



致力法規科學  
守護生命健康

Regulatory Science, Service for Life

## 個人化腫瘤新抗原免疫療法介紹與近年發展

葉禮慈<sup>1</sup>

### 前言

癌症治療策略包含外科手術、化學療法、放射線治療及標靶藥物治療。近年來免疫療法已經成為癌症治療新趨勢，不論是單獨治療或是合併其他治療策略，都有機會長期控制癌症於穩定狀態。由於次世代基因定序技術及電腦計算能力的快速發展，個人化腫瘤新抗原免疫療法已經逐漸從理論階段走向臨床應用。雖然目前還在臨床二期階段，但是從 2015 年<sup>[1]</sup>，首次於人體的腫瘤新抗原自體樹突細胞疫苗研究結果發表後，個人化腫瘤新抗原免疫療法，每年都有新的進展。本篇文章將介紹腫瘤新抗原原理、重要臨床進展及生產製造流程重要項目及挑戰。

### 腫瘤抗原分類

腫瘤抗原可分成兩種類型：腫瘤相關性抗原(Tumor associated antigen, TAA)以及腫瘤專一性抗原(Tumor specific antigen, TSA)。TAA 成因為癌細胞基因發生複製或擴增導致蛋白質表現增加後產生，TSA 則是因為癌細胞基因發生非同義突變(nonsynonymous substitution)，導致蛋白質胺基酸序列改變而產生<sup>[2]</sup>。

#### (一) 腫瘤相關性抗原(Tumor associated antigen, TAA)

TAA 依照表現特性分成三種類型：1) 過度表現(overexpression)TAA：在正常細胞也會表現的蛋白質，因為在癌細胞發生基因複製或擴增而大量表現後產生；2) 細胞分化或譜系特別表現(differentiation and lineage-specific) TAA：在特別細胞譜系或是細胞發育，或分化時期表現的蛋白質，在癌細胞異常表現後成為腫瘤抗原；及 3) 癌-生殖/癌-睪丸(cancer-germline/cancer testis) TAA：只在生殖系統表現的蛋白質，在癌細胞異常表現後，成為腫瘤抗原。TAA 是因為蛋白質表現量的改變而產生，不會發生胺基酸序列的改變。由於 TAA 在正常細胞也有機會表現，因此腫瘤專一性不足，在免疫中央耐受性(immune central tolerance)的調控機制下，對於 TAA 有高度親和力的免疫 T 淋巴細胞於胸腺發育時期就會被剷除，以避免自體免疫疾病產生(圖一 A)，因此；以 TAA 做

<sup>1</sup> 宏碁股份有限公司價值創新中心生物醫學實驗室

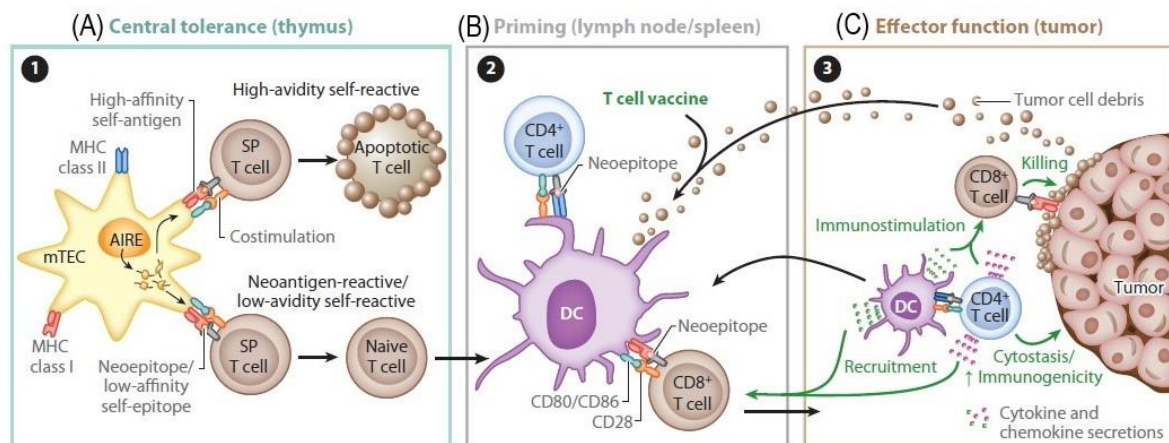
致力法規科學  
守護生命健康

Regulatory Science, Service for Life

為標的治療策略，不易引起有效的免疫反應清除癌細胞<sup>[3]</sup>成功誘發免疫反應，也會有攻擊同樣表現 TAA 之正常細胞，而導致自體免疫疾病發生的風險。

## (二) 腫瘤專一性抗原(Tumor specific antigen, TSA)

基因突變是細胞癌化過程的重要特徵。不同型態非同義突變(nonsynonymous mutation)，包含：點突變(point mutation)、嵌入與缺失(insertions or deletions, indels)或基因融合(gene fusions)<sup>[4]</sup>蛋白質編碼區(coding region)，即可能轉譯產生胺基酸改變的蛋白質。蛋白質降解後產生突變胜肽片段，就有機會從細胞內 Human leukocyte antigens class I (HLA class I)路徑與 HLA class I 形成複合體呈現於癌細胞表面，成為腫瘤新抗原(neoantigen)。Neoantigen 的來源可能是癌細胞死亡後，產生的細胞碎片或是疫苗。當淋巴結中抗原呈現細胞透過 HLA class I 及 II 路徑，呈現 neoantigen 活化 CD8 及 CD4 T 細胞後進入腫瘤微環境 (圖一 B)<sup>[5]</sup>。活化 CD8 T 細胞辨識癌細胞表面 HLA class I-neoantigen 複合體後進行毒殺作用，CD4 T 細胞則透過釋放細胞激素與趨化激素，以及與樹突細胞交互作用，活化腫瘤微環境免疫系統(圖一 C)。不同癌種在基因突變數目差異影響 neoantigen 數目以及免疫治療效果<sup>[6]</sup>。由於 neoantigen 帶有突變胺基酸序列，對於免疫系統來說，就像來自於微生物的外源性抗原。因此免疫中央耐受性的調控機制不會剷除高親和力 TSA 專一性免疫 T 細胞，相較於 TAA 而言，是較理想的癌症免疫治療策略。



註：(A)免疫中央耐受性機制剷除可能引發自體免疫疾病 T 細胞保留腫瘤新抗原專一性 T 細胞。  
(B, C)腫瘤新抗原專一性 T 細胞於淋巴結活化後進入腫瘤微環境毒殺癌細胞<sup>[3]</sup>。

圖一、腫瘤新抗原專一性 T 細胞與癌症免疫

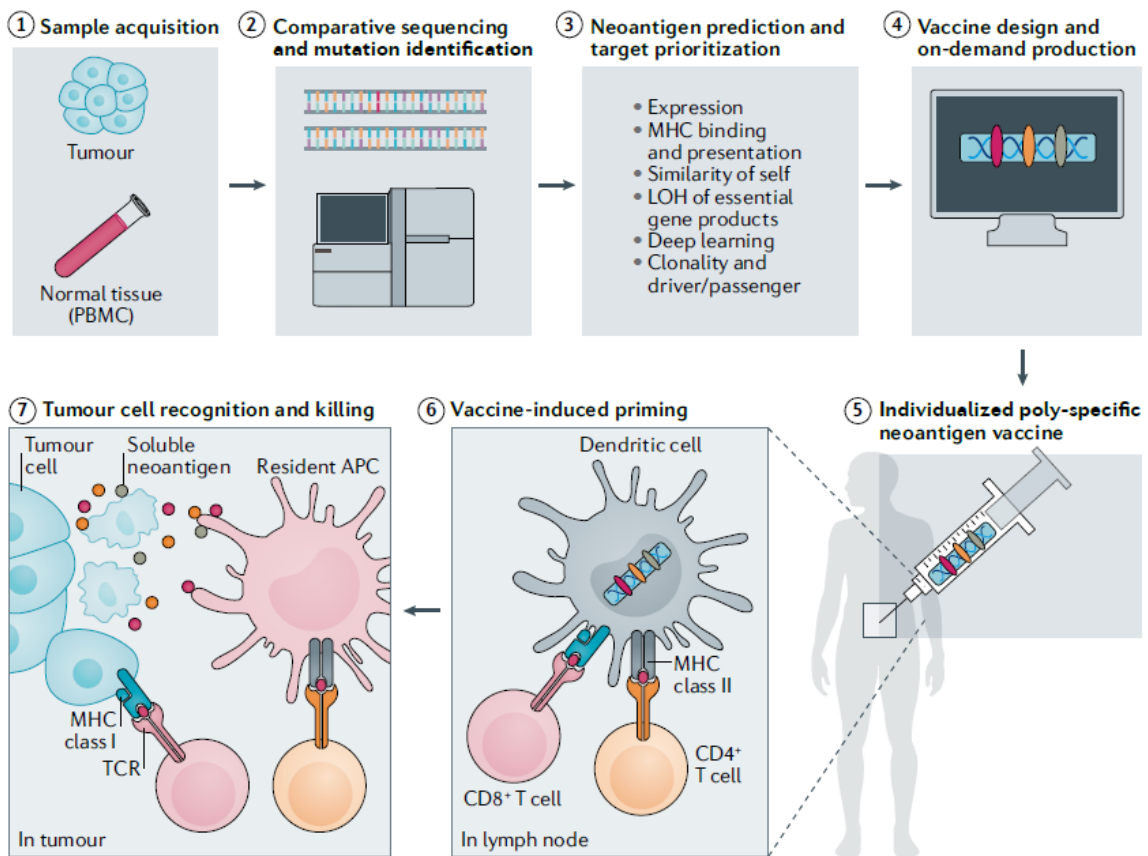


致力法規科學  
守護生命健康

Regulatory Science, Service for Life

## 個人化腫瘤新抗原免疫療法

目前已知約 15% 癌症是因為病毒感染導致癌化的發生<sup>[7]</sup>。針對病毒抗原設計在臨床使用的預防性疫苗，包含 HBV 疫苗 Engerix-B、Pediatrix、Recombivax HB 及 Twinrix；HPV 疫苗 Cervarix、Gardasil 及 Gardasil 9。這些疫苗已經證實，能夠有效預防病毒感染降低癌化風險；針對已經生成癌細胞的治療作用，則仍在試驗階段。本篇文章將著重探討，根據癌細胞基因突變所設計腫瘤新抗原(neoantigen)疫苗。於已發表臨床試驗文章中，常見的個人化腫瘤新抗原疫苗治療癌症之生產製造流程：1) 腫瘤組織及正常組織(通常為周邊血液單核球細胞)擷取；2) 次世代基因定序(全外顯子定序(Whole Exome Sequence, WES)及轉錄組定序(RNA-seq))，分析腫瘤體細胞突變(somatic mutation)和突變基因表現量；3) 腫瘤新抗原優先排序及挑選；4) 疫苗設計及 GMP 生產製造；及 5) 疫苗施打與免疫反應監控(圖二)<sup>[8,9]</sup>。



圖二、個人化腫瘤新抗原癌症疫苗生產製造流程<sup>[8]</sup>



### (1) 腫瘤組織擷取

腫瘤新抗原免疫治療通常會利用粗針穿刺進行檢體採樣，然而；由於癌細胞的高度差異性，單一檢體採樣分析結果不完全代表病患體內腫瘤的基因突變全貌<sup>[10]</sup>。如果能夠進行連續性採樣，特別是針對抗藥性腫瘤採樣，就有機會找到新產生的突變納入疫苗設計。福馬林固定與石蠟包埋(Formalin-Fixed Paraffin-Embedded, FFPE)是常規臨床檢體保存方式，可比較病患原生腫瘤與轉移或再復發腫瘤的基因突變，搭配雷射捕獲切割技術，則可以增加擷取腫瘤組織中癌細胞的比例<sup>[11]</sup>。相較於 FFPE，擷取新鮮腫瘤組織後冷凍保存，能夠維持 DNA 及 RNA 完整度，減少基因定序的技術錯誤<sup>[12]</sup>。常見組織快速凍存方式為利用液態氮急速降溫，但由於液態氮操作具有低溫凍傷風險，須事先規劃流程並且與臨床合作單位確認可行性後施行。除實體腫瘤組織，近年熱門發展的液態切片對病患侵入性較小，也是可以參考的組織擷取策略<sup>[13,14]</sup>。

### (2) 次世代基因定序分析

利用演算法分析次世代基因定序結果，分析腫瘤體細胞突變，如：SNV、indels 或 gene fusions 在非臨床研究已經廣泛使用，然而；目前沒有標準方法，避免演算法錯誤造成挑選的突變是生殖系突變而非腫瘤體細胞突變，可能導致疫苗活化自體免疫 T 淋巴細胞及產生自體免疫的風險。利用 Integrative Genomics Viewer，確認演算法所挑選的突變是常見的方式<sup>[15]</sup>。除此以外，以 PCR 針對目標區域定序確認，也是可以使用的方式<sup>[16,17]</sup>。

### (3) 腫瘤新抗原預測、優先排序、挑選及 GMP 生產製造

由於癌細胞具有高度差異性，以及因應環境壓力突變演化的特性，因此在規劃個人化腫瘤新抗原疫苗製造時，須納入多個突變而非少數幾個主要的突變。目前已經有許多電腦演算法協助腫瘤新抗原的挑選<sup>[18]</sup>，然而；在實際考量 GMP 製造、整體治療流程成本(費用及時間)、neoantigen 與 HLA 結合的能力、突變基因表現以及生物特性等因素後，往往會限制最終可以製造疫苗的腫瘤新抗原數目。

### (4) 疫苗施打及免疫反應監控

針對不同疫苗型式(肽疫苗、RNA 疫苗或樹突細胞疫苗等)，施打策略也會有差異(皮下、皮內注射或以超音波引導注射至淋巴結)，須事先與合作臨床單位討論最佳施打



策略，並且與疫苗委託製造單位規劃疫苗劑型及生產製造所需時間，確保病患有足夠的存活期獲得治療。病患在治療前後，需要從周邊血液分離免疫細胞進行抗原專一性免疫反應監控，以及免疫族群分析。由於免疫細胞族群及抗原反應，具有高度多樣性及差異性，周邊血液單核球細胞分離、凍存、解凍、培養及後續分析，須建立標準流程確保分析結果的穩定性。

### 個人化腫瘤新抗原免疫療法重要臨床進展

個人化免疫療法可分成三個層次<sup>[2,19]</sup>：1) Stratification：以生物標記分類病患後提供藥物治療，例如：HER2 檢測搭配 Trastuzumab (Herceptin) 治療乳癌；2) Warehousing：以標準製造流程預先生產原料藥儲存，當進行治療時再個別進行合併，產生獨特並具有本質性差異藥品，例如：2010 年美國 FDA 核准，用以治療轉移性前列腺癌的 Provenge® (sipuleucel-T) 疫苗，從病患血液以 leukapheresis 分離抗原呈現細胞，以預先生產的 PAP (Prostatic Acid Phosphatase)-GM-CSF 培養後，重新投予至患者體內，以誘發專一性 T 淋巴細胞破壞呈現 PAP 抗原的癌細胞<sup>[20]</sup>；及 3) Active personalization：從基因分析到藥物生產製造完全個人化的治療策略，個人化腫瘤新抗原免疫治療屬於這個層次。

2015 年，Carreno 及研究團隊<sup>[21]</sup>發表首次於人體執行的個人化腫瘤新抗原疫苗臨床試驗結果，利用自體樹突細胞搭配與 HLA-A\*02:01 結合的個人化腫瘤新抗原，及二個 gp100 抗原治療，三位曾經以 ipilimumab 治療的黑色素瘤病患，結果顯示癌症病患在疫苗施打後，產生抗原專一性 CD8 T 淋巴細胞及增加多樣性 T 細胞組庫(T cell repertoire)。試驗中，每位病患周邊血液細胞各針對三個腫瘤新抗原，產生專一性免疫 T 細胞反應，然而有二個腫瘤新抗原，雖然成功誘發 CD8 T 細胞，但活化 T 細胞沒有對帶有腫瘤新抗原基因的細胞進行毒殺作用，顯示短片段胜肽(8-11 個胺基酸)型式疫苗的缺點：短片段胜肽可不經過細胞內 HLA class I 路徑，而是直接與自體樹突細胞表面 HLA class I 形成複合體後，活化 CD8 T 細胞。因此；即使樹突細胞疫苗活化 T 細胞，但帶有基因突變的癌細胞仍無法將胜肽片段從細胞內 HLA class I 路徑，呈現在細胞表面，導致疫苗活化的 T 淋巴細胞，無法辨識癌細胞產生毒殺反應。

2017 年所發表的兩個臨床試驗結果，將個人化腫瘤新抗原治療性疫苗概念具體實現。這兩個臨床試驗的適應症，都是第三及四期的黑色素瘤，不局限於特定 HLA (過去



常見疫苗設計，大多針對 HLA-A2、A11 或 A24)的抗原設計，而是根據每個病患 HLA 挑選腫瘤新抗原後，設計個人化疫苗及 GMP 生產製造。一個團隊所使用的疫苗型式為長片段胜肽(15-30 個胺基酸)，結合佐劑 poly-ICLC 進行皮下注射<sup>[21]</sup>，另一團隊則利用 RNA 將帶有突變序列，總長度為 27 個胺基酸的片段，以非免疫原性的 glycine/serine linkers 連結後，利用超音波協助將 RNA 送入病患淋巴結<sup>[16]</sup>。兩個臨床試驗，皆證實個人化癌症疫苗的安全性以及可行性，病患施打疫苗後，僅產生類流行性感冒徵狀的不良反應。胜肽疫苗臨床試驗中，6 位受試者有 4 位維持兩年癌症未復發；另外 2 位病患，雖然在治療後發生腫瘤轉移，但是都對接續的免疫檢查點 PD-1 抑制治療產生反應。在 RNA 疫苗臨床試驗，13 位病患在治療後，也獲得長時間的無復發狀態(19-41 個月)<sup>[16]</sup>。雖然兩個臨床試驗的總人數不多(n=19)，但已顯示個人化腫瘤新抗原癌症疫苗單獨治療或是接續使用 anti-PD1 治療皆無嚴重不良反應，顯示個人化癌症疫苗的安全性，並且成功誘發腫瘤新抗原專一性免疫反應。相較於過去研究顯示，同樣的病患族群單獨以 PD-1 抑制治療僅有約 5%有反應<sup>[22]</sup>，施打過腫瘤新抗原疫苗的病患，則全部對 anti-PD1 治療產生反應，顯示腫瘤新抗原疫苗有助於增加病患對於檢查點抑制劑的反應。

除黑色素瘤以外，近年也有臨床試驗嘗試將個人化腫瘤新抗原疫苗，應用於腫瘤突變負荷(Tumor Mutation Burden, TBM)較低，一般認為對於免疫治療反應較差的多形性膠質母細胞瘤<sup>[17,23]</sup>。雖然試驗的結果顯示腫瘤新抗原疫苗的治療，對於多形性膠質母細胞瘤病患，沒有產生顯著臨床反應，但是從免疫細胞分析的結果證實，腫瘤新抗原疫苗即使面對 TMB 低的腫瘤，還是可以產生腫瘤浸潤 T 細胞免疫反應，未來有機會找出合適的治療策略。

## 發展個人化腫瘤新抗原免疫治療之挑戰

個人化癌症免疫療法針對每個病患基因定序結果，所找出的突變設計及生產製造藥品，循現有的法規規範在執行面有許多窒礙難行之處。可以從品質、臨床前試驗和臨床試驗三個部分，討論可能的執行模式<sup>[18,24,25]</sup>。

### (1) 品質

個人化腫瘤新抗原疫苗使用的抗原胺基酸序列，來自於個別病患癌組織突變基因組(mutanome)，藥品為少量多樣客製化生產製造並且須在短時間內給予病患，以安定性而言，無法按照一般安定性試驗基準，建立藥品的中長期安定性試驗資料，可參考個



人化細胞治療模式，針對代表性批次產品進行安定性試驗並利用其試驗結果，證明疫苗批次的安定性，以確保每位病患所須藥品的品質。

## (2) 臨床前試驗

由於每個癌細胞在基因突變具有高度差異性，加上突變胜肽序列須與高度多樣性的 HLA，形成穩定複合體，才有機會誘發 T 淋巴細胞免疫反應，因此沒有合適的疾病動物模式進行概念驗證(Proof of Concept, POC)。Association for Cancer Immunotherapy (CIMT)於 2012 年與歐洲藥品管理局(European Medicines Agency, EMA)的會議<sup>[18]</sup>，首次提出以黑色素瘤小鼠疾病模式，做為 POC 參考資料<sup>[26]</sup>。當時 EMA 建議除黑色素瘤以外，還要提供至少一項其他癌種的小鼠疾病模式數據支持論點。而目前已經有研究顯示，在不同疫苗製劑(胜肽加佐劑或是微脂體包覆 RNA)及癌種(B16F10 melanoma, MC38 and CT26 murine colon cancer, 4T1 breast cancer)，以小鼠疾病模式證實個人化腫瘤新抗原免疫治療的概念可行性<sup>[26-29]</sup>。由於疾病動物模式代表性不足，可能替代策略為利用 *in vitro* 實驗，探究人類免疫 T 細胞針對腫瘤新抗原所產生免疫反應<sup>[30]</sup>。

## (3) 臨床試驗

在臨床試驗階段，治療的安全性與效率無法從針對個別病患所準備的最終產品呈現，須要在設計臨床試驗時，包含安全性及免疫反應的監測計畫、中止試驗條件和排除條件，於個別病患治療過程，按照計畫收集相關數據。

## 結語

個人化腫瘤新抗原疫苗治療策略，在次世代定序以及電腦計算能力快速發展下，近 10 年逐漸從理論走向臨床。目前在 ClinicalTrials.gov 以“neoantigen 及 vaccine”搜尋，可以找到 96 個臨床試驗。雖然從已經發表的臨床研究數據顯示，疫苗單獨治療或是合併檢查點抑制劑，都具有抗癌的效果，實踐個人化腫瘤新抗原疫苗治療，仍有許多挑戰，如：抗原挑選策略的優化、加速個人化疫苗製造、新佐劑或不同疫苗製劑設計測試，以及最佳的合併治療方式等。免疫監控的部分利用新技術，獲得抗原專一性 T 細胞的數據，有助於了解疫苗所誘發的免疫反應多樣性以及功能性。臨床病患選擇、癌種差異、治療時間點選擇及臨床試驗終點設計，都可能影響治療的結果，仰賴不同領域專業人員偕同努力找出最佳治療策略。



台灣藥物法規  
資訊網法規公告



台灣藥品  
臨床試驗資訊



TFDA 藥物  
食品安全週報



致力法規科學  
守護生命健康

Regulatory Science, Service for Life

## 參考文獻

1. Carreno, B. M. *et al.* A dendritic cell vaccine increases the breadth and diversity of melanoma neoantigen-specific T cells. *Science* **348**, 803–808 (2015).
2. Haen, S. P., Löffler, M. W., Rammensee, H.-G. & Brossart, P. Towards new horizons: characterization, classification and implications of the tumour antigenic repertoire. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* **17**, 595–610 (2020).
3. Vormehr, M., Türeci, Ö. & Sahin, U. Harnessing Tumor Mutations for Truly Individualized Cancer Vaccines. *Annu. Rev. Med.* **70**, 395–407 (2019).
4. Turajlic, S. *et al.* Insertion-and-deletion-derived tumour-specific neoantigens and the immunogenic phenotype: a pan-cancer analysis. *Lancet Oncol.* **18**, 1009–1021 (2017).
5. Yarchoan, M., Johnson, B. A., Lutz, E. R., Laheru, D. A. & Jaffee, E. M. Targeting neoantigens to augment antitumour immunity. *Nat. Rev. Cancer* **17**, 209–222 (2017).
6. Alexandrov, L. B. *et al.* Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature* **500**, 415–421 (2013).
7. Hausen, H. zur. Viruses in Human Cancers. *Science* (1991) doi:10.1126/science.1659743.
8. Lang, F., Schrörs, B., Löwer, M., Türeci, Ö. & Sahin, U. Identification of neoantigens for individualized therapeutic cancer vaccines. *Nat. Rev. Drug Discov.* 1–22 (2022) doi:10.1038/s41573-021-00387-y.
9. Shetty, K. & Ott, P. A. Personal Neoantigen Vaccines for the Treatment of Cancer. *Annu. Rev. Cancer Biol.* **5**, 259–276 (2021).
10. Dagogo-Jack, I. & Shaw, A. T. Tumour heterogeneity and resistance to cancer therapies. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* **15**, 81–94 (2018).
11. Datta, S. *et al.* Laser capture microdissection: Big data from small samples. *Histol. Histopathol.* **30**, 1255–1269 (2015).
12. Oh, E. *et al.* Comparison of Accuracy of Whole-Exome Sequencing with Formalin-Fixed Paraffin-Embedded and Fresh Frozen Tissue Samples. *PLOS*





台灣藥物法規  
資訊網法規公告



台灣藥品  
臨床試驗資訊



TFDA 藥物  
食品安全週報



致力法規科學  
守護生命健康

Regulatory Science, Service for Life

- ONE10, e0144162 (2015).
13. Adalsteinsson, V. A. *et al.* Scalable whole-exome sequencing of cell-free DNA reveals high concordance with metastatic tumors. *Nat. Commun.* **8**, 1324 (2017).
  14. Quandt, D. *et al.* Implementing liquid biopsies into clinical decision making for cancer immunotherapy. *Oncotarget* **8**, 48507–48520 (2017).
  15. Barnell, E. K. *et al.* Standard operating procedure for somatic variant refinement of sequencing data with paired tumor and normal samples. *Genet. Med.* **21**, 972–981 (2019).
  16. Sahin, U. *et al.* Personalized RNA mutanome vaccines mobilize poly-specific therapeutic immunity against cancer. *Nature* **547**, 222–226 (2017).
  17. Hilf, N. *et al.* Actively personalized vaccination trial for newly diagnosed glioblastoma. *Nature* **565**, 240–245 (2019).
  18. Finotello, F., Rieder, D., Hackl, H. & Trajanoski, Z. Next-generation computational tools for interrogating cancer immunity. *Nat. Rev. Genet.* **20**, 724–746 (2019).
  19. Britten, C. M. *et al.* The regulatory landscape for actively personalized cancer immunotherapies. *Nat. Biotechnol.* **31**, 880–882 (2013).
  20. 王蓉君. 癌症的另類療法:癌症治療疫苗. 當代醫藥法規月刊 16–19 (2011).
  21. Ott, P. A. *et al.* An immunogenic personal neoantigen vaccine for patients with melanoma. *Nature* **547**, 217–221 (2017).
  22. Robert, C. *et al.* Pembrolizumab versus Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N. Engl. J. Med.* **372**, 2521–2532 (2015).
  23. Keskin, D. B. *et al.* Neoantigen vaccine generates intratumoral T cell responses in phase Ib glioblastoma trial. *Nature* **565**, 234–239 (2019).
  24. Pennington, M. W., Zell, B. & Bai, C. J. Commercial manufacturing of current good manufacturing practice peptides spanning the gamut from neoantigen to commercial large-scale products. *Med. Drug Discov.* **9**, 100071 (2021).
  25. Johansson, L. *A study on the manufacturing of individual-specific antigen peptides and key challenges from a GMP perspective.* (2020).



26. Castle, J. C. *et al.* Exploiting the Mutanome for Tumor Vaccination. *Cancer Res.* **72**, 1081–1091 (2012).
27. Matsushita, H. *et al.* Cancer exome analysis reveals a T-cell-dependent mechanism of cancer immunoediting. *Nature* **482**, 400–404 (2012).
28. Yadav, M. *et al.* Predicting immunogenic tumour mutations by combining mass spectrometry and exome sequencing. *Nature* **515**, 572–576 (2014).
29. Kreiter, S. *et al.* Mutant MHC class II epitopes drive therapeutic immune responses to cancer. *Nature* **520**, 692–696 (2015).
30. Steven A. Rosenberg, L. A Phase I/II Trial to Evaluate the Safety and Immunogenicity of a Messenger RNA (mRNA)- Based, Personalized Cancer Vaccine Against Neoantigens Expressed by the Autologous Cancer. **65** (2019).