



个体化癌症疫苗的临床试验近况

沈晓云

美国德州休士顿Neossen药物公司

通常我们讲疫苗，多是指预防性疫苗，比如经典的白喉疫苗或常用的流感疫苗。个体化癌症疫苗是指为单个病人量身定做的治疗性疫苗。临床上病人被诊断出癌症后，根据患者体内的癌细胞抗原特点设计出个体化疫苗，通过激活病人体内特异的杀伤性淋巴细胞，达到歼灭癌细胞的目的。

治疗性疫苗以多种形式出现，比如短肽或蛋白质疫苗，RNA 或 DNA 疫苗，树突状细胞或淋巴细胞疫苗，癌细胞疫苗等，虽然经历了数年的临床试验，但是大多数未能证实有效的抗癌效应。2010 年 FDA 批准了 Sipuleucel-T (Provenge, Dendreon Corporation, 美国西雅图) 作为治疗前列腺癌的首个疫苗，但是由于其制作工艺复杂，价格贵重，延长患者生存期较短等缺点，未能引起临床上的广泛关注。近些年来，随着国际巨头药企的大量资金投入，深度快速测序技术的进展，肿瘤突变碱基的精准鉴别，以及肿瘤抗原的快速制备，为个体化癌症疫苗的临床试验提供了良好的前

提。在此基础上，我们注意到个体化癌症疫苗在肿瘤治疗中不断涌现出来令人振奋的消息^[1]。

2017 年 7 月《自然》同时报道了两组科学家采用个体化癌症疫苗治疗黑色素瘤的成功经验。一组是由哈佛医学院 Dana-Farber 癌症研究所 Catherine Wu 教授主导的研究^[1]，她们从每一位黑色素瘤病人的肿瘤中提取 20 个突变多肽，组合成多肽疫苗，对 6 例患者实施了多次接种。在随访的 25 周时间里，其中 4 例无复发，2 例复发的病人加用免疫检测点抑制剂 Keytruda 后，黑色素瘤完全消失。另一组是由德国 BioN-Tech 公司 Ugur Sahin 教授主导的研究^[2]，他们采用 RNA 复合疫苗对 13 例黑色素瘤患者进行了多次接种，治疗后明显地减少了黑色素瘤的转移，显著地延长了病人癌症无进展存活的时间。这两组临床试验虽然样本量小，无对照组，但是结果表明针对个体肿瘤抗原设计的多肽或 RNA 疫苗，均能诱发患者体内特异的杀伤性淋巴细胞，为癌症个体化精准治

疗带来了一种新的尝试。

肿瘤的免疫编辑现象

个体化癌症疫苗的成功关键在于肿瘤抗原的免疫原性。肿瘤免疫有一个奇怪的现象，一方面肿瘤细胞突变引起的损伤可以促发肿瘤细胞的生长；另一方面，这种突变的细胞反过来又可以通过肿瘤抗原刺激免疫系统，进而试图控制肿瘤细胞的生长。这种现象美国华盛顿大学的 Schreiber 教授称为免疫编辑 (immunoediting)^[4]，免疫编辑现象已经在动物的研究模型中得以证实^[5-7]。Schreiber 认为肿瘤的发生经历了三个过程，又称 3E：在肿瘤细胞初生阶段，机体的先天和后天免疫系统有能力清除癌细胞 (elimination)，因而临床上看不见的这样肿瘤；之后机体的免疫能力与癌细胞生长能力达到平衡状态 (equilibrium)，此时隐藏的肿瘤细胞处于束缚状态；最后癌细胞经过自我编辑产生变异株，从免疫攻击状态中逃逸出来 (escape)，快速生

长, 出现了临床上的肿瘤征象。

肿瘤新抗原

在癌症治疗过程中, 免疫治疗能够增强或恢复体内的 T 细胞功能。在大多数肿瘤病人体内, 存在某些特异性 T 细胞, 它们能够识别癌细胞表面 MHC 提呈的短肽抗原。这种能够诱发特异性 T 细胞从而清除癌细胞的短肽抗原, 在正常组织中是不存在的, 因而称为肿瘤特异性抗原或新抗原 (Neoantigens)。新抗原的产生大多数是由癌细胞 DNA 复制过程中的错误造成的, 也有部分是因为病毒、射线和化学物质等环境因素诱导导致的^[8]。

鉴别癌症患者体内的新抗原, 可以采用快速测序技术, 即同步测序患者正常细胞和肿瘤细胞的全外显子碱基序列, 从而发现多个突变的碱基。每个病人的碱基突变各有不同, 因而产生的新抗原也不相同。由于快速测序技术相对容易, 因而为临床设计疫苗提供了方便途径。筛选新抗原的过程, 简言之, 就是排列出所有能够产生新蛋白的碱基序列, 然后评估每一个短肽能够被 MHC 提呈的可能性, 以及其与 T 细胞相互作用关系。通常可以借用 NetMHC, IEDB 推算方法并用辅助诊断进一步证实^[9, 10], 具体可以参考 Itoh 的综述^[10]。

目前已经发现并非所有的新抗原都可以被自体 T 细胞识别, 采用癌细胞外显子数据库分层过滤方法可以增加识别具有反应性的短肽抗原。选择新抗原时, 应该优先考虑下列几个因素, 碱基

错配或微卫星不稳定型错配, 片段缺失或插入, 重复片段等阅读框架识别错误引起的新抗原, 癌细胞生长动力相关的新抗原, 癌细胞适应环境的新抗原, 以及所有癌细胞共同表达的的新抗原。

肿瘤的突变负荷

不同癌症的新抗原发生的概率是不相同的^[11]。突变率高的, 个体化疫苗的疗效较好。肿瘤细胞突变值的概率可以如下计算: 当一百万个密码碱基突变值为 10 时, 相当于产生 150 次错义突变 (点突变或单个氨基酸改变)。肿瘤突变值从大到小接近 10 的癌症有: 黑色素瘤, 鳞状细胞肺癌, 腺细胞肺癌, 胃癌, 食管癌, 小细胞肺癌, 结直肠癌, 膀胱癌; 突变值接近 5 的有: 子宫癌, 宫颈癌, 肝癌; 数值为 1 的癌症有: 头颈癌, 肾透明细胞癌, B 细胞淋巴瘤, 肾乳头癌, 乳腺癌, 胰腺癌, 骨髓瘤, 卵巢癌和前列腺癌。

临床上已经对许多黑色素瘤的病人, 进行了新抗原特异性 T 细胞激活的大数据分析, 重点归纳为两点: 其一, 在这些病人中, 观察到 MHC I 型和 II 型相关联的新抗原会产生 T 细胞主导的免疫激活。其二, 外显子错义突变时, 可以在肿瘤组织浸润的淋巴细胞 (CD4+, CD8+) 中检测到一小部分新抗原, 这部分新抗原可能是含有免疫反应的主要结构抗原。这个发现很重要, 表明癌细胞中的一些新抗原因欠缺免疫原性不具备交叉提呈作用。突变值为 10 左右的癌症将有足够的新抗原应对 T 细胞的识别, 突变值介于 10 与

1 之间时, 仍然有足够的新抗原; 低于 1 的癌症较少可能激活特异的 T 细胞。针对这类癌症, 个体癌症疫苗就有一定的局限性。但是可以依据为数不多的新抗原测序信息, 在体外增值自体特异性 T 细胞的数量, 达到自体输入的治疗目的。

不管采用何种方式增强新抗原特异性 T 细胞的活性和数量, 同时靶向数十个新抗原, 借以防止肿瘤逃逸现象是一十分重要的手段。但是临床上也要谨慎地使用, 避免与癌症有关的涉及自身免疫疾病的变异靶点。

临床上可以通过增加新抗原的靶点数目产生强烈的免疫效应。一般来说达到 17% 的突变靶点就可以产生强烈的免疫反应^[12], 这就是为什么 Catherine Wu 使用 20 个多肽抗原^[1], Sahin 使用 10 个 RNA 多体抗原之故^[2]。当然新一代的临床试验可能采用 40 个 RNA 多体抗原或多至 100 个新抗原以增加多靶点效应。此外我们也应该记住新抗原的产生并不意味着诱发 T 细胞的激活, 癌细胞的微环境也可能有抑制作用。此时, 通过消除微环境中的阻碍因素就显得特别重要。从 Wu 和 Sahin 的临床试验中可以看到, 个体化癌症疫苗联用免疫检测点抑制剂, 可以有效地控制黑色素瘤的复发。

新抗原在癌症免疫治疗中的作用

从免疫检测点阻滞剂和肿瘤淋巴细胞浸润疗法的疗效来看, 两个因素决定了新抗原和无突变的自体抗原的不同性。其一, T 细胞对这两种抗原的反应频率

不同,其二,细胞对这两种抗原的反应强度不同。黑色素瘤或非小细胞肺癌的患者,通常可以看到新抗原激活 T 细胞的强烈反应。假如 T 细胞识别新抗原是免疫治疗中的重要一环,那么可以预测突变数值高的癌症存在强有力的 T 细胞反应,因而将会对免疫治疗特别敏感。这一推测已经在一些高突变的肿瘤中证实,主要表现在肿瘤损伤组织中 CD4+、CD8+T 细胞或自然杀伤 K 细胞的增多^[1,2,13]。现在已经知道肿瘤特异性抗原的形成仅仅是免疫系统攻击癌细胞成功步骤中的一个环节,肿瘤逃逸的多样性机制决定了免疫治疗的成败。正因为如此,癌症与免疫交互作用中的多个环节,都是应该引起重视的。

研究疫苗的生物医药公司

目前投资与研发 RNA 治疗技术的公司日渐增多,这里简介三家注重 RNA 技术的生物公司。

Moderna Therapeutics 是一家位于美国马萨诸塞州坎布里奇市的生物药企^[14],主要运用 mRNA 平台治疗传染性疾、癌症和遗传性疾病。该公司运用碱基化学修饰和脂质纳米颗粒传递技术解决 mRNA 用药途径问题。目前有 19 个临床研究项目,其中和阿斯利康的合作项目已进入临床二期,与默沙东合作的个体化癌症疫苗于 2017 年底进入临床一期试验。

BioNTech 是一家注重 RNA 技术、抗体和基因技术的德国生物公司,目前至少有 10 个项目进入临床一期或二期,个体化癌症疫苗治疗对象包括黑色素瘤、三阴乳腺

癌和头颈部肿瘤。与罗氏基因泰克的癌症疫苗进入临床一期试验。

CureVAC AG 也是德国一家采用 RNA 技术平台参与治疗癌症和罕见病治疗的生物公司。该公司具有多年的 RNA 临床使用经验,与强生、礼来、勃林格殷格翰、赛诺菲和梅琳达·盖茨基金会广泛的合作协议,多个研究项目在临床一期和二期研发之中,其中 2017 年底与礼来就有 5 款癌症疫苗的研发项目。

总之,个体化癌症疫苗正在成为学术界和生物制药界一个十分关注的热点,它是肿瘤病人个体精准治疗的新型方式,目前多处于临床一期和二期的试验之中。在众多的个体化癌症疫苗的竞争之中,多肽疫苗、RNA 疫苗和细胞疫苗的优劣目前尚不明了,期待着未来大规模临床三期试验的疗效证明。

参考文献

- [1] Ott PA, Hu Z, Keskin DB, Shukla SA, Sun J, Bozym DJ, et al. An immunogenic personal neoantigen vaccine for patients with melanoma. *Nature* 2017;547:217–221. doi:10.1038/nature22991.
- [2] Sahin U, Derhovanessian E, Miller M, Kloke BP, Simon P, Löwer M, et al. Personalized RNA mutanome vaccines mobilize poly-specific therapeutic immunity against cancer. *Nature* 2017;547:222–226. doi:10.1038/nature23003.
- [3] Carreno BM, Magrini V, Becker-Hapak M, Kaabinejadian S, Hundal J, Petti AA, et al. A dendritic cell vaccine increases the breadth and diversity of melanoma neoantigen-specific T cells. *Science* 2015;348(6236):803–808. doi:10.1126/science.aaa3828.
- [4] Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol* 2002 Nov;

- 3(11):991–998. doi:10.1038/ni1102-991.
- [5] Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science* 2011; 331(6024):1565–1570. doi:10.1126/science.1203486.
- [6] Koebel CM, Vermi W, Swann JB, Zerafa N, Rodig SJ, Old LJ, et al. Adaptive immunity maintains occult cancer in an equilibrium state. *Nature* 2007;450(7171):903–907. doi: 10.1038/nature06309.
- [7] Shankaran V, Ikeda H, Bruce AT, White JM, Swanson PE, Old LJ, et al. IFN γ and lymphocytes prevent primary tumour development and shape tumour immunogenicity. *Nature* 2001;410(6832):1107–1111. doi:10.1038/35074122.
- [8] Tomasetti C, Li L, Vogelstein B. Stem cell divisions, somatic mutations, cancer etiology, and cancer prevention. *Science* 2017;355(6331):1330–1334. doi:10.1126/science.aaf9011.
- [9] Hacoen N, Fritsch EF, Carter TA, Lander ES, Wu CJ. Getting personal with neoantigen-based therapeutic cancer vaccines. *Cancer Immunol Res* 2013;1:11–15.
- [10] Noguchi M, Sasada T, Itoh K. Personalized peptide vaccination: a new approach for advanced cancer as therapeutic cancer vaccine. *Cancer Immunol Immunother* 2013; 62(5):919–929. doi:10.1007/s00262-012-1379-1.
- [11] Alexandrov LB, Nik-Zainal S, Wedge DC, Aparicio SA, Behjati S, Biankin AV, et al. Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature* 2013;500:415–421. doi:10.1038/nature12477.
- [12] Castle JC, Kreiter S, Diekmann J, Löwer M, van de Roemer N, de Graaf J, et al. Exploiting the mutanome for tumor vaccination. *Cancer Res* 2012;72(5):1081–1091. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-3722.
- [13] Brown SD, Warren RL, Gibb EA, Martin SD, Spinelli JJ, Nelson BH, et al. Neo-antigens predicted by tumor genome meta-analysis correlate with increased patient survival. *Genome Res* 2014;24(5):743–750. doi: 10.1101/gr.165985.113.
- [14] Dolgin E. Business: The billion-dollar biotech. *Nature* 2015;522(7554):26–28. doi: 10.1038/522026a.