

肿瘤新抗原在肺癌中的研究进展

赵风华 张欣 陈婷 蒋晓东

摘要 免疫治疗在肺癌方面的疗效显著,但发生耐药及复杂的不良反应令人担忧。肿瘤新抗原只存在于肿瘤细胞表面,靶向新抗原可在不损伤正常细胞的情况下杀伤肿瘤细胞,不会引起自身免疫反应。肿瘤新抗原成为免疫治疗的理想靶点,联合新抗原疗法和其他治疗方式,成为继续利用免疫机制治疗肺癌的新方向。本文对肿瘤新抗原的生物学特征、发展状况及在肺癌中的近期研究进展进行汇总,旨在为晚期肿瘤的诊治提供参考。

关键词 新抗原 免疫治疗 联合治疗 晚期非小细胞肺癌

中图分类号 R730.51

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2021.06.006

非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)的发生率很高,在我国肺癌中达85%以上,且在确诊时多已属晚期,治疗上有效率不高,因此迫切需要一种更高效的治疗手段。免疫治疗为晚期NSCLC患者带来新希望,其成果令人惊喜,但单纯的免疫检查点阻断治疗在广泛应用时被观察到很多复杂的问题,使免疫治疗的发展陷入困境^[1]。肿瘤免疫治疗的本质其实是利用肿瘤表面新抗原识别免疫细胞并激活免疫系统来杀伤肿瘤细胞的。肿瘤新抗原也因其高效的免疫原性、独特的生物学特点成功引起大家的关注。近年来研究表明,肿瘤新抗原异质性参与肺癌恶性进化过程,其缺失失调也与发生免疫逃逸密切相关。

一、肿瘤新抗原的特点

肿瘤新抗原是指肿瘤细胞发生非同义突变所产生的具有免疫原性的肽段,它只存在于肿瘤细胞表面,而不存在于正常细胞表面,因此具有肿瘤特异性。它以主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC)形式被呈现在肿瘤细胞表面,具有高效免疫原性,可被T细胞识别引起特异性免疫应答。其来源可为致癌病毒整合基因产生的抗原和突变蛋白产生的抗原,也可与病毒无关肿瘤的非同义遗传突变(如基因融合、插入和缺失、移码突变和结构变

异、单核苷酸变异),其中新抗原产生以非同义突变为。NSCLC的非同义突变是逐步出现的,新抗原便在这些突变中产生,与肿瘤相关抗原一起刺激机体产生抗肿瘤的免疫反应,且这一免疫反应过程还受到新抗原数量的调控。晚期的NSCLC是高突变负荷载量的肿瘤,代表着存在更高免疫原性新抗原的可能,可以鉴定出足够多的新表位用以合成新抗原^[2]。利用现代生物技术,可在体外合成肺癌新抗原,再通过免疫细胞过继回输给患者,达到增强体内新抗原的数量和免疫杀伤力的目的,实现患者精准免疫治疗过程^[3,4]。

二、肿瘤新抗原的发展状况

1. 发展形式:目前,肿瘤新抗原的发展应用主要有肿瘤疫苗和过继性免疫细胞治疗两种形式,也包括一些与癌症常规疗法、免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors, ICIs)组合应用的形式。制备肿瘤疫苗比如树突状细胞(dendritic cell, DC)疫苗可以诱发并增强机体的主动免疫反应,产生大量识别新抗原的淋巴细胞,从而杀伤表达此抗原的肿瘤细胞。有研究者曾借用DC细胞负载肿瘤新抗原制备疫苗对肿瘤患者进行多周期免疫治疗,发现其可有效地引发特异性T细胞的应答,改善患者的生存状态^[5]。过继性免疫细胞治疗如扩增回输肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocytes, TILs),这种方式可直接将一些有特异性反应的淋巴细胞送回患者体内,发挥杀伤作用。Rosenberg等曾在消化道肿瘤的研究中通过富集分选新抗原特异性的TILs,报道了4例消化道肿瘤患者有2例出现部分缓解(partial response, PR),其中1例持续性PR两年以上,取得了较好的临床转归结果^[6]。另外,肿瘤疫苗或过继性免疫细胞

基金项目:江苏省社会发展基金资助项目(BE2017684);江苏省自然科学基金资助项目(BK20191211)

作者单位:222002 南京医科大学连云港临床医学院(赵风华、张欣、蒋晓东);222002 连云港市第一人民医院(赵风华、张欣、陈婷、蒋晓东)

通讯作者:蒋晓东,教授,主任医师,博士生导师,电子邮箱:jx-dysy1970@163.com

治疗与免疫检查点抑制剂(ICIs)相结合,可进一步增强肿瘤杀伤效果。因为新抗原可刺激产生特异反应性T淋巴细胞,并增加这部分细胞的比例,而ICIs如细胞程序性死亡蛋白1(programmed cell death protein-1, PD-1)/细胞程序性死亡-配体1(programmed cell death-ligand 1, PD-L1)单抗可显著改善新抗原活化的T淋巴细胞的肿瘤抑制微环境,逆转T细胞的免疫耐受,故两者结合可增强免疫应答^[7]。此外,也可将肿瘤疫苗和过继免疫疗法联合,如联合新抗原的多靶点抗原肽自体免疫细胞治疗(neoantigens combined with multiple antigen stimulating cellular therapy, Neo-MASCT),这是一种新形式的精准免疫治疗,它结合了主动免疫(DC疫苗)和被动免疫(过继回输T细胞)的过程,这种治疗方式可显著改善肿瘤免疫微环境,提高患者自身免疫细胞杀伤肿瘤细胞的能力^[8]。

2. 发展前景:新抗原的发展应用前景主要体现在3个方面:(1)新抗原可直接参与T细胞对肿瘤细胞的杀伤过程,属于免疫治疗过程的关键角色。Rosenberg等曾给予黑色素瘤患者过继回输TILs,结果显示有一半的患者在接受TILs治疗后出现了肿瘤消退,且他们也发现这些TILs细胞能够识别肿瘤新抗原,这表明这些效应T淋巴细胞是被新抗原刺激产生的杀伤作用^[9,10]。(2)新抗原具有与ICIs相似的抗肿瘤效果。肿瘤细胞表面可高表达PD-L1与T细胞表面PD-1结合,使浸润肿瘤部位的T细胞失活,从而促进肿瘤细胞逃脱免疫杀伤^[11]。PD-1/PD-L1单抗可重新激活体内残存的肿瘤特异性T细胞,而新抗原与PD-1/PD-L1单抗一样,具有刺激T细胞活化的作用,所以两者具有相似的抗肿瘤效果。且新抗原的负载量与ICIs治疗效果相关,新抗原负荷越大,免疫治疗的疗效越好^[12]。(3)近年来很多探索新抗原疫苗和过继性细胞免疫治疗晚期肿瘤安全性的研究结果表示其是安全的,并且与其他治疗方式联用或辅助治疗不会增加相关不良反应,这使靶向肿瘤新抗原的免疫疗法潜在获益人群更广泛^[13,14]。

三、肿瘤新抗原与肺癌

1. 肺癌新抗原疫苗:肺癌新抗原疫苗不同于相关抗原疫苗,它具有更高的肿瘤特异性和更低的靶向自身毒性。目前很多关于肺癌新抗原疫苗的I/II期临床试验都旨在探索其安全性和免疫原性或者作为放疗、其他免疫治疗方式的辅助干预手段。被报道最多的是关于黑色素瘤相关抗原A3(melanoma associ-

ated antigen-a3, MAGE-A3)疫苗的研究,它是表达于包括肺癌在内的多种恶性肿瘤细胞表面的一种新抗原。Pujol等^[15]在67例接受或未接受标准化疗的IB~III期MAGEA3⁺NSCLC患者中研究了靶向MAGEA3肽疫苗的安全性和免疫原性。在这项研究中,在接受辅助化疗的同时进行免疫接种的19例患者中,有16例(84%)出现了与化疗相关的3/4级不良反应,而在辅助化疗后进行免疫接种的患者则没有出现这种情况,这说明新抗原疫苗与化疗联用并没有增加化疗相关的不良反应。Vansteenkiste等^[16]在2312例IB、II和IIIA MAGEA3⁺NSCLC患者中进行了靶向MAGEA3肽疫苗的测试试验,这些接种疫苗患者的无病生存率(与安慰剂比较)未增加。但在Saiag等^[17]报道的前瞻性II期研究中,接种MAGEA3特异性疫苗导致不可切除的IIIC期黑色素瘤1年总生存率(overall survival, OS)为83.5%。由此看出,针对MAGEA3的疫苗接种治疗可能更适合治疗晚期不可切除或不适合化疗的NSCLC患者。即使是表皮生长因子受体(epidermal growth factor, EGFR)酪氨酸酶活性抑制剂(tyrosine kinase inhibitor, TKI)耐药的NSCLC患者,新抗原疫苗也提供一种新的治疗选择。Nakatsura等研究了靶向EGFR T790M/C797S突变的新抗原疫苗治疗NSCLC的疗效,结果发现这类疫苗治疗可能具有足够的抗肿瘤作用,并提出针对EGFR T790M/C797S突变的免疫治疗可以作为EGFR-TKI耐药的NSCLC患者的一种新的治疗策略,这表明与ICIs比较,新抗原疫苗的适用人群更为广泛^[18]。

2. 过继性细胞疗法(adoptive cell therapy, ACT):ACT是将自体免疫细胞在体外激活和扩增后再回输到患者体内,直接杀伤肿瘤或激发机体免疫反应,来达到治疗肿瘤的目的。近年来ACT发展迅速,在NSCLC上的临床治疗上也取得了初步疗效,一项Meta分析结果显示,与单纯放化疗比较,ACT联合放化疗能够显著提高NSCLC患者的2年无进展生存期(progression free survival, PFS)($P=0.000$)和2年总生存($P=0.000$)^[19]。ACT联合DC疫苗形式在晚期肺癌患者治疗中也取得初步成效,利用2代测序技术筛选出具有肺癌高度免疫原性的新抗原,制备负载肺癌新抗原的DC疫苗,将DC疫苗皮下注射至淋巴富集区如腋窝淋巴群区,不仅能有效激活机体内的CD8⁺、CD4⁺T细胞,还能在体外扩增这些反应性T淋巴细胞再回输到患者体内,从而高效杀伤肿瘤细

胞^[20]。也可通过基因工程制备靶向新抗原如癌-睾丸抗原(包括 MAGE、NY-ESO-1 等)的 TCR-T 细胞,一项关于靶向 NY-ESO-1 抗原的基因工程 TCR-T 细胞过继治疗表达 NY-ESO-1 抗原肽的 NSCLC 患者的 I 期临床试验(NCT02457650)正在进行,该试验初步报道了 1 例女性肺腺癌患者出现部分缓解,且接受治疗的患者耐受性良好,未出现明显的严重毒性不良反应^[21]。

3. 肿瘤新抗原与肺癌免疫治疗耐药有关:近年的研究表明肿瘤新抗原的异质性与肺癌的恶性进展、免疫治疗耐药显著相关。有研究发现,新诊断、未经治疗的早期肺癌患者,如果肿瘤内部的新抗原数量较多,且新抗原的异质性较少,那么此类患者的预后就较好。研究者通过对 NSCLC 肿瘤的基因表达进行分析发现,高癌新抗原肿瘤内部的炎性基因水平较高,说明机体免疫系统对肿瘤发生了反应,这种情况下,免疫抑制肿瘤相关基因(比如 PD-1 调节轴相关基因)的表达就会上调,再对一些经过 ICIs 治疗的 NSCLC 患者进行了相关分析,发现对 ICIs 有持续响应、治疗效果较好的肿瘤具有癌新抗原含量高、异质性不明显的特点,这表明肿瘤新抗原的异质性与疾病的转归和免疫检查点药物的疗效有关^[22]。

如果将新抗原的克隆演变假设为将导致 NSCLC 的免疫耐药,一项回顾性研究纳入 42 例接受免疫检查点阻断治疗的 NSCLC 患者后,研究了获得性耐药期间不断发生的新抗原演变,在 4 例获得性耐药患者中,发现因消除肿瘤亚克隆或删除含有截短突变的染色体区域而导致的新抗原丢失与 T 细胞受体克隆性的改变相关,最终导致了对 ICIs 的获得性耐药^[23]。近年来 Swanton 等利用转录组测序(RNAseq)和病理学肿瘤浸润淋巴细胞评估分析了 88 个早期未经治疗的 NSCLC 患者的 258 个区域,发现不同的免疫微环境导致的新抗原递呈功能障碍的机制不同,而这也导致出现不同的免疫选择力^[24]。首先是淋巴细胞浸润少的区域显示这里曾发生过免疫编辑,在肿瘤进化过程中新抗原产生变弱或克隆新抗原的拷贝数丢失,均致新抗原缺失而无法被递呈。其次是免疫细胞浸润的肿瘤区域表现出持续的免疫编辑,人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)的杂合性丢失或表达的新抗原耗尽,也会导致新抗原递呈过程失败。该研究表明,免疫微环境在早期、未经治疗的 NSCLC 中施加了很强大的选择力,产生多种免疫逃逸途径,在肺癌进化过程中,新抗原被编辑掉介导了免疫逃逸

的发生,最终导致免疫治疗耐药。

四、展 望

虽然应用新抗原刺激产生的特异性 T 细胞在肿瘤患者治疗中发挥直接细胞毒性作用,但给晚期 NSCLC 患者进行新抗原治疗面临很多问题和挑战^[25]。受现有技术的限制,现实困难有两个方面:(1)新抗原的预测筛选问题,应尽力筛选合成能被 T 细胞识别的新抗原,制定合适的治疗方案并缩短治疗前期准备时间。(2)缺乏好的临床疗效评估指标,经新抗原免疫治疗后,肿瘤可能不会立即缩小,所以要在治疗过程中反复对比肿瘤缩小及复发进展情况,追踪治疗前后血液中新抗原反应性 T 淋巴细胞及其来源的记忆性 T 细胞的数量变化,同时监测血液中炎性分子如干扰素- γ 等的含量变化,这对临床医生来说也是一大难点。

参考文献

- 1 Brahmer J, Reckamp KL, Baas P, *et al.* Nivolumab versus docetaxel in advanced squamous-cell non-small-cell lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2015, 373(2): 123-135
- 2 李思妮,王鑫,白桦,等. 肿瘤突变负荷对非小细胞肺癌免疫治疗效果的预测价值[J]. 中国医学前沿杂志, 2019, 11(12): 18-23
- 3 Wilson EA, Anderson KS. Lost in the crowd: identifying targetable MHC class I neoepitopes for cancer immunotherapy[J]. *Expert Rev Proteomics*, 2018, 15(12): 1065-1077
- 4 Strnen E, Toebes M, Kelderman S, *et al.* Targeting of cancer neo-antigens with donor-derived T cell receptor repertoires[J]. *Science*, 2016, 352(6291): 1337-1341
- 5 Jiang N, Qiao G, Wang X, *et al.* Dendritic cell/cytokine-induced killer cell immunotherapy combined with S-1 in patients with advanced pancreatic cancer: a prospective study[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(17): 5066-5073
- 6 Tran E, Ahmadzadeh M, Lu YC, *et al.* Immunogenicity of somatic mutations in human gastrointestinal cancers[J]. *Science*, 2015, 350(6266): 1387-1390
- 7 Katsnelson A. Mutations as munitions: neoantigen vaccines get a closer look as cancer treatment[J]. *Nat Med*, 2016, 22(2): 122-124
- 8 He Y, Guo Y, Chen J, *et al.* Multiple antigen stimulating cellular therapy (MASCT) for hepatocellular carcinoma after curative treatment: a retrospective study[J]. *J Cancer*, 2018, 9(8): 1385-1393
- 9 Restifo NP, Dudley ME, Rosenberg SA. Adoptive immunotherapy for cancer: harnessing the T cell response[J]. *Nat Rev Immunol*, 2012, 12(4): 269-281
- 10 Robbins PF, Lu YC, Elgamil M, *et al.* Mining exomic sequencing data to identify mutated antigens recognized by adoptively transferred tumor-reactive T cells[J]. *Nat Med*, 2013, 19(6): 747-752
- 11 Rowshanravan B, Halliday N, Sansom DM. CTLA-4: a moving

- target in immunotherapy[J]. *Blood*, 2018, 131(1): 58–67
- 12 Rizvi NA, Hellmann MD, 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
 - 13 Carreno BM, 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
 - 14 Ahn MJ, Sun JM, Lee SH, *et al.* EGFR TKI combination with immunotherapy in non – small cell lung cancer[J]. *Expert Opin Drug Saf*, 2017, 16(4): 465 – 469
 - 15 Pujol JL, Vansteenkiste JF, De Pas TM, *et al.* Safety and immunogenicity of MAGE – A3 cancer immunotherapeutic with or without adjuvant chemotherapy in patients with resected stage I B to III MAGE – A3 – positive non – small – cell lung cancer[J]. *J Thorac Oncol*, 2015, 10(10): 1458 – 1467
 - 16 Vansteenkiste JF, Cho BC, Vanakesa T, *et al.* Efficacy of the MAGE – A3 cancer immunotherapeutic as adjuvant therapy in patients with resected MAGE – A3 – positive non – small – cell lung cancer (MAGRIT): a randomised, double – blind, placebo – controlled, phase 3 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2016, 17(6): 822 – 835
 - 17 Saiag P, Gutzmer R, Ascierto PA, *et al.* Prospective assessment of a gene signature potentially predictive of clinical benefit in metastatic melanoma patients following MAGE – A3 immunotherapeutic (PRE-DICT)[J]. *Ann Oncol*, 2016, 27(10): 1947 – 1953
 - 18 Akazawa Y, Saito Y, Yoshikawa T, *et al.* Efficacy of immunothera-

- py targeting the neoantigen derived from epidermal growth factor receptor T790M/C797S mutation in non – small cell lung cancer[J]. *Cancer Sci*, 2020, 111(8): 2736 – 2746
- 19 郑雅文, 李润美, 魏枫, 等. 过继免疫治疗联合放疗治疗非小细胞肺癌的 Meta 分析[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2013, 20(4): 461 – 467
 - 20 孙智沉, 陈仿军, 魏嘉, 等. MHC II 类分子限制性新抗原与肿瘤免疫治疗[J]. *肿瘤综合治疗电子杂志*, 2018, 4(2): 20 – 25
 - 21 Xia Y, Tian X, Wang J, *et al.* Treatment of metastatic non – small cell lung cancer with NY – ESO – 1 specific TCR engineered – T cells in a phase I clinical trial: a case report[J]. *Oncol Lett*, 2018, 16 (6): 6998 – 7007
 - 22 McGranahan N, Furness AJ, Rosenthal R, *et al.* Clonal neoantigens elicit T cell immunoreactivity and sensitivity to immune checkpoint blockade[J]. *Science*, 2016, 351(6280): 1463 – 1469
 - 23 Anagnostou V, Smith KN, Forde PM, *et al.* Evolution of neoantigen landscape during immune checkpoint blockade in non – small cell lung cancer[J]. *Cancer Discov*, 2017, 7(3): 264 – 276
 - 24 Rosenthal R, Cadieux EL, Salgado R, *et al.* Neoantigen – directed immune escape in lung cancer evolution[J]. *Nature*, 2019, 567 (7749): 479 – 485
 - 25 Hu Z, Ott PA, Wu CJ. Towards personalized, tumour – specific, therapeutic vaccines for cancer[J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18 (3): 168 – 182

(收稿日期: 2021 – 01 – 08)

(修回日期: 2021 – 02 – 02)

(上接第 21 页)

- 20 Buchegger K, Silva R, López J, *et al.* The ERK/MAPK pathway is overexpressed and activated in gallbladder cancer[J]. *Pathol Res Pract*, 2017, 213(5): 476 – 482
- 21 Li Q, Yang Z. Expression of phospho – ERK1/2 and PI₃ – K in benign and malignant gallbladder lesions and its clinical and pathological correlations[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2009, 28(1): 65
- 22 Qian L, Su H, Wang G, *et al.* Anti – tumor activity of bufalin by inhibiting c – MET mediated MEK/ERK and PI₃ K/AKT signaling pathways in gallbladder cancer[J]. *J Cancer*, 2020, 11(11): 3114 – 3123
- 23 Bekaii – Saab T, Phelps MA, Li X, *et al.* Multi – institutional phase II study of selumetinib in patients with metastatic biliary cancers[J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(17): 2357 – 2363
- 24 Li J, Wu T, Lu J, *et al.* Immunohistochemical evidence of the prognostic value of hedgehog pathway components in primary gallbladder carcinoma[J]. *Surg Today*, 2012, 42(8): 770 – 775
- 25 Xie F, Xu X, Xu A, *et al.* Aberrant activation of sonic hedgehog signaling in chronic cholecystitis and gallbladder carcinoma[J]. *Hum*

Pathol, 2014, 45(3): 513 – 521

- 26 Kiesslich T, Mayr C, Wachter J, *et al.* Activated hedgehog pathway is a potential target for pharmacological intervention in biliary tract cancer[J]. *Mol Cell Biochem*, 2014, 396(1 – 2): 257 – 268
- 27 Lunardi A, Webster KA, Papa A, *et al.* Role of aberrant PI₃ K pathway activation in gallbladder tumorigenesis[J]. *Oncotarget*, 2014, 5 (4): 894 – 900
- 28 Leal P, Garcia P, Sandoval A, *et al.* AKT/mTOR substrate P70S6K is frequently phosphorylated in gallbladder cancer tissue and cell lines[J]. *Onco Targets Ther*, 2013, 6: 1373 – 1384
- 29 Zong H, Yin B, Zhou H, *et al.* Inhibition of mTOR pathway attenuates migration and invasion of gallbladder cancer via EMT inhibition[J]. *Mol Biol Rep*, 2014, 41(7): 4507 – 4512
- 30 Mohri D, Ijichi H, Miyabayashi K, *et al.* A potent therapeutics for gallbladder cancer by combinatorial inhibition of the MAPK and mTOR signaling networks[J]. *J Gastroenterol*, 2016, 51(7): 711 – 721

(收稿日期: 2020 – 12 – 04)

(修回日期: 2021 – 01 – 10)