

基于新抗原免疫疗效预测研究进展

王 雨^{1,2}, 徐裕金²

(1. 浙江中医药大学第二临床医学院, 浙江 杭州 310053;

2. 浙江省肿瘤医院, 中国科学院杭州医学研究所, 浙江 杭州 310022)

摘要:近年来,新抗原被认为是人体免疫系统识别和触发有效抗肿瘤免疫应答的关键分子,具有高度的免疫原性。研究显示免疫检查点抑制剂的疗效与新抗原的数量相关。因此,新抗原相关的生物标志物可能预测免疫治疗的疗效。全文主要讨论程序性死亡配体 1、肿瘤突变负荷、肿瘤新抗原负荷、循环肿瘤 DNA 和微卫星不稳定性等对免疫治疗的预测价值,新抗原的鉴定方法,以及基于新抗原免疫疗法的应用成果。但实施检测和治疗的过程中也会遇到一些阻碍,例如:检测生物标志物过程繁琐,新抗原疫苗的制作费用高昂等。未来研究者们还需不断探索,找到更有效的生物标志物,使更多的患者从中受益,实现个体化的精准治疗。

关键词:免疫疗法;新抗原;生物标志物;预测

中图分类号:R730.54 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-170X(2023)05-0367-06

doi:10.11735/j.issn.1671-170X.2023.05.B004

Advances on Prediction of Immunotherapy Efficacy Based on Neoantigen

WANG Yu^{1,2}, XU Yu-jin²

(1. The Second Clinical Medical College, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China; 2. Zhejiang Cancer Hospital, Hangzhou Institute of Medicine (HIM), Chinese Academy of Sciences, Hangzhou 310022, China)

Abstract: Neoantigens have been recognized as key molecules with high immunogenicity for the human immune system to recognize and trigger effective anti-tumor immune responses. Studies have shown that the amount of neoantigen is correlated with the efficacy of immune checkpoint inhibitor therapy, indicating that biomarkers related to neoantigen may be used to predict the efficacy of immunotherapy. This review mainly discusses the predictive value of programmed cell death-ligand 1, tumor mutational burden, tumor neoantigen burden, circulating tumor DNA, and microsatellite instability for immunotherapy, the identification methods of neoantigens, and the results of applying neoantigen-based immunotherapy. However, there are still some obstacles in tests and treatment related to neoantigens, such as the cumbersome process of detecting biomarkers and the high cost of making neoantigen vaccines. It is necessary to explore and find more effective biomarkers of neoantigen in the future to develop personalized and precise treatment for cancer patients.

Subject words: immunotherapy; neoantigen; biomarkers; prediction

肿瘤免疫是一个复杂的过程,研究认为肿瘤新抗原的释放是关键步骤之一^[1]。免疫治疗只对部分人群有效,其他患者并没有从免疫治疗中获益,反而不得不承受免疫治疗所带来的毒副作用。因此,寻求用于预测免疫治疗疗效的生物标志物,提前锁定能够从免疫治疗中获益的人群,已经成为迫在眉睫需要解决的问题。目前认为可指导免疫检查点抑制剂 (immune checkpoint inhibitors, ICIs) 治疗的生物

标志物主要有程序性死亡配体 1(PD-L1)、肿瘤突变负荷、肿瘤新抗原负荷、循环肿瘤 DNA、微卫星不稳定性等。

1 新抗原的定义与发现

早在 1988 年,DePlaen 等在小鼠 P815 肿瘤模型中发现了第一个新抗原,其基因的肿瘤型与正常型相比仅有一个核苷酸不同,这个单核苷酸的突变可被特异性 T 细胞识别^[2-3]。肿瘤抗原分为肿瘤相关抗原和肿瘤特定抗原。其中,肿瘤特定抗原不受中枢

基金项目:浙江省基础公益研究项目(LGF21H160005);浙江省医药卫生一般项目(2022KY106)

通信作者:徐裕金, E-mail: xuyj@zjcc.org.cn

收稿日期:2023-01-20; **修回日期:**2023-04-12

免疫和外周耐受机制的影响,肿瘤特定抗原仅在肿瘤细胞中表达,不在正常细胞中表达^[4],通常被称作新抗原。新抗原是由癌细胞基因非同义突变而产生的异常抗原,通过主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)分子的作用来激活CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞而产生免疫反应,从而抑制肿瘤生长。因此,新抗原可能是抗肿瘤免疫治疗的理想靶点。

2 免疫预测疗效相关的生物标志物

2.1 PD-L1

PD-L1是第一个被提出对肿瘤的免疫治疗有预测价值的生物标志物。已有多项研究证明PD-L1与免疫治疗的预后及疗效相关。Rossille等^[5]测定288例弥漫性大B细胞淋巴瘤患者的可溶性PD-L1,结果发现可溶性PD-L1表达较高的患者预后较差。在KEYNOTE 052研究中,研究者应用帕博利珠单抗治疗尿路上皮癌,发现PD-L1高表达组较PD-L1低表达组免疫反应率更高^[6]。一项对晚期非小细胞肺癌随机对照试验的结果表明,在PD-L1表达50%以上的患者中,免疫组总生存率显著性高于化疗组^[7]。目前,对于PD-L1表达水平检测通常采用免疫组化(immunohistochemistry, IHC)方法,常用的克隆主要有22C3、28-8、SP263、SP142等。但是IHC方法并不能检测到所有患者的PD-L1水平^[8],可能与组织取样的局限性或对PD-L1生物学认识不足有关。美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)现已批准了4种IHC测定方法作为用于PD-1和PD-L1抑制剂的辅助和补充诊断方法。不同的克隆需采用不同的检测技术^[8]。除此之外,PD-L1检测还存在其他的限制因素,例如:缺乏PD-L1表达阳性阈值的统一标准、肿瘤异质性、检测平台差异等^[9-10]。为了解决上述问题,研究者提出了体内无创成像技术进行PD-L1检测^[8,11],该技术主要通过MRI、CT、PET和SPECT等技术对肿瘤组织PD-L1的表达值进行测量及成像,能够直观地观察PD-L1的表达情况及分布规律,并且可以在治疗期间动态检测PD-L1表达。

2.2 肿瘤突变负荷

新抗原是由肿瘤体细胞突变产生的,但仅有少

数突变产生的肽能被T细胞正确识别^[12]。肿瘤突变负荷(tumor mutation burden, TMB)被定义为每个编码区域的体细胞突变总数。因此,TMB越高,肿瘤突变形成的新抗原可能越多。TMB可以代表肿瘤新抗原负荷的预估值来预测免疫治疗的疗效^[3]。

在PD-1免疫检查点抑制剂治疗高突变实体瘤的反应率研究中,筛选了经PD-1或PD-L1抑制剂治疗的1678例实体瘤患者,以每百万碱基(Mb)10个突变为截点,416例被归类为高TMB组,其余为低TMB组。与低TMB组相比,高TMB组具有更高的反应率^[13]。在肿瘤组织TMB(tTMB)预测帕博利珠单抗疗效的研究(KEYNOTE 158)中,高tTMB组客观缓解率高于低tTMB组。基于KEYNOTE 158的研究结果,FDA批准了将帕博利珠单抗用于治疗高TMB的肿瘤患者^[14]。Cristescu等^[15]对帕博利珠单抗治疗实体瘤的疗效与TMB的关系进行了回顾性分析,TMB $\geq$ 175个突变、TMB<175个突变者客观缓解率(objective response rate, ORR)分别为31.4%、9.5%;而且无论PD-L1表达情况如何均显示TMB与ORR有关联。同时将帕博利珠单抗治疗组与化疗组进行随机对照研究,发现TMB与帕博利珠单抗组的ORR($P=0.016$)、无进展生存期(progression-free survival, PFS)($P<0.005$)和总生存期(overall survival, OS)($P=0.029$)有关,但与化疗组无关(分别为 $P=0.340$ 、 $P=0.643$ 和 $P=0.174$),并且帕博利珠单抗组的疗效更好。此外,还有其他关于TMB作为免疫药物的预测疗效标志物的研究,如CheckMate 227试验等,但仍需更多前瞻性临床试验进一步验证^[16]。

2.3 肿瘤新抗原负荷

肿瘤新抗原负荷(tumor neoantigen burden, TNB)是反映肿瘤细胞中总的新抗原数量的一个指标,通常以每Mb的肿瘤基因组区域中包含的产生新抗原的突变数量来表示。有研究提出了克隆性和亚克隆性的TNB,高水平克隆性TNB的肿瘤患者肿瘤细胞表面的新抗原数量较多,代表免疫细胞能对肿瘤细胞产生更有效的杀伤作用,也能对ICIs有更好的治疗反应。克隆性新抗原水平越低,亚克隆性新抗原水平越高,越有可能表明肿瘤内异质性越强,克隆性新抗原水平高并且肿瘤内异质性低的这类患者使用免疫治疗可能会获得更长的PFS^[17]。一项对IV期恶性黑色素瘤的I/II期研究中,与低TNB患者相比,高

TNB 患者生存率较高,TNB 与 PFS 和 OS 显著性相关^[18]。这些研究提示高 TNB 肿瘤可能获得更好的临床疗效,可作为 ICI 治疗中筛选潜在获益患者的生物标志物。

2.4 循环肿瘤 DNA

循环肿瘤 DNA(circulating tumor DNA,ctDNA)已作为无创监测肿瘤动态情况的方法^[19]。研究者发现 ctDNA 在血浆中的检测时间比影像学识别的复发肿瘤提前约 8 个月^[20]。ctDNA 半衰期短,约小于 2 h,可作为肿瘤实时状态检测指标^[21]。McDonald 等^[22]分析 33 例乳腺癌 DNA 变体的个性化肿瘤源性体细胞突变谱,在治疗前的患者血浆样本中均检测到 ctDNA。接受新辅助治疗后,与有残余疾病的患者相比,获得病理完全缓解患者血浆中的 ctDNA 浓度较低。通过检测 ctDNA 中编码的肿瘤新抗原的相应核酸片段可实现对肿瘤新抗原的动态监测。但由于个体人类白细胞抗原(human leukocyte antigen,HLA)基因的多样性和体细胞突变谱高度异质性,单一的 ctDNA 测序往往很难追踪到新抗原。陆军军医大学贾罄竹教授等根据个性化 ctDNA 测序可以有效地追踪到新抗原,免疫治疗 8 周后的 ctDNA 浓度下降到 50%以上,ctDNA 浓度下降的幅度与肿瘤缩小呈正相关。ctDNA 浓度突然升高可能表明疾病出现进展^[23]。

Powles 等^[24]检测了 581 例接受过手术的尿路上皮癌患者的 ctDNA 来评估其预后,结果显示 ctDNA 阳性患者预后较差。但是,对于 ctDNA 阳性患者,在术后使用阿特珠单抗辅助治疗,与观察组相比,DFS 和 OS 都有所提高。对于 ctDNA 阴性的患者,两组 DFS 及 OS 并无统计学差异。可见,ctDNA 可以预测肿瘤患者的预后,并可能对免疫治疗疗效有一定的指导作用。

2.5 微卫星不稳定性

微卫星不稳定性(microsatellite instability,MSI)是由 DNA 修复蛋白的缺失造成高度突变的状态。其典型特点是微卫星突变的富集,通常包括重复序列的改变。MSI 有以下几种机制^[25-27]:首先,错配修复(mismatch repair,MMR)系统是正常组织所拥有的,可以纠正 DNA 复制过程中的错误。而肿瘤细胞缺少 MMR 基因,这种 MMR 缺陷(mismatch repair deficiency,dMMR)导致了体细胞突变及微卫星序列突

变。其次,滑链错配是指在 DNA 复制过程中,新链与模板链之间的微卫星重复序列的等位基因区域不匹配,导致新链与模板链瞬间分离或由多个重复序列形成的单链结构。微卫星滑动突变率随着重复序列数量的增加呈指数增长。另外,极性微卫星高度不稳定(microsatellite instability high,MSI-H)肿瘤通过缩短 3'UTR (3'-untranslated region)来提高癌基因的翻译水平,这也可能是导致 MSI 频繁发生的原因。目前认为某种肿瘤类型或者肿瘤微环境有利于 MSI 的发生,例如:TGFBR2 移码突变在结肠腺癌和胃腺癌中比在子宫内膜癌中更常见。Gryfe 等^[28]对 607 例结直肠癌患者进行预后分析,发现 MSI-H 结直肠癌患者比微卫星稳定型结直肠癌患者有显著生存优势,且 MSI-H 患者具有较低的区域淋巴结转移率和远处器官转移率。该研究提示 MSI-H 是结直肠癌的独立判断预后指标。MSI 在预测其他肿瘤的预后结果也基本与结直肠癌一致^[29]。

由于 dMMR/MSI-H 在 Lynch 综合征患者中很常见,NCCN 指南建议 Lynch 综合征的患者需做基因检测,包括 MMR 基因(*hMLH1*,*hMSH2*,*hMSH6*,*hPMS2*)和 *EpCAM* 基因^[25]。有研究表明帕博利珠单抗治疗 dMMR 癌症患者较 MMR 正常肿瘤患者具有更好的 ORR^[30]。基于此,2017 年,FDA 批准了帕博利珠单抗应用于 dMMR/MSI-H 泛癌病人的抗肿瘤治疗。现已有研究人员利用肿瘤患者共有的移码肽开发了首个针对 MSI 肿瘤的现成新抗原疫苗^[31]。

2.6 其他潜在指标

除肿瘤细胞自身的突变负荷和新抗原负荷外,肿瘤组织的淋巴细胞浸润情况及肿瘤组织的微环境状态,如肿瘤免疫微环境成分中的 T 细胞、B 细胞、巨噬细胞、NK 细胞、抗原递呈的树突状细胞、中性粒细胞和骨髓来源的抑制细胞等越来越可能成为重要的评估免疫治疗疗效的生物标志物^[32-34]。

3 新抗原的鉴定

新抗原的鉴定过程如下^[35]:①获得肿瘤活检标本;②利用下一代测序(next generation sequencing,NGS)技术测序分析获得突变抗原谱;③利用计算机基于质谱的免疫蛋白质组技术预测可能的抗原蛋白;④进行免疫学分析以验证和确认新抗原。想要

获取新抗原,最先要做的就是识别肿瘤细胞特有的突变基因,这一步骤通常是通过 NGS 来完成。NGS 在过去的十多年发展迅速,现在只需几天就能完成一个完整的二倍体人类基因组序列。同时 NGS 还降低了产生序列数据的成本。目前有大量利用 NGS 的基因组探测方法,其中有以下常见的两种方式:全外显子测序和转录子组测序^[36]。已有多项新抗原免疫治疗实验在 NGS 下完成并取得了不错的成果^[37-38]。

质谱分析也是被广泛认可的鉴定新抗原的方法。质谱分析是通过亲和色谱法从肿瘤组织中获得 HLA 蛋白及其结合肽,直接对多肽进行分析,并与患者的基因组进行比较获得氨基酸序列,以此来直接鉴定肿瘤细胞表面抗原肽。其中,如何获得 MHC 洗脱肽是关键。主要有两种方式:免疫沉淀和温和酸洗^[39]。免疫沉淀分为以下几个步骤:①识别 HLA 抗体后通过免疫沉淀将 MHC 复合物从肿瘤中分离;②清洗抗体-MHC 复合物;③MHC 相关肽通过 C-18 固相萃取从抗体、MHC 分子和 β 2M 中分离;④纯化 MHC 相关肽;⑤对获取的多肽进行质谱分析。温和酸洗法在低 pH 值的条件下使用缓冲液洗脱 MHC 分子。两种方法都需要较多的肿瘤组织标本,鉴定过程存在一定的难度。有研究人员利用基于质谱的免疫蛋白组技术直接测量肿瘤细胞表面的新抗原,确定了可能产生新抗原的 612 种基因突变,然而,使用蛋白质图谱只能检测到 3 种新抗原,远低于预测值。单用质谱分析的灵敏度有限,有些新抗原无法检测到^[35]。所以,质谱分析通常与其他测序方式结合,能够更精确地发现和筛选新抗原。

4 肿瘤新抗原免疫治疗的应用

肿瘤新抗原源于基因的改变,具有新的氨基酸序列的蛋白质,可以被免疫系统识别。大规模测序技术的出现使得系统地发现和评估新抗原成为可能。目前,利用肿瘤新抗原的免疫疗法主要有两种:第一种是利用 NGS 等鉴定新抗原的方法所开发出的新抗原个体化疫苗,这种方法已被证明是有效、可行的^[40-41]。另一种方法是通过鉴定技术筛选出肿瘤新抗原并合成抗原多肽,利用抗原多肽激活特异性 T 细胞并体外扩增,然后将其注射回患者体内去除肿瘤组织,称为过继细胞疗法(adoptive cell therapy,

ACT)。Ott 等^[37]对 6 例恶性黑色素瘤患者接种了新抗原疫苗,随访发现其中 4 例在接种后 25 个月没有复发,其余 2 例发生进展的患者随后接受了抗 PD-1 治疗后疗效评价为 CR。这种个性化新抗原疫苗对于 TMB 较低的胶质母细胞瘤也是适用的,在一项 I / Ib 期胶质母细胞瘤研究中,研究者对入组的 10 例患者接种了新抗原疫苗,结果发现患者产生了新抗原特异性 T 细胞反应:来自外周血的新抗原特异性 T 细胞可以迁移到颅内胶质母细胞瘤中^[42]。ACT 所用的细胞包括肿瘤浸润淋巴细胞、嵌合抗原受体 T 细胞、T 细胞受体嵌合型 T 细胞和细胞因子诱导杀伤细胞等。2018 年,Zacharakis 等^[43]发表了 1 篇乳腺癌患者使用 ACT 的病例报告,该患者接受针对 4 种突变蛋白(SLC3A2, KIAA0368, CADPS2 和 CTSB)的自体 T 细胞回输后,其病灶完全消退。目前,国内外的研究团队正在积极进行新抗原 ACT 的试验。

5 展望

免疫治疗是一种当今最火热的抗肿瘤治疗方式,被誉为人类抗癌治疗的第三次革命。到目前为止,免疫治疗已经发展出了多种形式:癌症疫苗、过继细胞疗法、溶瘤病毒、免疫检查点抑制剂等。利用新抗原与免疫疗法结合已被多项研究证实可行,但是并不是所有的患者都可以从中获益。因此,寻找与免疫治疗疗效及预后相关的生物标志物志在必行,从而精准筛选癌症患者的优势人群。目前认为可指导 ICI 治疗的生物标志物有 PD-L1、TMB、MSI 等。尽管已有以上多个免疫治疗相关生物标志物,但尚缺乏统一的检测方法和标准,还需继续深入研究。同样,新抗原的发展也存在一些限制性因素:从成千上万的非同义突变中找到有效的抗原是首要问题。正因如此,新抗原疫苗的开发往往需要很长时间,这意味着筛选新抗原的方法需要改进;其次,肿瘤的异质性难以控制,我们无法利用个别新抗原来识别和杀伤肿瘤组织;最后,由于个体的不同,从基因测序到生产个性化疫苗,产生的成本高昂,大多数患者并不能承受。

未来研究者们还需不断探索,找到更有效的生物标志物,将新抗原的免疫治疗广泛应用到临床,从而使更多的患者受益,实现个体化的精准治疗。

参考文献:

- [1] Chen DS, Mellman I. Elements of cancer immunity and the cancer-immune set point[J]. *Nature*, 2017, 541(7637): 321–330.
- [2] De Plaen E, Lurquin C, Van Pel A, et al. Immunogenic (tum-) variants of mouse tumor P815: cloning of the gene of tum-antigen P91A and identification of the tum-mutation[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1988, 85(7): 2274–2278.
- [3] 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.
- [4] Zhang Z, Lu M, Qin Y, et al. Neoantigen: a new breakthrough in tumor immunotherapy[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 672356.
- [5] Rossille D, Gressier M, Damotte D, et al. High level of soluble programmed cell death ligand 1 in blood impacts overall survival in aggressive diffuse large B-cell lymphoma: results from a French multicenter clinical trial[J]. *Leukemia*, 2014, 28(12): 2367–2375.
- [6] Balar AV, Castellano D, O'donnell PH, et al. First-line pembrolizumab in cisplatin-ineligible patients with locally advanced and unresectable or metastatic urothelial cancer (KEYNOTE-052): a multicentre, single-arm, phase 2 study[J]. *Lancet Oncol*, 2017, 18(11): 1483–1492.
- [7] Herbst RS, Baas P, Kim DW, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial[J]. *Lancet*, 2016, 387(10027): 1540–1550.
- [8] Nimmagadda S. Quantifying PD-L1 expression to monitor immune checkpoint therapy: opportunities and challenges [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(11): 3173.
- [9] Koppel C, Schwellenbach H, Zielinski D, et al. Optimization and validation of PD-L1 immunohistochemistry staining protocols using the antibody clone 28–8 on different staining platforms[J]. *Mod Pathol*, 2018, 31(11): 1630–1644.
- [10] Zhou J, Gong Z, Jia Q, et al. Programmed death ligand 1 expression and CD8(+) tumor-infiltrating lymphocyte density differences between paired primary and brain metastatic lesions in non-small cell lung cancer [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 498(4): 751–757.
- [11] Mu W, Jiang L, Shi Y, et al. Non-invasive measurement of PD-L1 status and prediction of immunotherapy response using deep learning of PET/CT images[J]. *J Immunother Cancer*, 2021, 9(6): ee002118.
- [12] Coulie PG, Van Den Eynde BJ, Van Der Bruggen P, et al. Tumour antigens recognized by T lymphocytes: at the core of cancer immunotherapy[J]. *Nat Rev Cancer*, 2014, 14(2): 135–146.
- [13] Valero C, Lee M, Hoen D, et al. Response rates to anti-PD-1 immunotherapy in microsatellite-stable solid tumors with 10 or more mutations per megabase[J]. *JAMA Oncol*, 2021, 7(5): 739–743.
- [14] Marabelle A, Fakih M, Lopez J, et al. Association of tumour mutational burden with outcomes in patients with advanced solid tumours treated with pembrolizumab: prospective biomarker analysis of the multicohort, open-label, phase 2 KEYNOTE-158 study[J]. *Lancet Oncol*, 2020, 21(10): 1353–1365.
- [15] Cristescu R, Aurora-Garg D, Albright A, et al. Tumor mutational burden predicts the efficacy of pembrolizumab monotherapy: a pan-tumor retrospective analysis of participants with advanced solid tumors[J]. *J Immunother Cancer*, 2022, 10(1): e003091.
- [16] Hellmann MD, Ciuleanu TE, Pluzanski A, et al. Nivolumab plus ipilimumab in lung cancer with a high tumor mutational burden[J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(22): 2093–2104.
- [17] 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.
- [18] Lauss M, Donia M, Harbst K, et al. Mutational and putative neoantigen load predict clinical benefit of adoptive T cell therapy in melanoma[J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 1738.
- [19] Keller L, Pantel K. Unravelling tumour heterogeneity by single-cell profiling of circulating tumour cells[J]. *Nat Rev Cancer*, 2019, 19(10): 553–567.
- [20] Li N, Wang BX, Li J, et al. Perioperative circulating tumor DNA as a potential prognostic marker for operable stage I to III A non-small cell lung cancer [J]. *Cancer*, 2022, 128(4): 708–718.
- [21] Cheng ML, Pectasides E, Hanna GJ, et al. Circulating tumor DNA in advanced solid tumors: clinical relevance and future directions [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(2): 176–190.
- [22] McDonald BR, Contente-Cuomo T, Sammut SJ, et al. Personalized circulating tumor DNA analysis to detect residual disease after neoadjuvant therapy in breast cancer[J]. *Sci Transl Med*, 2019, 11(504): eaax7392.
- [23] Jia Q, Chiu L, Wu S, et al. Tracking neoantigens by personalized circulating tumor DNA sequencing during checkpoint blockade immunotherapy in non-small cell

- lung cancer[J]. *Adv Sci (Weinh)*,2020,7(9):1903410.
- [24] Powles T,Assaf ZJ,Davarpanah N,et al. ctDNA guiding adjuvant immunotherapy in urothelial carcinoma[J]. *Nature*,2021,595(7867):432–437.
- [25] Li K,Luo H,Huang L,et al. Microsatellite instability: a review of what the oncologist should know[J]. *Cancer Cell Int*,2020,20:16.
- [26] Hughes CR,Queller DC. Detection of highly polymorphic microsatellite loci in a species with little allozyme polymorphism[J]. *Mol Ecol*,1993,2(3):131–137.
- [27] Cortes-Ciriano I, Lee S, Park WY, et al. A molecular portrait of microsatellite instability across multiple cancers[J]. *Nat Commun*,2017,8:15180.
- [28] Gryfe R, Kim H, Hsieh ET, et al. Tumor microsatellite instability and clinical outcome in young patients with colorectal cancer[J]. *N Engl J Med*,2000,342(2):69–77.
- [29] Polom K, Marano L, Marrelli D, et al. Meta-analysis of microsatellite instability in relation to clinicopathological characteristics and overall survival in gastric cancer[J]. *Br J Surg*,2018,105(3):159–167.
- [30] Le DT, Uram JN, Wang H, et al. PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency[J]. *N Engl J Med*,2015,372(26):2509–2520.
- [31] Leoni G, D’alisse AM, Cotugno G, et al. A genetic vaccine encoding shared cancer neoantigens to treat tumors with microsatellite instability[J]. *Cancer Res*,2020,80(18):3972–3982.
- [32] Lim B, Woodward WA, Wang X, et al. Inflammatory breast cancer biology: the tumour microenvironment is key[J]. *Nat Rev Cancer*,2018,18(8):485–499.
- [33] Liu Y, Zhou X, Wang X. Targeting the tumor microenvironment in B-cell lymphoma: challenges and opportunities[J]. *J Hematol Oncol*,2021,14(1):125.
- [34] Qayoom H, Sofi S, Mir MA. Targeting tumor microenvironment using tumor-infiltrating lymphocytes as therapeutics against tumorigenesis [J]. *Immunol Res*,2023 Apr 1. doi: 10.1007/S12026–023–09376–2. [Online ahead of print]
- [35] Xu P, Luo H, Kong Y, et al. Cancer neoantigen: boosting immunotherapy[J]. *Biomed Pharmacother*,2020,131:110640.
- [36] Gubin MM, Artyomov MN, Mardis ER, et al. Tumor neoantigens: building a framework for personalized cancer immunotherapy[J]. *J Clin Invest*,2015,125(9):3413–3421.
- [37] Ott PA, Hu Z, Keskin DB, et al. An immunogenic personal neoantigen vaccine for patients with melanoma[J]. *Nature*,2017,547(7662):217–221.
- [38] Ott PA, 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, e324.
- [39] Kote S, Pirog A, Bedran G, et al. Mass spectrometry-based identification of MHC-associated peptides[J]. *Cancers(Basel)*,2020,12(3):535.
- [40] Awad MM, Govindan R, Balogh KN, et al. Personalized neoantigen vaccine NEO-PV-01 with chemotherapy and anti-PD-1 as first-line treatment for non-squamous non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Cell*,2022,40(9):1010–1026. e11.
- [41] Cai Z, Su X, Qiu L, et al. Personalized neoantigen vaccine prevents postoperative recurrence in hepatocellular carcinoma patients with vascular invasion[J]. *Mol Cancer*,2021,20(1):164.
- [42] Keskin DB, Anandappa AJ, Sun J, et al. Neoantigen vaccine generates intratumoral T cell responses in phase I b glioblastoma trial[J]. *Nature*,2019,565(7738):234–239.
- [43] 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.