（OncoVAX）3 期试验在 2 期结直肠癌中取得了良好的效果，却引起了皮肤超敏反应，并且 RFS 和 OS 无显著改善（P＝0.330）。上述研究证明，根据小型试验中的免疫反应来预测大型试验中的临床疗效并非那么简单。

一项比较自体 GBM 肿瘤裂解物脉冲 DC 与 GBM 共享抗原脉冲 DC 的平行队列研究表明，基于自体肿瘤裂解物的方法可能优于共享抗原。该分析发现调节性 T 细胞（Regulatory T cell, Treg）比率下降与 OS 之间存在相关性，自体方法（DCVax-L）的中位生存期为 34 个月，而共享抗原脉冲 DC 中位生存期为 15 个月，这促使了一项 3 期试验（NCT00045968）的开展。为了评估基于自体肿瘤细胞的疫苗是否与自体肿瘤裂解物脉冲 DC 同样有效，一项随机 2 期试验对两者进行了比较，结果显示黑色素瘤患者的中位生存期分别为 43 个月（肿瘤裂解物脉冲 DC）和 21 个月（自体肿瘤细胞），这表明接种 DC 疫苗更具优势（P＝0.19），继而促使后续对 GBM（NCT03400917）和卵巢癌（NCT02033616）的研究。

另一款激动人心的 DC 疫苗使用了热休克的自体淋巴瘤脉冲 DC，结果显示肿瘤特异性 T 细胞有所增加，这与 18 名接受治疗的患者中有 6 名观察到的全身性肿瘤消退相关。最近，在一项对 25 名卵巢癌患者进行的初步研究中，将含有氧化自体肿瘤细胞裂解物的自体 DC 作为单一疗法或与抗血管内皮生长因子（Vascular endothelial growth factor, VEGF）A 单克隆抗体和化疗一同脉冲，诱导了与延长生存期相关的抗新表位和抗肿瘤 T 细胞应答。

总之，这些数据表明，自体肿瘤是更好的抗原来源，并且 DC 是比淋巴瘤细胞本身更有效的抗原呈递者。总体而言，与预定义抗原疫苗相比，匿名抗原体外疫苗具有更大的潜力，可以呈现全谱肿瘤抗原，并且在诱导系统性肿瘤消退方面具有明显疗效。尽管如此，为每位患者制作个性化、符合 GMP 标准的产品所需的资源仍限制了这些疫苗的发展。

原位匿名抗原疫苗，APC 共定位。匿名抗原原位疫苗在概念上类似于离体疫苗，绕过了为每位患者开发符合 GMP 的

生命奥秘电子杂志

定制疗法。不管哪种类型的原位疫苗，它们的有效使用都应诱导 APC 募集和肿瘤抗原负载和激活，从而使 APC 能够有效地交叉启动肿瘤反应性 T 细胞。原位疫苗接种结合了全谱肿瘤抗原的免疫益处和现成方法的实用性。任何一种类型的肿瘤内给药剂，包括病毒、PRR 激动剂和其它免疫刺激剂，如果能诱导全身抗肿瘤免疫反应或疫苗效果，就可能是有效的原位疫苗。这些治疗类型（表 5）的主要进展在很大程度上取决于对 APC 呈递肿瘤抗原了解的增加。

表 3 | 预定义的个性化抗原癌症疫苗试验和结果

平台	癌症	阶段	方法	结果
NEO-PV-01	黑色素瘤	1b	20 个个性化抗原表位 + ipilimumab + nivolumab 联合接种	引发抗原特异性 T 细胞应答；在 14/19 名患者中发现记忆样 T 细胞，并达到主要病理缓解（MPR）；观察到抗原表位扩散
NeoVax	GBM	1b	20 个个性化抗原表位 + poly-ICLC 联合接种	颅内新抗原特异性 T 细胞也存在于血液循环中，且具有记忆表型
	黑色素瘤	1	20 个个性化抗原表位 + poly-ICLC 联合接种	新表位特异性 T 细胞应答性、TCR 多样性（包括非疫苗新抗原）、记忆表型、肿瘤浸润、抗原表位扩散
CONSORT	胃肠道（GI）癌症	1/2	接种编码 20 个个性化 TIL 反应性新表位的 mRNA	3/4 名患者表现出新表位特异性 T 细胞，无 ORR
RO7198457	黑色素瘤	2, NCT03815058	接种脂质体复合物中编码新表位的 RNA ± pembrolizumab	主要指标：PFS
	NSCLC	2, NCT04267237	接种脂质体复合物中编码新表位的 RNA ± atezolizumab	主要指标：DFS
GAPVAC-101	GBM	1	共享抗原 + 新表位双疫苗 + poly-ICLCC 和 GM-CSF 联合接种	12/13 名患者对未突变肽产生 $CD8^+$细胞应答；11/13 名患者出现 $CD4^+$细胞诱导和针对突变肽的 TH1 表型
YE-NEO-001	实体瘤	1, NCT03552718	接种表达多个新表位的个性化重组热灭活酵母	主要结果：治疗中出现不良事件（TEAE）
IVAC 突变组	黑色素瘤	1	接种多新表位编码 RNA 疫苗	在 13/13 名患者中检出针对疫苗抗原的免疫反应；在 125 个选定的新表位中 60% 引发了 T 细胞应答
Lipo-MERIT	黑色素瘤	1, NCT02410733	全身递送裸 RNA 和 RNA-lipoplex	主要结果：出现副作用
GRT-C901/2	腺癌和上皮癌	1/2	接种 Prime-boost 自我扩增 mRNA 脂质体 ± nivolimumab/ ipilimumab	GO-004 中 4 名患者产生新抗原特异性 $CD8^+$ T 细胞；GO-005 中 1/3 名患者产生突变特异性 $CD8^+$ T 细胞
抗独特型	淋巴瘤	3	接种融合 KLH + GM-CSF 的肿瘤特异性独特型	与对照组相比，治疗组无显著差异

生命奥秘电子杂志

表 4 | 匿名体外工程癌症疫苗试验和结果

平台	癌症	阶段	方法	结果
HSP				
HSP	黑色素瘤	3	与自体肿瘤抗原（HSPPC-96 或 vitespen）和 gp96 联合接种	M1a/b 分期患者接种疫苗 10 次以上，DFS 获改善
	肾细胞癌	3	接种 HSPPC-96 疫苗	治疗组与对照组之间的 RFS 没有差异
	GBM	2	接种 HSPPC-96 疫苗	高 PD-L1 患者的 mOS 为 18.0 个月；低 PD-L1 患者的 mOS 为 44.7 个月
		2, NCT03018288	替莫唑胺＋ pembrolizumab＋ HSPPC-96 联合接种	主要结果：OS 为 1 年
		2	手术切除后，接种 HSPPC-96 疫苗	37/42 名患者在 6 个月后仍存活；12/41 名患者在 12 个月后仍存活；淋巴细胞耗竭的患者表现出 OS 降低
		2, NCT01814813	贝伐珠单抗＋HSPPC-96 联合接种	主要结果：OS 为 5 年
基于同种异体肿瘤				
GVAX	黑色素瘤	2	接种重组表达 GM-CSF 的同种异体辐射黑色素瘤系	注射后活性循环单核细胞计数更高
	胰腺癌	2, NCT02004262	接种分泌 GM-CSF 的同种异体胰腺肿瘤细胞	治疗组和对照组之间 mOS 无显著差异
		3	接种分泌 GM-CSF 的同种异体胰腺癌细胞	试验组患者死亡人数多于对照组，试验提前终止
同种异体肿瘤细胞	黑色素瘤	2	接种解毒弗氏佐剂（Melacine）的同种异体黑色素瘤细胞裂解物	表达 HLA-A2 和 HLA-Cw3 的患者的 10 年 OS 比观察组高 17%
基于自体肿瘤				
基因工程自体肿瘤细胞	AML/MDS	2	Allo-HSCT 移植后转染表达 GM-CSF（GVAX）的自体肿瘤细胞	GVAX 组的 OS 为 63%，安慰剂组的 OS 比例为 59%（$P = 0.86$）
	尤文氏肉瘤	1	体外将编码 GM-CSF 的 DNA 和抗弗林蛋白酶 shRNA 转染到肿瘤细胞中，并重新注射（Vigil）	11/15 名患者存活了 1 年，治疗患者的存活率提高了 17.2 个月
		3, NCT03495921	接种 Vigil±替莫唑胺±伊立替康	主要结果：PFS 为 5 年
	卵巢癌	2b	患者化疗后，接种 Vigil 疫苗	BRCA-WT 患者的 RFS 和 OS
		2	接种 Vigil 疫苗	自给药之日起，mRFS 从 481 天增加至 826 天
	实体瘤	1	接种 Vigil 疫苗	1 年生存率为 93%，12/12 名患者在两个周期后的 ELISPOT 测试中呈阳性
BCG	结直肠癌	3	注射含有 BCG 的自体细胞	RFS 为 4 年：接种疫苗的为 88%，而未接种疫苗的为 74%

续下表

生命奥秘电子杂志

表 4 | 匿名体外工程癌症疫苗试验和结果

平台	癌症	阶段	方法	结果
基于自体肿瘤				
自体肿瘤脉冲 DC	神经胶质瘤	1	注射自体肿瘤裂解物或合成肽脉冲 DC 裂解物	经裂解物 DC 治疗的患者的中位生存期为 34 个月，而经多肽 DC 治疗的患者中位生存期为 15 个月
	GBM	3	接种自体肿瘤裂解液树突状细胞疫苗（DCVax-L）	108/331 名患者在术后 30 个月仍存活。接种疫苗的患者的 mOS 为 23.1 个月，而标准治疗患者的 mOS 为 15-17 个月
		2, NCT03435952	DC＋ 自体肿瘤裂解物培养物 ＋GM-CSF（AV-GBM-1）疫苗接种	主要结果：OS 为 3 年
		2, NCT03400917	手术＋ 放化疗＋AV-GBM-1 联合治疗	主要结果：OS 为 3 年
	卵巢癌	2, NCT02033616	接种 DC ＋ 自体肿瘤裂解物	主要结果：OS 为 5 年
	NHL	1/2	体外、热休克、UV-C 处理的全肿瘤淋巴瘤与 DC 共培养治疗	3/18 患者获得影像学完全缓解，3/18 名患者获得部分缓解
自体 DC 与自体肿瘤细胞	黑色素瘤	2	接种体外负载辐照肿瘤细胞的 DC 或接种掺入 GM-CSF 的辐照肿瘤细胞	DC 疫苗的中位生存期为 43.4 个月，而肿瘤细胞疫苗的中位生存期为 20.5 个月

AML/MDS：AML/骨髓增生异常综合征；HSCT，hematopoietic stem cell transplantation：造血干细胞移植；NHL，non-Hodgkin’s lymphoma：非霍奇金淋巴瘤；HSPPC-96，HSP peptide complex 96：HSP 肽复合物 96。

生命奥秘电子杂志

表 5 | 匿名原位加载癌症疫苗试验及结果

平台	癌症	阶段	方法	结果
TVEC	黑色素瘤	3	HSV1 衍生病毒产生的 GM-CSF（TVEC）+ 帕博利珠单抗联合注射	在 TVEC 组中，50/295 名患者完全缓解，GM-CSF 组中，1/141 名患者完全缓解
		2	TVEC + 伊匹木单抗联合注射	联合组中 ORR 为 38/98，单独伊匹木单抗组中 ORR 为 18/100
		3, NCT02263508	帕博利珠单抗 + TVEC 联合注射	主要结果：PFS 为 2 年， OS 为 5 年
Vaccinia 病毒	肝细胞癌	2b	最佳支持性护理 ± 表达 GM-CSF 的牛痘病毒（PexaVec）联合注射	疫苗组中位 OS 为 4.2 个月，未接种疫苗组为 4.4 个月
腺病毒	胶质母细胞瘤（GBM）	1	在 Rb/p16 缺陷细胞（DNX-2401）中选择性复制的腺病毒注射	18/25 名患者肿瘤减小，5/25 名 PFS≤3 年
	视网膜母细胞瘤	1	整合素结合腺病毒表达透明质酸酶在 Rb 缺陷细胞（VCN-01）中选择性复制	1/2 名患者玻璃体内肿瘤消退
细小病毒 H1	GBM	1	野生型大鼠细小病毒（H-1PV）注射	与历史对照相比，PFS 和 OS 有所改善（强度不高）
	胰腺癌	1/2, NCT02653313	H-1PV 注射	主要指标：安全性、耐受性、体液免疫反应、药代动力学、病毒基因组脱落
柯萨奇病毒	膀胱癌	1	腺腔内柯萨奇病毒 A21 ± 丝裂霉素 C（CAVATAK）联合注射	1 例组织学完全缓解，疫苗接种患者肿瘤中观察到免疫原性细胞死亡，IFN-γ 诱导基因增加
呼肠孤病毒	脑胶质瘤	2	野生型呼肠孤病毒（pelareorep）注射	10/18 名患者病情稳定，1/10 名患者部分稳定
	实体瘤	1	Pelareorep + 放疗联合注射	14/14 名患者客观上病情稳定，部分稳定
异体 DC	肾细胞癌	1/2, NCT01525017	种由招募和激活因子刺激的同种异体 DC 注射	无副作用，疫苗接种患者 mOS 从约 15 个月延长至 42.5 个月

续下表

生命奥秘电子杂志

表 5 | 匿名原位加载癌症疫苗试验及结果

平台	癌症	阶段	方法	结果
自体 DC	实体瘤	1	用 GM-CSF、BCG 和 IFN-γ 激活的自体 DC（DCVax-Direct）注射	病情稳定和 IL-8 和 IL-12 的诱导都与生存期更长有关
	淋巴瘤	2	放疗后瘤内低剂量利妥昔单抗、GM-CSF 和自体未成熟 DC 共注射	7/13 名患者 T 细胞反应增加，与局部及远处肿瘤的临床反应相关
		1	利妥昔单抗 + IFN-α 和 GM-CSF 激活的未装载 DC（IFN-DC）联合注射	ORR 为 4/8，3/8 名患者完全缓解
	NSCLC	1	表达 CCL21 的腺病毒转导的 DC（Ad-CCL21-DC）注射	4/16 名患者病情稳定，中位生存期 3.9 个月
Flt3L	NSCLC	2	检查点阻断 + 局部 RT 和 Flt3L 联合注射	5/9 名患者观察到远端效应，5/7 名之前接受检查点抑制剂治疗的患者达到部分缓解，并获得 PFS
	GBM	1	将 Flt3L 和 HSV1-TK 腺病毒载体切除后注入肿瘤腔，随后 valacyclovir 输注	初步分析显示肿瘤炎症细胞浸润增加
	淋巴瘤	1/2, NCT01976585	瘤内 Flt3L + 低剂量放疗 + poly-ICLC 注射	8/11 名患者肿瘤消退，3/11 名患者远处转移灶减小或消失
	淋巴瘤、乳腺癌或头颈癌	1/2, NCT03789097	anti-PD-1 + Flt3L +放疗+ poly-ICLC 注射	主要结果：出现剂量限制性毒性（DLT）
活细菌	实体瘤	1	表达大肠杆菌胞嘧啶脱氨酶的沙门氏菌 +5-FU 注射	无客观肿瘤消退；2/3 名患者肿瘤局部生长
		1	减毒 *C. novyi*-NT 注射	5/7 名患者病情稳定
		1, NCT03435952	anti-PD-1 + i.t. *C. novyi*-NT + 强力霉素注射	主要指标：最大耐受剂量（MTD）
	前列腺癌	1	非致病性活细菌静脉注射	引发免疫反应的剂量下观察到病情稳定

续下表

生命奥秘电子杂志

表 5 | 匿名原位加载癌症疫苗试验及结果

平台	癌症	阶段	方法	结果
TLR9 激动剂	黑色素瘤	3, NCT03445533	Tilsotolimod（IMO-2125）+ 伊匹木单抗联合注射	联合用药 ORR 为 8.8%，伊匹木单抗组为 8.6%
		1/2	IMO-2125 + 伊匹木单抗联合注射	ORR 与单独伊匹木单抗的相比为 22%
		1/2, NCT02644967	IMO-2125 + 伊匹木单抗 + nivolumab 联合注射	主要指标：安全性与客观反应
		1, NCT02680184	瘤内含 CpG-A 的病毒样颗粒（CMP-001）+ 帕博利珠单抗联合注射	主要指标：剂量爬坡试验
		1b/2	合成 C 类 CpG-ODN（SD-101）+ 帕博利珠单抗联合注射	PD-1 初治患者 ORR 为 78%，PD-1 经治患者 ORR 为 15%
	实体瘤	2, NCT03865082	IMO-2125 + nivolumab + ipilimumab 联合注射	主要结果：获得客观缓解
	淋巴瘤	1/2	低剂量 RT + 24-mer ODN（PF-3512676）联合注射	ORR 为 27%，1 名患者完全临床反应，3 名部分缓解，8 名病情稳定
		1/2	SD-101 + 低剂量放疗治疗	ORR 为 27.5%，6/29 名换着远端肿瘤有反应
		1/2	放疗 + SD-101 注射	治疗和远处病灶肿瘤中位缩小率分别为 68%和 24%
TLR3 激动剂	实体瘤	2, NCT01984892	Poly-ICLC 注射	因入组人数少提前终止
		I	纳米诺交联 poly-I:C（BO-112）注射	3/13 名患者部分缓解，10/13 名患者病情稳定
		1/2, NCT02643303	Tremelimumab + Durvalumab + poly-ICLC 联合注射	主要结果：PFS 为 4 个月，安全性、ORR、PFS 和 OS 为 15 个月
	淋巴瘤	1/2, NCT03789097	放疗，Flt3L，poly-ICLC + pembrolizumab 联合注射	主要指标：DLT、ORR

续下表

生命奥秘电子杂志

表 5 | 匿名原位加载癌症疫苗试验及结果

平台	癌症	阶段	方法	结果
TLR4 激动剂	胰腺癌	1	未成熟 DC + 灭活 *S. pyogenes* TLR4 结合成分（OK-432）注射	2/9 名患者存活至 5 年
	默克尔细胞癌	1	稳代甘露糖稳定乳液（G100）注射	2/3 名患者 19 个月无复发，1 名完全缓解
	淋巴癌	2	G100 + pembrolizumab 联合注射	肿瘤缩小，部分缓解，联合用药趋向 PFS 改善
	胰腺癌或 HNSCC	1/2, NCT00795977	OK-432/溶链菌素 + i.t. DC 注射	主要指标：MTD，DLT。结果未发表
		1, NCT01149902	环酸磷，多西他赛，OK-432 和自体未成熟 DC 联合注射	主要指标：安全性。结果未发表

HNSCC：头颈部鳞状细胞癌；Rb/p16：视网膜母细胞瘤/p16 蛋白；IFN：干扰素；i.t.：瘤内；CCL21：C–C 基序趋化因子配体 21；5-FU：5-氟尿嘧啶；DLT：剂量限制毒性；MTD：最大耐受剂量；NT：无毒，缺乏 α 毒素；ODN：寡核苷酸。

生命奥秘电子杂志

树突状细胞。鉴于肿瘤既排除树突状细胞（DC）又使其失活，有研究试图通过直接给药在肿瘤内补充 DC，从而使其随后摄取和呈递肿瘤抗原。以这种方式注射体外成熟和活化的自体 DC，增加了与稳定疾病和延长生存期相关的肿瘤内细胞因子水平（例如 IL-12p40、IL-8、肿瘤坏死因子（TNF））。或者，在低剂量放射治疗后，将吞噬能力增加的未成熟 DC 与利妥昔单抗和 GM-CSF 一起注射。局部和远处肿瘤的频繁 T 细胞反应和消退与效应反应的大小相关，这证明了严格免疫监测的关键作用。

一项使用 IFN-α 激活的 DC 和利妥昔单抗的类似试验，但省略了放疗诱导的淋巴瘤特异性 $CD4^+$和 $CD8^+$ T 细胞反应和未治疗肿瘤的消退。这两项独立的试验证实了 APC 和抗原内源性共定位诱导全身肿瘤消退的潜力。此外，将表达 CCL21 的未成熟腺病毒感染的 DC 肿瘤内注射到 NSCLC 患者体内，并诱导肿瘤浸润和循环 $CD8^+$ T 细胞，肿瘤 PD-L1 表达上调，与全身反应相关。

Flt3L。Flt3L 是主要的造血祖细胞生长和分化因子，负责动员 DC，特别是交叉呈递亚群 cDC1。因此，Flt3L 给药可能是一种更实用的补充肿瘤内 DC 的方法，而不是直接注射。事实上，29 名接受 NSCLC 治疗的患者中，有 9 人因注射 Flt3L 进行局部放疗而出现脓肿反应。一项 1 期研究显示，与对照相比，将表达 Flt3L-和单纯疱疹病毒 1（HSV1）-胸苷激酶（TK）的腺病毒载体注射到切除后的 GBM 肿瘤腔中，免疫细胞浸润并延长了生存期。在一项 1–2 期试验中，用瘤内 Flt3L、poly-ILC 和低剂量放疗治疗的低度 B 细胞淋巴瘤患者显示，记忆性 $CD8^+$ T 细胞募集到未治疗的肿瘤部位的初步结果与全身肿瘤消退相关，有些持续数月至数年。

一项针对淋巴瘤、乳腺癌和头颈部癌症患者的随访试验将原位疫苗接种与 PD-1 阻断相结合（NCT03789097）。尽管 Flt3L 的进展受到日常给药和可用临床试剂限制的阻碍，还是有几种更易于使用的 Flt3L 制剂正在进入临床（例如，NCT04747470）。这些数据强调了 DC 原位募集引发肿瘤反应性 T 细胞反应和持续全身缓解的潜力。

TLR 激动剂。TLR 是在许多白细胞亚群（如髓细胞和 DC）上表达的单程跨膜 PRR 家族受体，其能识别结构保守的病原体相关分子模式。已经鉴定了 10 个人类和 13 个小鼠 TLR，每个 TLR 都具有不同的病原体相关分子模式识别。这几种人类 TLR 都有对应的合成 TLR 激动剂，有望引发抗肿瘤免疫反应。

TLR9 是一种内体受体，在许多小鼠 DC 亚群中高度表达，主要在人 B 细胞和浆细胞样 DC 中，在交叉呈递的 cDC1 细胞中不表达。大多数 TLR9 激动剂是低甲基化的富含 CpG 的寡核苷酸，分为 CpG-A、CpG-B 或

生命奥秘电子杂志

CpG-C，其在浆细胞样 DC、B 细胞或两者中诱导活化和促炎细胞因子（例如 I 型 IFN）。尽管病原体疫苗具有显著的 IFN 诱导和临床增强作用，但与其他 PRR 激动剂相比，TLR9 激动剂在诱导人类 $CD8^+$ T 细胞反应中表现较差。尽管早期结果很有希望，但一项大型 3 期试验报告称，CpG-B 替索妥利莫加易普利木单抗的 ORR 为 9%，类似于单独的易普利姆单抗（NCT02644967，NCT03445533）。其它肿瘤类型的研究正在进行中（NCT03865082）。

将含有 CpG-A 的病毒样颗粒（CMP-001）注射到抗 PD-1 难治性黑色素瘤患者体内的一项试验表明，作为单一疗法，pembrolizumab（NCT02680184）的 ORR 为 28%。而在一项小型研究中，CpG-C（SD-101）与 pembrolizumab 联合应用在抗 PD-1 初始患者中显示出 78%的 ORR，但在抗 PD-1-经历过的患者中仅显示出 15%的 ORR。SD-101 还被与低级别淋巴瘤的放射治疗一起进行了研究，结果 29 名患者中有 6 名的全身肿瘤消退。

先前对 CpG-B PF-3512676 的研究反映了类似的结果，可能是由肿瘤 TLR9 的高表达促进的。这些数据表明，虽然 TLR9 激动剂可以诱导肿瘤内炎症，但单独使用可能是不够的。如果肿瘤抗原向 $CD8^+$ T 细胞的呈递是关键的，则这些抗原可能需要由不强烈表达 TLR9 的 cDC1 细胞交叉呈递。

TLR3 主要在 DC，特别是 cDC1 细胞上表达，并识别双链 RNA。它是唯一被发现 MyD88 非依赖性 TLR，并通过含有 TIR 结构域的接头发出信号，诱导 IFN-β（TRIF）激活下游核因子（NF）-κB 和 IFN-调节因子 3（IRF3）等途径。广泛研究的 TLR3 激动剂聚 ICLC（Hiltonol）是聚肌苷-聚胞苷酸、聚-L-赖氨酸和羧甲基纤维素的复合物，通过 TLR3 和 RIG-I 样受体（RLR）MDA-5 激活不同的 APC 亚群。肝癌和头颈癌患者进行肿瘤内多 ICLC 治疗后，T 细胞活化、肿瘤浸润、局部肿瘤消退和生存期延长的轶事报道已被描述。

肿瘤内多-ICLC 注射与放疗和肿瘤裂解物脉冲 DC 相结合诱导了大多数患者的 I 型 IFN 表达、肿瘤特异性 T 细胞和疾病的稳定，以及显著的前列腺癌症脓肿肿瘤消退。如前所述，在使用由 Flt3L、放疗和 poly-ICLC4 组成的原位疫苗治疗的淋巴瘤患者中观察到持久的脓肿肿瘤消退，这促使对淋巴瘤、癌症或头颈部鳞状细胞癌患者进行将该方法与 pembrolizumab 相结合的后续研究（NCT03789097）。

较新的 poly-I:C 制剂在免疫学上与 poly-ILC 不同。rintolimod（poly-I:C12U）激活 TLR3，但却避免了 MDA-5 诱导的 TNF 依赖性细胞色素 c 氧化酶亚基 II（COX2）、IDO、IL-10 和 Treg 细胞募集。此外，肿瘤内 BO-112（纳米丛聚-I:C）诱导临床前抗肿

生命奥秘电子杂志

瘤 $CD8^+$ T 细胞反应，并在与 PD-1 阻断联合治疗抗 PD-1 难治性黑色素瘤和癌症肾脏患者时，诱导肿瘤内 $CD8^+$ T 淋巴细胞浸润和全身肿瘤消退。TLR4 是一种 MyD88 半依赖性 PRR，与细菌脂质（例如脂多糖）结合能激活炎症反应，将先天免疫和适应性免疫联系起来。

临床前研究表明，失活的化脓性链球菌（OK-432）的 TLR4 结合成分激活了 DC，肿瘤内给予 OK-432 会诱导胃癌患者的淋巴细胞局部募集，并能增加胰腺癌患者的 APC 水平。一种新的 TLR4 激动剂（G100），含有合成脂质 A 类似物吡喃葡萄糖基脂质 A，可在少数 Merkel 细胞癌患者中给予肿瘤内诱导的 T 细胞浸润和免疫相关基因的表达，这些基因与持续数年的临床反应相关。在接受肿瘤内 G100 治疗的 26 名淋巴瘤患者中，单独接受 G100 治疗及其与 pembrolizumab 联合治疗的绝大多数患者中观察到系统性消退。本文对其它 TLR 激动剂如 TLR7、TLR8 和 STING 的研究也进行了综述。使用激动性抗 CD40 抗体激活 APC 的类似方法在用作全身治疗时受到毒性的阻碍，因此，最近的试验已经开始研究肿瘤内方法（NCT02379741、NCT04059588、NCT038992525）。早期临床结果显示，在注射和未注射的肿瘤中，浅表肿瘤内给药和 PD-L1 上调是安全的。

将这些药物联合用于肿瘤内注射可以提高疗效。这些原位疫苗接种方法，在多种肿瘤类型中诱导全身肿瘤消退是非常有希望的，不过，肿瘤可能会排除并灭活表达这些方法所需的 PRR 的 APC。因此，最有潜力的方法是在肿瘤内给予 PRR 激动剂的同时将表达 PRR 的 APC 募集到肿瘤部位的组合方法。

瘤内给药溶瘤病毒和细菌。溶瘤病毒在肿瘤细胞中的优先复制和细胞溶解可以产生许多治疗机制，最受关注的是其在肿瘤内给药后潜在的全身疫苗作用。目前，FDA 批准的唯一溶瘤病毒是 talimogene laherparepvec（TVEC），这是一种改良的、产生 GM-CSF 的 HSV1 病毒，已在非注射病变中显示出增加的存活率和肿瘤消退，并正在进行新佐剂和检查点阻断的联合试验。

自 Coley 和 Old 博士最早接种疫苗以来，减毒活细菌已被用于驱动系统抗肿瘤免疫反应。BCG 已被用作膀胱内和肿瘤内治疗，诱导局部和远处肿瘤消退。类似地，减毒的新梭菌瘤内注射已经被证明肿瘤特异性 T 细胞诱导和肿瘤消退，并且现在正与 PD-1 阻断剂联合使用（NCT03435952）。

这一广阔领域为理性设计具有独特免疫刺激特性的病毒以及取得临床成果提供了巨大支持，这些内容在其他地方已有论述。

生命奥秘电子杂志

3. 展望

尽管 50 年的研究经历了许多失败，但疫苗现在终于能够成功，这是因为：与前几十年相比，1）T 细胞可以治疗（并且在某些情况下治愈）癌症患者，如 CAR T 细胞和双特异性 T 细胞结合物所示；2） 患者的内源性 T 细胞可以对抗其自身的 TAA，这与肿瘤消退相关，如检查点阻断所示；3）内源性 T 细胞的启动需要最佳的抗原呈递（例如 cDC1 细胞）。

哪种类型的 TAA 最有前景（预定义的或匿名的），如何优化 cDC1 的交叉呈递，以及通过何种方式在接种疫苗的患者中测量交叉引发的肿瘤反应性 T 细胞，还有待解决。

预定义的共享抗原疫苗已经在该领域占据主导地位，并证明了生存益处，但仅限于组织特异性抗原（例如，PAP、gp100）。靶向突变 TSA（使用预定义的个性化或匿名疫苗）很有吸引力，但测量由此产生的免疫反应对其转化为临床疗效至关重要。即使使用特定的抗原，一种以上抗原的组合也可能提供更为优越的疗效。此外，免疫耐受可由免疫细胞清除的肿瘤逃避的免疫编辑引起。

检查点阻断的临床成功表明，阻断免疫抑制途径足以逆转耐受性并允许免疫介导的癌症排斥反应。因此，针对 TAA 的免疫策略也必须解决肿瘤宿主中存在的 TAA 特异性免疫耐受问题，特别是通过靶向或消耗 TAA 特异性 Treg 细胞。

在评估抗癌疗效之前测量药效是癌症治疗发展的金标准。如果将无效的激酶抑制剂纳入疗效试验，小分子化疗将因失败过多而受阻。与病原体疫苗类似，如 2019 冠状病毒病疫苗，在临床疗效试验前需要强大的体液反应，免疫疗法也应该有类似的指标。缺乏可靠可测量的癌症疫苗药效学或“免疫动力学”研究支持，将导致该方法进入后期临床试验时失败，甚至引起这一领域一再倒退。

有效的免疫监测对于确定癌症疫苗是否达到其预期免疫效果，以及是否仅将免疫有效的候选疫苗转移到更大规模的研究和适当的患者亚群至关重要。与病原体疫苗一样，癌症疫苗的早期开发侧重于体液反应，以评估其免疫效力，单克隆抗体治疗乳腺癌和淋巴瘤的抗肿瘤效力使其合理化。

从临床前小鼠模型到人类的推断结果都受到小鼠和人类免疫细胞亚群的种间差异的限制，例如 APC 上 TLR 表达的差异。相反，T 细胞亚群的表型和功能具有显著的种间相似性。因此，即使很难进行个性化抗原鉴定，也有可能在小鼠研究中鉴定出统一的肿瘤反应性 T 细胞表型，并将其外推到人类免疫监测中。因此，小鼠 $CD8^+$ T 细胞 PD-1 表达预测人类 PD-1 T 细胞表达可以成为

生命奥秘电子杂志

癌症患者的有效监测参数。研讨会研究表明，与 B 细胞相比，抗肿瘤 T 细胞的反应对疫苗的抗肿瘤效果至关重要。然而，测量 T 细胞的抗肿瘤功能比较困难。大多数 T 细胞免疫监测试验都是描述性的：评估广泛 T 细胞群体的表型或克隆性。描述性评估作为疗效生物标志物的先例很少：绝对淋巴细胞计数与一些免疫治疗临床结果相关；肿瘤反应性 T 细胞在表达活化或耗竭标志物（如 PD-1、TIM-3 和 LAG-3）的 $CD8^+$细胞中富集。

通过高通量 TCR 测序，可以在血液中追踪特定的 T 细胞克隆，特别是在肿瘤中追踪，克隆性的程度可以预测对某些免疫疗法的临床反应。TCR 鉴定甚至可以在一定程度上与肿瘤抗原身份相关，尽管大多数 TCR 克隆的功能和反应性尚不清楚。

使用预定义抗原疫苗，通过 T 细胞-肽共培养（例如，酶联免疫吸附斑点法(ELISPOT)或流式细胞仪分析）来评估肿瘤反应性 T 细胞功能非常直接，这些检测已显示与生存率的相关性以及与临床反应的中等程度相关性。评估对匿名抗原疫苗有反应的肿瘤反应性 T 细胞更具挑战性，通常采用 T 细胞-肿瘤细胞共培养法，尽管这种方法与临床反应有关联，但由于自体肿瘤样本冷冻保存并不常见，所以获取不易。

原则上，使用突变识别并鉴定对这些抗原的 T 细胞反应，可以从匿名抗原疫苗中确定候选新抗原，这一点在使用检查点封锁治疗的患者中已得到证明，但这可能因资源密集而受限于广泛应用。癌症疫苗联合会（Cancer Vaccine Consortium）智囊团等行业和学术合作已经将疫苗重新确立为检查点阻断的有前景的最佳组合疗法，因为它们能够激发 T 细胞，但要求测量抗肿瘤 T 细胞反应的能力，比将疫苗作为单一疗法诱导肿瘤消退的能力更重要。为此，创新的免疫监测中心现在已经开发了 MANAFEST 等测定法，将功能性 T 细胞反应性测定法（例如，针对新表位）与 TCR 测序等实用的描述性测定法相结合，使后者能够在血液或肿瘤中进行连续调查，以测量抗肿瘤 T 细胞反应。展望未来，这种测定会超越新表位反应性和全肿瘤细胞反应性探针，以测量对匿名肿瘤抗原疫苗的免疫反应。

随着新表位或全肿瘤反应性 T 细胞的表征数据的积累，通过单细胞 RNA 测序或流式细胞术测量的共同特征可能能够表征有效的疫苗诱导的 T 细胞。目前的不敏感和非特异性方法（例如 IFN-γELISPOT）将在未来 5 年内被深度免疫监测方法所取代，以准确表征癌症疫苗免疫反应。有了这些手段，小型试验将能够快速确定免疫效力最强的癌症疫苗，从而避免免疫原性较低的疫苗的大型试验。深度免疫监测将引导该领域走上一条高速轨道，评估最有前景的方法（可能是新抗原和原位疫苗），以成功进行随机试验并最终商业化。有效的疫苗有望与其它免

生命奥秘电子杂志

疫刺激方法相结合，包括过继性 T 细胞疗法，并可用于术后辅助治疗，以防止复发。

几十年的缓慢进展证明了癌症疫苗确实可以引发系统性肿瘤消退、持久缓解和改善 OS。开拓者把我们托举到他们的肩膀，提高了我们对免疫学的理解，我们正处于利用这种理解开发合理有效的癌症疫苗的起跑线上，这将免疫疗法的前景推向一个新的前沿——从而节省资源、时间，最终挽救患者的生命。

生命奥秘电子杂志

原文检索：

Liam Drew. (2024) How to build a cancer vaccine? *Nature*, 627: S34-S35.

Moderna. (2024) Revolutionizing cancer research with the power of mRNA. *Nature*, 628: 677-679.

Matthew J. Lin, Judit Svensson-Arvelund, Gabrielle S. Lubitz, Aurélien Marabelle, Ignacio Melero, Brian D. Brown & Joshua D. Brody. (2022) Cancer vaccines: the next immunotherapy frontier. *Nature cancer*, 3: 911-926.

张洁、Kiri/编译

特约编辑招聘启事

为了及时收集生命科学最新资讯、提高《生命奥秘》办刊质量，现面向从事生命科学或对这学科有浓厚兴趣的科研人员、学生诚聘特约编辑（兼职）。

生命奥秘电子杂志

职位职责：

独立完成《生命奥秘》专题的策划：对基因组学、蛋白组学、生物信息学和细胞生物学等学科的发展以及生物医学领域相关技术（例如基因诊断技术、干细胞和克隆技术、生物芯片技术等）的应用进行翻译及深入评述。

选题要求内容新颖、评述精辟、注重时效和深入浅出。尤其欢迎以自身系统研究为基础的高水平译述与评论，结合所从事的科研工作提出自己的见解、今后设想或前瞻性展望。

要求：

1.具备基因组学、蛋白组学、生物信息学、细胞生物学等生命科学学科背景；
2.具备良好的生命科学前沿触觉；
3.具备较高的外文文献翻译、编译水平；
4.具备较强的选题策划、资料搜集、组织能力，以及专业稿件撰写能力；
5.具有高级职称；或者拥有（正在攻读）该领域的最高学位。

有意者请将个人简历发送至 editor@lifeomics.com

EndoFectin™ 转染试剂

高效、低毒、适用于多种细胞系

买一赠一

活动时间：2024 年 9 月 1 日 ~12 月 31 日

扫码查看产品详情

- 转染效率高，适用于多种细胞系的转染
- 细胞毒性低，保证高细胞活性
- 转染前无需去除细胞培养液或血清
- 转染后无需清洗细胞或更换培养基
- 可用于基因过表达、基因敲减/敲除、微孔板的高通量转染操作

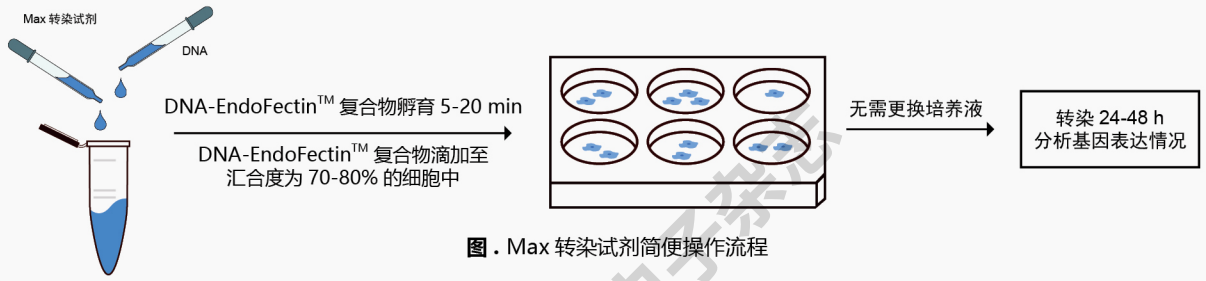


图 . Max 转染试剂简便操作流程

明星产品

产品名称	适用性	货号	规格	目录价	促销价
EndoFectin ™ Max *Hot !*	广泛适用于多种细胞	EF013	1 mL	￥2000	买一赠一
		EF014	3 mL	￥5000	买一赠一

* 凡同一订单购买 EndoFectin ™ Max，加购 miTarget ™ miRNA 靶标 (3' UTR) 克隆或 GLuc-ON ™ 启动子报告克隆，则该克隆享 9 折优惠，且该 EndoFectin ™ Max 在买一赠一基础上再享额外 8 折。

EndoFectin ™ 系列除了明星产品 Max，更有针对 293T、Cas9 蛋白转染的专业转染试剂！

产品名称	适用性	货号	规格	目录价	促销价
EndoFectin ™ Lenti	转染 293T 细胞，可收获更高滴度的慢病毒	EF001	1 mL	￥1700	买一赠一
		EF002	3 mL	￥4000	买一赠一
CRISPR-Fectin ™	CRISPR-Cas9 核蛋白专用的转染试剂，可与 GeneHero ™ Cas9 蛋白配合使用	EF015	1mL	￥2000	买一赠一
		EF016	3mL	￥5000	买一赠一
EndoFectin ™ Expi293	专用于分泌蛋白表达	EF017	1L 转染用量	￥3300	买一赠一
	专用于胞内蛋白表达	EF019	1L 转染用量	￥3300	买一赠一
EndoFectin ™ RNAi	专为将 siRNA 和 miRNA 递送至哺乳动物细胞而设计	EF021	1 mL	￥2000	买一赠一
		EF022	3 mL	￥5000	买一赠一

客户发表文章举例

- Direct observation of the conformational states of PIEZO1. 2023. ***Nature.*** **EndoFectin™ Expi293**
- Structure-function analyses reveal key molecular determinants of HIV-1 CRF01_AE resistance to the entry inhibitor temsavir. 2023. ***Nature Communications.*** **EndoFectin™ Max.**
- The PI3K-Akt-mTOR pathway mediates renal pericyte-myofibroblast transition by enhancing glycolysis through HKII. 2023. ***Journal of Translational Medicine.*** **OMICSLINK™ Hk2 ORF expression clone; EndoFectin™ MAX.**

生命奥秘电子杂志

复能易锦 GeneCopoeia®

ORF表达克隆

即购即用 快捷方便 劲爆促销

活动时间：2024 年 9 月 1 日 ~12 月 31 日

- 多 —— 140,000+个ORF克隆；涵盖20,000+个人类基因；200+种哺乳动物、慢病毒等表达载体；50+种蛋白融合标签
- 快 —— 可直接用于蛋白表达，无需亚克隆步骤
- 好 —— 保证序列，经过全长测序
- 省 —— 价格更优惠

199元起

扫码进入产品详情

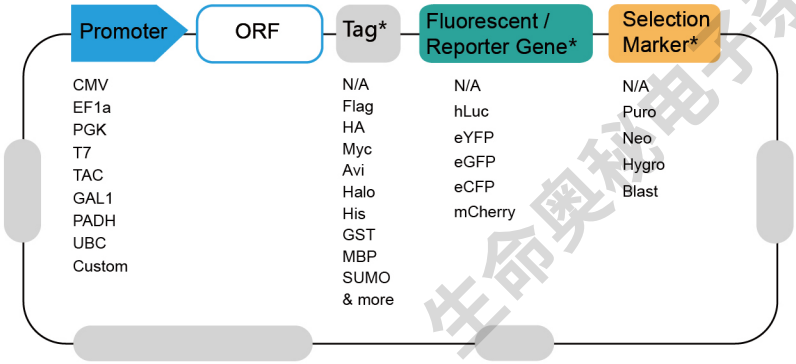


图 . ORF 表达克隆载体选择

- **极速发货**

订购官网带 Next-day 标签的克隆

今天订货，明天发货

> 全球最大的基因克隆和载体种类供应商，NCBI 推荐的基因克隆供应商
> 从 2002 年起，已为全球超过 20000 客户提供高质量克隆
> 已发表超过 10000 篇 SCI 高分文献

客户发表文章举例：

- Sanmarco, L.M., Lactate limits CNS autoimmunity by stabilizing HIF-1α in dendritic cells. 2023. ***Nature.***
- Soto, J.S., et al. Astrocyte–neuron subproteomes and obsessive–compulsive disorder mechanisms. 2023. ***Nature.***
- Turrell, F.K., et al. Age-associated microenvironmental changes highlight the role of PDGF-C in ER+ breast cancer metastatic relapse. 2023. ***Nature Cancer.***
- Wang, Y., et al. DNA polymerase POLD1 promotes proliferation and metastasis of bladder cancer by stabilizing MYC. 2023. ***Nature Communications.***
- Zheng, L., et al., The CD8α-PILRα interaction maintains CD8+ T cell quiescence. 2022. ***Science.***

生命奥秘电子杂志

地址：广州科学城揽月路 3 号 F 区 8 楼 电话：4006-020-200 020-32068595 邮箱：sales@igenebio.com 网址：www.genecopoeia.com（英文） www.igenebio.com（中文）

合办专题专刊
网站广告合作
邮件群发推广
请致电(020)32051255

生命奥秘电子杂志

www.LifeOmics.com