



· 综述 ·

个体化肿瘤疫苗用于黑色素瘤治疗的研究进展

秦岚群¹, 邹征云²

1. 南京医科大学鼓楼临床医学院肿瘤中心, 江苏 南京 210008 ;

2. 南京大学医学院附属鼓楼医院肿瘤中心, 江苏 南京 210008

[摘要] 恶性黑色素瘤是一种恶性程度极高的肿瘤, 虽发病率低, 但易发生早期转移, 死亡率高。中国黑色素瘤的发病率日趋增加且有年轻化趋势, 已成为不可忽略的存在。近年来, 个体化肿瘤疫苗的研究取得重大进展, 有着广阔的应用前景。对目前个体化肿瘤疫苗在恶性黑色素瘤领域的研究进展进行综述。

[关键词] 恶性黑色素瘤; 个体化肿瘤疫苗; 新抗原

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2019.11.010

中图分类号: R739.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2019)11-0906-04

Advances in personalized tumor vaccine for malignant melanoma QIN Lanqun¹, ZOU Zhengyun² (1. The Comprehensive Cancer Center, Nanjing Drum Tower Hospital Clinical College of Nanjing Medical University, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China; 2. The Comprehensive Cancer Center, Nanjing Drum Tower Hospital, the Affiliated Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China)

Correspondence to: ZOU Zhengyun E-mail: zouzhengyun001@163.com

[Abstract] Malignant melanoma is a high-grade malignant tumor and prone to metastasis in early stage. Patients with advanced disease have poor prognosis. The incidence of melanoma in China is increasing day by day, and patients tend to be younger. In recent years, the research on personalized tumor vaccine has made great progress and has broad application prospects. In this paper, we reviewed the research progress of personalized tumor vaccine for malignant melanoma.

[Key words] Malignant melanoma; Personalized tumor vaccine; Neoantigen

1 概述

恶性黑色素瘤 (malignant melanoma, MM) 是恶性程度极高的实体肿瘤, 易发生早期转移, 预后极差。近年来, MM的发病率直线上升并呈年轻化趋势。据报道, 全球每年新发病例数约20万例, 而中国每年新发病例数达2万例^[1]。晚期黑色素瘤的一线治疗为靶向和免疫治疗, 在诸多治疗方法中, 以新抗原 (neoantigen) 为基础的个体化肿瘤疫苗是一种前景广阔的治疗方法。目前在美国临床试验数据库网站上注册的有关MM疫苗的研究就有300多项, 有关新抗原与疫苗联合的研究有39项, 可见其火热程度。

何为肿瘤疫苗? 疫苗疗法属主动免疫, 将肿瘤抗原以多种形式导入患者体内, 激活患者自身

免疫系统, 产生特异性的抗肿瘤免疫应答, 诱导或扩增体内预存的针对靶抗原的细胞免疫和体液免疫反应, 并能形成长期的免疫记忆反应, 从而达到控制或清除肿瘤的目的。

何为新抗原? 2014年5月, Tran等^[2]利用体外培养扩增的、能特异性识别癌细胞基因突变产生的突变蛋白的淋巴细胞治疗了1例ERBB2IP基因点突变的晚期胆管癌患者, 使疾病获得持久的缓解, 明显延长了患者的生存期, 这些突变蛋白即新抗原。自此提出新抗原的概念, 即突变蛋白产生的或致癌病毒整合进基因组产生的抗原, 属于肿瘤特异性抗原范畴, 因未经胸腺阴性筛选, 与T细胞受体 (T cell receptor, TCR) 亲和力高, 免疫原性强; 相较于肿瘤相关抗原, 不在正常组织

中表达,因而不会引起中枢免疫耐受,也不会引起自身免疫性疾病,具有独特优势。

肿瘤细胞的突变在不同肿瘤中的频率存在差异,在黑色素瘤组织中突变水平较高^[3],其肿瘤突变负荷(tumor mutation burden, TMB) > 10/1 Mb,且新一代测序技术(next-generation sequencing, NGS)的发展,能够快速鉴定出肿瘤突变产生的新抗原表位,因而新抗原在黑色素瘤领域中具有广阔的应用前景。

2 个体化肿瘤疫苗

个体化疫苗可以有长肽、RNA、DNA质粒、病毒载体、工程减毒细菌载体及抗原负载树突状细胞(dendritic cell, DC)等形式^[4]。通过诱发和增强体内针对这类特异性抗原的免疫反应,杀伤表达这类抗原的靶细胞,以DC疫苗、肽疫苗和RNA疫苗最为常见。

2.1 DC疫苗

DC是体内抗原递呈能力最强的专职抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC),其抗原提呈能力为其他细胞的数百倍,外源性抗原被DC摄取处理或内源性抗原在细胞内被加工处理后成为抗原表位肽,并装载至主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC) I或II类分子,提呈于DC表面,可激活幼稚CD4⁺辅助T细胞和未接触过抗原的CD8⁺细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)。

DC肿瘤疫苗根据其制备方式及效应机制的不同,可大致分为3类:非靶向性DC疫苗、体内靶向的DC疫苗、体外负载肿瘤抗原的DC疫苗。且大部分肿瘤抗原肽负载DC疫苗的临床转化研究是针对MM的。早在2005年,巴西ANVISA批准异体DC肿瘤疫苗Hybricell用于晚期黑色素瘤的治疗^[5]。一项针对MM患者的III期临床试验表明,应用DC肿瘤疫苗可显著延长患者的3年总生存率^[6]。

2015年,在*Science*杂志上报道负载新抗原的DC疫苗在黑色素瘤中的研究:对3例存在肿瘤编码的氨基酸替换的皮肤黑色素瘤患者,通过质谱分析鉴定出分型为人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)-0201的新抗原表位,

接种自体功能成熟的白细胞介素2(interleukin 2, IL2)-12p70生产的DC疫苗后,结果发现新抗原DC疫苗增强了机体自发及新发的HLA I类分子限制性的抗肿瘤免疫反应,增加了新抗原特异性T细胞的TCR的多样性和克隆多样性,从而增强抗肿瘤免疫^[7]。

然而,DC疫苗作为单一疗法抗肿瘤效果不甚理想,其疗效不可避免地受肿瘤免疫抑制微环境的影响。为了改善DC疫苗的疗效,一方面可通过紫外线照射、氧化处理及热激处理等方式增强肿瘤细胞的免疫原性^[8];还有研究指出,靶向线粒体抗原^[9]或细胞穿膜肽结合抗原的DC疫苗^[10]能增强免疫治疗效果;另外,还可将其与放疗、化疗、免疫检查点抑制剂等联合,以解除免疫抑制微环境,提高DC疫苗的抗肿瘤效应。

2.2 肽疫苗

肽疫苗由于肽段短,便于合成,是目前研究的一大热点。目前肽疫苗的应用形式有单短肽疫苗、多短肽疫苗、长肽疫苗、串联多表位肽疫苗和个体化肽疫苗等^[11]。个体化肽疫苗是指根据患者的遗传基因结构和功能差异,检测患者的HLA分型及已经存在的体液免疫反应,从一系列候选多肽中选出至多4种多肽,制成疫苗,皮下注射于肿瘤患者。因为是根据患者自身的免疫学特征选取的疫苗,实现了个体化免疫治疗的设想。

常规非个体化肽疫苗在黑色素瘤领域的研究并不多,治疗效果也一般。I期临床试验招募10例转移性黑色素瘤患者,使用针对吡啶胺2,3-双加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO)的肽疫苗,且与PD1单抗联合显示,3例患者可检测到疫苗特异性免疫应答,5例患者评价为疾病稳定^[12]。

虽然总体而言,个体化肽疫苗疗效优于非个体化肽疫苗,但还是主要在去势抵抗性前列腺癌中效果良好,在MM中未见部分缓解的病例^[13-14]。直到2017年,Patrick等^[15]从20例晚期MM患者中找到了97个新抗原,制备成个体化肽疫苗。在接受疫苗注射的6例患者中,4例患者在疫苗注射25个月后未复发;另外2例复发患者在

接受PD-1单抗治疗后, 实现了肿瘤的完全缓解, 并且在他们体内检测到了新抗原的特异性免疫细胞。

从目前统计结果看, 个体化肽疫苗疗效要优于常规非个体化疫苗, 但是, 总体上个体化肽疫苗的临床客观反应率仍较低。首先, 肿瘤屏障及其微环境基质成分限制了CTL在瘤内的渗透; 其次, 部分肿瘤细胞MHC I类分子表达缺失, 肽疫苗诱导的特异性CTL不能识别肿瘤细胞, 从而限制了疫苗的疗效。为解决这些问题, 可以将肽疫苗与放疗、PD-1单抗等联用。放疗除了直接引起肿瘤细胞死亡之外, 还可以通过改变细胞表面表型、调节抗凋亡基因或免疫反应性基因、调节抗原提呈系统和钙网蛋白在肿瘤细胞上的转位等机制引起肿瘤细胞的免疫原性修饰, 从而对抗原特异性CTL的杀伤更加敏感^[16]。还有研究显示, 肽疫苗联合PD-1单抗可以增加肽特异性CTL在肿瘤组织内的渗透, 降低TIL表面抑制性分子的表达水平, 从而提高肽疫苗的治疗效果^[17]。当然, 最重要的还是进一步丰富和优化肽库, 设计出分病种的肽疫苗库, 并增加HLA II类分子结合的肽疫苗。来自德国古腾堡大学医学中心在不同动物模型上的研究揭示, MHC II类分子限制性的RNA疫苗及多肽疫苗能有效地增强机体抗肿瘤免疫反应, 改善肿瘤微环境, 控制肿瘤生长和肺转移^[18]。

2.3 RNA疫苗

*Nature*杂志2017年同一天发布了两项基于新抗原的个性化肿瘤疫苗治疗MM的成功案例, 其中一篇即上文所述Patrick等^[15]有关新抗原肽疫苗的研究, 另外一篇即来自德国的Sahin等^[19]有关RNA疫苗的研究。他们利用新抗原所对应的RNA制备肿瘤疫苗, 治疗了13例晚期MM患者。8例在治疗前无影像学可测量病灶的患者在接受疫苗注射后显示出强烈的免疫应答, 并且在之后的12~23个月的随访中疾病无复发; 另外5例在治疗前就存在影像学可测量病灶的患者, 在纳入不久后就复发, 并且在开始接种新抗原疫苗时就出现了进展性转移, 在复发的患者中, 2例在接受疫苗注射后肿瘤明显缩小, 1例在接受抗PD-1单

抗的联合治疗后, 达到完全缓解^[19]。

将RNA疫苗与纳米技术结合也能收获良好的治疗效果。Kranz等^[20]用脂质体和编码肿瘤抗原的RNA按特定比例制备纳米颗粒, 通过静脉注射, 纳米颗粒可以靶向到达脾脏和淋巴结的DC中, 进而使DC表达肿瘤相关抗原, 此策略在小鼠肿瘤模型和3例黑色素瘤患者中显示出显著疗效。

2.4 病毒载体疫苗

还有一种疫苗形式为病毒载体, 目前最为人知的即溶瘤病毒, 通常被定义为非致病性的病毒毒株(包括天然或经人工基因改造的病毒株), 能够选择性地感染并杀死肿瘤, 而对正常组织和细胞无害^[21]。T-VEC (talimogene laherparepvec) 作为首个由美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 及欧洲批准上市用于治疗黑色素瘤的溶瘤单纯疱疹病毒, 敲除了ICP34.5及ICP47, 并在ICP34.5位点插入粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF) 基因, 从而提高抗肿瘤免疫疗效^[22]。此外, 除了T-VEC, 也有少数病毒株在个案报道中显示对黑色素瘤有显著疗效, 如埃可病毒株ECHO-7 (Rigvir)^[23]。

当然, 单纯使用溶瘤病毒效果并不理想, 例如T-VEC在MM的Ⅲ期临床试验中尽管缩小了肿瘤体积, 但却并未显著改变总生存期 (overall survival, OS), 因此在目前阶段溶瘤病毒疗法只能作为辅助治疗手段。并且, 有关溶瘤病毒仍然有许多问题需要解决, 如何设计更好的病毒载体以克服宿主抗病毒免疫反应? 如何确保更好地实现全身给药且不会增加风险? 这需要更加深入的基础研究和更大人群的临床试验来探索得出。近两年有研究显示, T-VEC和MEK抑制剂曲马替尼联合使用可增加黑色素瘤细胞的体外死亡, 还导致小鼠模型的肿瘤生长延迟和存活率提高, 此外这种治疗效果还可以通过PD-1单抗进一步改善^[24]; 还有研究回顾了10例接受T-VEC和免疫检查点抑制剂联合治疗的不可切除的ⅢB或Ⅳ期黑色素瘤患者, 90%的患者在注射部位出现应答, 60%的患者在注射部位达到完全缓解, 有2

例肺转移的患者在非注射部位也达到完全缓解,显示出联合治疗的协同作用^[25]。这些临床前及临床的研究提示溶瘤病毒与化疗、免疫检查点抑制剂、靶向药物等联合不失为一种可行的尝试。

3 展望

肿瘤免疫抑制微环境限制了疫苗的治疗效果,而与放化疗、靶向、免疫检查点抑制剂等治疗联合,能发挥出更强的抗肿瘤效果。精准医学时代的到来,为患者提供个体化的治疗方案成为一大趋势,肿瘤疫苗已经成为一个发展迅速的研究领域。但是目前有关疫苗的研究仍处于起步阶段,没有多中心大样本的临床试验,且报道的疫苗的有效率参差不齐,远期并发症未知,所以目前认为,疫苗仅能作为一项辅助治疗。但不可否认的是,随着新抗原概念的提出,肿瘤疫苗作为免疫治疗的新方法,已经引起各界的广泛关注。相信在不久的将来,个体化肿瘤疫苗将成为黑色素瘤治疗和临床转化的重要措施。

[参 考 文 献]

- [1] Melanoma expert committee of CSCO. Clinical practice guidelines in oncology: melanoma [J]. *Chin Clin Oncol*, 2010, 15(5): 385-389.
- [2] 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.
- [3] SCHUMACHER T N, SCHREIBER R D. Neoantigen in cancer immunotherapy [J]. *Science*, 2015, 348(6230): 69-74.
- [4] SAHIN U, TUERCI O. Personalized vaccines for cancer immunotherapy [J]. *Science*, 2018 359(6382): 1355-1360.
- [5] BARBUTO J A, ENSINA L F, NEVES A R, et al. Dendritic cell-tumor cell hybrid vaccination for metastatic cancer [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2004, 53(12): 1111-1118.
- [6] MARKOWICZ S, NOWECKI Z I, RUTKOWSKI P, et al. Adjuvant vaccination with melanoma antigen-pulsed dendritic cells in stage III melanoma patients [J]. *Med Oncol*, 2012, 29(4): 2966-2977.
- [7] CARRENO B M, MAGRINI V, BECKER-HAPAK M, et al. Cancer immunotherapy. A dendritic cell vaccination increases the breadth and diversity of melanoma neoantigen-specific T cells [J]. *Science*, 2015, 348(6236): 803-808.
- [8] VANDENBERK L, BELMANS J, VAN WOENSEL M, et al. Exploiting the immunogenic potential of cancer cells for improved dendritic cell vaccines [J]. *Front Immunol*, 2016, 6: 663.
- [9] PIERINI S, FANG C, RAFAIL S, et al. A tumor mitochondria vaccine protects against experimental renal cell carcinoma [J]. *J Immunol*, 2015, 195(8): 4020-4027.
- [10] LIM S, KOO J H, CHOI J M. Use of cell-penetrating peptides in dendritic cell-based vaccination [J]. *Immune Netw*, 2016, 16(1): 33-43.
- [11] YAMADA A, SASADA T, NOGUCHI M, et al. Next-generation peptide vaccines for advanced cancer [J]. *Cancer Sci*, 2013, 104(1): 15-21.
- [12] BJOERN J, IVERSON T Z, NITSCHKE N J, et al. Safety, immune and clinical response in metastatic melanoma patients vaccinated with a long peptide derived from indoleamine 2,3-dioxygenase in combination with ipilimumab [J]. *Cytotherapy*, 2016, 18(8): 1043-1055.
- [13] ITOH K, YAMADA A. Personalized peptide vaccines: a new therapeutic modality for cancer [J]. *Cancer Sci*, 2006, 97(10): 970-976.
- [14] SASADA T, NOGUCHI M, YAMADA A, et al. Personalized peptide vaccination: a novel immunotherapeutic approach for advanced cancer [J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2012, 8(9): 1309-1313.
- [15] PATRICK A O, HU Z T, DERIN B K, et al. An immunogenic personal neoantigen vaccine for patients with melanoma [J]. *Nature*, 2017, 547(7662): 217-221.
- [16] GARNETT-BENSON C, HODGE J W, GAMEIRO S R. Combination regimens of radiation therapy and therapeutic cancer vaccines: mechanisms and opportunities [J]. *Semin Radiat Oncol*, 2015, 25(1): 46-53.
- [17] SAWADA Y, YOSHIKAWA T, SHIMOMURA M, et al. Programmed death-1 blockade enhances the antitumor effects of peptide vaccine-induced peptide-specific cytotoxic T lymphocytes [J]. *Int J Oncol*, 2015, 46(1): 28-36.
- [18] KREITER S, VORMEHR M, VAN DE ROEMER N, et al. Mutant MHC class II epitopes drive therapeutic immune response to cancer [J]. *Nature*, 2015, 520(7549): 692-696.
- [19] 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.
- [20] 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.
- [21] BELL J C, MCFADDEN G. Editorial overview: oncolytic viruses--replicating virus therapeutics for the treatment of cancer [J]. *Curr Opin Virol*, 2015, 13(3): viii-ix.
- [22] LEDFORD H. Cancer-fighting viruses win approval [J]. *Nature*, 2015, 526(7575): 622-623.
- [23] ALBERTS P, OLMANE E, BROKANE L, et al. Long-term treatment with the oncolytic ECHO-7 virus Rigvir of a melanoma stage IV M1c patient, a small cell lung cancer stage IIIA patient, and a histiocytic sarcoma stage IV patient--three case reports [J]. *APMIS*, 2016, 124(10): 896-904.
- [24] BOMMAREDDY P K, ASPROMONTE S, ZLOZA A, et al. MEK inhibition enhances oncolytic virus immunotherapy through increased tumor cell killing and T cell activation [J]. *Sci Transl Med*, 2018, 10(471): eaau0417.
- [25] SUN L, FUNCHAIN P, SONG J M, et al. Talimogene Laherparepvec combined with anti-PD-1 based immunotherapy for unresectable stage III-IV melanoma: a case series [J]. *J Immunother Cancer*, 2018, 6(1): 36.

(收稿日期: 2019-01-03 修回日期: 2019-02-03)