

DOI: 10.13376/j.cbls/2015018

文章编号: 1004-0374(2015)02-0120-07

肿瘤免疫组库研究促进癌症疫苗研究

张蒙¹, 王倚天¹, 谢良富¹, 蔡志明^{1*}, 吴松^{1,2*}

(1 安徽医科大学深圳市第二人民医院临床医学院, 深圳 518000; 2 中山大学中山医学院, 广州 510000)

摘要: 人体免疫系统是抵御病原菌侵犯、防止肿瘤发生最重要的保卫系统。针对免疫系统中 T/B 淋巴细胞的免疫组库研究, 找出肿瘤与 TCR 或 BCR 之间的关系, 发现肿瘤特异性标志物, 从而推动肿瘤特异性诊断、治疗及预后评估等的发展, 特别是在肿瘤免疫组库研究基础上衍生出的癌症疫苗, 可以在患者体内实现诱导定向肿瘤免疫反应, 为肿瘤患者的治疗带来新希望。现从肿瘤免疫组库、癌症疫苗的研究进展等方面来阐述。

关键词: 免疫组库; 肿瘤; 癌症疫苗

中图分类号: R730.3 **文献标志码:** A

Tumor immune repertoire study promotes the research of tumor vaccine

ZHANG Meng¹, WANG Yi-Tian¹, XIE Liang-Fu¹, CAI Zhi-Ming^{1*}, WU Song^{1,2*}

(1 Shenzhen Second People's Hospital, Clinical Medicine College of Anhui Medical University, Shenzhen 518000, China;
2 Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510000, China)

Abstract: The immune system plays a vital role in the prevention of pathogen invasion and tumor development. The immune repertoire study, which targets T/B lymphocytes, can propel the development of tumor-specific diagnosis, treatment, evaluation of prognosis with the discovery of tumor-specific biomarkers after the correlation between tumor and TCR/BCR is elucidated. The tumor vaccine, derived from the tumor immune repertoire study, can induce a tumor-oriented immune response in patients, thus providing a new treatment for cancer. In this paper, we conducted a systematic review on the tumor immune repertoire study and demonstrated the advance in tumor vaccine research.

Key words: immune repertoire; cancer; cancer vaccines

T 淋巴细胞能够对外环境中的各种病原体及其产生的毒素和内环境中因突变产生的肿瘤抗原产生免疫应答。机体体液免疫应答主要由 B 细胞介导, 并可通过产生特异性抗体来应答抗原, 对机体起重要保护作用。

免疫组库 (immune repertoire, IR) 是指在任何指定时间, 某个个体的循环系统中所有功能多样性 B 细胞和 T 细胞的总和。在正常机体免疫状态下, B 细胞约占外周淋巴细胞总数的 20%, B 细胞抗原受体 (B cell receptor, BCR) 是 B 细胞识别抗原的一种膜表面免疫球蛋白 (SmIg), 具有抗原结合特异性。BCR 是由两条重链 (H) 和两条轻链 (κ 或 λ) 组成的四聚体, 其中重链分为可变区 (V 区)、恒定区 (C 区)、

跨膜区及胞质区; 轻链则只有 V 区和 C 区。V 区由 3 个互补决定区 (CDR1、CDR2 和 CDR3) 组成, CDR 的氨基酸/基因组成和排列顺序呈现高度多样性, 在同一个体内, 这种多样性可达 $10^9 \sim 10^{12}$, 构成容量巨大的 BCR 库。正是这种多样性的存在, 正常机体几乎能够对入侵的所有异物产生免疫应答^[1]。T

收稿日期: 2014-09-22; 修回日期: 2014-10-23

基金项目: 国家重点基础研究发展计划("973"项目) (2014CB745200); 国家自然科学基金项目(81301740); 深圳市基础研究项目(JCYJ20130401114928183、JCYJ20130401114715714)

*通信作者: 蔡志明, E-mail: 547349961@qq.com; 吴松, E-mail: doctor_wusong@126.com

细胞的主要功能是介导细胞免疫。T细胞抗原受体(T cell receptor, TCR)是T细胞特异性识别和结合抗原肽-MHC分子的分子结构。大多数TCR由 α 和 β 肽链组成,少数T细胞的TCR由 γ 和 δ 肽链组成。每条肽链又可分为可变区(V区)、恒定区(C区)、跨膜区和胞质区等几部分,而 α 和 β 两条肽链的V区(V α 、V β)又各有3个高变区CDR1、CDR2和CDR3,其中以CDR3变异最大,直接决定了TCR的抗原结合特异性。单个个体TCR β 链本身的多样性及 β 链与 α 链结合的多样性能够形成至少 10^{11} 以上种类的TCR,不同T细胞克隆具有不同序列或不同长度的TCR CDR3基因,从而决定其特异性^[2]。

免疫组库中每一种免疫蛋白彼此间结构差异很小,但亚型种类繁多,正是这种多样性对健康的维护起着至关重要的作用;免疫蛋白的亚型越多,越能有效抵抗病原体,亚型越少越容易感染疾病。基于此,通过对肿瘤患者体内特异性CDR受体的研究,建立肿瘤与特异性CDR的关系,将有助于评价B/T细胞在肿瘤发生、发展中的作用,这种CDR标志物的出现对于特定肿瘤的诊断和治疗具有重要意义。

总而言之,免疫组库的研究有助于癌症疫苗研发或促进其发展,特别是对建立以免疫组库为基础的肿瘤生物靶向治疗、微小残留病监测与治疗等具有重要意义(图1)。

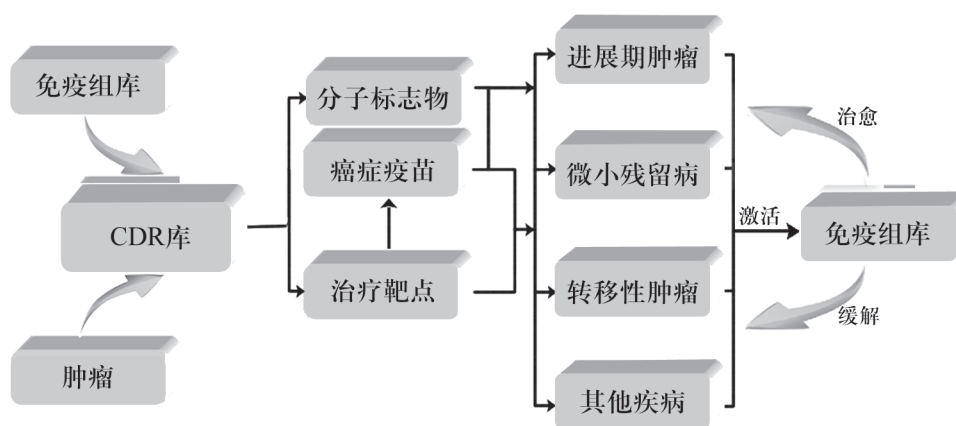


图1 肿瘤免疫组库与癌症疫苗

1 免疫组库技术从传统方法到现代方法的转换

1.1 传统方法用于血液系统肿瘤的研究

现在对血液病的研究主要是针对特定分子通路,过去几年里大量研究发现了不同的免疫机制对肿瘤发生的影响,特别强调的是T细胞受体库在血液系统疾病发生过程中所起到的作用。具体体现在三个方面。第一,克隆的自身免疫性T细胞在干细胞疾病的发病过程中可能起到一定的作用,如骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndromes, MDS);第二,在自身抗肿瘤免疫过程中,生理性T细胞增生会介导机体损伤,在一定程度上诱导血液系统肿瘤的发生;第三,T细胞本身有被诱导为肿瘤的可能性。

研究人员利用谱型分析技术首次对MDS患者外周血淋巴细胞进行T细胞受体库的分析,发现

MDS患者外周血中CDR3非随机的J片段的分布与正常人相比有很大区别^[3]。随后的实验发现血液中CD4⁺T细胞是呈高斯分布的,而CD8⁺T细胞则是偏态分布或存在寡克隆的CDR3模式。这些结果基本证实了MDS的发病是与T细胞受体库有关,特别是细胞毒性T细胞。这些差异反映了细胞毒性T细胞选择性参与抗肿瘤免疫或自体反应性损伤造血前体组织的过程^[4]。另一项研究进一步论证这些结果,在骨髓中T细胞的增殖要比外周血中明显,增殖的T细胞主要为CD8⁺、CD57⁺、CD28⁻效应性T细胞等类型^[5]。

采用半定量反转录-聚合酶链反应(semi-quantitative reverse trans-cription polymerase chain reaction, SqRT-PCR)技术发现,BV(从BV2~BV8)缺失在CML患者外周血中广泛存在。此外,在对急性成单核细胞性白血病(M5)和急性早幼粒细胞

白血病 (M3) 进行的谱型分析研究中发现, 高频克隆扩张往往与 BV2 相关^[6]。类似的研究还发现, 在 M3 中 BVs 的偏态曲线斜率和扩增频率增加^[7]。令人感兴趣的是, 在一个慢性淋巴细胞性白血病 (chronic lymphocytic leukemia, CLL) 患者体内, BV19⁺、CD8⁺T 细胞克隆扩增占到循环 T 细胞的 30%, 且体外培养的肿瘤细胞能够特异性地识别自身肿瘤细胞, 因此, CLL 患者 T 细胞的扩增被认为可能是受到了体内肿瘤相关抗原的刺激^[8]。首次针对 CLL 的谱型分析证实了 CD4⁺ 和 CD8⁺T 细胞寡克隆的增加; 而流式细胞术进一步验证了寡克隆扩增主要局限于 CD57⁺ 亚族。

随后, Rezvany 等^[9]进行了一项重要的体外实验, 他们利用活化的自体白血病细胞刺激后的 CD4⁺、CD8⁺T 细胞评估 TCR 受体库。在对 CDR3 进行分析时, 发现在扩大的 TCR BV 种群中, 种群的克隆模式由多克隆模式朝着单克隆或寡克隆的方向偏移。此外, 在自体白血病 B 细胞的刺激下, 即时获得的 CD8⁺T 细胞中能够检测到大量 CD8⁺ 扩增。这些数据表明, CLL 患者体内的 CD4⁺ 和 CD8⁺T 细胞仍具有潜在保留特定 B 细胞肿瘤克隆免疫记忆的能力。

1.2 免疫组库测序技术推动肿瘤免疫组库的研究

当前利用免疫组库测序 (immune repertoire sequencing, IR-SEQ) 技术针对 T/B 淋巴细胞, 扩增互补决定区 (CDR 区), 再结合高通量测序技术, 全面评估免疫系统的多样性, 深入挖掘免疫组库与疾病的关系。然而, 体细胞基因位点重组及高频突变阻碍了该项技术的发展^[10]。

尽管如此, 该技术的出现为血液系统微小残留病的研究提供了理论基础和技术支持。Boyd 等^[11]通过对重组免疫受体位点实施大规模平行测序, 希望能够在生理或病理状态下直接监测和追踪免疫系统的多样性。2013 年, Logan 等^[12]运用 IGH- 高通量测序 (IGH-high throughput sequencing, IGH-HTS) 技术, 分析了 40 位异基因造血干细胞移植术后的 CLL 患者的超过 400 个样本, 这 40 位患者仅存低强度的异基因造血干细胞。31 位患者在移植后 12 个月内缓解, 9 位患者在移植后 12 个月内复发, (其中微小残留 <10⁻⁴ 的患者占 86%; 微小残留 ≥10⁻⁴ 患者占 20%); 此外, 该研究还认为移植后的第 9、18、24 个月是该病的复发高峰时间。

相比目前临床上应用的流式细胞术, HTS 更容

易确诊潜在的微小残留病。造血干细胞移植术后的慢性白血病患者预后不佳往往和疾病的复发相关。对术后微小残留病灶的监测利于早期预测及干预疾病的复发。HTS 的应用也使得人体特异性免疫动态监测成为可能。一个直接的例子就是 T 细胞的过继性转移治疗。通过自体细胞与 HLA 结合的属性, 进行扩充并植入患者体内; 同时, 利用测序技术对血液中灌注的克隆细胞水平进行监测, 评估治疗效果^[13]。

免疫组库测序技术在公共克隆型 (Public Clonotypes) 方面的研究, 对于公共卫生事业的发展意义重大。人体获得性免疫系统中的 T 细胞和 B 细胞对暴露的抗原能够快速产生免疫反应。检测获得性免疫系统的记忆组分可能是一种很好的诊断疾病的方式。T 和 B 细胞能够发现系统内微小的改变, 如早期肿瘤等, 并且能以指数速度特异性扩增。通过免疫组库测序技术, 我们能够分别找出大多数的记忆克隆。如果弄清楚了这些记忆克隆与目标抗原的关系, 我们就具有具体诊断暴露抗原的能力, 并且能够弄清肿瘤信息和自动免疫反应等。公共克隆的种类增加迅速, 已经有包括 CMV 和 EBV 在内的几百种常见抗原的序列应用于临床检验中^[14-15]。

2 肿瘤免疫组库研究促进癌症疫苗的发展

2.1 癌症疫苗的研制机理

免疫学和分子生物学研究为合理制备临床抗癌疫苗开辟了一条新的道路。目前主要通过以下几种方法实现癌症的免疫治疗: (1) 寻找鉴别特异性癌细胞抗原, 利用癌抗原激发免疫系统对癌细胞清除, 捕捉体内特异性抗体, 找出相关免疫记忆细胞, 构建特定肿瘤的免疫组库; (2) 修饰癌抗原, 增加免疫原性, 促进癌抗原或免疫活性分子的表达; (3) 用具有免疫活性的“非我”实体辅助免疫应答的产生; (4) 以树突细胞 (DCs)、其他抗原呈递细胞 (APCs) 和抗独特型抗体 (anti-idiotypic antibodies) 等为基础制备癌症疫苗。同时, 总结多年癌症患者在接种治疗性疫苗过程中得到的重要经验: (1) 疫苗接种应针对有足够免疫能力的患者, 接种时间应尽早, 最好是在肿瘤局限的时候; (2) 癌症疫苗应包含一种或多种肿瘤相关抗原 (tumor associated antigen, TAA), 由特定的成分和非特异性的佐剂组成; (3) 实时监测免疫状态, 评估疗效及复发情况。总而言之, 癌症疫苗的作用基础是免疫系统, 而针对免疫

系统中 T 细胞和 B 细胞构成的免疫组库的研究将会对癌症疫苗的研发起到巨大的推动作用。

2.2 癌症疫苗在肿瘤中的应用现状

TAA 是针对某种肿瘤的肿瘤排斥抗原, 能够诱导多克隆 T 细胞的反应, 减少变体免疫逃逸的发生^[16-18]。佐剂能够激活模式受体 (如 Toll 样受体、NOD 样受体等) 活化细胞并且产生炎性细胞因子^[19]。很多研究利用同种异体疫苗治疗肿瘤患者, 生存质量并未得到明显改善, 远远没有自体癌症疫苗接种后生存质量改善明显。在小鼠或豚鼠动物转移性癌症模型的研究中发现, 保护性抗肿瘤免疫可以通过自体而不是由同种异体疫苗诱导, 经自体肿瘤诱导的保护性免疫具有高度专一性^[20-21]。肿瘤特异性主动免疫治疗 (active specific immunotherapy, ASI) 的先决条件就是患者必须具备完善的免疫系统。这种免疫治疗方式的结果主要取决于临床情况, 如肿瘤的类型 (胃癌与肾癌)、疾病的状况 (术前或术后) 以及患者自身的免疫状况等。

树突细胞 (dendritic cell, DC) 是衍生于造血细胞的一种抗原呈递细胞, 它们能够激活 MHC I 类 (CD8⁺ 细胞毒性淋巴细胞) 和 MHC II 类 (CD4⁺T 细胞) 细胞对抗肿瘤相关抗原^[22]。Nagorsen 和 Thiel^[23] 对 32 项研究中的 527 例结直肠癌患者进行荟萃分析, 评估 ASI 疫苗的临床和免疫学反应, 结果显示在单独使用 DC 疫苗的情况下, 临床受益率达到 17%。DC 疫苗与粒细胞集落刺激因子融合作用于前列腺特异性相关抗原, 可改善激素抵抗性前列腺癌患者的总体生存期, 但未能改善无进展生存期^[24]。此外, FDA (美国食品和药物管理局) 首次批准应用于临床的癌症疫苗恰是前列腺癌疫苗。

Duarte 等^[25] 研究发现, 基于肿瘤干细胞的疫苗能够降低同源鼠结肠癌模型肝转移的发生率。肿瘤细胞能够通过抑制 T 淋巴细胞及其信号通路而逃逸。最新的免疫治疗就是通过作用于关键的免疫监测点达到治疗效果^[26]。2011 年 3 月, 美国 FDA 通过了第一个抑制性单克隆抗体易普利姆玛 (抗 CTLA4 抗体) 用于治疗转移性黑色素瘤。有研究表明, 与癌症疫苗协同作用后, 免疫调节介导的单克隆抗体对抗肿瘤反应更具选择性。使用自体肿瘤细胞疫苗治疗的结肠癌患者生存期得到明显改善。此外, ATV-NDV (新城鸡瘟病毒修饰的自体癌症疫苗) 用于结直肠癌的治疗效果要比卡介苗更加明显, 它能够改善疾病分期为 II、III 的患者的生存情况, 而

且对处于 IV 期伴肝转移的患者仍有一定疗效。这种疫苗的作用机制是广泛、高水平地激活肿瘤特定记忆 T 细胞^[27]。

再结合免疫监测点, DC 疫苗对 CSC 抗原的作用效果将会得到更大程度地改善。当前的临床试验通过不同的方式给予患者新城疫病毒、新城疫病毒肿瘤溶解剂、新城疫病毒自体癌症疫苗治疗, 暂未发现严重的不良反应。新城疫病毒是一种鸟类病毒, 对人体并无损伤。然而, 也有人认为病毒感染的肿瘤细胞存在诱导自身免疫性疾病发生的风险^[28]。

分别给予 CTLA-4 或 PD-1 阻断剂治疗的患者未发现明显的临床受益^[29], 但对肿瘤微环境的调节增强了机体对肿瘤的抵抗。针对肝癌和黑色素瘤患者应用肿瘤微环境制剂肿瘤溶瘤病毒的预试验及临床试验表明, 溶瘤病毒对肿瘤微环境的影响广泛而深远^[30-31]。在某些情况下, 一些较大的肿瘤甚至可以完全消失, 而且长期治疗并未产生耐受 (>5 年)^[32], 然而目前这种疗效仅局限于黑色素瘤。此外, 临床上也有从血液中分离提取 TCR 或细胞表达嵌合抗原受体, 并成功应用于肉瘤、白血病和淋巴瘤等疾病用来诱导肿瘤免疫反应^[33-35]。

2.3 生物标志物等联合癌症疫苗在肿瘤及微小残留病中的应用

Smith 等^[36] 使用异体癌症疫苗在表达 GM-CSF 的 K562 白血病细胞系中进行一项 CML 的微小残留病研究。给予 CML 患者酪氨酸激酶抑制剂伊马替尼, 接种癌症疫苗并利用 BCR/ABL 融合基因对疾病进展情况进行监测。有趣的是, 约 1/3 的患者 (总共 19 例) 出现残余疾病的清除, 说明在微小残留病阶段接种强效疫苗并联合分子标志物对该病的诊治具有重要意义。此外, 另一项研究给予个性化疫苗联合佐剂与粒细胞巨噬细胞刺激因子 (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF) 后, 滤泡性淋巴瘤患者病情得到缓解, 并在 III 期临床试验中得到令人信服的证据^[37]。对晚期黑色素瘤术后的患者接种同种异型癌症疫苗, 5 年总体生存率较未接种疫苗的患者有明显改善。早前的研究对黑色素瘤术后的患者使用重组 NY-ESO-1 蛋白并结合基于皂苷的佐剂, 结果发现, 其他组肿瘤复发的概率是使用佐剂蛋白质组的几倍 (19 人中有 2 人在连续给药 2 年后复发, 安慰剂组 7 人中有 5 人复发, 未接种蛋白、佐剂的患者 16 人中有 9 人复发)^[38]。

甚至有研究认为, EGFR VIII 疫苗结合钥孔虫咸血蓝蛋白 (keyhole limpet hemocyanin, KLH) 可能成为术后或化疗后胶质母细胞瘤患者的临床一线用药^[39]。经过第 II 阶段的多中心研究, 对接种疫苗后患者的生存期与历史生存数据进行匹配, 结果发现未使用 EGFR VIII 的肿瘤患者复发率增高, 间接说明疫苗的作用效果。NeuVaxTM 是 III 期临床试验中最有前景的疫苗之一, 它包含 Her-2/Neu 衍生的九肽, 能够对 HLA-A2/A3⁺ 患者的 CD8⁺T 细胞产生刺激作用^[40]。在以前进行的 II 期临床试验中, 淋巴结阳性患者接种肽疫苗相应对照组, 60 个月内的复发减少率为 5.6%, 与 25.9% 相比, 效果显著。目前 III 期临床试验的目的在于明确该疫苗在降低 Her-2/Neu 低到中度表达的早期淋巴结阳性的乳腺癌患者复发的机率。

癌症疫苗试验成功的例子很多, 但是还需要更加充分地挖掘癌症疫苗的潜力, 发挥其在残留病灶清除、肿瘤复发防治等方面的作用。曾有研究人员将 HPV E6 和 E7 抗原疫苗联合佐剂长肽用于局限于上皮细胞层宫颈癌的治疗, 并取得一定的效果^[41-42]。然而, 当前医疗水平对进展期肿瘤的治疗非常局限。近来, 一项研究探讨佐剂 NY-ESO-1 重组蛋白在进展期黑色素瘤并伴有内脏转移的患者中的作用, 结果发现患者体内 T 细胞免疫反应降低^[43]。Stimuvax 疫苗包含 MUC 肽, 用于难切除的晚期肿瘤的治疗。III 期临床试验结果认为, 接种疫苗后的 III 期非小细胞肺癌患者并未显示出明显的生存优势^[44]。有趣的是, 随后进行的析因分析认为, 接种疫苗同时辅以放化疗, 患者 10 个月内的生存率要优于未接种疫苗的患者。此外, 还有研究将疫苗接种与细胞因子, 如 IL-2 和 IFN- α 联合用于黑色素瘤和肾癌患者的治疗, 发现联合治疗反应率较单独使用细胞因子治疗的反应率明显要高^[45]。

此外, 研究还发现癌症疫苗联合 TL 微粒能够更好地抵消免疫抑制细胞的免疫作用, 进一步放大细胞毒性淋巴细胞的保护作用^[46]。研究通过系统性给予抗 CD25 单克隆抗体耗竭小鼠体内的调节细胞, 并接种 PLGA 微粒联合黑色素瘤 TL 和 CpG, 提高小鼠对肿瘤的自我保护能力^[47], 这种采用抗体作用于体内免疫细胞群, 可以为后续的微粒治疗做好铺垫。其他一些研究认为, 小剂量化疗也可以耗竭免疫抑制细胞群, 从而增强保护性 CTL 的免疫反应, 提高癌症疫苗的作用效果^[48-49]。

虽然这样的研究结果令人兴奋, 但结果还是需要更大型、更充分的临床随机对照实验进行验证, 进一步明确癌症疫苗的适应症及细胞因子的毒性, 而这个过程异常艰难。癌症疫苗单独用于微小残留病的治疗已经取得一定的成功。在未来, 研究人员会探索阻滞免疫监测点或运用免疫刺激剂的方式应用于转移性疾病的治疗, 尝试多种联合方式, 如化疗药物 + 疫苗、疫苗 + 生物标志物、疫苗 + IL 微粒、疫苗 + 佐剂等, 最终设计优化出能够取得长期临床效应的集成免疫治疗方案。

3 问题和展望

从传统的流式细胞术、免疫扫描谱系分析技术到高通量测序的转变, 免疫组库的研究方法取得了革命性发展。对肿瘤免疫组库的研究, 建立了肿瘤与免疫系统的联系; 在免疫组库基础上建立的肿瘤生物治疗为转移性疾病、微小残留病等疾病带来了新的希望。同时, 多种方式, 如癌症疫苗联合佐剂、微粒或 IL 应用于肿瘤患者的治疗已经取得一些成就。但是, 目前针对癌症疫苗的研究仍处于单中心、小样本的阶段。个体的差异也限制了疫苗的批量生产。此外, 癌症疫苗的适应症及安全性也有待进一步研究来证明。

[参 考 文 献]

- [1] Boyd SD, Gaeta BA, Jackson KJ, et al. Individual variation in the germline Ig gene repertoire inferred from variable region gene rearrangements. *J Immunol*, 2010, 184(12): 6986-92
- [2] 王鹏, 贺晓燕, 王小妹, 等. T细胞TCR CDR3受体库的高通量测序分析概况. *现代免疫学*, 2011, (6): 512-6
- [3] Epperson DE, Nakamura R, Sauntharajah Y, et al. Oligoclonal T cell expansion in myelodysplastic syndrome: evidence for an autoimmune process. *Leuk Res*, 2001, 25(12): 1075-83
- [4] Fozza C, Contini S, Galleu A, et al. Patients with myelodysplastic syndromes display several T-cell expansions, which are mostly polyclonal in the CD4⁺ subset and oligoclonal in the CD8⁺ subset. *Exp Hematol*, 2009, 37(8): 947-55
- [5] Epling-Burnette PK, Painter JS, Rollison DE, et al. Prevalence and clinical association of clonal T-cell expansions in myelodysplastic syndrome. *Leukemia*, 2007, 21(4): 659-67
- [6] Li Y, Yang L, Chen S, et al. Clonal expansion T cells identified in acute monoblastic leukemia by CDR3 size analysis of TCR V beta repertoire using RT-PCR and genescan. *Chn Med J Engl*, 2002, 115(1): 69-71
- [7] Li Y, Chen S, Yang L, et al. Clonal expanded TCR Vbeta

- T cells in patients with APL. *Hematology*, 2005, 10(2): 135-9
- [8] Farace F, Orlanducci F, Dietrich PY, et al. T cell repertoire in patients with B chronic lymphocytic leukemia. Evidence for multiple in vivo T cell clonal expansions. *J Immunol*, 1994, 153(9): 4281-90
- [9] Rezvany MR, Jeddi-Tehrani M, Wigzell H, et al. Leukemia-associated monoclonal and oligoclonal TCR-BV use in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood*, 2003, 101(3): 1063-70
- [10] Robins H. Immunosequencing: applications of immune repertoire deep sequencing. *Curr Opin Immunol*, 2013, 25(5): 646-52
- [11] Boyd SD, Marshall EL, Merker JD, et al. Measurement and clinical monitoring of human lymphocyte clonality by massively parallel VDJ pyrosequencing. *Sci Transl Med*, 2009, 1(12): 12ra23
- [12] Logan AC, Zhang B, Narasimhan B, et al. Minimal residual disease quantification using consensus primers and high-throughput IGH sequencing predicts post-transplant relapse in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*, 2013, 27(8): 1659-65
- [13] Grupp SA, Prak EL, Boyer J, et al. Adoptive transfer of autologous T cells improves T-cell repertoire diversity and long-term B-cell function in pediatric patients with neuroblastoma. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(24): 6732-41
- [14] Venturi V, Chin HY, Asher TE, et al. TCR β -chain sharing in human CD8⁺ T cell responses to cytome-galovirus and EBV. *J Immunol*, 2008, 181(11): 7853-62
- [15] Robins HS, Srivastava SK, Campregher PV, et al. Overlap and effective size of the human CD8⁺ T cell receptor repertoire. *Sci Transl Med*, 2010, 2(47): 47ra64
- [16] Gilboa E. The makings of a tumor rejection antigen. *Immunity*, 1999, 11(3): 263-70
- [17] Zitvogel L, Tesniere A, Kroemer G. Cancer despite immunosurveillance: immunoselection and immunosubversion. *Nat Rev Immunol*, 2006, 6(10): 715-27
- [18] Zou W. Regulatory T cells, tumour immunity and immunotherapy. *Nat Rev Immunol*, 2006, 6(4): 295-307
- [19] Creagh EM, O'Neill LA. TLRs, NLRs and RLRs: a trinity of pathogen sensors that co-operate in innate immunity. *Trends Immunol*, 2006, 27(8): 352-7
- [20] Schirmmcher V. Tumor metastases and cell-mediated immunity in a model system in DBA/2 mice. V. Transfer of protective immunity with H-2 identical immune T cells from B10. D2 mice. *Int J Cancer*, 1979, 24(1): 80-6
- [21] Schirmmcher V, Heicappell R. Prevention of metastatic spread by postoperative immunotherapy with virally modified autologous tumor cells. II. Establishment of specific systemic anti-tumor immunity. *Clin Exp Metastasis*, 1987, 5(2): 147-56
- [22] Banchereau J, Ueno H, Dhodapkar M, et al. Immune and clinical outcomes in patients with stage IV melanoma vaccinated with peptide-pulsed dendritic cells derived from CD34⁺ progenitors and activated with type I interferon. *J Immunother*, 2005, 28(5): 505-16
- [23] Nagorsen D, Thiel E. Clinical and immunologic responses to active specific cancer vaccines in human colorectal cancer. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(10): 3064-9
- [24] Kantoff PW, Higano CS, Shore ND, et al. Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer. *N Engl J Med*, 2010, 363(5): 411-22
- [25] Duarte S, Momier D, Baque P, et al. Preventive cancer stem cell-based vaccination reduces liver metastasis development in a rat colon carcinoma syngeneic model. *Stem Cells*, 2013, 31(3): 423-32
- [26] Ileana E, Champiat S, Soria JC. Immune-checkpoints: the new anti-cancer immunotherapies. *Bull Cancer*, 2013, 100(6): 601-10
- [27] Schirmmcher V, Fournier P, Schlag P. Autologous tumor cell vaccines for post-operative active-specific immunotherapy of colorectal carcinoma: long-term patient survival and mechanism of function. *Expert Rev Vaccines*, 2014, 13(1): 117-30
- [28] Schirmmcher V, Fournier P. Danger signals in tumor cells: a risk factor for autoimmune disease? *Expert Rev Vaccines*, 2010, 9(4): 347-50
- [29] Bot A, Marincola F, Smith KA. Repositioning therapeutic cancer vaccines in the dawning era of potent immune interventions. *Expert Rev Vaccines*, 2013, 12(10): 1219-34
- [30] Heo J, Reid T, Ruo L, et al. Randomized dose-finding clinical trial of oncolytic immunotherapeutic vaccinia JX-594 in liver cancer. *Nat Med*, 2013, 19(3): 329-36
- [31] Brody JD, Ai WZ, Czerwinski DK, et al. In situ vaccination with a TLR9 agonist induces systemic lymphoma regression: a phase I/II study. *J Clin Oncol*, 2010, 28(28): 4324-32
- [32] Rosenberg SA, Yang JC, Sherry RM, et al. Durable complete responses in heavily pretreated patients with metastatic melanoma using T-cell transfer immunotherapy. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(13): 4550-7
- [33] Park TS, Rosenberg SA, Morgan RA. Treating cancer with genetically engineered T cells. *Trends Biotechnol*, 2011, 29(11): 550-7
- [34] Ertl HC, Zaia J, Rosenberg SA, et al. Considerations for the clinical application of chimeric antigen receptor T cells: observations from a recombinant DNA Advisory Committee Symposium held June 15, 2010. *Cancer Res*, 2011, 71(9): 3175-81
- [35] Poli C, Raffin C, Dojcinovic D, et al. MHC class II/ESO tetramer-based generation of in vitro primed anti-tumor T-helper lines for adoptive cell therapy of cancer. *Haematologica*, 2013, 98(2): 316-22
- [36] Smith BD, Kasamon YL, Kowalski J, et al. K562/GM-CSF immunotherapy reduces tumor burden in chronic myeloid leukemia patients with residual disease on imatinib mesylate. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(1): 338-47
- [37] Jain N, Reuben JM, Kantarjian H, et al. Synthetic tumor-specific breakpoint peptide vaccine in patients with chronic myeloid leukemia and minimal residual disease: a phase 2 trial. *Cancer*, 2009, 115(17): 3924-34
- [38] Davis ID, Chen W, Jackson H, et al. Recombinant NY-ESO-1 protein with ISCOMATRIX adjuvant induces

- broad integrated antibody and CD4⁺ and CD8⁺ T cell responses in humans. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(29): 10697-702
- [39] Sampson JH, Heimberger AB, Archer GE, et al. Immunologic escape after prolonged progression-free survival with epidermal growth factor receptor variant III peptide vaccination in patients with newly diagnosed glioblastoma. *J Clin Oncol*, 2010, 28(31): 4722-9
- [40] Benavides LC, Sears AK, Gates JD, et al. Comparison of different HER2/neu vaccines in adjuvant breast cancer trials: implications for dosing of peptide vaccines. *Expert Rev Vaccines*, 2011, 10(2): 201-10
- [41] Kenter GG, Welters MJ, Valentijn AR, et al. Vaccination against HPV-16 oncoproteins for vulvar intraepithelial neoplasia. *N Engl J Med*, 2009, 361(19): 1838-47
- [42] Wang E, Worschech A, Marincola FM. The immunologic constant of rejection. *Trends Immunol*, 2008, 29(6): 256-62
- [43] Nicholaou T, Ebert LM, Davis ID, et al. Regulatory T-cell-mediated attenuation of T-cell responses to the NY-ESO-1 ISCOMATRIX vaccine in patients with advanced malignant melanoma. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(6): 2166-73
- [44] Kroemer G, Zitvogel L, Galluzzi L. Victories and deceptions in tumor immunology: Stimuvax. *Oncoimmunology*, 2013, 2(1): e23687
- [45] Schwaab T, Schwarzer A, Wolf B, et al. Clinical and immunologic effects of intranodal autologous tumor lysate-dendritic cell vaccine with Aldesleukin (interleukin 2) and IFN- α 2a therapy in metastatic renal cell carcinoma patients. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(15): 4986-92
- [46] Joshi VB, Geary SM, Gross BP, et al. Tumor lysate-loaded biodegradable microparticles as cancer vaccines. *Expert Rev Vaccines*, 2014, 13(1): 9-15
- [47] Goforth R, Salem AK, Zhu X, et al. Immune stimulatory antigen loaded particles combined with depletion of regulatory T-cells induce potent tumor specific immunity in a mouse model of melanoma. *Cancer Immunol Immunother*, 2009, 58(4): 517-30
- [48] Steele TA. Chemotherapy-induced immunosuppression and reconstitution of immune function. *Leuk Res*, 2002, 26(4): 411-4
- [49] Zitvogel L, Apetoh L, Ghiringhelli F, et al. Immunological aspects of cancer chemotherapy. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(1): 59-73