



刘金平, 研究员, 博士生导师, 现担任中山大学肿瘤防治中心, 华南恶性肿瘤防治全国重点实验室PI。曾在美国国家卫生研究院(NIH/NCI)癌症研究所从事博士后研究(世界肝癌研究领域知名专家Dr. WANG Xinwei团队), 从事肝癌早期诊断及生物标记物的相关研究, 随后加入美国宾夕法尼亚大学(UPenn)医学院转化医学中心(消化道及肝病中心副主任, 二代测序中心主任Dr. KLAUS Kaestner团队), 从事资深研究员工作。2022年底回国并加入肿瘤学国家重点实验室。研究主要方向为肝癌早诊与预后生物标记物及精准治疗研究。用全病毒组肽段库进行抗原-抗体筛查近4 000例肝癌患者样本, 发现肝癌病人特有的病毒免疫反应标记物; 机制方面, 用新型小鼠模型及高通量测序等方法, 继续从事肝癌生物标记物大规模筛选与机制验证。迄今, 文章发表在*Cell*、*Nature*、*Nat Med*、*Nat Commun*、*JCI*、*Nucleic Acids Res*、*Cell Rep*等杂志。

个性化新抗原疫苗联合免疫治疗: 肝细胞癌精准治疗新策略

刘涛 刘金平*

(华南恶性肿瘤防治全国重点实验室, 广东省恶性肿瘤临床医学研究中心, 中山大学肿瘤防治中心, 广州 510060)

摘要 肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是全球癌症相关死亡的主要原因之一, 现有治疗方案效果有限。该文旨在概述探索个性化新生抗原疫苗联合免疫治疗在HCC治疗中的应用前景。通过先进的从头质谱分析技术, 识别患者特异肿瘤新抗原, 结合机器学习和人工智能算法AI(artificial intelligence)建立一套基于新生抗原异源性、驱动突变、主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC)呈递和T细胞受体(T-cell receptor, TCR)亲和力等多维度的方法学和评价体系来推动个性化疫苗设计方案。强调举例领域内既往研究发现, 类似疗法可显著增强抗肿瘤免疫应答, 提高免疫治疗效果。这一策略为HCC的个性化免疫精准治疗提供新思路, 还可能为其他恶性肿瘤的治疗带来突破。

关键词 肝细胞癌; 联合靶向免疫治疗; 患者特异性肿瘤新抗原疫苗; 从头质谱分析; 精准医学

Neoantigen Vaccines and Immunotherapy: a Precision Approach for Hepatocellular Carcinoma Treatment

LIU Tao, LIU Jinping*

(State Key Laboratory of Oncology in South China, Guangdong Provincial Clinical Research Center for Cancer, Sun Yat-sen University Cancer Center, Guangzhou 510060, China)

收稿日期: 2024-12-30

接受日期: 2025-01-24

国家自然科学基金(批准号: 82373257、21HAA02056)和中山大学肿瘤防治中心青年人才计划(批准号: YTP-SYSUCC-0056)资助的课题

*通信作者。Tel: 020-87343170, E-mail: liujp@sysucc.org.cn

Received: December 30, 2024 Accepted: January 24, 2025

This work was supported by the the National Natural Science Foundation of China (Grant No.82373257, 21HAA02056) and the Young Talents Program of Sun Yat-sen University Cancer Center (Grant No.YTP-SYSUCC-0056)

*Corresponding author. Tel: +86-20-87343170, E-mail: liujp@sysucc.org.cn

Abstract HCC (hepatocellular carcinoma) is one of the leading causes of cancer-related deaths worldwide, and current treatment options have limited efficacy. This article aims to outline the potential of personalized neoantigen vaccines combined with immunotherapy in the treatment of HCC. By utilizing advanced *de novo* mass spectrometry techniques to identify patient-specific tumor neoantigens, and integrating machine learning and AI (artificial intelligence) algorithms, a comprehensive methodology and evaluation system is established. This system is based on multiple dimensions, including neoantigen heterogeneity, driver mutations, MHC (major histocompatibility complex) presentation, and TCR (T-cell receptor) affinity, to advance personalized vaccine design. The article highlights previous findings in the field, demonstrating that similar therapeutic approaches can significantly enhance anti-tumor immune responses and improve the efficacy of immunotherapy. This strategy not only provides a novel approach for personalized and precise immunotherapy in HCC but may also offer breakthroughs for the treatment of other malignancies.

Keywords hepatocellular carcinoma; combination targeted immunotherapy; patient-specific tumor neoantigen vaccine; *de novo* mass spectrometry analysis; precision medicine

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 作为全球重大公共卫生问题, 其发病率和死亡率长期居高不下^[1]。数据显示, HCC患者的5年生存率在全球仅为18%, 而在中国更是低至12.5%^[2-3]。尽管免疫检查点抑制剂 (immune checkpoint inhibitors, ICIs) 在过去5年中彻底改变了HCC的治疗格局, 但其疗效仍受到肝脏免疫耐受特性及HCC特有的免疫抑制性微环境的制约。最新研究表明, HCC肿瘤组织中存在独特的免疫细胞组成: 肝内驻留的自然杀伤细胞、细胞毒性T细胞和 $\gamma\delta$ T细胞数量显著减少, 而调节性T细胞和巨噬细胞数量则明显增加^[4-5]。这种天然的免疫抑制性微环境, 加之效应型T细胞浸润率低, 使得HCC表现出免疫耐受特征^[6]。在多项针对HCC病人的临床试验中, ICIs作为单一疗法的客观缓解率仅为12%~18%^[7-9]。因此, 开发能够“激活”肝癌这种免疫冷肿瘤并提升ICIs应答率的治疗策略成为当前亟需解决的难题。

为了突破这一瓶颈, 本文总结了一种基于新抗原的个性化免疫治疗策略。新抗原是源自基因突变、异常转录或翻译过程的独特蛋白质片段, 可被T细胞识别为外源表位, 从而成为激活抗肿瘤免疫反应的关键靶点。新抗原的产生机制多样, 包括基因突变 (如单核苷酸变异、插入和缺失)、转录剪接异常、替代翻译途径或翻译后修饰等。这些新抗原通过主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC) 分子呈递于肿瘤细胞表面, T细胞识别为新型表位, 进而成为T细胞介导免疫反应的重要靶点。研究表明, 基于个性化新抗原的癌症疫苗能

够诱导特异性T细胞浸润至肿瘤组织内, 有效靶向并清除表达这些抗原的癌细胞^[10]。迄今为止, 已有超过100项临床试验验证了个性化新抗原疫苗在高突变及非高突变癌症患者中的安全性、可行性及免疫原性^[11-12], 其中也包括HCC^[13]。

在此背景下, 本文旨在概述一种结合新抗原疫苗和ICIs的综合治疗方案, 以“激活”HCC这种典型的免疫冷肿瘤。基于患者特异性新抗原的治疗方案, 有望显著改善HCC患者的预后, 为个性化精准医疗开辟新的前景。

1 癌症疫苗与新抗原研究进展

1.1 癌症疫苗的研究历程与发展现状

癌症疫苗的概念经历了从预防到治疗的重要演变。传统疫苗主要针对传染性疾病, 如人乳头瘤病毒 (human papilloma virus, HPV) 和乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 疫苗, 不仅预防相关疾病, 还显著降低病毒驱动的癌症发病率^[14]。近年来, 治疗性癌症疫苗的出现为肿瘤免疫治疗开辟了新途径。这类疫苗包含多样化的抗原形式, 包括肿瘤裂解物、全蛋白、肽、核糖核酸 (ribonucleic acid, RNA) 及脱氧核糖核酸 (deoxyribonucleic acid, DNA) 等, 这些抗原经抗原呈递细胞 (antigen-presenting cells, APCs) 加工后^[15], 以短肽 (长度为9~15个氨基酸) 的形式与MHC分子结合, 进而激活CD8⁺ (cluster of differentiation 8) 细胞毒性T (T lymphocyte) 细胞或CD4⁺ (cluster of differentiation 4) 辅助性T细胞。此外, 癌症疫苗配方中的佐剂进一步增强了免疫反应的强度和持久性^[16]。然而, 基于

肿瘤相关抗原(tumor-associated antigens, TAAs)的传统癌症疫苗,如肝癌中的甲胎蛋白和磷脂酰肌醇蛋白聚糖3(glypican-3, GPC3),由于免疫原性较弱,临床疗效有限。这一局限促使研究人员将目光投向肿瘤特异性新抗原,从而为癌症疫苗研发开辟了新方向。基于新抗原的疫苗策略不仅有望突破传统疗法的瓶颈,更为个体化癌症免疫治疗提供了新的希望和重要突破。

1.2 新抗原在癌症免疫治疗中的关键作用

新抗原作为肿瘤细胞特异性变异的产物,代表了癌症免疫治疗领域的一个突破性进展^[17]。这些独特的抗原分子主要通过四种机制生成:(i) 基因水平突变,包括染色体易位、插入缺失和体细胞突变;(ii) 转录调控异常,如可变剪接;(iii) 翻译异常,如核糖体移码和非经典起始密码子的使用;以及(iv) 翻译后修饰的改变,涉及抗原加工及蛋白酶体肽的重组拼接^[18]。这种多层次的新抗原生成机制形成了丰富多样且结构复杂的靶点库,从而为开发个体化癌症疫苗开辟了广阔的应用前景。

新抗原介导的抗肿瘤免疫反应涉及一系列精密协调的细胞相互作用(图1)。当肿瘤细胞发生凋亡或坏死时,释放的新抗原可被APCs捕获并进行加工处理。在淋巴结中,APCs通过MHC I类分子途径将外源性抗原交叉呈递给 $CD8^+$ T细胞,从而激活初始

$CD8^+$ T细胞,这一过程被称为交叉启动。活化的效应性 $CD8^+$ T细胞随后迁移至肿瘤部位,并以抗原特异性方式发挥细胞毒性作用,同时可能通过表位扩展进一步放大免疫反应。此外,通过APCs上的MHC II类分子初始活化的 $CD4^+$ T细胞能够辅助 $CD8^+$ T细胞,诱导癌细胞表面MHC I类分子表达,激活髓系细胞的抗肿瘤活性^[19]。这一复杂的免疫级联反应提示,肿瘤新抗原疫苗的设计需统筹考虑多种免疫细胞亚群的协同效应,从而系统提升抗肿瘤疗效。

肿瘤突变负荷(tumour mutational burden, TMB)是衡量肿瘤基因组不稳定性关键指标,与新抗原的产生密切相关。TMB定义为每兆基对基因组中非同义突变的数量,其测定依赖于高通量测序技术^[20],研究表明,TMB通常与新抗原数量呈正相关,并在某些肿瘤类型中可预测ICIs的疗效^[21]。虽然HCC的肿瘤突变负荷TMB处于中等水平(约5个突变/兆碱基),但其特有的基因突变谱为新抗原的识别与利用创造了重要机会^[22]。数据显示,HCC中最常见的基因异常涉及端粒酶相关基因(约60%)、Wnt/ β -catenin信号通路关键蛋白(约54%)以及TP53基因相关的细胞周期调控蛋白(约49%)^[23]。这些高频突变不仅揭示了肝细胞癌的分子病理特征,同时也为潜在治疗靶点的发掘指明了方向。

近期的综合基因组学研究进一步深化了对

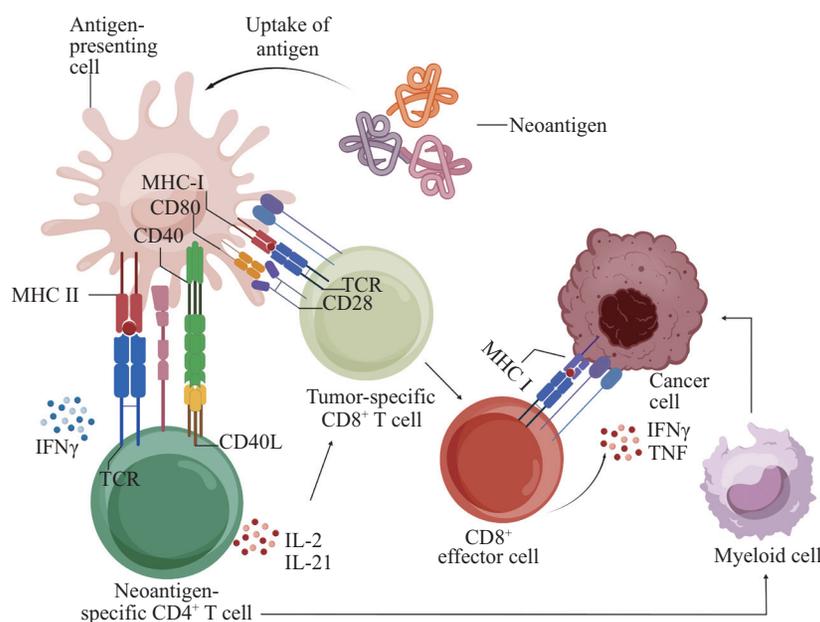


图1 新抗原介导的抗肿瘤免疫反应(使用BioGDP.com网站制作)

Fig.1 Neoantigen-mediated anti-tumor immune response (created with BioGDP.com)

HCC新抗原的理解。YANG等^[24]通过整合全外显子测序、转录组测序和生物信息分析,发现TP53特异性新抗原与HCC患者的总体生存率显著相关。另一项大规模研究对363例HCC样本进行了全面的多组学分析,涵盖了全外显子测序、DNA拷贝数变异、DNA甲基化、转录表达谱、miRNA谱和蛋白质组分析,该研究不仅识别出一系列显著突变的基因(如*LZTR1*、*EEF1A1*、*SF3B1*和*SMARCA4*),还开发了一种基于*p53*靶基因表达特征的预后模型^[5]。这些发现为HCC的分子分型和个体化治疗策略的制定提供了重要依据。

综上所述,新抗原作为癌症疫苗治疗的前沿靶点,其重要性不言而喻。深入解析HCC特异性新抗原的产生机制、免疫识别过程及其与临床预后的关联,将为开发更精准、更有效的免疫治疗策略奠定基础。未来的研究应聚焦于优化新抗原预测算法、探索新抗原与肿瘤微环境的互动,以及设计能同时激活多重免疫效应机制的新型疫苗配方。这些研究进展有望突破HCC免疫治疗的瓶颈,从而为患者提供更优的临床疗效。

2 肝细胞癌新抗原疫苗研究现状

2.1 肝细胞癌新抗原的鉴定与特征分析

在HCC治疗领域,新抗原靶向疫苗正引领一场革命性的变革。这种创新疗法不仅为增强ICIs的疗效提供了新的可能,还为解决HCC患者普遍存在的肿瘤浸润淋巴细胞水平低的问题开辟了新的途径。随着对肿瘤免疫学的理解不断深化,新抗原疫苗的潜力日益彰显,有望成为未来个体化精准治疗的关键组成部分。

驻留记忆CD8⁺T细胞在肿瘤控制中发挥着至关重要的作用。这些细胞不仅能够长期驻留在肿瘤微环境中,还能迅速识别并清除肿瘤细胞,为维持持久的抗肿瘤免疫反应提供了基础。研究表明,驻留记忆T细胞可以通过循环CD8⁺T细胞不断补充,形成一个动态平衡的免疫监视网络^[25-26]。然而,令人担忧的是,目前仅有约15%的HCC患者中能检测到新抗原特异性的循环CD8⁺T细胞^[27]。这一发现不仅揭示了HCC患者免疫系统对肿瘤抗原识别能力的局限性,也为设计更有效的免疫治疗策略指明了方向。

2.2 新抗原疫苗在肝细胞癌治疗中的应用策略

为了应对这一挑战,研究人员已经开发并在临

床试验中测试了多种新抗原疫苗平台(表1)。这些平台包括肽疫苗、RNA疫苗、DNA疫苗以及结合佐剂的树突状细胞(dendritic cell, DC)疫苗等。每种平台都具有其独特的优势和应用场景,为个体化治疗提供了多样化的选择。例如,基于肽的疫苗可以精确定位特定的肿瘤抗原,而RNA疫苗则具有快速生产和灵活调整的优势。DNA疫苗通常具有较好的稳定性和持久性,而DC疫苗则可以直接激活患者自身的免疫系统。这些多样化的疫苗平台为不同遗传背景和临床特征的HCC患者提供了个性化治疗的可能性。

最新的研究强调了个性化新抗原疫苗与ICIs联合应用的协同潜力。CHEN等^[28]的开创性研究表明,个性化新抗原疫苗与程序性死亡因子1(programmed death 1, PD-1)阻断剂联合使用,能在临床前HCC模型中显著增加CD8⁺组织驻留记忆T细胞的浸润,这一发现不仅验证了联合治疗策略的可行性,还为提高ICIs疗效提供了新的思路。通过同时激活特异性抗肿瘤免疫反应和解除免疫抑制,这种联合策略有望克服HCC患者对单一免疫治疗的耐药性。

在临床转化方面,一项引人注目的I/II期试验(NCT04251117)取得了令人鼓舞的成果。该试验采用了一种名为GNOS-PV02的个性化DNA疫苗,该疫苗能编码多达40种患者特异性新抗原,与派姆单抗(pembrolizumab)和质粒编码的IL-12联合使用。结果显示,这种治疗方案在晚期HCC患者中的客观缓解率达到25%^[29]。这一成果不仅证实了新抗原疫苗的临床可行性,还为优化联合免疫治疗策略提供了宝贵的临床数据。

在疫苗递送技术方面,一项创新性研究利用红细胞的独特生物学特性,开发出一种突破性的疫苗递送系统。研究人员巧妙地利用红细胞捕获外周血中病原体并在脾脏中递呈抗原的能力,开发出一种包裹DNA疫苗的聚合物纳米颗粒,并将其搭载在红细胞表面。这种设计不仅能够靶向脾脏,还能显著增强抗原递呈细胞的效率,从而诱导产生大量特异性T细胞。更令人振奋的是,这种疫苗与抗PD-1联用不仅实现了肿瘤的完全消退,还产生了强大的全身免疫反应,形成了长期的肿瘤特异性免疫记忆,彻底预防了肿瘤复发和自发性肺转移^[30]。这一研究不仅展示了新型递送系统的潜力,还为设计更有效的联合免疫治疗策略提供了新的思路。

表1 肝细胞癌新抗原疫苗临床试验

Table 1 Neoantigen vaccines clinical trail for HCC

NCT编号	新抗原疫苗	分期	人数	起始日期	完成日期	简短描述
NCT number	Neoantigen vaccine	Phases	Patients	Start date	Completion date	Brief description
NCT04251117	GNOS-PV02	1/2	36	2020/3/1	2024/6/25	To study personalized neoantigen DNA vaccine (GNOS-PV02) and plasmid encoded IL-12 (INO-9012) in combination with pembrolizumab (MK-3475) in subjects with in advanced HCC
NCT04912765	DC vaccine	2	60	2021/4/15	2024/5/25	To study neoantigen DC vaccine and nivolumab in HCC or liver metastases from CRC
NCT05105815	IPM001	Early 1	23	2021/12/31	2024/12/31	To study, safety and effects of a neoantigen/tumor-specific antigen IPM001 vaccine on HCC, IPM001
NCT05981066	ABOR2014	NA	48	2023/7/10	2025/12/31	To evaluate the safety, tolerability and preliminary efficacy of ABOR2014 (IPM511) injection in relapsed HCC
NCT03674073	DC vaccine	1	24	2018/10/15	2020/12/15	To study neoantigen DC vaccine with microwave ablation in HCC
NCT05761717	mRNA	NA	67	2023/4/20	2025/6/12	To evaluate the safety and efficacy of mRNA encoding neoantigen sintilimab in patients with liver cancer after operation
NCT04248569	DNAJB1-PRKACA	1	56	2020/4/20	2027/3/1	To study safety and tolerability of DNAJB1-PRKACA fusion kinase, with nivolumab Ipilimumab for patients with fibrolamellar hepatocellular carcinoma
NCT04147078	DC vaccine	1	80	2019/6/1	2026/6/1	To test efficacy and safety of neoantigen DC cell vaccine therapy for postoperative cancer, including HCC
NCT05269381	Peptide vaccine	1/2	36	2022/3/31	2026/2/24	To test the safety and tolerability of personalized neoantigen peptide-based vaccine with pembrolizumab in advanced solid tumors, including HCC

NA: 未获得。

NA: not available.

在国内, 一项备受关注的II期临床试验进一步验证了新抗原疫苗的临床价值。该试验探索了载有新抗原的DC疫苗与过继T细胞治疗相结合的创新策略。这种联合疗法不仅为HCC患者提供了即时的肿瘤特异性T细胞供应, 还成功诱导了长期免疫记忆的形成。通过实现互补和协同效应, 这种联合疗法显著延长了产生免疫反应患者的无病生存期。更重要的是, 研究还证明了这种联合疗法的可行性和安全性^[31], 为未来的大规模临床应用奠定了坚实的基础。

综上所述, 新抗原疫苗在HCC治疗中展现出的巨大潜力正在改变这一领域的治疗策略。从基础研究到临床试验, 从单一疫苗平台到复杂的联合治疗方案, 我们正在见证一个充满希望的新时代的到来。然而, 尽管取得了这些令人振奋的进展, 但针对HCC个性化疫苗的设计与发现仍面临诸多挑战。如何进一步提高新抗原预测的准确性、优化疫苗配方以增强免疫原性, 以及如何设计更有效的联合治疗策略, 都是未来研究的重点方向。随着对HCC免疫微环境

的理解不断深入, 新抗原疫苗有望在个体化精准治疗中发挥越来越重要的作用, 为HCC患者带来更多治愈的希望。

3 个性化新抗原疫苗的设计与开发

在当今精准医疗时代, 个性化治疗已成为癌症研究的前沿领域。新抗原癌症疫苗作为一种创新性治疗方案, 不仅展现了出卓越的靶向能力和持久的免疫反应, 还在多种癌症类型中证明了其显著的安全性。尤其在HCC这一复杂的恶性肿瘤中, 构建个性化新抗原疫苗的标准化策略已成为免疫治疗领域的重中之重。这种策略的核心在于深入挖掘每位HCC患者的独特生物学特征, 从而为其量身定制最优质的治疗方案。

疫苗质量的优化是一个多维度、高复杂性的工程, 涉及多个关键因素。首先, 肿瘤异质性作为HCC的显著特征, 直接影响了新抗原的选择和疫苗的设计。其次, 克隆分布的动态变化反映了肿瘤进化的

轨迹,为疫苗开发提供了时间维度的考量。此外,驱动突变作为肿瘤生存和增殖的关键,成为了疫苗靶向的首选目标。同时,MHC呈递能力以及T细胞受体(T cell receptor, TCR)亲和力,共同决定了疫苗诱导免疫反应的强度和特异性。这些因素的综合考虑,为疫苗质量的评估和优化提供了全面的视角。

值得注意的是,每位患者的免疫系统都具有独特的多态性,这为个性化治疗带来了巨大的挑战。为了克服这一障碍,前沿的机器学习与人工智能技术正发挥越来越重要的作用。这些先进技术不仅能够高效处理和分析海量的生物学数据,还能够预测个体患者对不同疫苗配方的免疫反应。通过整合基因组学、转录组学、蛋白质组学和免疫组学等多组学数据,机器学习与人工智能算法可以构建复杂的预测模型,为每位患者推荐最佳的疫苗组合。这种数据驱动的方法显著提高了个性化治疗的精准度,同时大幅减少了资源消耗和时间成本,为HCC患者带来了前所未有的治疗希望(图2)。

3.1 新抗原的筛选与鉴定

3.1.1 组学技术在新抗原发现中的应用 新抗原的发现是个性化癌症疫苗开发的基石,而这一领域正经历着方法学的革命性变革。传统上,二代测序(next-generation sequencing, NGS)技术一直是鉴定新抗原的主要手段。研究人员通过对比肿瘤和正常组

织的基因序列,精确定位携带非同义突变的基因,为新抗原疫苗的设计提供了坚实的基础^[32]。然而,随着技术的不断进步,新抗原发现的视野已经大大拓宽。

单分子实时测序(single molecule real-time sequencing, SMRT)技术的出现,标志着新抗原发现进入了一个新的纪元。这种技术不仅能够检测复杂的可变剪接事件,还能捕捉到罕见的突变,从而揭示了更多潜在肿瘤特异性抗原(tumor specific antigen, TSA)。这些新发现的TSA极大地丰富了抗原库,为设计更有效的个性化疫苗提供了更多选择^[33]。与此同时,单细胞测序技术的应用能够深入了解肿瘤内部的异质性和进化动态。通过识别关键的驱动基因和绘制详细的克隆分布图谱,可以更精准地定位那些对肿瘤生存至关重要的抗原,从而提高疫苗的靶向性和有效性。

从基因转录至蛋白质翻译的过程中存在多层调控,这往往导致基因组和蛋白质组之间出现显著差异。认识到这一点,研究者们开始转向更直接、更可靠的蛋白质组学方法。蛋白质组学技术尤其是高分辨率液相色谱-质谱联用(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)技术,正在彻底改变TSA的发现和验证方式。其中,非对称轨道无损质量分析器(asymmetric track lossless, ASTRAL)的出现,更是将蛋白质组分析推向了新的高度^[34-35]。AS-

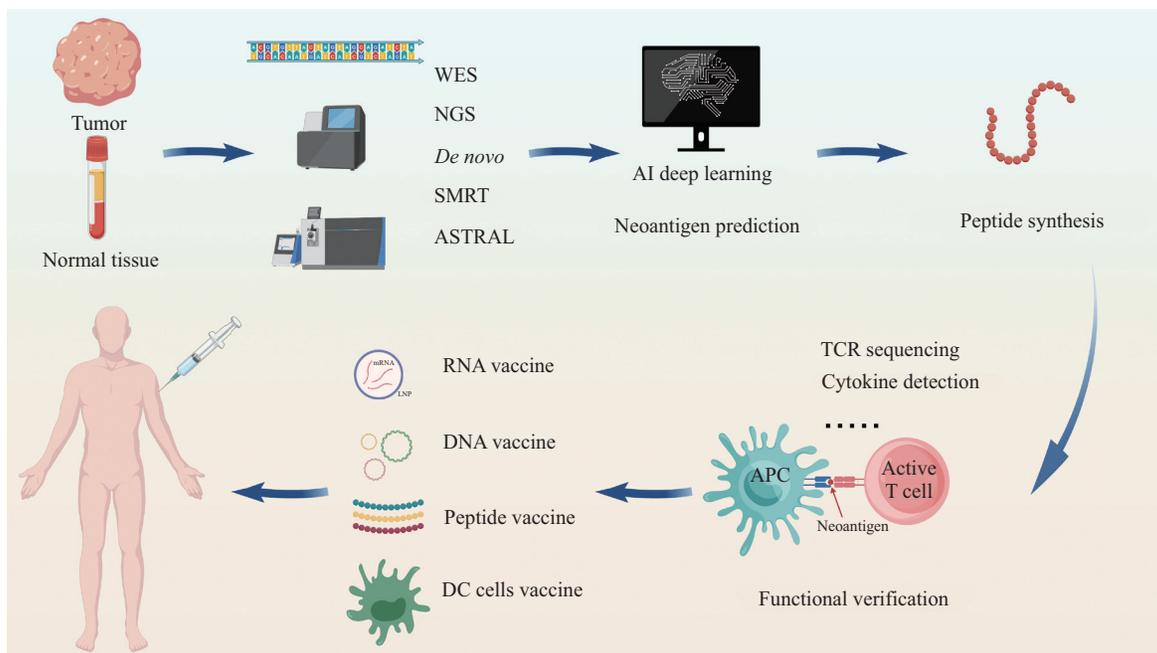


图2 个性化新抗原癌症疫苗策略(使用BioGDP.com网站制作)

Fig.2 Personalized neoantigen cancer vaccine strategies (created with BioGDP.com)

TRAL凭借其超高的高覆盖率、极致的灵敏度和前所未有的分辨率,能够捕捉到以往难以检测的低丰度蛋白质,大幅减少样品上样量、缩短检测时间,并提供高质量的质谱数据。这些优势使得研究人员能够更全面、更准确地描绘肿瘤的蛋白质图谱,为新抗原的发现开辟广阔的新天地。

在这一技术革新的浪潮中,单细胞蛋白质组学、空间蛋白质组学以及肽从头测序技术正迅速崛起,并展现出巨大的应用潜力。这些新兴技术不仅能够提供单个细胞水平的蛋白质表达信息,还能揭示蛋白质在组织中的空间分布,为理解肿瘤微环境和免疫反应提供了前所未有的洞察。特别是在复杂的HCC样本中,这些技术的优势更加显著。HCC组织往往包含大量外源微生物肽,且存在频繁的基因突变,这使得传统的数据库依赖型分析方法面临巨大挑战。在这种情况下,肽从头测序技术展现出了独特的优势^[36]。

3.1.2 生物信息学分析策略 肽从头质谱分析能够直接从质谱数据中组装肽序列,而无需依赖预设的参考数据库。通过采集高分辨率、离子连续性良好的质谱数据,这种方法可以生成高度可信且完整的肽序列信息。目前,pNovo和PEAKS等软件已经成为这一领域的主流工具,在分析复杂样本时展现出了卓越的性能。这些工具不仅能够识别已知的突变,还能发现新的、未预期的蛋白质变异,为新抗原的发现提供了强大的技术支持。

总的来说,从基因组学到蛋白质组学,从单细胞分析到空间分辨技术,新抗原发现的方法学正在经历一场深刻的变革。这种多维度、多层次的探索方法,不仅显著提升了发现新抗原的能力,还为深入理解肿瘤生物学和免疫反应提供了新的视角。随着这些技术的不断成熟和整合,我们有理由相信,针对HCC的个性化新抗原疫苗将在不久的将来成为一种革命性的治疗手段,为患者带来新的希望。

3.2 免疫原性评价体系的构建

在HCC个性化疫苗开发的前沿,免疫原性新抗原的精准选择已成为一个关键的战略步骤。这一过程不仅涉及复杂的生物学机制,还需要尖端技术的支持。本节将深入探讨新抗原选择的多维标准,以及当前面临的挑战与突破性解决方案^[37-38]。

3.2.1 新抗原免疫原性预测方法 新抗原的选择过程可以概括为五个核心维度:外来性、克隆分布、

驱动基因特性、MHC呈递能力以及TCR亲和力。这些维度共同构成了一个全面的评估框架,为识别最具潜力的免疫原性新抗原提供了科学依据。

(1) 外来性评估:通过先进的生物信息学算法进行同源性分析,可以精确区分肿瘤特异性新抗原与自身抗原。这一步骤对于降低自身免疫反应风险至关重要。(2) 克隆分布分析:利用单细胞测序技术,可以绘制HCC肿瘤内部的克隆演化图谱。这不仅有助于识别主导克隆,还能揭示肿瘤异质性,为靶向关键克隆群的新抗原提供依据。(3) 驱动基因识别:结合转录组学和功能基因组学数据,可以精确定位驱动HCC进展的关键基因。这些基因产生的新抗原往往具有更高的治疗价值,因为它们直接参与肿瘤的生存和增殖过程。(4) MHC呈递预测:利用深度学习算法,可以更准确地预测新抗原与MHC分子的结合亲和力。这一步骤对于确保新抗原能被有效呈递给T细胞至关重要。(5) TCR亲和力评估:通过高通量TCR测序和功能验证实验,能够筛选出最能激活T细胞的新抗原。这一步骤是确保疫苗诱导强烈免疫反应的关键。

3.2.2 MHC-肽复合物与T细胞识别机制 MHC分子呈递与TCR识别构成了选择免疫原性新抗原过程中的关键限制因素。MHC分子作为抗原呈递的主要载体,其多态性和复杂性为新抗原选择带来了巨大挑战。MHC I类和II类分子在结构和功能上存在显著差异:MHC I类分子主要负责呈递细胞内的抗原,如病毒感染的细胞或癌细胞产生的新抗原;而MHC II类分子则主要呈递细胞外的抗原。这种分工体现了免疫系统应对不同类型病原的精妙策略。

在HCC新抗原疫苗开发中,MHC I类分子受到特别关注,因为它们直接参与激活细胞毒性CD8⁺T细胞,这是抗肿瘤免疫反应的主力军。然而,近期研究表明,通过MHC II类分子激活的CD4⁺T细胞在协同增强抗肿瘤免疫反应中也发挥着关键作用。因此,全面考虑MHC I类和II类分子的呈递特性,将有助于开发出更为有效的HCC新抗原疫苗。

3.2.3 人工智能算法在新抗原预测中的应用 随着人工智能(artificial intelligence, AI)和机器学习技术的飞速发展,计算方法在加速免疫原性新抗原选择过程中发挥着越来越重要的作用。这些先进的计算工具不仅大大提高了新抗原预测的效率,还为个性化免疫治疗的实现提供了强有力的技术支持。

(1) 深度学习模型: 利用海量的实验数据, 研究人员开发了能够模拟MHC-肽结合过程的深度神经网络。这些模型不仅可以预测新抗原与MHC的结合亲和力, 还能模拟TCR识别过程, 从而更准确地筛选出具有高免疫原性的候选抗原。(2) 集成学习方法: 通过整合多种预测算法, 构建了更为稳健的新抗原评分系统。这种方法能够综合考虑突变频率、表达水平和蛋白质稳定性等多个特征, 从而提高预测的准确性。(3) 图像神经网络: 利用这一新兴技术, 可以更好地捕捉新抗原、MHC分子和TCR之间的复杂相互作用。这为理解和预测免疫系统对特定新抗原的反应提供了新的视角。(4) 自然语言处理技术: 通过分析大量的科研文献和临床报告, 开发了能够自动提取和整合新抗原相关知识的系统。这不仅加速了新知识的应用, 还为发现新的免疫治疗靶点提供了可能。

3.2.4 走向精准的个性化新抗原疫苗 随着技术的不断进步和对HCC免疫微环境理解的深入, 新抗原的选择过程将变得更加精准和个性化。未来, 有望实现以下突破。

(1) 动态新抗原监测: 通过液体活检和高灵敏度测序技术, 可以实时监测肿瘤新抗原谱的变化, 从而灵活调整疫苗策略, 有效应对肿瘤的免疫逃逸。(2) 多组学整合分析: 结合基因组学、转录组学、蛋白质组学和免疫组学数据, 可以更全面地评估新抗原的免疫原性和治疗潜力, 为疫苗设计提供可靠的依据。(3) 人工智能辅助设计: 利用生成式AI模型, 有望设计出具有更高免疫原性和更低副作用的人工新抗原, 进一步提升疫苗的效果。(4) 个体化免疫反应预测: 通过建立患者特异的免疫系统数字孪生模型, 能够更准确地预测个体对特定新抗原的免疫反应, 推动真正的精准医疗落地。

总之, 免疫原性新抗原的选择是一个复杂而富有挑战性的过程, 需要多学科知识的交叉融合和尖端技术的支持。随着对HCC免疫生物学理解的不断深入和技术手段的持续创新, 个性化新抗原疫苗有望成为治疗HCC的一个重要突破口, 为患者带来新的希望。

4 关键科学问题与解决策略

尽管新抗原疫苗在多种癌症治疗中展现出令人振奋的前景, 但在HCC领域的应用仍面临诸多挑战。本节将深入探讨这些挑战, 并提出一些创新性

的解决方案, 为未来HCC新抗原疫苗的开发指明方向^[39]。

4.1 新抗原识别与技术验证

在HCC新抗原疫苗开发的初始阶段, 准确识别和表征新抗原是一个关键性挑战。尽管组学技术提供了强大的工具, 但仍存在一些技术瓶颈。(1) 氨基酸识别精度: LC-MS技术在区分质量相近的氨基酸对(如谷氨酰胺和赖氨酸)时仍面临困难。这种微小的质量差异(小于0.05 Da)可能导致肽序列预测错误, 进而影响新抗原的准确识别^[40]。(2) 翻译后修饰(posttranslational modification, PTM)的复杂性: 目前已知的PTM类型超过200种, 包括磷酸化、乙酰化等。这些修饰可能显著改变蛋白质的结构和功能, 进而影响其免疫原性。然而, 现有的从头测序工具在处理PTM时仍存在局限性。(3) 高分辨率数据的充分利用: 尽管LC-MS技术不断提高分辨率, 但当前的从头预测工具尚未充分利用这些高精度数据。这导致了潜在的信息损失, 可能影响新抗原识别的准确性。

为应对这些挑战, 提出以下创新性解决方案。(1) 深度学习增强的质谱分析: 利用深度学习算法, 特别是卷积神经网络(convolutional neural network, CNN)和循环神经网络(recurrent neural network, RNN), 可以显著提高从质谱图中识别氨基酸序列的准确性。这些模型能够学习复杂的谱图模式, 有效区分质量相近的氨基酸。(2) 整合多组学数据的PTM预测: 通过结合蛋白质组学、转录组学和表观基因组学数据, 可以开发更全面的PTM预测模型。这种多维度的分析方法不仅能提高PTM识别的准确性, 还能揭示PTM对新抗原免疫原性的潜在影响。(3) 量子计算辅助的高分辨率数据分析: 随着量子计算技术的发展, 有望开发出能够充分利用高分辨率MS数据的新算法。量子计算的并行处理能力可以大大加速复杂谱图的分析过程, 提取出更多有价值的信息。

4.2 免疫应答的检测与评价

MHC呈递和TCR识别是新抗原发挥免疫原性的关键步骤, 但在这一领域仍存在重大挑战。(1) MHC和TCR的多样性: 人类MHC基因高度多态, 而TCR的多样性更是达到了惊人的程度^[41]。这种复杂性使得开发普遍适用的新抗原疫苗变得极其困难。(2) 预测工具的局限性: 当前的MHC亲和力预测工具准确性仍有待提高。一项荟萃分析显示, 仅有2.7%

的预测新抗原能被患者来源的T细胞识别。这一低效率严重制约了新抗原疫苗的开发进程^[42]。(3) 实验验证的复杂性: 筛选T细胞识别的新抗原需要大量的实验工作, 这不仅耗时耗力, 还难以满足个性化治疗的时间要求。

针对MHC呈递和TCR识别的挑战, 提出以下突破性解决方案。(1) 人工智能驱动的MHC-TCR-抗原相互作用预测: 利用深度学习和图神经网络技术, 可以构建更精确的MHC-TCR-抗原相互作用模型。这些模型不仅考虑序列信息, 还能整合结构生物学数据, 从而更准确地预测新抗原的免疫原性。(2) 高通量TCR测序与功能验证平台: 开发基于微流控技术的高通量TCR测序和功能验证平台, 可以大大加速T细胞识别新抗原的筛选过程。这种技术能够在单细胞水平同时分析数千个T细胞克隆对特定新抗原的反应。(3) 体外人造免疫系统: 利用器官芯片技术, 可以构建微型化的体外人造免疫系统。这种系统能够模拟人体免疫微环境, 为新抗原的功能验证提供更接近生理条件的实验平台, 从而提高预测的准确性和临床相关性。(4) 个体化免疫图谱: 通过整合患者的基因分型绘制个性化免疫图谱。

5 总结与展望

HCC作为全球癌症谱系中的一大挑战, 其高发病率和死亡率令人担忧。尽管ICIs的出现为HCC治疗带来了新的曙光, 但其疗效仍然有限。这一现状凸显了HCC独特的免疫耐受性特征, 也提出了一个紧迫的问题: 如何突破这一免疫屏障, 为HCC患者提供更有效的治疗方案?

个性化新抗原疫苗的出现为解决这一问题提供了新的可能。这种创新疗法通过激活患者体内特异性T细胞, 增强其对肿瘤的认识和攻击能力, 从而在根本上改变了肿瘤微环境。当与ICIs联合使用时, 新抗原疫苗展现出显著的协同效应, 不仅能够大幅提高T细胞的浸润程度, 还能增强其清除肿瘤细胞的能力^[43]。这种联合策略在多项临床试验中已经展现出了优于单一疗法的治疗效果, 为HCC患者带来了新的希望。

值得注意的是, 新抗原疫苗在多种癌症类型中已经取得了显著的治疗进展。从胰腺癌到黑色素瘤, 这种个性化治疗方法都展现出了令人鼓舞的疗效^[44-48]。这些成功案例不仅证实了新抗原疫苗的广泛适用

性, 也为其在HCC治疗中的潜在价值提供了有力支持。然而, 针对HCC的个性化疫苗研究仍然相对有限, 这一现状既是挑战, 也是机遇, 凸显了开发能够有效“激活”HCC免疫反应的创新策略的迫切需求。

新抗原作为肿瘤细胞基因突变的产物, 代表了一种独特的免疫靶点。它们被APCs捕获后, 通过MHC类分子交叉呈递, 从而激活CD8⁺ T(针对胞内抗原)或CD4⁺ T(针对细胞死亡释放的胞外抗原)细胞。这些被激活的T细胞随后迁移至肿瘤部位, 通过抗原依赖性识别并摧毁癌细胞。更重要的是, 这一过程还可能触发表位扩展现象, 进一步扩大免疫系统对肿瘤的认识范围。同时, CD4⁺ T细胞通过识别APCs上的MHC II类分子呈递的抗原而被激活, 进而增强CD8⁺ T细胞功能, 招募其他免疫细胞以及分泌抗肿瘤细胞因子, 从而构建了一个多层次的抗肿瘤免疫网络。

尽管HCC表现出免疫耐受性特征, 但其独特的生物学特性为新抗原疫苗的应用提供了广阔空间。例如, 由HBV诱导的HCC因病毒基因组的整合而产生大量突变, 这些突变为丰富的内源性新抗原提供了来源。这一特性不仅增加了新抗原的多样性, 也提高了个性化疫苗开发的可行性。因此, 尽管HCC目前被视为免疫耐受性肿瘤, 但其丰富的新抗原库为通过个性化疫苗激活免疫治疗提供了多种可能性, 为克服HCC的免疫逃逸机制带来了新的希望。

鉴于HCC的异质性和人类免疫系统的个体差异, 为每位HCC患者量身定制的个性化新抗原疫苗显得尤为重要。新抗原的精确识别和免疫原性评估是构建有效HCC个性化新抗原疫苗策略的关键步骤。虽然传统的新抗原的发现主要聚焦于基因组层面, 但近年来的研究表明, 直接从蛋白质组角度进行分析可能更为直接和有效, 因为蛋白质是生物功能的直接执行者。高分辨率LC-MS技术的发展, 结合先进的富集蛋白质组方法, 为更精确地识别和分析潜在的新抗原提供了一个强大的工具。

从头质谱分析的应用, 能够直接从质谱图中组装肽序列, 而无需依赖预定义的参考数据库, 这一技术对于HCC新抗原研究尤其重要, 特别是考虑到HCC的高度异质性和大量突变特点。然而, 为了确保新抗原疫苗的有效性, 需要不断提高从头测序工具的准确性, 特别是在区分PTMs和质量相近氨基酸

方面。随着LC-MS技术分辨率的持续提升,开发能够充分利用高分辨率质谱数据的先进算法变得越来越重要,这将有助于更准确地鉴定潜在的新抗原。

在筛选免疫原性新抗原的过程中,MHC分子呈递和TCR的评估是至关重要的步骤。目前,实验方法在筛选免疫原性新抗原方面仍然面临着效率和时间成本的挑战,难以满足个性化治疗的迫切需求。虽然已经开发出多种免疫原性预测工具,但它们主要集中在预测新抗原与MHC I/II类分子的亲和力方面,而对TCR识别的预测仍然相对欠缺。此外,这些工具的准确性有待提高,主要原因包括:许多预测工具基于基因组数据构建,导致基因组和蛋白质组之间的差异引起预测误差;以及TCR识别和MHC分子亲和力之间复杂关系的混淆。

为了克服这些挑战,需要采取多管齐下的策略。首先,通过整合实验数据和计算方法,开发更加精确的预测工具,特别是针对TCR识别的预测模型。其次,利用人工智能和机器学习技术,构建能够学习和适应新数据的动态预测系统。最后,建立高通量的实验验证平台,快速筛选和验证预测的新抗原。这种综合方法不仅能提高新抗原筛选的效率和准确性,还能为个性化HCC免疫治疗策略的制定提供更有可靠的依据。

展望未来,随着对HCC免疫微环境认识的深入以及新抗原识别和预测技术的不断进步,个性化新抗原疫苗有望成为HCC治疗的关键突破口。通过与ICIs等其他免疫治疗方法的智能结合,我们有理由相信,这种个性化治疗策略将为HCC患者带来更好的预后和生活质量。然而,要实现这一目标,仍需要学术界和产业界的共同努力,不断推进基础研究和临床转化,最终为攻克HCC这一全球性健康挑战贡献力量。

参考文献 (References)

- [1] VILLANUEVA A. Hepatocellular carcinoma [J]. *N Engl J Med*, 2019, 380(15): 1450-62.
- [2] VOGEL A, MEYER T, SAPISOCHIN G, et al. Hepatocellular carcinoma [J]. *Lancet*, 2022, 400(10360): 1345-62.
- [3] WANG W, WEI C. Advances in the early diagnosis of hepatocellular carcinoma [J]. *Genes Dis*, 2020, 7(3): 308-19.
- [4] ZHANG Q, LOU Y, YANG J, et al. Integrated multiomic analysis reveals comprehensive tumour heterogeneity and novel immunophenotypic classification in hepatocellular carcinomas [J]. *Gut*, 2019, 68(11): 2019-31.
- [5] CANCER GENOME ATLAS RESEARCH NETWORK. ELECTRONIC ADDRESS W B E, CANCER GENOME ATLAS RESEARCH N. Comprehensive and integrative genomic characterization of hepatocellular carcinoma [J]. *Cell*, 2017, 169(7): 1327-41, e23.
- [6] TOH M R, WONG E Y T, WONG S H, et al. Global epidemiology and genetics of hepatocellular carcinoma [J]. *Gastroenterology*, 2023, 164(5): 766-82.
- [7] YAU T, PARK J W, FINN R S, et al. Nivolumab versus sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma (CheckMate 459): a randomised, multicentre, open-label, phase 3 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2022, 23(1): 77-90.
- [8] KUDO M, FINN R S, EDELINE J, et al. Updated efficacy and safety of KEYNOTE-224: a phase II study of pembrolizumab in patients with advanced hepatocellular carcinoma previously treated with sorafenib [J]. *Eur J Cancer*, 2022, 167: 1-12.
- [9] QIN S, KUDO M, MEYER T, et al. Tislelizumab vs sorafenib as first-line treatment for unresectable hepatocellular carcinoma: a phase 3 randomized clinical trial [J]. *JAMA Oncol*, 2023, 9(12): 1651-9.
- [10] STRONEN E, TOEBES M, KELDERMAN S, et al. Targeting of cancer neoantigens with donor-derived T cell receptor repertoires [J]. *Science*, 2016, 352(6291): 1337-41.
- [11] SAHIN U, DERHOVANESSIAN E, MILLER M, et al. Personalized RNA mutanome vaccines mobilize poly-specific therapeutic immunity against cancer [J]. *Nature*, 2017, 547(7662): 222-6.
- [12] KESKIN D B, ANANDAPPA A J, SUN J, et al. Neoantigen vaccine generates intratumoral T cell responses in phase Ib glioblastoma trial [J]. *Nature*, 2019, 565(7738): 234-9.
- [13] ZUO B, ZHANG Y, ZHAO K, et al. Universal immunotherapeutic strategy for hepatocellular carcinoma with exosome vaccines that engage adaptive and innate immune responses [J]. *J Hematol Oncol*, 2022, 15(1): 46.
- [14] SCHILLER J T, LOWY D R. Vaccines to prevent infections by oncoviruses [J]. *Annu Rev Microbiol*, 2010, 64: 23-41.
- [15] MELIEF C J, VAN HALL T, ARENS R, et al. Therapeutic cancer vaccines [J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(9): 3401-12.
- [16] DI PASQUALE A, PREISS S, TAVARES DA SILVA F, et al. Vaccine adjuvants: from 1920 to 2015 and Beyond [J]. *Vaccines*, 2015, 3(2): 320-43.
- [17] XIE N, SHEN G, GAO W, et al. Neoantigens: promising targets for cancer therapy [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 9.
- [18] KATSIKIS P D, ISHII K J, SCHLIEHE C. Challenges in developing personalized neoantigen cancer vaccines [J]. *Nat Rev Immunol*, 2024, 24(3): 213-27.
- [19] SCHMIDT J, SMITH A R, MAGNIN M, et al. Prediction of neoepitope immunogenicity reveals TCR recognition determinants and provides insight into immunoeediting [J]. *Cell Rep Med*, 2021, 2(2): 100194.
- [20] MERINO D M, MCSHANE L M, FABRIZIO D, et al. Establishing guidelines to harmonize tumor mutational burden (TMB): in silico assessment of variation in TMB quantification across diagnostic platforms: phase I of the friends of cancer research TMB harmonization project [J]. *J Immunother Cancer*, 2020, 8(1): e000147.
- [21] LIU D, SCHILLING B, LIU D, et al. Author correction: integrative molecular and clinical modeling of clinical outcomes to PD1 blockade in patients with metastatic melanoma [J]. *Nat Med*, 2020, 26(7): 1147.

- [22] ALEXANDROV L B, NIK-ZAINAL S, WEDGE D C, et al. Signatures of mutational processes in human cancer [J]. *Nature*, 2013, 500(7463): 415-21.
- [23] SCHULZE K, IMBEAUD S, LETOUZE E, et al. Exome sequencing of hepatocellular carcinomas identifies new mutational signatures and potential therapeutic targets [J]. *Nat Genet*, 2015, 47(5): 505-11.
- [24] YANG H, SUN L, GUAN A, et al. Unique TP53 neoantigen and the immune microenvironment in long-term survivors of Hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2021, 70(3): 667-77.
- [25] AMSEN D, VAN GISBERGEN K, HOMBRINK P, et al. Tissue-resident memory T cells at the center of immunity to solid tumors [J]. *Nat Immunol*, 2018, 19(6): 538-46.
- [26] PALLETT L J, BURTON A R, AMIN O E, et al. Longevity and replenishment of human liver-resident memory T cells and mononuclear phagocytes [J]. *J Exp Med*, 2020, 217(9): e20200050.
- [27] TAUBER C, SCHULTHEISS M, LUCA R, et al. Inefficient induction of circulating TAA-specific CD8⁺ T-cell responses in hepatocellular carcinoma [J]. *Oncotarget*, 2019, 10(50): 5194-206.
- [28] YANG S F, WENG M T, LIANG J D, et al. Neoantigen vaccination augments antitumor effects of anti-PD-1 on mouse hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Lett*, 2023, 563: 216192.
- [29] YARCHOAN M, GANE E J, MARRON T U, et al. Personalized neoantigen vaccine and pembrolizumab in advanced hepatocellular carcinoma: a phase 1/2 trial [J]. *Nat Med*, 2024, 30(4): 1044-53.
- [30] WU M, LUO Z, CAI Z, et al. Spleen-targeted neoantigen DNA vaccine for personalized immunotherapy of hepatocellular carcinoma [J]. *EMBO Mol Med*, 2023, 15(10): e16836.
- [31] PENG S, CHEN S, HU W, et al. Combination neoantigen-based dendritic cell vaccination and adoptive T-Cell transfer induces antitumor responses against recurrence of hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Immunol Res*, 2022, 10(6): 728-44.
- [32] RICHTERS M M, XIA H, CAMPBELL K M, et al. Best practices for bioinformatic characterization of neoantigens for clinical utility [J]. *Genome Med*, 2019, 11(1): 56.
- [33] JIANG T, SHI T, ZHANG H, et al. Tumor neoantigens: from basic research to clinical applications [J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1): 93.
- [34] FERREIRA J A, RELVAS-SANTOS M, PEIXOTO A, et al. Glycoproteogenomics: setting the course for next-generation cancer neoantigen discovery for cancer vaccines [J]. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 2021, 19(1): 25-43.
- [35] DUMAS T, MARTINEZ PINNA R, LOZANO C, et al. The astounding exhaustiveness and speed of the Astral mass analyzer for highly complex samples is a quantum leap in the functional analysis of microbiomes [J]. *Microbiome*, 2024, 12(1): 46.
- [36] NALEHUA M R, ZAIA J. A critical evaluation of ultrasensitive single-cell proteomics strategies [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2024, 416(9): 2359-69.
- [37] SAXENA M, VAN DER BURG S H, MELIEF C J M, et al. Therapeutic cancer vaccines [J]. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21(6): 360-78.
- [38] BLASS E, OTT P A. Advances in the development of personalized neoantigen-based therapeutic cancer vaccines [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2021, 18(4): 215-29.
- [39] KIM S H, LEE B R, KIM S M, et al. The identification of effective tumor-suppressing neoantigens using a tumor-reactive TIL TCR-pMHC ternary complex [J]. *Exp Mol Med*, 2024, 56(6): 1461-71.
- [40] QIAO R, TRAN N H, XIN L, et al. Computationally instrument-resolution-independent *de novo* peptide sequencing for high-resolution devices [J]. *Nature Machine Intelligence*, 2021, 3(5): 420-5.
- [41] MUSVOSVI M, HUANG H, WANG C, et al. T cell receptor repertoires associated with control and disease progression following *Mycobacterium tuberculosis* infection [J]. *Nat Med*, 2023, 29(1): 258-69.
- [42] BJERREGAARD A M, NIELSEN M, JURTZ V, et al. An analysis of natural T cell responses to predicted tumor neoepitopes [J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1566.
- [43] OTT P A, HU-LIESKOVAN S, CHMIELOWSKI B, et al. A phase 1b 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): 347-62.e24.
- [44] AWAD M M, GOVINDAN R, BALOGH K N, 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): 1010-26.e11.
- [45] ORR S, HUANG L, MOSER J, et al. Personalized tumor vaccine for pancreatic cancer [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2023, 72(2): 301-13.
- [46] OTT P A, HU Z, KESKIN D B, et al. Corrigendum: an immunogenic personal neoantigen vaccine for patients with melanoma [J]. *Nature*, 2018, 555(7696): 402.
- [47] HU Z, LEET D E, ALLESOE R L, et al. Personal neoantigen vaccines induce persistent memory T cell responses and epitope spreading in patients with melanoma [J]. *Nat Med*, 2021, 27(3): 515-25.
- [48] LIAU L M, ASHKAN K, TRAN D D, et al. First results on survival from a large Phase 3 clinical trial of an autologous dendritic cell vaccine in newly diagnosed glioblastoma [J]. *J Transl Med*, 2018, 16(1): 142.