·中青年学者论坛·

李　晶　海军军医大学第一附属医院精准治疗科主任，研究员、副主任医师、副教授，博士生导师。教育部长江学者特聘教授、国家自然科学基金青年科学基金项目（B 类）（“优青”）获得者、国家重点研发计划青年科学家。美国圣路易斯华盛顿大学医学院、美国 Weill Cornell 医学院访问学者。中华医学会泌尿外科学分会基础学组委员、中国生物工程学会计算生物学与生物信息学专业委员会委员、中国遗传学会三维基因组学专业委员会委员、中国生物信息学学会（筹）系统生物学专业委员会副主任。鉴定了中国人独特性前列腺癌驱动基因 *FOXA1*（叉头框 A1）。近 5 年来在 *Nature*、*Science*、*Cancer Research*、*Nature Communications* 等期刊相继发表多篇论文。参编《吴阶平泌尿外科学》《前列腺癌化疗共识》《表观遗传学》。

DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20250498

肿瘤新抗原疫苗设计与免疫增强策略的前沿进展

杜悦嘉，高红亮，李　晶*
海军军医大学（第二军医大学）第一附属医院精准治疗科，上海 200433

［**摘要**］ 肿瘤新抗原作为肿瘤特异性突变产生的抗原，因其独特的免疫原性和特异性，已成为肿瘤免疫治疗的研究热点。本文系统综述了肿瘤新抗原的来源、筛选方法及其在个体化疫苗设计中的应用。首先，探讨了新抗原的多样性来源，包括基因突变、RNA 剪接变异、融合基因及非编码区来源的抗原等。其次，详细介绍了基于高通量测序和人工智能算法的新抗原筛选策略，以及其在黑色素瘤、胶质母细胞瘤等肿瘤中的临床应用。第三，重点讨论了肿瘤新抗原疫苗的设计与免疫增强策略，特别是 Prime-Boost 免疫策略在提升 T 细胞免疫应答中的作用。最后，分析了当前研究的挑战与未来方向，包括新抗原预测的准确性、疫苗制备的个体化成本以及与其他免疫治疗手段的联合应用。本文旨在为肿瘤新抗原免疫治疗的研究与临床应用提供全面的理论依据和实践指导。

［**关键词**］ 肿瘤新抗原；个体化疫苗设计；免疫策略；黑色素瘤；胶质母细胞瘤
［**引用本文**］ 杜悦嘉，高红亮，李晶 . 肿瘤新抗原疫苗设计与免疫增强策略的前沿进展［J］. 海军军医大学学报，2026，47（10）：1265-1276. DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20250498.

Neoantigen-based cancer vaccines: design, immune enhancement strategies, and clinical progress

DU Yuejia, GAO Hongliang, LI Jing*
Department of Precision Medicine, The First Affiliated Hospital of Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

［**Abstract**］ Tumor neoantigens, generated by tumor-specific alterations, have become a research focus in cancer immunotherapy due to their unique immunogenicity and specificity. This review systematically summarizes the origins of tumor neoantigens, current screening methodologies, and their application in personalized vaccine development. First, we explored the diverse sources of neoantigens, including gene mutations, RNA splicing variants, fusion genes, and antigens derived from non-coding genomic regions. Next, we discussed high-throughput sequencing-based neoantigen screening strategies that were often integrated with artificial intelligence algorithms, and highlighted their clinical applications in

［**收稿日期**］ 2025-12-05　［**接受日期**］ 2026-04-07
［**基金项目**］ 国家重点研发计划青年科学家项目（2022YFA1305700）. Supported by Youth Scientist Project of National Key R&D Program of China (2022YFA1305700).
［**作者简介**］ 杜悦嘉，硕士生 . E-mail: dyjmedical@163.com
* 通信作者（Corresponding author）. E-mail: ljing@smmu.edu.cn

melanoma, glioblastoma, and other tumor types. Furthermore, we focused on the design of tumor neoantigen vaccines and immune-enhancing strategies, with particular emphasis on the role of Prime-Boost immunization in enhancing T-cell immune responses. Finally, we addressed current challenges and future directions in the field, such as enhancing the accuracy of neoantigen prediction, reducing the cost of personalized vaccine production, and exploring combinatorial strategies with other immunotherapeutic approaches. This review aims to provide a comprehensive theoretical framework and practical insights for advancing neoantigen-based cancer immunotherapy in both research and clinical contexts.

［**Key words**］ tumor neoantigens; personalized vaccine design; immunization strategy; melanoma; glioblastoma

［**Citation**］ Du Y, Gao H, Li J. Neoantigen-based cancer vaccines: design, immune enhancement strategies, and clinical progress[J]. Acad J Naval Med Univ, 2026, 47(10): 1265-1276. DOI: 10.16781/j.CN31-2187/R.20250498.

肿瘤免疫治疗已成为癌症研究的前沿和热点领域，其核心在于免疫细胞对肿瘤的有效杀伤作用以及肿瘤本身的免疫原性。免疫检查点抑制剂（immune checkpoint inhibitor，ICI）通过阻断免疫抑制信号，解除T细胞的“刹车”机制，从而重启抗肿瘤免疫[1]。T细胞过继疗法（adoptive T cell therapy）包括嵌合抗原受体T细胞和T细胞受体（T cell receptor，TCR）工程化T细胞，通过回输患者自身或体外扩增、基因修饰的T细胞，以增强抗肿瘤免疫应答。尽管这些疗法显著扩增了肿瘤反应性T细胞群体，并提升了免疫系统清除癌细胞的能力[2]，但仍面临两大关键挑战：一是肿瘤免疫原性不足，导致免疫激活范围受限；二是难以形成持久的免疫记忆，限制了治疗的长期效应[3]。在T细胞介导的抗肿瘤免疫反应中，抗原的种类和特异性决定了免疫系统对肿瘤细胞的识别和清除能力。因此，寻找和利用能够有效激活抗肿瘤免疫的抗原成为免疫治疗的重要策略。其中，肿瘤新抗原（tumor neoantigen）因其独特的肿瘤特异性和较低的免疫耐受风险，成为肿瘤疫苗、T细胞疗法等精准免疫治疗的重要靶点。

1　肿瘤新抗原概述

抗原作为免疫系统识别和清除靶细胞的基础，能够启动特异性免疫应答。肿瘤抗原（tumor antigen）是在肿瘤发生过程中因基因突变、结构变异或异常表达而产生的生物大分子，能够被免疫系统识别并诱导抗肿瘤免疫反应。免疫系统通过TCR和B细胞受体（B cell receptor，BCR）特异性识别抗原，从而激活免疫应答，产生效应淋巴细胞和抗体，以清除病原体或异常细胞。为了防止自身免疫，T细胞在胸腺中经历阴性选择，自身反应性T细胞（尤其是高亲和力结合自身抗原的T细胞）会通过凋亡被清除，以维持中枢耐受[3]。同时，机体在初次接触抗原后会形成免疫记忆（immunological memory），使其在后续抗原暴露时能更迅速、更强效地启动免疫应答，这也是疫苗免疫的基础[4]。

根据特异性差异，肿瘤抗原可分为肿瘤相关抗原（tumor-associated antigen，TAA）和肿瘤特异性抗原（tumor-specific antigen）。TAA在正常细胞中也可能表达，因此易诱导免疫耐受，导致特异性T细胞在胸腺中被清除或在外周被抑制，从而削弱抗肿瘤免疫应答[5]。即使产生强烈免疫反应，TAA仍存在脱靶损伤的风险，可能引发自身免疫病[6]。

相对而言，肿瘤新抗原是一类来源于肿瘤特异性变异的抗原，在正常细胞中通常不存在，因此能够激活新抗原特异性T细胞，减少脱靶损伤的风险，并提供更持久的免疫保护[5,7]。新一代测序技术的发展使肿瘤基因组与正常细胞基因组的快速比对成为可能，大幅提升了新抗原精准筛选效率，并降低了识别成本[8]。

2　肿瘤新抗原的来源

传统的肿瘤新抗原的概念变相等同于基因突变负荷。目前绝大多数肿瘤新抗原的预测依赖于全外显子测序所获得的基因编码区的体细胞突变（即基因突变）数据。通过定量分析基因突变产生的突变蛋白、酶解后肽段与主要组织相容性复合体（major histocompatibility complex，MHC）分子亲和力等因素，筛选出潜在的肿瘤新抗原[5,9]。然而，不同肿瘤类型的基因突变负荷存在显著差异，突变负荷较高的肿瘤通常具有更多潜在的新抗原候选靶点[5,8]。已有临床研究表明，个体化新抗原疫苗能够在黑色素瘤患者中诱导新抗原特异性T细胞应答，显示出良好的免疫原性和初步抗肿瘤活性[9-10]。然而，对于突变负荷较低的肿瘤，可供筛选的新抗原数量相对有限，增加了疫苗靶点筛选与设计的难度[5,8]。

传统研究最大的局限在于仅仅着眼于 DNA 层面突变产生的肿瘤新抗原，忽略了其他层面来源的肿瘤新抗原。RNA 层面的改变亦是新抗原主要的来源之一（图 1）。

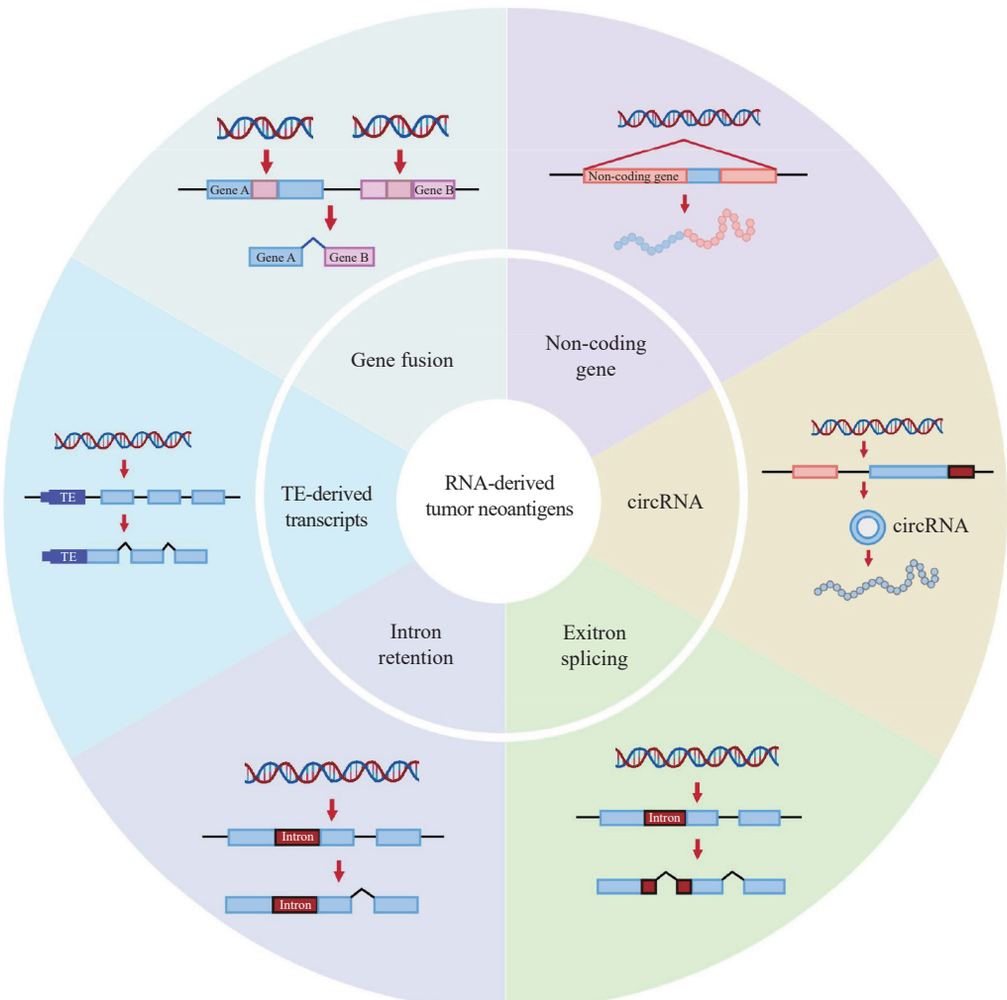

图 1　RNA 来源的肿瘤新抗原

Fig 1　Tumor neoantigens derived from RNA

circRNA: Circular RNA; TE: Transposable element.

（1）基因融合：基因融合事件可以产生融合蛋白，这些蛋白可能被免疫系统识别为新抗原。2018 年，Gao 等[11]分析了 33 种泛癌种转录组数据，鉴定了 9 624 个融合基因，其中 6% 的肿瘤中融合基因具有潜在的免疫原性。根据最新的算法推测，可能来源于融合基因的肿瘤新抗原相较于基因突变来源的肿瘤新抗原具有更高的免疫原性[12]。2025 年，Baretti 等[13]发现嵌合蛋白 DNAJ-PKAc 驱动纤维板层型肝癌的发生，并且证明这种嵌合体产生的肿瘤特异性抗原可作为免疫学靶点。

（2）内含子保留（intron retention）：Smart 等[14]在黑色素瘤患者体内检测到平均体细胞新抗原负荷为 2 218 个，平均内含子保留来源的新抗原负荷为 1 515 个，加入内含子保留新抗原后平均总新抗原负荷增加了约 0.7 倍。2024 年，Dias 等[15]在结直肠腺癌细胞中发现了超过 1 000 个外显子跳过和内含子保留事件会影响基因组完整性的调节因子，其中 LB-100 诱导的替代剪接会产生新抗原，由细胞表面的 MHC Ⅰ呈递。

（3）外内含子剪接（exitron splicing）：2021 年，Wang 等[16]发现一种新的剪切形式，即外内含子剪接。在 33 种肿瘤的 9 599 个转录本组数据中普遍存在，外内含子剪接事件影响了 63% 的人类编码基因，其中 95% 的事件是肿瘤特有的。外内含子

剪接事件与体细胞突变相互排斥。在 123 338 个肿瘤特异性的外内含子剪接事件中，共预测产生 168 206 个新抗原，平均每个外内含子剪接事件可产生 1.4 个新抗原，高于非同义单核苷酸变异（nonsynonymous single nucleotide variant）的平均数（0.64 个）。

（4）转座子来源的嵌合转录本：基因非编码区最主要的组成成分就是转座子，占据了约 50% 的人类基因组，几乎存在于所有基因及其周围[17]。转座子一度被认为是“自私”DNA，通过转座事件破坏蛋白质编码序列或基因调控元件介导疾病的产生[18-21]。2017 年，Brocks 等[22]发现了来源于基因组非编码区的异常表达的新生转录本，这些肿瘤细胞特异的新生转录本可以与其他的已知蛋白编码基因产生嵌合转录本，被预测具有免疫原性。其中部分新生转录本起源于转座子区域。Laumont 等[23]通过小样本的肿瘤数据及肿瘤细胞系的质谱分析，在蛋白质水平验证了基因组非编码区来源的肿瘤新抗原比基因编码区更多且更具免疫原性，而且大部分免疫原性的肿瘤新抗原来源于转座子。Shah 等[24]全面描述肿瘤特异性转座子-基因嵌合转录本（tumor-specific transposable element-gene chimeric transcript，TS-TET）的特征，开发的新算法 TEProF2（TE promoter finder 2）用于从转录组数据中识别从转座子开始拼接到基因的嵌合转录本，筛选出 2 297 个 TS-TET。在癌症基因组图谱分析的所有 10 357 个肿瘤中，93.6% 的肿瘤至少表达了 1 个 TS-TET。此外，部分 TS-TET 具有高度泛癌普遍性，例如 L1P2_STK31 存在于 1 576 个肿瘤样本中。这些转录本中有 1 068 个被预测能编码嵌合蛋白或移码突变蛋白。

（5）非编码基因：2022 年 Aviv Regev 团队利用翻译组测序（Ribo-seq）和免疫质谱技术，对未经注释的开放阅读框（unannotated open reading frame，nuORF）进行预测并构建了高可信度的数据库（nuORFdb），鉴定到了 3 555 个翻译的 nuORF 来源的新抗原。这些 nuORF 可以来自于 lncRNA、5′-非翻译区（untranslated region，UTR）/3′-UTR 来源的开放阅读框、假基因等[25]。Li 等[26]在人类和小鼠中发现了一种可以诱导肿瘤 MHC Ⅰ表达和免疫原性的 lncRNA（LIMIT），与癌症患者的 MHC Ⅰ、肿瘤浸润 T 细胞和检查点阻断反应相关，可作为一种具有肿瘤免疫原性的 lncRNA，而且可能是癌症免疫疗法的靶标。

（6）环状 RNA：Huang 等[27]结合免疫肽质谱和 Ribo-seq 数据鉴定到一个环状 RNA 来源的新抗原——circFAM53B，其以抗原特异性方式有效地激活了初级 $CD4^+$ 和 $CD8^+$ T 细胞，并诱导了抗肿瘤免疫。临床上，circFAM53B 及其编码的肽段的表达与乳腺癌患者和黑色素瘤患者中抗原特异性 $CD8^+$ T 细胞大量浸润及更好的生存相关。在机制上，circFAM53B 编码的肽段具有较强的结合亲和力，可以与人类白细胞抗原（human leukocyte antigen，HLA）-Ⅰ和 HLA-Ⅱ分子结合。在体内，给予携带乳腺癌肿瘤或黑色素瘤的小鼠肿瘤特异性环状 RNA 或其编码肽段的疫苗，可诱导肿瘤抗原特异性细胞毒性 T 细胞的浸润增加，从而实现有效的肿瘤控制。

在蛋白质层面，野生型蛋白通过翻译后修饰或异常降解可能产生不同于正常肽段的新生肽段，这些肽段可被 MHC 呈递到细胞表面，成为潜在的肿瘤新抗原。此类蛋白酶体加工剪切形成新抗原曾被认为是罕见事件，然而，通过免疫肽质谱检测发现，其多样性占整个 HLA-Ⅰ免疫肽组的 1/3，在丰度方面占 1/4[28-30]。

近年来，研究发现肿瘤内微生物（如细菌、病毒、真菌等）来源的抗原也可被免疫系统识别为新抗原。Kalaora 等[31]发表于 *Nature* 的研究采用 16S rRNA 基因测序结合免疫肽质谱技术，对 9 例黑色素瘤患者的 17 个转移灶进行分析，鉴定出 HLA-Ⅰ和 HLA-Ⅱ分子呈递的细菌来源肽段共涉及 41 种细菌，其中 248 个为独特 HLA-Ⅰ肽，35 个为独特 HLA-Ⅱ肽，且这些细菌肽在不同患者或同一患者的不同肿瘤灶中重复出现，证实其并非罕见事件。

因此，新抗原的来源存在着巨大的异质性。虽然之前也有一些方法整合外显子测序、转录组测序、Ribo-seq 及质谱检测等方法对非经典肿瘤新抗原进行表征[32]，但仍不够全面，尤其是忽略了许多非 DNA/RNA 层面的新抗原来源。因此，如何全面解析新抗原的成分、特征极其重要，尤其是一些非经典新抗原的比例特征，能够指导临床制备更为有效的新抗原疫苗。

3　肿瘤新抗原疫苗的临床应用

尽管患者体内通常存在针对新抗原的内源性 T 细胞免疫应答[33]，但多数情况下，这些 T 细胞不足以有效控制癌症。因此，肿瘤新抗原疫苗可通过增强已有 T 细胞反应或诱导新的 T 细胞应答，进一步提高抗肿瘤免疫效力[7]。

临床研究证据表明，个体化新抗原疫苗可诱导强烈的肿瘤杀伤免疫。在一项Ⅰ期临床试验中，黑色素瘤患者在手术后接种基于新抗原的肽疫苗（NeoVax），结果显示，先前检测不到的新抗原特异性 $CD4^+$ 和 $CD8^+$ T 细胞在疫苗接种后被成功诱导，其中 $CD4^+$ T 细胞的应答比例更高，证明了新抗原疫苗的免疫激活潜力[10]。另一项针对Ⅲ期黑色素瘤患者的临床试验表明，HLA-A*02:01 限制性新抗原疫苗可诱导 $CD8^+$ T 细胞应答，并扩展 TCR 库的多样性[34]。此外，针对胶质母细胞瘤的临床试验发现，个体化新抗原疫苗可在突变负荷较低的患者中诱导抗原特异性 T 细胞应答。其中，未接受地塞米松治疗的患者产生了新抗原特异性 $CD4^+$ 和 $CD8^+$ T 细胞应答，并观察到肿瘤内 T 细胞浸润增加[35]。

新抗原的免疫杀伤能力亦得到了基因组层面的证据支持。Rooney 等[36]发现，在多种肿瘤类型中，新抗原数量与细胞毒性 T 细胞的杀伤能力相关。在结直肠癌和肾透明细胞癌中，表达新抗原的肿瘤细胞数量显著减少，表明新抗原特异性 T 细胞能够有效清除突变肽呈递的肿瘤细胞，促进肿瘤的部分或完全消退。

尽管当前的临床试验仍在探索肿瘤新抗原疫苗的广泛应用，但已有证据表明其可延长无复发生存期（relapse-free survival，RFS）。在Ⅱb 期黑色素瘤试验（NCT03897881）中，ICI 联合新抗原 mRNA 疫苗相较于单独 ICI 可有效延长 RFS[37]。在另一项针对胰腺癌的试验（NCT04161755）中，手术切除肿瘤并在接种新抗原 mRNA 疫苗后出现 T 细胞应答的患者，相较于无应答患者表现出更长的 RFS，而且结合 ICI 和化学治疗进一步增强了治疗效果[38]。然而，这些研究受限于患者样本量较小、随访时间较短，仍需更大规模的临床试验验证其长期疗效。表 1 展示了近 5 年进入临床试验阶段的肿瘤新抗原疫苗临床试验。

表 1　近 5 年进入临床试验阶段的肿瘤新抗原疫苗

Tab 1　Tumor neoantigen vaccines entering clinical trials over the past 5 years

Registry No.	Indication	Vector	Combination therapy	Phase
NCT06529822	Solid tumor	Peptide	Poly ICLC	Ⅰ
NCT06195293	Solid tumor	Peptide	–	Ⅰ
NCT05307835	Esophageal cancer	Peptide	GM-CSF	Ⅰ
NCT05111353	Pancreatic cancer	Peptide	Poly ICLC	Ⅰ
NCT05098210	Stage Ⅲc-Ⅳ melanoma, hormone receptor-positive HER2-negative metastatic refractory breast cancer, or stage Ⅲ-Ⅳ non-small cell lung cancer	Peptide	Nivolumab, poly ICLC	Ⅰ
NCT04943848	Diffuse intrinsic pontine glioma and diffuse midline glioma	Peptide	Basterlimab	Ⅰ
NCT04930783	Melanoma	Peptide	Nivolumab, pembrolizumab	Ⅰ
NCT04810910	Pancreatic cancer	Peptide	GM-CSF	Ⅰ
NCT04799431	Stage Ⅳ mismatch repair-proficient colon cancer and pancreatic ductal adenocarcinoma	Peptide	Retifanlimab, poly-ICLC	Ⅰ
NCT04749641	H3.3-K27M mutant diffuse intrinsic pontine glioma	Peptide	Poly ICLC	Ⅰ
NCT04266730	Advanced squamous non-small cell lung cancer, head and neck squamous cell carcinoma	Peptide	Pembrolizumab	Ⅰ
NCT03219450	IGHV-unmutated chronic lymphocytic leukemia	Peptide	Cyclophosphamide, pembrolizumab	Ⅰ
NCT06614140	Solid tumor	Peptide	Poly-ICLC, ICI	Ⅰ/Ⅱ
NCT05741242	Advanced malignancy	Peptide	–	Ⅰ/Ⅱ
NCT05269381	Advanced solid tumor	Peptide	Pembrolizumab	Ⅰ/Ⅱ
NCT06751901	Non-small cell lung cancer	Peptide	PD-1 inhibitor, radiotherapy	Ⅱ
NCT06314087	Advanced malignant solid tumor	Peptide	Radiotherapy	Ⅱ

表 1（续）

Registry No.	Indication	Vector	Combination therapy	Phase
NCT04998474	Non-small cell lung cancer	Peptide	–	Ⅱ
NCT03606967	Metastatic triple-negative breast cancer	Peptide	Durvalumab, pembrolizumab	Ⅱ
NCT06341907	Ovarian cancer	Peptide	–	Ⅱ / Ⅲ
NCT05475106	Multiple tumor types	Peptide	Interleukin-2	Early Ⅰ
NCT06342908	H3 G34-mutant diffuse hemispheric glioma	Dendritic cell	Poly ICLC	Ⅰ
NCT05886439	Lung cancer	Dendritic cell	Pembrolizumab, durvalumab	Ⅰ
NCT05767684	Solid tumor	Dendritic cell	Lenvatinib, nivolumab	Ⅰ
NCT05317325	Esophageal squamous cell carcinoma	Dendritic cell	–	Ⅰ
NCT05270720	Adult ovarian cancer	Dendritic cell	–	Ⅰ
NCT05235607	Advanced solid tumor	Dendritic cell	Sensitized T cell	Ⅰ
NCT04968366	Glioblastoma	Dendritic cell	Temozolomide	Ⅰ
NCT06751849	Advanced non-small cell lung cancer	Dendritic cell	PD-1 inhibitor, radiotherapy	Ⅱ
NCT06675201	Esophageal squamous cell carcinoma	Dendritic cell	ICI	Ⅱ
NCT04912765	Hepatocellular carcinoma and colorectal cancer liver metastasis	Dendritic cell	Nivolumab	Ⅱ
NCT06435351	High-risk triple-negative breast cancer	Dendritic cell	Neoadjuvant therapy	Early Ⅰ
NCT06329908	Advanced lung cancer	Dendritic cell	ICI	Early Ⅰ
NCT05444530	Myeloproliferative neoplasm	Viral vector	Ipilimumab	Ⅰ
NCT03361852	Follicular lymphoma	Viral vector	Rituximab, pembrolizumab	Ⅰ
NCT05141721	Metastatic colorectal cancer	Viral vector	Atezolizumab, ipilimumab, bevacizumab, fluoropyrimidine plus leucovorin	Ⅱ / Ⅲ
NCT06913218	Pancreatic ductal adenocarcinoma	mRNA	–	Ⅰ
NCT06195384	Solid tumor	mRNA	–	Ⅰ
NCT06026774	Digestive system tumor	mRNA	Standard adjuvant therapy	Ⅰ
NCT06026800	Advanced digestive system tumor	mRNA	Standard first-line therapy	Ⅰ
NCT06019702	Advanced digestive system tumor	mRNA	–	Ⅰ
NCT05198752	Advanced solid cancers	mRNA	–	Ⅰ
NCT06735508	Non-small cell lung cancer	mRNA	Adavorelumab	Early Ⅰ
NCT06577532	KRAS-mutant advanced pancreatic cancer	mRNA	Toripalimab	Early Ⅰ
NCT06496373	Postoperative pancreatic cancer	mRNA	PD-1 inhibitor	Early Ⅰ
NCT06326736	Pancreatic cancer	mRNA	Camrelizumab, gemcitabine, nab-paclitaxel	Early Ⅰ
NCT06156267	Pancreatic adenocarcinoma	mRNA	Adavorelumab	Early Ⅰ
NCT05916248	Advanced solid tumor	mRNA	Pembrolizumab	Early Ⅰ
NCT05916261	Advanced pancreatic cancer	mRNA	Pembrolizumab	Early Ⅰ
NCT05579275	Malignant solid tumors	mRNA	Toripalimab	Early Ⅰ
NCT05743595	Unmethylated glioblastoma	DNA	Retifanlimab	Ⅰ
NCT03988283	Recurrent brain tumor	DNA	–	Ⅰ
NCT06631092	Triple-negative breast cancer	DNA	–	Ⅰ / Ⅱ
NCT06631079	Solid tumor	DNA	PD-1 inhibitor	Ⅰ / Ⅱ
NCT04397003	Extensive-stage small cell lung cancer	DNA	Durvalumab	Ⅱ

Poly ICLC: Polyinosinic-polycytidylic acid stabilized with poly-*L*-lysine and carboxymethylcellulose; GM-CSF: Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor; HER2: Human epidermal growth factor receptor 2; H3.3-K27M: Histone H3.3 with lysine-to-methionine mutation at position 27; IGHV: Immunoglobulin heavy chain variable region; ICI: Immune checkpoint inhibitor; PD-1: Programmed cell death 1; H3 G34: Histone H3 with glycine-to-arginine/methionine mutation at position 34; KRAS: Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog; Nab-paclitaxel: Nanoparticle albumin-bound paclitaxel.

综上所述，广泛的肿瘤新抗原疫苗已经进入临床试验，这不仅有望拓展新抗原疫苗应用的广度，还可以帮助研究者理解疫苗的作用机制，从而为开发更持久的抗肿瘤免疫提供有力支持。

4　肿瘤新抗原免疫增强策略

由于已有诸多文献综述了肿瘤新抗原的筛选方法和递送技术，本文将重点聚焦于肿瘤新抗原免疫增强策略的优化机制，系统探讨其免疫作用机制、治疗效果及临床前应用设计。

肿瘤新抗原疫苗的开发是一个复杂过程，需要综合考虑多种因素以优化其免疫效果[5]。与传染病疫苗类似，肿瘤疫苗的核心目标是诱导持久的免疫记忆。然而，单一疫苗往往难以使免疫系统有效抵御肿瘤，因此，多数临床前及临床研究显示，肿瘤疫苗需多次接种以诱导稳定免疫记忆。重复的免疫原性刺激不仅能增强适应性免疫的强度和持续性，还能进一步提升其治疗效果[39]。近年来，大量临床前研究及 100 余项临床试验已探索了多种疫苗设计策略，并基本确立了 Prime-Boost 免疫策略在显著提升疫苗效能方面的关键作用。

4.1　Prime-Boost 免疫策略　Prime-Boost 免疫策略通过在不同时间点使用相同或不同类型的疫苗进行初次免疫（priming）和加强免疫（boosting），以增强机体的免疫应答[40]。该免疫策略可分为同源 Prime-Boost（homologous Prime-Boost）和异源 Prime-Boost（heterologous Prime-Boost）。同源 Prime-Boost 指使用相同的疫苗进行初次接种和后续加强免疫。这一策略已被证实在增强体液免疫反应方面具有良好效果，但在提升细胞免疫应答方面表现有限[41]。这可能与先前疫苗诱导的免疫反应影响抗原呈递过程、抑制 T 细胞介导的炎症信号有关。异源 Prime-Boost 旨在克服这一局限性，通过采用不同抗原递送系统的疫苗序贯接种，促进更强的 T 细胞免疫应答。自 20 世纪 90 年代以来，该策略在抗 T 细胞介导的疾病疫苗（如抗疟疾、结核、艾滋病等）的开发中被广泛应用。研究表明，与同源 Prime-Boost 相比，异源 Prime-Boost 能协同放大 T 细胞记忆反应，显著提升免疫保护效能[42]。

4.2　Prime-Boost 免疫机制　当前对 Prime-Boost 免疫机制的解释主要集中在 2 个方面（图 2）。一方面，初次免疫接种后，机体会建立经典的免疫记忆，即适应性免疫反应。适应性免疫系统具备记忆功能，能够“识别”先前接触的病原体，并在再次暴露时迅速激活抗体生成及细胞毒性 T 细胞，从而提供长期免疫保护[39]。另一方面，初次接种产生的抗体和记忆细胞可为继后免疫接种（boost）塑造特定的固有免疫环境。此外，固有免疫细胞在初始刺激后可长期保持增强的内在抗菌功能，这一现象被称为训练性免疫（trained immunity）。训练后的固有免疫细胞在抗原摄取、呈递、迁移及细胞因子产生等方面表现出更强的应答能力，从而促进初级记忆 B 细胞和 T 细胞再次激活，使其更高效地分化为次级记忆细胞[43]。

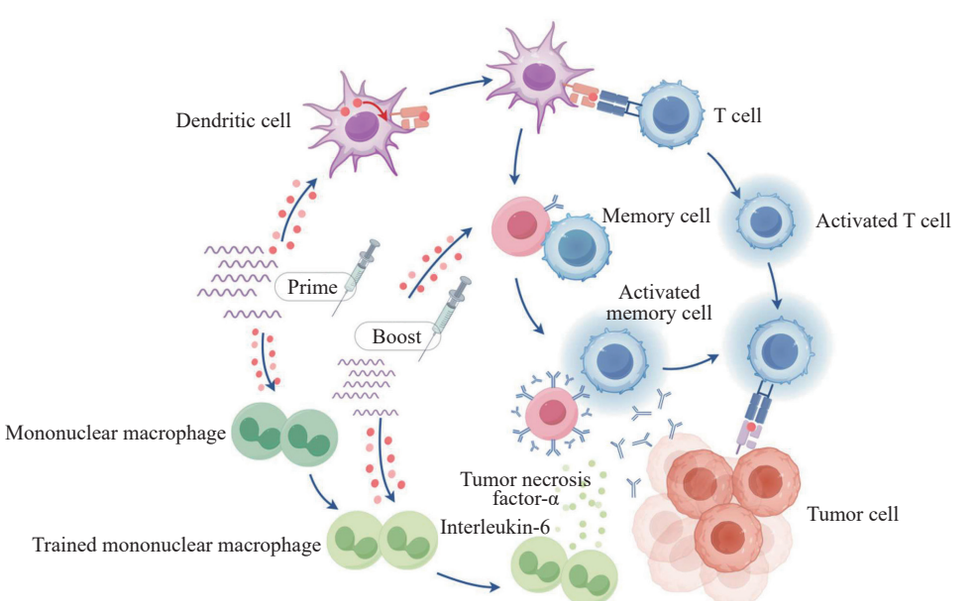

图 2　Prime-Boost 的免疫机制

Fig 2　Prime-Boost immunization mechanism

4.2.1　适应性免疫　适应性免疫反应包括体液免疫和细胞免疫，涉及抗原识别、T/B 细胞激活与分化、记忆细胞形成及二次应答等关键环节。疫苗接种后，抗原被抗原呈递细胞（antigen-presenting cell，APC）捕获，并在淋巴结中与 MHC 结合，呈递至 TCR，从而触发 T 细胞活化及分化。$CD4^+$ T 细胞辅助 B 细胞分化并在生发中心增殖，最终生成抗体分泌细胞（浆细胞），其所分泌的抗体可中和病原体，或通过 Fc 受体及补体介导免疫清除[44]。在抗原清除后，大多数效应细胞进入凋亡阶段，而特异性记忆 T 细胞、记忆 B 细胞及长寿命浆细胞可长期存在，并在二次免疫暴露时迅速响应。

基于固有及适应性免疫的协同作用，研究者开发了 Prime-Boost 免疫策略，通过优化载体类型、递送途径、接种方案及间隔时间，以增强免疫应答强度。研究表明，Prime-Boost 免疫策略可诱导高频、高亲和力的 T 细胞反应，提高抗原识别的精确性及效能[45]。这种增强效应可能与免疫优势表位、不同载体的呈递机制及记忆 T 细胞分化特性相关。

不同病原体抗原中，免疫优势表位（immunodominant epitope）可激发更强的特异性免疫应答。McShane 和 Hill[41] 发现，初次接种 DNA 疫苗可诱导 T 细胞集中识别最具免疫优势的表位，而加强接种可进一步放大该反应。Estcourt 等[46] 在小鼠模型中采用 DNA 引物－重组痘病毒加强策略，发现相比单次疫苗接种，该策略可诱导 10～100 倍数量的细胞毒性 T 细胞，显著增强免疫效力。

此外，异源 Prime-Boost 免疫策略结合不同疫苗载体的优势，可诱导更广谱且持久的 T 细胞应答[47]。例如，即使同属腺病毒载体疫苗，不同血清型在受体利用、组织靶向性及细胞内加工方面仍存在显著差异。Liu 等[48] 在恒河猴实验中表明，异源 rAd26/rAd5 Prime-Boost 方案可诱导更强的 γ 干扰素酶联免疫斑点（enzyme-linked immunospot，ELISpot）反应，并显著扩大抗原表位覆盖范围。此外，不同疫苗载体（如病毒载体或 DNA 疫苗）可提供非特异性及特异性共刺激信号，进一步优化抗原呈递[49]。

4.2.2　训练性免疫　固有免疫又称非特异性免疫，是机体抵御病原体入侵的第一道防线，涵盖一系列固有免疫应答及防御机制。训练性免疫指固有免疫细胞（如单核细胞、巨噬细胞、树突状细胞和中性粒细胞）在初次疫苗接种后，通过代谢重编程和表观遗传重塑获得类似记忆的功能，从而在同源或异源疫苗刺激下表现出更快速、更强烈的应答。

Quintin 等[50] 最早在单核 / 巨噬细胞中发现了先天记忆的证据：通过反复感染缺乏功能性 T 细胞和 B 细胞的小鼠，观察到训练后的单核细胞和巨噬细胞在再次暴露于非相关刺激时，可更高效地产生 IL-6 和 TNF-α 等细胞因子。Hole 等[51] 的研究进一步证实，真菌感染可诱导树突状细胞增强干扰素及免疫信号通路的转录活性，这种记忆样细胞因子应答可被特定组蛋白修饰抑制剂消除。此外，研究还表明，中性粒细胞[52]、固有淋巴细胞[53] 和自然杀伤细胞[54] 同样可“记住”先前的感染或炎症，并在再次感染时表现出更强烈的免疫反应。

训练性免疫的核心机制依赖于细胞代谢重塑和表观遗传重编程。染色质重构及 DNA 甲基化的动态变化导致关键免疫基因的转录活性提升，从而增强促炎因子的表达。尽管固有免疫细胞缺乏基因重排能力，它们通过模式识别受体感知病原体相关分子模式和损伤相关分子模式[55]，并触发相应信号通路。这一过程可激活糖酵解、三羧酸循环、谷氨酰胺代谢、胆固醇及脂肪酸合成等代谢途径，进一步影响细胞的表观遗传状态。例如，lncRNA 在初始刺激后上调，可引导表观遗传修饰酶靶向免疫基因启动子区域，进而调控基因表达[39]。

训练后的固有免疫细胞在静息状态下可长期存留，并在加强疫苗接种后迅速激活，表现出更强的炎症因子释放、抗原呈递及迁移能力。研究表明，训练性免疫可在骨髓造血干细胞及祖细胞中诱导，并持续 3 个月至 1 年，甚至更久[43]。由于训练性免疫可同时提供对同源及异源病原体的防御，被认为是疫苗接种诱导保护效力的重要组成部分。

综上所述，Prime-Boost 免疫策略通过增强适应性免疫、塑造训练性免疫环境及优化免疫优势表位的激活，显著提高疫苗的保护效力，为疫苗研发提供了重要理论基础。

4.3　Prime-Boost 免疫策略的临床应用　Prime-Boost 免疫策略是疫苗设计的核心原则，特别是在肿瘤新抗原疫苗领域，已成为最广泛应用的免疫策略，并在多种基于不同载体的肿瘤疫苗临床试验中得到验证。

Ott等[56]研究了个体化新抗原肽疫苗NEO-PV-01联合抗程序性细胞死亡蛋白1（programmed cell death 1，PD-1）治疗晚期黑色素瘤、非小细胞肺癌和膀胱癌的疗效。患者在接受抗PD-1药物（纳武利尤单抗）治疗12周后，开始接种NEO-PV-01疫苗（包括5次初始免疫和2次加强免疫，均在3个月内完成）。结果表明，接种疫苗后，患者体内均检测到针对新抗原的特异性$CD4^+$和$CD8^+$ T细胞反应，这些T细胞具有细胞毒性表型，能够迁移至肿瘤微环境并介导细胞杀伤效应。此外，有研究还观察到对疫苗未包含的新抗原的表位扩散现象。Sahin等[57]采用“Prime/Repeat Boost”方案，对晚期黑色素瘤患者进行8次FixVac疫苗（脂质体RNA疫苗）注射，发现疫苗能够诱导强烈的$CD4^+$和$CD8^+$ T细胞免疫应答，其免疫应答强度达到过继T细胞疗法中常见水平，并具有长期持久性。流式细胞术及ELISpot分析显示，疫苗诱导的T细胞具有效应记忆表型，并能分泌γ干扰素和TNF，在抗原特异性再刺激后展现出强烈的细胞毒性。

相较于同源Prime-Boost策略，异源Prime-Boost策略在肿瘤疫苗中的应用尚处于起步阶段。然而，随着疫苗研究的深入，异源Prime-Boost策略已在临床前试验和临床试验中展现出诱导高水平记忆T细胞的潜力，在细胞免疫应答的增强方面具有重要价值[39]。McConkey等[58]首次将Prime-Boost策略应用于人类疫苗，通过肌内或皮内注射DNA疫苗，随后进行皮内注射重组改型痘苗病毒安卡拉株（modified vaccinia virus Ankara，MVA），诱导机体对疟原虫血小板反应蛋白相关黏附蛋白的特异性免疫应答，产生高水平γ干扰素分泌及抗原特异性T细胞反应。相较于单独使用DNA疫苗或MVA疫苗，该异源Prime-Boost策略诱导的T细胞应答强度提高了5～10倍。

异源Prime-Boost策略在新型冠状病毒疫苗研发中得到了广泛应用。Lv等[59]分析了13项研究共3 024名受试者的数据，比较了不同新型冠状病毒疫苗组合的免疫效果。结果显示，与同源ChAd/ChAd或同源BNT/BNT接种相比，异源ChAd/BNT（mRNA-1273）接种可诱导更强的抗刺突蛋白免疫应答、更高的中和抗体浓度（特别是针对B.1.351和B.1.1.7变异株），以及更显著的针对刺突蛋白的T细胞介导免疫反应。因此，异源Prime-Boost策略在疫苗免疫中的应用可能为人类疾病的预防和治疗提供更广阔的前景。

在肿瘤新抗原疫苗的临床试验中，异源Prime-Boost策略已被证明可在同源策略的基础上进一步增强T细胞免疫应答的强度和质量，并已在临床前模型及临床试验中进行了验证。Ramirez-Valdez等[60]在MC38小鼠肿瘤模型中评估了异源Prime-Boost策略的抗肿瘤效果，采用自组装肽纳米颗粒TLR-7/8激动剂疫苗作为初次免疫，黑猩猩腺病毒（ChAdOx1）疫苗作为加强免疫。结果显示，接受异源序贯免疫的小鼠生存率相较于对照组及单独接种ChAdOx1疫苗组显著提高，而$CD8^+$ T细胞耗竭会导致疫苗保护作用消失，进一步证明了$CD8^+$ T细胞在肿瘤控制中的关键作用。Cappuccini等[61]针对前列腺癌的前列腺六跨膜上皮抗原1（six-transmembrane epithelial antigen of the prostate 1，STEAP1），利用黑猩猩腺病毒ChAdOx1和改良牛痘病毒MVA递送STEAP1，发现ChAdOx1-MVA疫苗方案可在小鼠体内诱导强烈的STEAP1特异性$CD8^+$ T细胞应答。尽管疫苗在移植瘤模型中的保护作用较弱，但与PD-1抗体联合使用后显著提高了小鼠的生存率，且80%的小鼠保持无瘤状态。

在晚期实体瘤的临床研究中，异源Prime-Boost策略同样展现出良好的免疫效果。Palmer等[62]采用个体化异源疫苗方案，使用黑猩猩腺病毒（ChAd68）与自扩增mRNA新抗原疫苗，并联合抗PD-1（纳武利尤单抗）及抗细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4（伊匹木单抗）治疗晚期转移性实体瘤患者。结果显示，该疫苗方案可诱导强烈、持久且具有功能活性的免疫应答，所有患者均检测到针对个体化新抗原的$CD8^+$ T细胞反应。进一步分析显示，疫苗诱导的T细胞可分泌γ干扰素、TNF-α、IL-2等细胞因子，并表现出细胞毒性活性。此外，在长期存活的患者中，观察到循环肿瘤DNA水平下降，提示疫苗可能改善患者的预后。

综上所述，异源Prime-Boost策略在肿瘤新抗原疫苗领域展现出巨大潜力，能够显著增强T细胞免疫应答，促进抗原特异性T细胞的功能成熟，并提高疫苗的保护效果。未来，随着免疫治疗和疫苗技术的不断发展，该策略有望成为肿瘤疫苗研发的重要方向，并为精准肿瘤免疫治疗提供新的策略和手段。

5　小结和展望

肿瘤免疫治疗，特别是基于新抗原的疫苗策略，已经成为癌症治疗领域的一个重要突破。其通过激活和增强患者自身的免疫系统来识别和攻击肿瘤细胞，不仅提高了治疗的精准性，还减少了传统化学治疗和放射治疗带来的不良反应。随着对肿瘤新抗原来源和免疫机制的深入理解，个体化新抗原疫苗展现出显著的临床潜力。然而，尽管取得了一系列令人鼓舞的成果，肿瘤新抗原疫苗的研究和应用仍面临诸多挑战。首先，肿瘤的异质性和免疫逃逸机制使新抗原的筛选和疫苗设计极其复杂。不同患者的肿瘤新抗原谱差异巨大，如何高效、准确地筛选出最具免疫原性的新抗原仍是当前研究的重点。其次，尽管 Prime-Boost 策略在增强免疫应答方面表现出色，但其在不同肿瘤类型和患者群体中的效果仍需进一步验证。此外，如何优化疫苗的递送系统、接种方案以及与其他免疫治疗手段（如 ICI）的联合应用，也是未来研究的重要方向。

未来随着高通量测序技术、人工智能算法和免疫组学技术的不断进步，肿瘤新抗原的筛选和预测将更加精准和高效。同时，新型疫苗载体（如 mRNA 疫苗、纳米颗粒疫苗）的开发和应用将进一步增强疫苗的免疫原性和稳定性。未来异源 Prime-Boost 免疫策略的优化和推广有望在更多肿瘤类型中实现突破，特别是在低突变负荷的“免疫寒”肿瘤中。总之，肿瘤新抗原疫苗的研究和应用正处于快速发展阶段，未来有望通过多学科交叉和技术创新，进一步提升其临床效果，为癌症患者带来更多希望。期待在不久的将来，肿瘤新抗原疫苗能够成为癌症治疗的重要手段，为全球癌症患者提供更加有效和个体化的治疗方案。

[参考文献]

[1] Wei F, Cheng X X, Xue J Z, et al. Emerging strategies in TCR-engineered T cells[J]. Front Immunol, 2022, 13: 850358. DOI: 10.3389/fimmu.2022.850358.

[2] Neelapu S S, Locke F L, Bartlett N L, et al. Axicabtagene ciloleucel CAR T-cell therapy in refractory large B-cell lymphoma[J]. N Engl J Med, 2017, 377(26): 2531-2544. DOI: 10.1056/nejmoa1707447.

[3] Klein L, Petrozziello E. Antigen presentation for central tolerance induction[J]. Nat Rev Immunol, 2025, 25(1): 57-72. DOI: 10.1038/s41577-024-01076-8.

[4] Pishesha N, Harmand T J, Ploegh H L. A guide to antigen processing and presentation[J]. Nat Rev Immunol, 2022, 22(12): 751-764. DOI: 10.1038/s41577-022-00707-2.

[5] Hu Z, Ott P A, Wu C J. Towards personalized, tumour-specific, therapeutic vaccines for cancer[J]. Nat Rev Immunol, 2018, 18(3): 168-182. DOI: 10.1038/nri.2017.131.

[6] Li Y, Wang M, Peng X, et al. mRNA vaccine in cancer therapy: current advance and future outlook[J]. Clin Transl Med, 2023, 13(8): e1384. DOI: 10.1002/ctm2.1384.

[7] Xie N, Shen G, Gao W, et al. Neoantigens: promising targets for cancer therapy[J]. Sig Transduct Target Ther, 2023, 8(1): 9. DOI: 10.1038/s41392-022-01270-x.

[8] Blass E, Ott P A. Advances in the development of personalized neoantigen-based therapeutic cancer vaccines[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2021, 18(4): 215-229. DOI: 10.1038/s41571-020-00460-2.

[9] 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. DOI: 10.1038/nature23003.

[10] Ott P A, Hu Z, Keskin D B, et al. An immunogenic personal neoantigen vaccine for patients with melanoma[J]. Nature, 2017, 547(7662): 217-221. DOI: 10.1038/nature22991.

[11] Gao Q, Liang W W, Foltz S M, et al. Driver fusions and their implications in the development and treatment of human cancers[J]. Cell Rep, 2018, 23(1): 227-238.e3. DOI: 10.1016/j.celrep.2018.03.050.

[12] Wei Z, Zhou C, Zhang Z, et al. The landscape of tumor fusion neoantigens: a pan-cancer analysis[J]. iScience, 2019, 21: 249-260. DOI: 10.1016/j.isci.2019.10.028.

[13] Baretti M, Kirk A M, Ladle B H, et al. A therapeutic peptide vaccine for fibrolamellar hepatocellular carcinoma: a phase 1 trial[J]. Nat Med, 2025, 31(12): 4246-4255. DOI: 10.1038/s41591-025-03995-y.

[14] Smart A C, Margolis C A, Pimentel H, et al. Intron retention is a source of neoepitopes in cancer[J]. Nat Biotechnol, 2018, 36(11): 1056-1058. DOI: 10.1038/nbt.4239.

[15] Dias M H, Liudkovska V, Montenegro Navarro J, et al. The phosphatase inhibitor LB-100 creates neoantigens in colon cancer cells through perturbation of mRNA splicing[J]. EMBO Rep, 2024, 25(5): 2220-2238. DOI: 10.1038/s44319-024-00128-3.

[16] Wang T Y, Liu Q, Ren Y, et al. A pan-cancer transcriptome analysis of exitron splicing identifies novel cancer driver genes and neoepitopes[J]. Mol Cell, 2021, 81(10): 2246-2260.e12. DOI: 10.1016/j.molcel.2021.03.028.

［17］ Lander E S, Linton L M, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome[J]. Nature, 2001, 409(6822): 860-921. DOI: 10.1038/35057062.

［18］ Callinan P A, Batzer M A. Retrotransposable elements and human disease[J]. Genome Dyn, 2006, 1: 104-115. DOI: 10.1159/000092503.

［19］ Bennett E A, Keller H, Mills R E, et al. Active Alu retrotransposons in the human genome[J]. Genome Res, 2008, 18(12): 1875-1883. DOI: 10.1101/gr.081737.108.

［20］ Iskow R C, McCabe M T, Mills R E, et al. Natural mutagenesis of human genomes by endogenous retrotransposons[J]. Cell, 2010, 141(7): 1253-1261. DOI: 10.1016/j.cell.2010.05.020.

［21］ Hancks D C, Kazazian H H Jr. Active human retrotransposons: variation and disease[J]. Curr Opin Genet Dev, 2012, 22(3): 191-203. DOI: 10.1016/j.gde.2012.02.006.

［22］ Brocks D, Schmidt C R, Daskalakis M, et al. DNMT and HDAC inhibitors induce cryptic transcription start sites encoded in long terminal repeats[J]. Nat Genet, 2017, 49: 1052-1060. DOI: 10.1038/ng.3889.

［23］ Laumont C M, Vincent K, Hesnard L, et al. Noncoding regions are the main source of targetable tumor-specific antigens[J]. Sci Transl Med, 2018, 10(470): eaau5516. DOI: 10.1126/scitranslmed.aau5516.

［24］ Shah N M, Jang H J, Liang Y, et al. Pan-cancer analysis identifies tumor-specific antigens derived from transposable elements[J]. Nat Genet, 2023, 55(4): 631-639. DOI: 10.1038/s41588-023-01349-3.

［25］ Ouspenskaia T, Law T, Clauser K R, et al. Unannotated proteins expand the MHC-Ⅰ-restricted immunopeptidome in cancer[J]. Nat Biotechnol, 2022, 40(2): 209-217. DOI: 10.1038/s41587-021-01021-3.

［26］ Li G, Kryczek I, Nam J, et al. LIMIT is an immunogenic lncRNA in cancer immunity and immunotherapy[J]. Nat Cell Biol, 2021, 23(5): 526-537. DOI: 10.1038/s41556-021-00672-3.

［27］ Huang D, Zhu X, Ye S, et al. Tumour circular RNAs elicit anti-tumour immunity by encoding cryptic peptides[J]. Nature, 2024, 625(7995): 593-602. DOI: 10.1038/s41586-023-06834-7.

［28］ Faridi P, Li C, Ramarathinam S H, et al. A subset of HLA-Ⅰ peptides are not genomically templated: Evidence for cis- and trans-spliced peptide ligands[J]. Sci Immunol, 2018, 3(28): eaar3947. DOI: 10.1126/sciimmunol.aar3947.

［29］ Liepe J, Marino F, Sidney J, et al. A large fraction of HLA class Ⅰ ligands are proteasome-generated spliced peptides[J]. Science, 2016, 354(6310): 354-358. DOI: 10.1126/science.aaf4384.

［30］ Rolfs Z, Solntsev S K, Shortreed M R, et al. Global identification of post-translationally spliced peptides with neo-fusion[J]. J Proteome Res, 2019, 18(1): 349-358. DOI: 10.1021/acs.jproteome.8b00651.

［31］ Kalaora S, Nagler A, Nejman D, et al. Identification of bacteria-derived HLA-bound peptides in melanoma[J]. Nature, 2021, 592(7852): 138-143. DOI: 10.1038/s41586-021-03368-8.

［32］ Chong C, Müller M, Pak H, et al. Integrated proteogenomic deep sequencing and analytics accurately identify non-canonical peptides in tumor immunopeptidomes[J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 1293. DOI: 10.1038/s41467-020-14968-9.

［33］ Puig-Saus C, Sennino B, Peng S, et al. Neoantigen-targeted $CD8^+$ T cell responses with PD-1 blockade therapy[J]. Nature, 2023, 615(7953): 697-704. DOI: 10.1038/s41586-023-05787-1.

［34］ Carreno B M, 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. DOI: 10.1126/science.aaa3828.

［35］ 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): 234-239. DOI: 10.1038/s41586-018-0792-9.

［36］ Rooney M S, Shukla S A, Wu C J, et al. Molecular and genetic properties of tumors associated with local immune cytolytic activity[J]. Cell, 2015, 160(1/2): 48-61. DOI: 10.1016/j.cell.2014.12.033.

［37］ Weber J S, Carlino M S, Khattak A, et al. Individualised neoantigen therapy mRNA-4157 (V940) plus pembrolizumab versus pembrolizumab monotherapy in resected melanoma (KEYNOTE-942): a randomised, phase 2b study[J]. Lancet, 2024, 403(10427): 632-644. DOI: 10.1016/S0140-6736(23)02268-7.

［38］ Rojas L A, Sethna Z, Soares K C, et al. Personalized RNA neoantigen vaccines stimulate T cells in pancreatic cancer[J]. Nature, 2023, 618(7963): 144-150. DOI: 10.1038/s41586-023-06063-y.

［39］ Palgen J L, Feraoun Y, Dzangué-Tchoupou G, et al. Optimize prime/boost vaccine strategies: trained immunity as a new player in the game[J]. Front Immunol, 2021, 12: 612747. DOI: 10.3389/fimmu.2021.612747.

［40］ Ramshaw I A, Ramsay A J. The prime-boost strategy: exciting prospects for improved vaccination[J]. Immunol Today, 2000, 21(4): 163-165. DOI: 10.1016/s0167-5699(00)01612-1.

［41］ McShane H, Hill A. Prime-boost immunisation strategies for tuberculosis[J]. Microbes Infect, 2005, 7(5/6): 962-967. DOI: 10.1016/j.micinf.2005.03.009.

［42］ Woodland D L. Jump-starting the immune system: prime-boosting comes of age[J]. Trends Immunol, 2004, 25(2): 98-104. DOI: 10.1016/j.it.2003.11.009.

［43］ Netea M G, Joosten L A B, Latz E, et al. Trained immunity: a program of innate immune memory in health and disease[J]. Science, 2016, 352(6284): aaf1098. DOI: 10.1126/science.aaf1098.

［44］ Lam N, Lee Y, Farber D L. A guide to adaptive immune memory[J]. Nat Rev Immunol, 2024, 24(11): 810-829. DOI: 10.1038/s41577-024-01040-6.

［45］ Vaine M, Wang S, Crooks E T, et al. Improved induction of antibodies against key neutralizing epitopes by human immunodeficiency virus type 1 gp120 DNA prime-protein boost vaccination compared to gp120 protein-only vaccination[J]. J Virol, 2008, 82(15): 7369-7378. DOI: 10.1128/JVI.00562-08.

［46］ Estcourt M J, Ramsay A J, Brooks A, et al. Prime-boost immunization generates a high frequency, high-avidity $CD8^+$ cytotoxic T lymphocyte population[J]. Int Immunol, 2002, 14(1): 31-37. DOI: 10.1093/intimm/14.1.31.

［47］ Dörrie J, Schaft N, Schuler G, et al. Therapeutic cancer vaccination with *ex vivo* RNA-transfected dendritic cells—an update[J]. Pharmaceutics, 2020, 12(2): 92. DOI: 10.3390/pharmaceutics12020092.

［48］ Liu J, O'Brien K L, Lynch D M, et al. Immune control of an SIV challenge by a T-cell-based vaccine in Rhesus monkeys[J]. Nature, 2009, 457(7225): 87-91. DOI: 10.1038/nature07469.

［49］ Radosevi Ć K, Rodriguez A, Lemckert A, et al. Heterologous prime-boost vaccinations for poverty-related diseases: advantages and future prospects[J]. Expert Rev Vaccines, 2009, 8(5): 577-592. DOI: 10.1586/erv.09.14.

［50］ Quintin J, Saeed S, Martens J H A, et al. Candida albicans infection affords protection against reinfection via functional reprogramming of monocytes[J]. Cell Host Microbe, 2012, 12(2): 223-232. DOI: 10.1016/j.chom.2012.06.006.

［51］ Hole C R, Wager C M L, Castro-Lopez N, et al. Induction of memory-like dendritic cell responses *in vivo*[J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 2955. DOI: 10.1038/s41467-019-10486-5.

［52］ Palgen J L, Tchitchek N, Elhmouzi-Younes J, et al. Prime and boost vaccination elicit a distinct innate myeloid cell immune response[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 3087. DOI: 10.1038/s41598-018-21222-2.

［53］ Martinez-Gonzalez I, Mathä L, Steer C A, et al. Allergen-experienced group 2 innate lymphoid cells acquire memory-like properties and enhance allergic lung inflammation[J]. Immunity, 2016, 45(1): 198-208. DOI: 10.1016/j.immuni.2016.06.017.

［54］ Palgen J L, Tchitchek N, Huot N, et al. NK cell immune responses differ after prime and boost vaccination[J]. J Leukoc Biol, 2019, 105(5): 1055-1073. DOI: 10.1002/JLB.4A1018-391RR.

［55］ Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors[J]. Nat Immunol, 2010, 11(5): 373-384. DOI: 10.1038/ni.1863.

［56］ Ott P A, Hu-Lieskovan S, Chmielowski B, et al. A phase ib 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.e24. DOI: 10.1016/j.cell.2020.08.053.

［57］ Sahin U, Oehm P, Derhovanessian E, et al. An RNA vaccine drives immunity in checkpoint-inhibitor-treated melanoma[J]. Nature, 2020, 585(7823): 107-112. DOI: 10.1038/s41586-020-2537-9.

［58］ McConkey S J, Reece W H, Moorthy V S, et al. Enhanced T-cell immunogenicity of plasmid DNA vaccines boosted by recombinant modified vaccinia virus Ankara in humans[J]. Nat Med, 2003, 9(6): 729-735. DOI: 10.1038/nm881.

［59］ Lv J, Wu H, Xu J, et al. Immunogenicity and safety of heterologous versus homologous prime-boost schedules with an adenoviral vectored and mRNA COVID-19 vaccine: a systematic review[J]. Infect Dis Poverty, 2022, 11(1): 53. DOI: 10.1186/s40249-022-00977-x.

［60］ Ramirez-Valdez R A, Baharom F, Khalilnezhad A, et al. Intravenous heterologous prime-boost vaccination activates innate and adaptive immunity to promote tumor regression[J]. Cell Rep, 2023, 42(6): 112599. DOI: 10.1016/j.celrep.2023.112599.

［61］ Cappuccini F, Stribbling S, Pollock E, et al. Immunogenicity and efficacy of the novel cancer vaccine based on Simian adenovirus and MVA vectors alone and in combination with PD-1 MAb in a mouse model of prostate cancer[J]. Cancer Immunol Immunother, 2016, 65(6): 701-713. DOI: 10.1007/s00262-016-1831-8.

［62］ Palmer C D, Rappaport A R, Davis M J, et al. Individualized, heterologous chimpanzee adenovirus and self-amplifying mRNA neoantigen vaccine for advanced metastatic solid tumors: phase 1 trial interim results[J]. Nat Med, 2022, 28(8): 1619-1629. DOI: 10.1038/s41591-022-01937-6.

［本文编辑］　杨亚红