



การใช้ immunogenomics ในการรักษามะเร็งแบบ precision (immunogenomics strategies for precision cancer treatment)

สิดาพร ชะโยชัยชนะ
จุลินทร์ โอภาณุรักษ์

บทนำ

ในช่วงปี ค.ศ. 2020 จากข้อมูลระบาดวิทยาพบว่า มีจำนวนผู้ป่วยโรคมะเร็งที่เกิดขึ้นใหม่ทั่วโลก ประมาณ 19.3 ล้านราย และเสียชีวิตจากโรคมะเร็งทั้งหมด 10.0 ล้านรายหรือประมาณ 1 ใน 6 ของการเสียชีวิตทั้งหมด โดยพบว่า โรคมะเร็งเกิดใหม่ที่พบได้บ่อยที่สุด 5 อันดับแรก คือ มะเร็งเต้านมในเพศหญิง (ร้อยละ 11.7) มะเร็งปอด (ร้อยละ 11.4) มะเร็งลำไส้ใหญ่ (ร้อยละ 10) มะเร็งต่อมลูกหมาก (ร้อยละ 7.3) และมะเร็งกระเพาะอาหาร (ร้อยละ 5.6) และมะเร็งที่เป็นสาเหตุการตาย 5 อันดับแรก คือ มะเร็งปอด (ร้อยละ 18) มะเร็งลำไส้ใหญ่ (ร้อยละ 9.4) มะเร็งตับ (ร้อยละ 8.3) มะเร็งกระเพาะอาหาร (ร้อยละ 7.7) และมะเร็งเต้านมในเพศหญิง (ร้อยละ 6.9)⁽¹⁾ และคาดว่าอุบัติการณ์การเกิดมะเร็งใหม่ (incidence of all-cancer cases) จะเพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 75 ในอีก 10 ปีข้างหน้า⁽²⁾ ทางกรมแพทย์จึงพยายามหาวิธีการรักษามะเร็งให้ได้ผลดีที่สุด เริ่มจากการรักษาโดยการผ่าตัด การใช้รังสีรักษา ยาเคมีบำบัด ซึ่งทั้งหมดเป็นการรักษาแบบ one-size-fits-all treatment plan (การรักษาแบบมาตรฐานเดียวกันในมะเร็งชนิดหนึ่ง) แต่พบว่าการรักษาตามแบบมาตรฐานนี้ไม่สามารถใช้ได้กับคนไข้ทุกประเภท หรือได้ผลการรักษาที่ไม่เท่ากันในแต่ละคนอีกทั้งยังมีผลข้างเคียงตามมาอีกหลายอย่าง เนื่องจากองค์ประกอบในระดับเซลล์ที่แตกต่างกัน แม้ว่าจะเป็นมะเร็งที่เกิดจากอวัยวะเดียวกัน

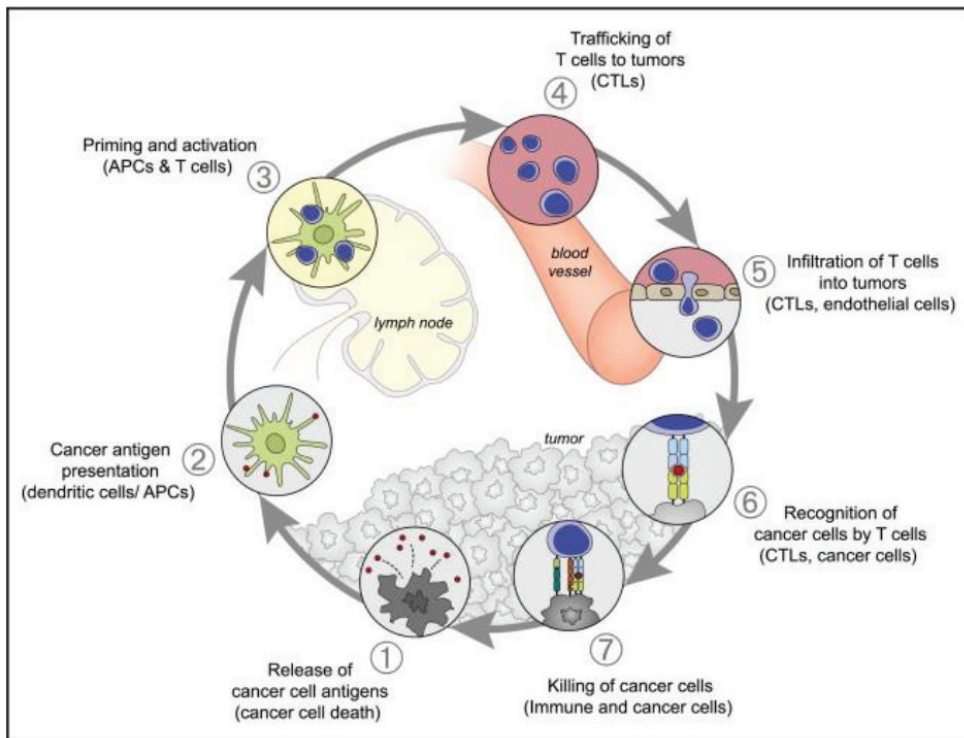
ในปัจจุบันทางการแพทย์มีเทคโนโลยีที่สามารถศึกษามะเร็งเข้าไปได้ลึกจนถึงระดับยีน (gene) ที่มีการเปลี่ยนแปลงอันเป็นสาเหตุก่อเกิดมะเร็งและเข้าใจถึงระบบการทำงานของภูมิคุ้มกันร่างกาย

ที่ตอบสนองต่อเซลล์มะเร็งเพิ่มขึ้น จึงเริ่มให้ความสนใจกับการรักษามะเร็งแบบ immunotherapy มากขึ้น การใช้ immunotherapy แบ่งเป็น 2 ประเภทตามวิธีการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน⁽³⁾ ได้แก่ 1. passive immunotherapy คือ การได้รับภูมิคุ้มกันจากภายนอก เช่น antibody drug conjugates, anti-CD19 CAR-T หรือ adoptively transferred T cell ซึ่งการรักษาแบบนี้อาจจะไม่จำเพาะมากพอกับเซลล์มะเร็งที่แตกต่างกันในหลาย ๆ คน ประสิทธิภาพที่ได้จึงยังไม่แน่นอน อีกทั้งอาจจะเกิดการทำลายเซลล์ที่ปกติไปด้วย และ 2. active immunotherapy (cancer vaccine) คือ การใช้ภูมิคุ้มกันตัวเองในการทำลายมะเร็งแบบจำเพาะ โดยถูกกระตุ้นหรือช่วยได้หลายแบบ ยกตัวอย่างเช่น immune checkpoint CTLA-4 หรือ PD-1 inhibitor การผลิตวัคซีนสำหรับรักษามะเร็ง (therapeutic cancer vaccine) โดยศึกษาการกลายพันธุ์ระดับยีนที่ก่อให้เกิดมะเร็งในคนนั้น ๆ เพื่อสร้าง precision medicine⁽⁴⁾ ในรูปแบบของ tailor-made cancer vaccine ซึ่งเป็นแนวทางใหม่ของการรักษามะเร็งในอนาคต

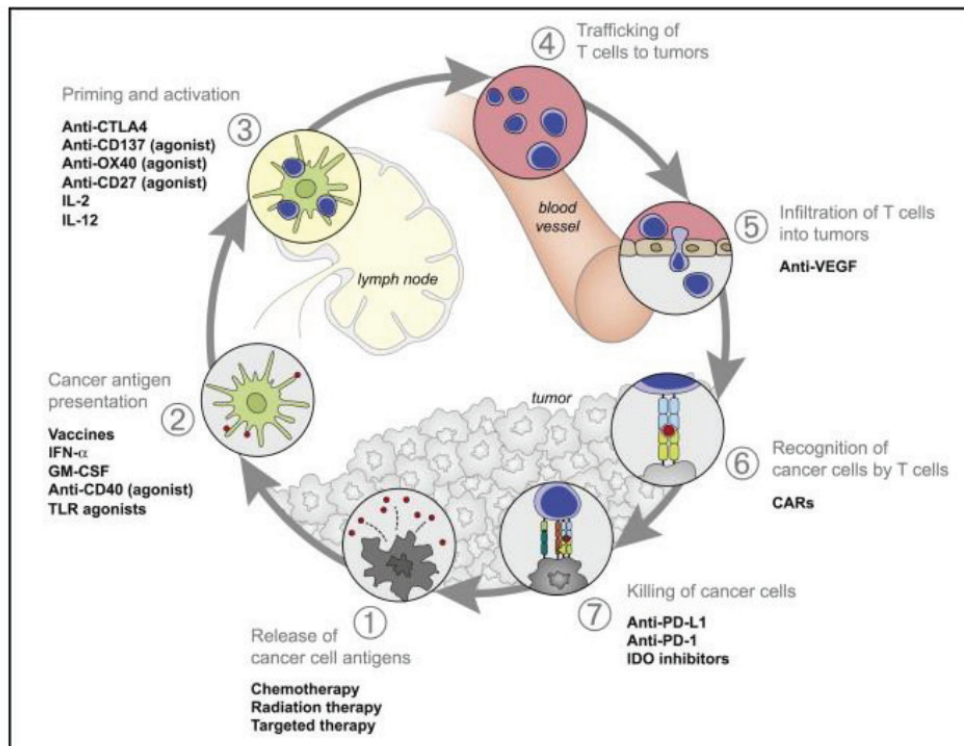
การรักษาแบบ cancer vaccine ที่เรียกว่า precision treatment เชื่อว่าจะมีข้อดีเหนือกว่า immunotherapy แบบเดิมตรงที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อเซลล์มะเร็งมากกว่า ทำให้ผลข้างเคียง (toxicity) ต่อเซลล์ปกติรอบข้างน้อยกว่าหรือไม่กระทบเลย อีกทั้งเชื่อว่าการกระตุ้น active therapy จะทำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวสามารถจดจำและตอบสนองได้หากเกิดมะเร็งชนิดเดิมขึ้นอีก⁽⁵⁾ นำไปสู่การลดโอกาสการเกิดมะเร็งซ้ำ

Basic concept of immune response to cancer

การมีเซลล์มะเร็งในร่างกายจะสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันให้ตอบสนองได้⁽⁶⁾ เช่นเดียวกันกับการมีการติดเชื้อแบคทีเรียหรือไวรัส เม็ดเลือดขาวจะต่อสู้กับเซลล์มะเร็งได้ในขั้นต้น ซึ่งการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่อมะเร็ง (cancer-immunity cycle) สามารถอธิบายได้เป็น 7 ขั้นตอน (รูปที่ 1⁽⁷⁾) เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงระดับยีนอันก่อให้เกิดเซลล์มะเร็ง เซลล์จะเกิดการกลายพันธุ์ในระดับจีโนมและสร้างโปรตีนที่กลายพันธุ์มีความจำเพาะที่ไม่พบในเซลล์ปกติ และแอนติเจนของมะเร็ง (tumor antigen) ที่เรียกว่า neoantigen⁽⁸⁾ ออกมาไม่ว่าจะจากการที่เซลล์มะเร็งตายเองหรือจากการโดนทำลายของเม็ดเลือดขาว (ขั้นตอนที่ 1) จะทำให้ภูมิคุ้มกันของร่างกายสามารถรับรู้ได้ว่าเป็นเซลล์ที่ผิดปกติ ก่อให้เกิดกระบวนการ cancer antigen presentation โดยอาศัย antigen presenting cells (APCs) เช่น dendritic cell ที่มี major histocompatibility complex (MHC) types I, II ไปจับ neoantigens (ขั้นตอน 2) และแสดงออกที่ผิวของ APCs เพื่อไปกระตุ้นการทำงานของเม็ดเลือดขาว T cell (ขั้นตอน 3) ในต่อมน้ำเหลืองข้างเคียง (tumor-draining lymph node) และอวัยวะน้ำเหลือง (tertiary lymphoid organ)⁽⁹⁾ ดึงดูดและนำพาให้เม็ดเลือดขาวเข้ามารวมที่เซลล์มะเร็ง (ขั้นตอน 4 และ 5) ให้มาจับเซลล์มะเร็งโดยใช้ T cell receptor (TCR) กับ MHC type I ที่อยู่บนเซลล์มะเร็ง (ขั้นตอน 6) และทำลายเซลล์มะเร็ง (ขั้นตอนที่ 7)



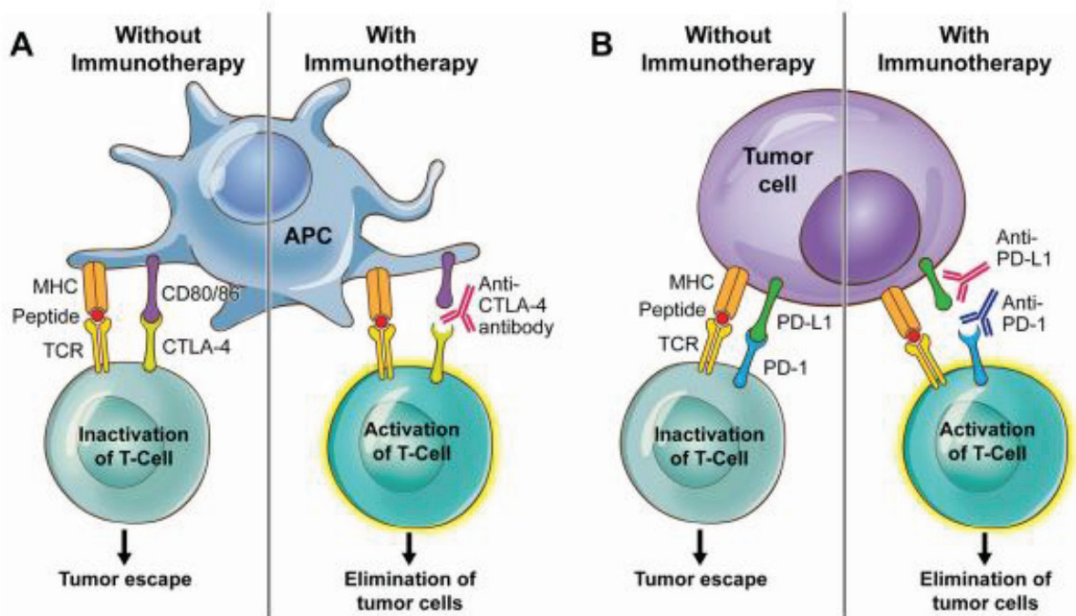
รูปที่ 1. แสดงขั้นตอน cancer-immunity cycle⁽⁷⁾



รูปที่ 2. แสดงการรักษากระตุ้นในขั้นตอนของ cancer-immunity cycle⁽⁷⁾

โดยในผู้ป่วยมะเร็งจะพบว่าการทำงานของ cancer-immunity cycle ทำงานได้ไม่สมบูรณ์ เช่น การที่ภูมิคุ้มกันตรวจจับไม่พบ neoantigen ทำให้คิดว่าเป็นส่วนหนึ่งของร่างกาย (self-antigen) มากกว่าจะคิดว่าเป็นสิ่งแปลกปลอม หรืออาจมีสภาพแวดล้อมของเซลล์มะเร็งที่ไม่เหมาะสม ทำให้กดภูมิคุ้มกัน อันนำไปสู่ความล้มเหลวในการเอาชนะมะเร็งของเม็ดเลือดขาว

จากการเข้าใจความรู้พื้นฐานของ cancer-immunity cycle ทำให้สามารถนำมาอธิบายหลักการรักษาได้หลายแนวทางในแต่ละขั้นตอนของ cancer-immunity cycle (รูปที่ 2⁽⁷⁾) ไม่ว่าจะเป็นการกระตุ้นให้มีการหลั่ง cancer cell antigens (ขั้นตอนที่ 1) โดยการทำให้เซลล์ตายในวิธีต่างๆ เช่น การฉายแสงรังสีรักษา ยาเคมีบำบัด เป็นต้น การใช้ monoclonal antibodies ในการยับยั้งการทำงานของ immune checkpoint inhibitors⁽¹⁰⁾ เช่น anti-CTLA4 เพื่อกระตุ้นการทำงานของ CD8+ cytotoxic T cells (ขั้นตอนที่ 3) หรือ anti-PD-L1/anti-PD-1 (ขั้นตอนที่ 7) (รูปที่ 3⁽¹¹⁾) นำไปสู่การทำลายเซลล์มะเร็ง แต่ทั้งหมดนี้พบว่ามีคนไข้แค่บางกลุ่มเท่านั้นที่ตอบสนองต่อการรักษา อีกทั้งยังทำลายเซลล์ที่ปกติมากเกินไปจนความจำเป็นเพราะเป็นการรักษาที่ยังไม่จำเพาะมากพอ ทำให้การรักษามะเร็งในอนาคตจึงมีการต่อยอดลงไปถึงระดับการเปลี่ยนแปลงในยีนเพื่อตามหา tumor antigen หรือ neoantigens นำไปสู่การใช้ therapeutic cancer vaccines ในการเพิ่ม cancer antigen presentation (ขั้นตอนที่ 2) ให้ภูมิคุ้มกันของร่างกายทำงานได้แม่นยำและจำเพาะมากขึ้น



รูปที่ 3. แสดงการทำงานของ immune checkpoint inhibitors ในการรักษา⁽¹¹⁾

Neoantigen with immunotherapy

What are neoantigen?

แอนติเจนของมะเร็ง (tumor antigen) สามารถแบ่งออกเป็น 3 ประเภทหลัก⁽¹²⁾ ดังนี้

1. Tumor-specific antigen (TSA) คือ แอนติเจนที่พบเฉพาะในเซลล์มะเร็ง เกิดจากการเปลี่ยนแปลงระดับยีนแบบ somatic mutations จึงไม่พบในเซลล์ปกติทั่วไป เรียกอีกชื่อว่า neoantigens เป็นตัวที่ทำให้ระบบภูมิคุ้มกันสามารถแยกแยะได้ว่าเป็นเซลล์ที่มีความผิดปกติ (foreignness) และกระตุ้น immune system จึงเป็นเป้าหมายที่ชัดเจนให้แก่เม็ดเลือดขาวในการทำลายเซลล์มะเร็ง

2. Tumor-associated antigen (TAA) คือ แอนติเจนที่พบในเซลล์ที่มีปริมาณการแสดงออกของโปรตีนที่ผิดปกติไปเล็กน้อยในด้านคุณภาพ (differentiation) หรือด้านปริมาณ (overexpression) ในบางกรณีแอนติเจนเหล่านี้สามารถพบได้ในเซลล์ปกติทั่วไปด้วย จึงมีความจำเพาะต่อมะเร็งน้อย การจะแยกได้ว่าเป็นเซลล์ที่แปลกปลอม (antigenicity) ต้องขึ้นอยู่กับปริมาณและความผิดปกติของแอนติเจนนั้นในกระบวนการเกิด immunogenicity tolerance

3. Cancer testis antigen (CTA) คือ แอนติเจนที่เกิดได้ในเซลล์ปกติแต่พบได้น้อยมาก เช่นใน testis, fetal ovary, trophoblast และพบได้ในเซลล์มะเร็ง จึงอาจจะนำมาใช้เป็นเป้าหมายให้เม็ดเลือดขาวได้

จะเห็นได้ว่าจากแอนติเจนที่กล่าวมา neoantigens หรือ TSA มีความจำเพาะกับเซลล์มะเร็งมากที่สุด มีการพิสูจน์ตั้งแต่ปี ค.ศ. 2005 โดยการศึกษาของ Lennerz และคณะนำ neoantigen มากระตุ้นการทำงานของ antitumor T cell ในคนไข้ melanoma พบว่ามีการตอบสนองต่อ TSA (neoantigen) มากกว่าการใช้ TAA หรือ self-antigen จริง⁽¹³⁾ รวมไปถึงมีความจำเพาะในเซลล์มะเร็งมากกว่า⁽¹⁴⁾ แต่การศึกษาในอดีตยังไม่สามารถนำมาใช้งานได้จริง สาเหตุจากค่าใช้จ่ายที่สูง การค้นหาและระบุ neoantigen ในคนไข้แต่ละรายทำได้ยาก ใช้เวลานาน

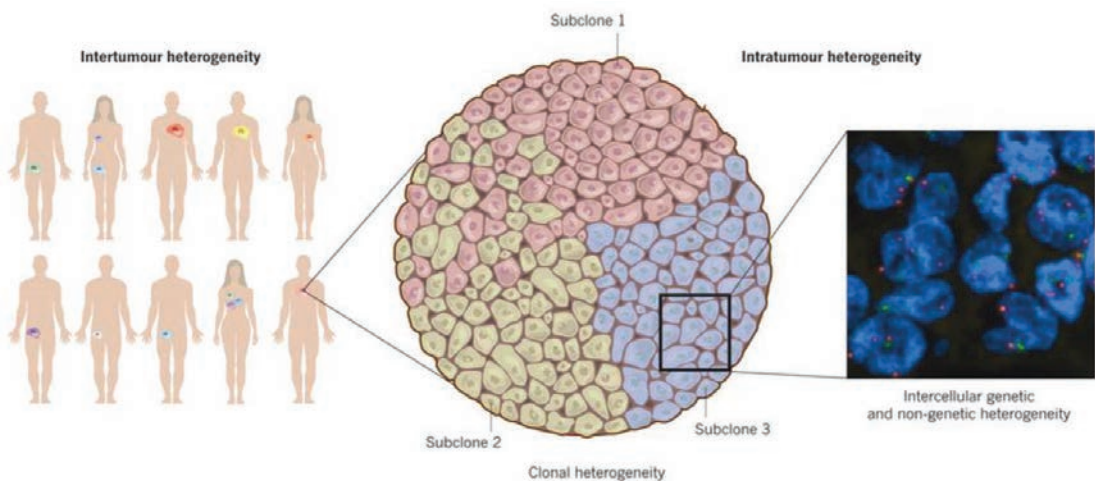
Neoantigen as therapeutic target

แนวความคิดการรักษามะเร็งในอนาคตอันใกล้ สามารถใช้ neoantigen มาเป็นเป้าหมายในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เช่น การใช้ adoptive T cell และการสร้าง personalized vaccine เพื่อใช้รักษามะเร็ง^(15, 16) การค้นหา neoantigen ในผู้ป่วยมะเร็งจึงกลายเป็นปัจจัยสำคัญสำหรับการพัฒนา cancer immunotherapy ให้ได้ประสิทธิภาพ⁽¹⁷⁾ นอกจาก neoantigen จะเป็นตัวที่บ่งบอกถึงความเป็นสิ่งแปลกปลอมที่จำเพาะต่อเซลล์มะเร็งแล้วนั้น ยังสามารถใช้บ่งบอกพยากรณ์ของโรคได้ มีการศึกษาพบว่ามะเร็งที่มีการแสดงออกของ neoantigen มาก บ่งบอกถึงการกลายพันธุ์ของมะเร็ง (mutational load) ที่มากขึ้น ส่งผลให้การตอบสนองต่อการให้ immunotherapy ดียิ่งขึ้น⁽¹⁸⁾

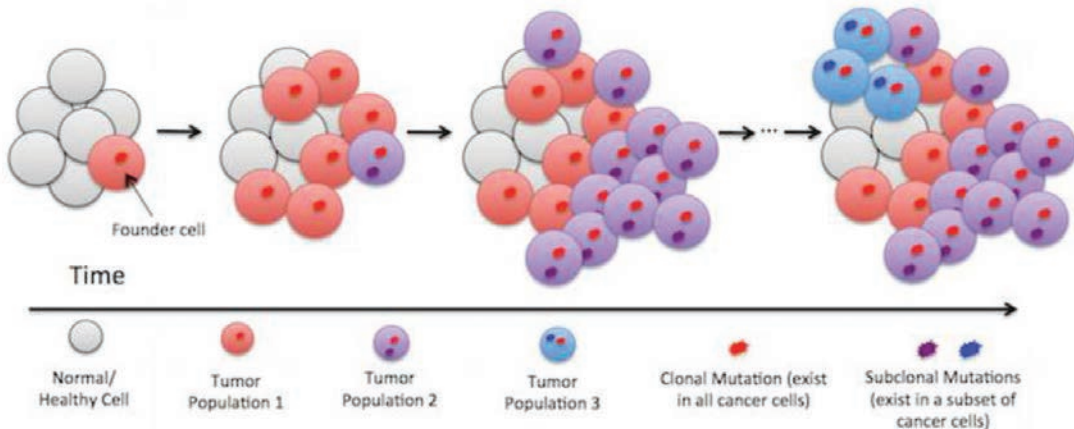
เช่น พยากรณ์การรักษาด้วย immune checkpoint CTLA-4 inhibitor ใน metastatic melanoma⁽¹⁹⁾ รวมถึง overall survival (OS) ที่เพิ่มขึ้น⁽²⁰⁾

ด้วยความที่ neoantigen ขึ้นอยู่กับการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสใน DNA อันนำไปสู่การเกิด somatic mutation ที่ต่างกัน ส่งผลให้ neoantigen มีความหลากหลายในมะเร็งแต่ละชนิด และจำเพาะกับคนไข้แต่ละคน (personalized neoantigen) ทำให้การรักษาคนไข้ด้วย cancer vaccine ที่ใช้ neoantigen เป็นเป้าหมาย ต้องการการรักษาแบบ precision treatment ที่แม่นยำจนถึงระดับ personalized approach

ในมะเร็งหนึ่งก้อนของคนไข้หนึ่งคนมีการกลายพันธุ์ของเซลล์หลายแบบแตกต่างกันออกไป ทำให้เกิด intratumor heterogeneity (ITH)⁽²¹⁾ (รูปที่ 4⁽²²⁾) ความหลากหลายของการกลายพันธุ์นี้เกิดขึ้นจาก 2 รูปแบบ คือ ก. driver mutation คือการกลายพันธุ์ที่เอื้อประโยชน์ให้เซลล์แบ่งตัวง่ายขึ้นและอยู่รอดมากขึ้นจนมักเกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็ง และ ข. passenger mutation คือการกลายพันธุ์แบบสุ่มที่ไม่ได้ส่งผลต่อการทำงานของเซลล์ ซึ่งการกลายพันธุ์ทั้งสองรูปแบบนี้ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์และพัฒนาจนกลายเป็นเซลล์มะเร็งในอัตราส่วนและชนิดของการกลายพันธุ์ที่ต่างกัน นำไปสู่การเกิดเป็นการกลายพันธุ์หลายกลุ่ม (clonal และ subclonal neoantigens)^(22, 23) (รูปที่ 5⁽²²⁾) ทำให้มี neoantigen หลายแอนติเจนจากมะเร็งก้อนนั้น ๆ การใช้ neoantigen เพียงชนิดเดียวจึงไม่ได้ผล⁽²⁴⁾ นำมาซึ่งการใช้ multiple neoantigen เพื่อเพิ่มโอกาสให้กระตุ้น T cell ไปทำลายเซลล์มะเร็งได้หลากหลายขึ้น ให้ครอบคลุมความแตกต่างของมะเร็งทั้ง intratumor และ intertumor heterogeneity^(25, 26)



รูปที่ 4. แสดงความแตกต่างของการกลายพันธุ์ในมะเร็งในก้อนเดียวกัน (intratumor heterogeneity)⁽²²⁾



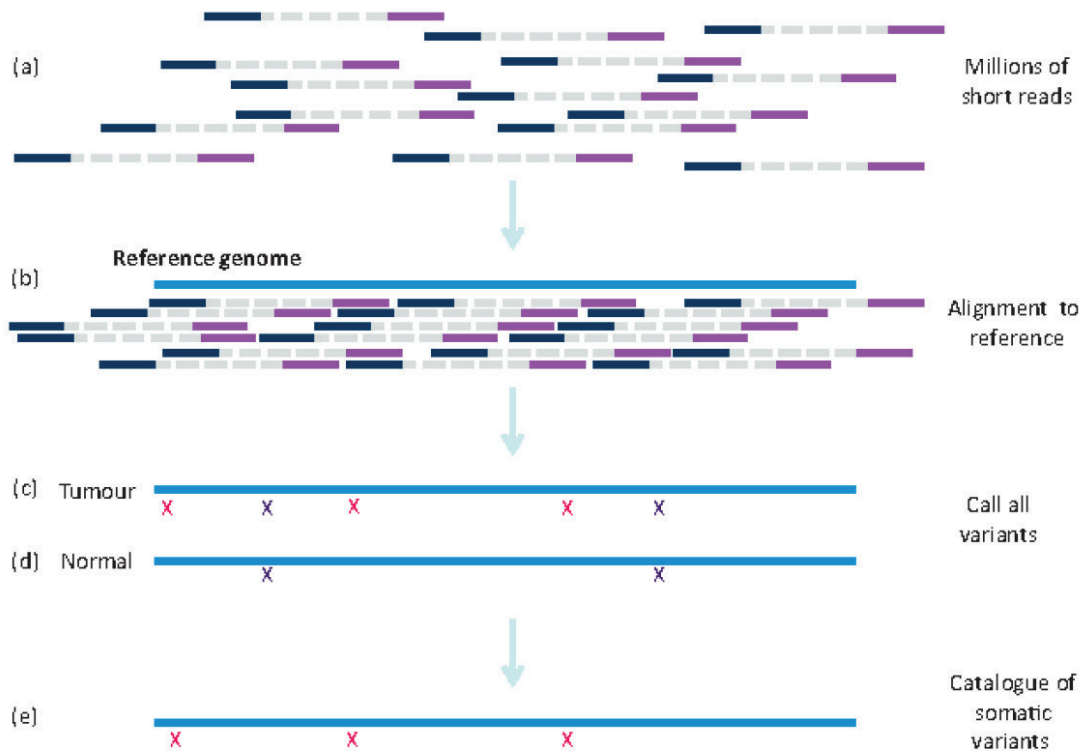
รูปที่ 5. แสดง the clonal evolution of tumor cell populations⁽²⁷⁾

How to identify neoantigen

การค้นพบเกี่ยวกับ neoantigen มีมานานกว่า 20 ปีแล้ว⁽²⁸⁾ แต่การนำมาประยุกต์ใช้จริงสำหรับรักษามะเร็งเพิ่งมีมาเมื่อไม่นานมานี้ เนื่องจากการพัฒนาเทคโนโลยี next generation sequencing (NGS) ทำให้สามารถถอดรหัสพันธุกรรม ศึกษาหาลำดับเบสนิวคลีโอไทด์ของสารพันธุกรรมทั้งหมดของมนุษย์ได้โดยลดข้อจำกัดด้านราคาและระยะเวลาที่ใช้⁽²⁹⁾ การระบุค้นหา neoantigens จึงไม่ใช่สิ่งที่จำกัดอยู่แต่ในแง่ทฤษฎีอีกต่อไป

NGS คือการวิเคราะห์หาลำดับเบสนิวคลีโอไทด์ โดยเป็นกระบวนการ high-throughput ที่ใช้ short-read sequencing เพื่อหาลำดับเบสของสารพันธุกรรมทั้งหมดของมนุษย์⁽³⁰⁾ ทำให้เราสามารถเปรียบเทียบจีโนมของเซลล์ปกติกับเซลล์มะเร็งในคนไข้คนเดียวกันว่ามีตำแหน่งเบสใดบ้างที่แตกต่างกัน แสดงว่าตำแหน่งนั้นมีการกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นภายหลัง (somatic mutation) มีโอกาสที่จะเป็นยีนที่ก่อให้เกิดมะเร็ง⁽³¹⁾ แสดงตัวอย่างวิธีการทำงานของ NGS ดังรูปที่ 6⁽³³⁾

เราสามารถนำ NGS มาใช้ในการหา DNA ที่เกิด somatic mutation ได้เพื่อหา neoantigen ของมะเร็งนั้น โดยการนำตัวอย่างเซลล์มะเร็งจากคนไข้เช่น tissue biopsy มาสกัด DNA นำไปวิเคราะห์ whole exome sequencing (WES) เพื่อหาตำแหน่งที่เกิดการกลายพันธุ์ร่วมกับการทำ RNA sequencing (RNA-seq) เพิ่มโดยใช้ poly-A selection เพื่อดึงเฉพาะ coding RNA โดยอาศัยความรู้ทาง basic central dogma of molecular biology ว่าจากตำแหน่งที่กลายพันธุ์ของ DNA นั้น สามารถนำไปผ่านกระบวนการ transcription เป็น mRNA และผ่านกระบวนการ translation ด้วย ribosome เกิดเป็น amino acid ต่อกันเป็น peptide, polypeptide จนกลายเป็น somatic mutation บน protein⁽³²⁾ เพื่อยืนยันว่า somatic mutation



รูปที่ 6. แสดงตัวอย่างรูปแบบการทำงานของ next generation sequencing (NGS) ในการหา somatic mutation⁽³³⁾

ในระดับ DNA นั้นมีการแสดง ออกใน mRNA หรือโปรตีนในเซลล์มะเร็งหรือก็คือคาดว่าน่าจะมี neoantigens นั้นเอง

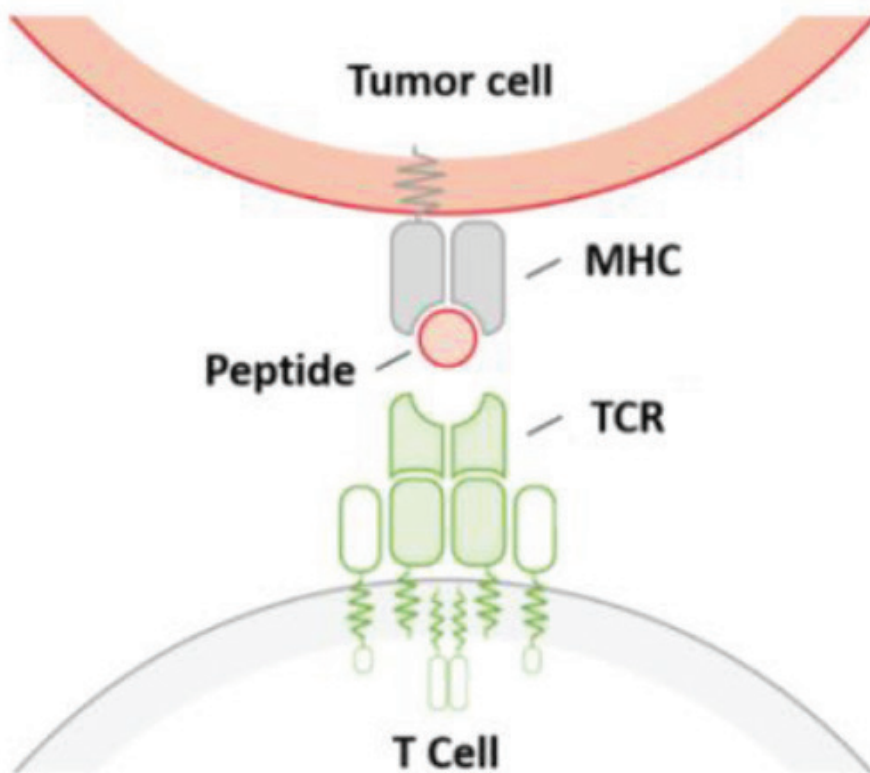
ประโยชน์ของ NGS นอกจากจะนำมาใช้ในการหา neoantigen แล้ว ยังสามารถนำมาใช้หา variable human leukocyte antigen (HLA) allele เพื่อใช้ระบุ HLA typing ให้เหมาะสมกับคนไข้แต่ละคน ซึ่งปัจจุบันใช้ในคนไข้ที่จะปลูกถ่ายอวัยวะเพื่อดูความเข้ากันได้ระหว่าง donor และ recipient⁽³⁴⁾ รวมไปถึงขนาดของ cancer vaccine ให้คนไข้มะเร็งที่จะรักษาด้วย precision medicine สามารถพยากรณ์ HLA/MHC molecule-binding neoantigen ให้มีโอกาสจับกับ neoantigen ได้ดีที่สุด^(35, 36) โดยจะกล่าวถึงรายละเอียดต่อไป

Applications of neoantigen in personalized cancer therapy

การได้มาของ neoantigen ทำให้สามารถนำมาต่อยอดในการรักษามะเร็งที่จำเพาะกับแต่ละบุคคลได้ เราทราบว่า neoantigen คือสิ่งที่ทำให้ภูมิคุ้มกันรู้ว่าเป็นเซลล์ที่ผิดปกติ ทำให้เม็ดเลือดขาวโจมตีได้จำเพาะกับเซลล์มะเร็ง แต่บางครั้งการแสดงออกมาถึงความแปลกปลอมของเซลล์มะเร็งนั้น

ไม่มากพอที่จะกระตุ้นเม็ดเลือดขาวให้มาทำลายได้ดัง cancer-immunity cycle หรือภูมิคุ้มกันของร่างกายพลาดที่จะตรวจพบและล้มเหลวในการฆ่าเซลล์เหล่านั้น ดังนั้นการกระตุ้นให้เกิดการจับของเม็ดเลือดขาวกับเซลล์มะเร็ง จึงอาจใช้ neoantigen มาเป็นตัวช่วยได้ โดยวิธีที่กำลังศึกษาอยู่ในปัจจุบันใช้วัคซีนเป็นตัวช่วยเพิ่มจำนวน neoantigen ให้กระตุ้นการตอบสนองของเม็ดเลือดขาวที่จำเพาะกับ neoantigen นั้นมาทำลายเซลล์มะเร็ง เรียกว่า neoantigen vaccine

การจะสร้าง therapeutic cancer vaccine หรือแม้แต่ cancer immunotherapy แบบอื่น ๆ ให้เพิ่มการทำงานของ T cell ให้ได้ประสิทธิภาพที่ดี ต้องอาศัย 3 องค์ประกอบสำคัญที่ทำให้ T cell สามารถจับและทำลาย cancer cell ได้ คือ T cell receptor (TCR), neoantigen และ MHC^(37, 38) (รูปที่ 7⁽⁴¹⁾) การใช้เทคโนโลยี NGS และ bioinformatics prediction ทำให้สามารถหา neoantigen ที่มี high immunogenicity ที่สามารถจับกับ MHC ที่คนไข้นั้น ๆ มีได้ (peptide/MHC หรือ pMHC) รวมไปถึงทำนายความสามารถในการจับของ pMHC กับ TCR ซึ่งจากการศึกษาแบบ in vitro พบว่ายิ่งมี TCR-pMHC binding ที่แข็งแรง จะส่งผลให้ยิ่งมีการตอบสนองของ T cell มากขึ้นเท่านั้น^(39, 40)



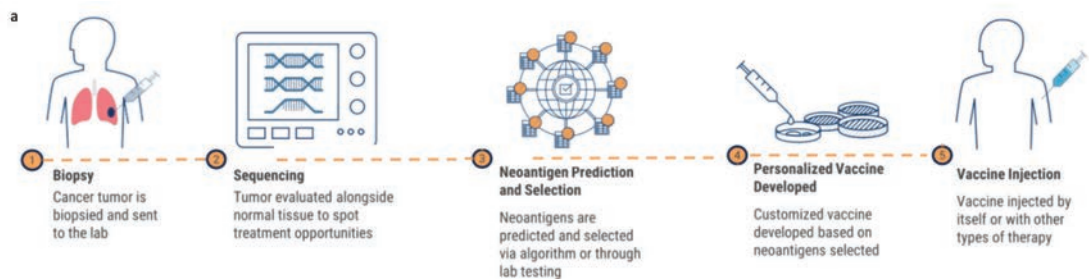
รูปที่ 7. แสดง TCR-pMHC interaction⁽⁴¹⁾

Neoantigens vaccine

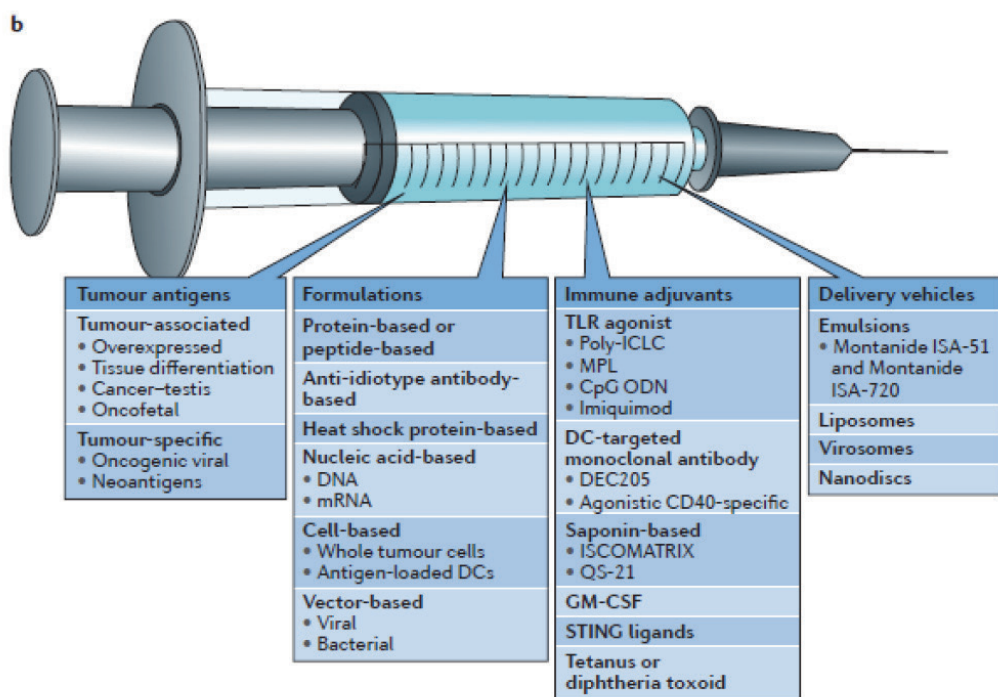
การสร้าง therapeutic cancer vaccine มีจุดมุ่งหมายเพื่อเพิ่มการตอบสนองของเม็ดเลือดขาวต่อมะเร็งโดยกระตุ้น endogenous T cell (active therapy) ในขณะเดียวกันก็ไม่ทำลายเซลล์ปกติรอบข้าง⁽⁴²⁾ โดยเชื่อว่าวัคซีนจะกระตุ้น specific T cell response แบบ de novo และเพิ่มจำนวนของ specific T cell response ที่ร่างกายสร้างไว้อยู่เดิม รวมไปถึงเพิ่มความหลากหลายของ tumor-specific T cell response⁽⁴³⁾

Therapeutic cancer vaccine สามารถทำได้หลายแบบขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของ antigen ที่ใช้เป็นตัวกระตุ้น ไม่ว่าจะเป็น tumor cell vaccine, dendritic cell vaccine, neoantigen DNA/RNA-based vaccine หรือ neoantigen peptide-based vaccine^(8, 16, 44) โดย neoantigen vaccine เป็นวัคซีนในอุดมคติที่น่าสนใจมากที่สุด เนื่องจากมี high immunogenicity ดังที่กล่าวมาแล้ว โดยการออกแบบต้องขึ้นกับคนไข้แต่ละคนว่ามี neoantigen กี่ชนิดและเป็นชนิดไหนบ้างตามผล tissue biopsy ที่ได้มา เลือก neoantigen ที่แสดงออกในเซลล์มะเร็งส่วนใหญ่ (neoantigens prioritization) ผ่านการคำนวณว่าเข้าได้กับ TCR และ MHC ของคนไข้ (high affinity)⁽³⁶⁾ หลังจากเลือก antigen และรูปแบบที่เหมาะสมได้ นำมาให้ร่วมกับ immune adjuvant เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพสร้างเป็น individual-specific vaccine และหาเส้นทางที่เหมาะสมในการฉีด vaccine ให้ได้ผลมากที่สุด (รูปที่ 8 ^(43, 46))

การฉีดวัคซีนเป็นการเพิ่มปริมาณ neoantigens ในร่างกายเรียกว่า antigen spreading⁽⁴⁵⁾ เสมือนเป็นการเพิ่มการ release of cancer cell antigen (ขั้นตอนที่ 1) ของ cancer-immunity cycle (รูปที่ 1) โดยไม่ต้องทำลายเซลล์ข้างเคียงที่ปกติเหมือนการให้เคมีบำบัดหรือรังสีรักษา เพิ่มโอกาสในการเกิดกระบวนการ cancer antigen presentation (ขั้นตอนที่ 2) เพราะ APCs มี neoantigen ให้จับได้มากขึ้น อีกทั้งยังไปกระตุ้น T cell ที่จำเพาะกับ neoantigen นั้นได้ง่ายขึ้น เพราะเป็น neoantigen ที่ผ่านการคัดเลือกมาแล้วว่ามีความเป็นไปได้ในการกระตุ้นและมี TCR-pMHC interaction ได้เป็นอย่างดี⁽²⁵⁾ ส่งผลให้ T cell มีความจำเพาะสูง ทำลายเฉพาะเซลล์มะเร็ง ไม่รบกวนเซลล์ปกติที่ไม่มี somatic mutation ซึ่งผ่านการแสดงออกของ neoantigen อีกทั้งช่วยให้เซลล์เม็ดเลือดขาวสามารถจดจำและตอบสนองต่อการเกิดมะเร็งชนิดเดิมซ้ำขึ้นอีก ลดโอกาสการเกิด recurrence⁽⁵⁾



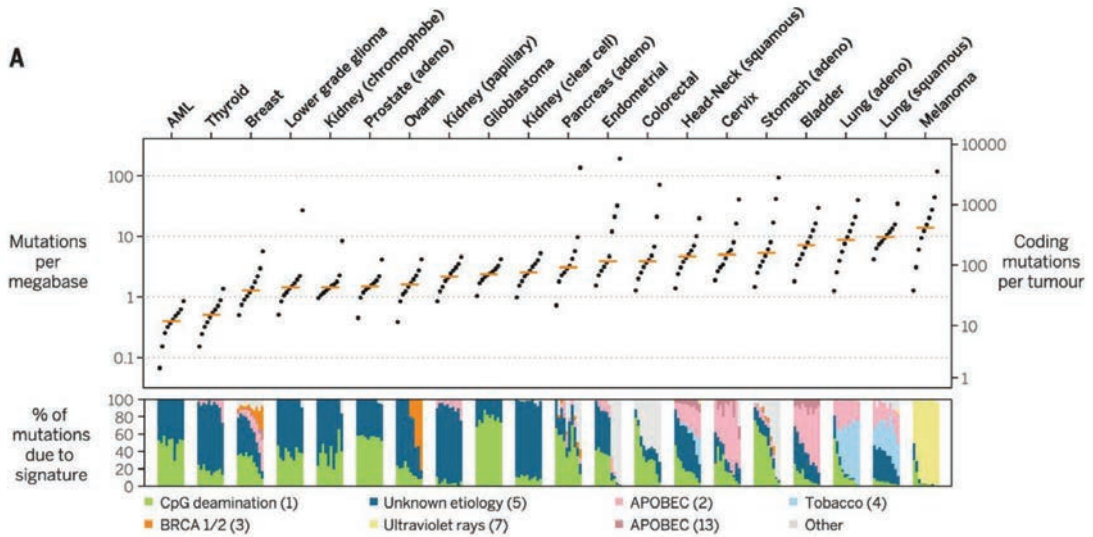
รูปที่ 8ก. แสดงขั้นตอนการทำ therapeutic cancer vaccine⁽⁴⁶⁾



รูปที่ 8ข. แสดงองค์ประกอบของการผลิตวัคซีน⁽⁴³⁾

แต่ไม่ใช่ว่ามะเร็งทุกชนิดจะสามารถรักษาได้ด้วย immunotherapy แล้วให้ผลดีเท่ากัน วัคซีนรักษามะเร็งอาจมีข้อจำกัดทางการใช้ นอกจากปัจจัยทางการผลิตและปัจจัยทางค่าใช้จ่ายแล้ว ปัจจัยของชนิดมะเร็งก็มีผลเช่นเดียวกัน มะเร็งแต่ละชนิดตอบสนองต่อ immunotherapy ต่างกัน เหตุผลอย่างหนึ่งคืออัตราการกลายพันธุ์ของมะเร็งแต่ละชนิดแตกต่างกัน มะเร็งบางชนิดเช่น medulloblastoma, acute leukemia มีการกลายพันธุ์น้อย ในขณะที่มะเร็งกลุ่มที่ถูกกระตุ้นด้วยปัจจัยเสี่ยงจากภายนอก (mutagenic carcinogen exposure) การสูบบุหรี่ การโดนรังสี UV เช่น melanoma หรือ lung cancer มีแนวโน้มของการกลายพันธุ์มากกว่า⁽⁴⁷⁾ เพราะฉะนั้นมะเร็งที่มี mutational load มาก จะมี neoantigens load มาก สัมพันธ์กับการตอบสนองของ T cell ต่อการ

ใช้ immunotherapy มากขึ้น มี clinical outcome ที่ดีและ survival rate มากขึ้น⁽⁴³⁾ มะเร็งกลุ่มที่มี high mutational load จึงเป็นมะเร็งตัวเลือกแรก ๆ ในการนำการรักษาแบบ precision immunotherapy มาใช้ โดยในปัจจุบันเริ่มมีการใช้ immunotherapy ในการรักษามะเร็งกลุ่มนี้ได้แก่ melanoma, lung cancer, bladder cancer เป็นต้น (รูปที่ 9⁽⁴⁷⁾)



รูปที่ 9. แสดง spectrum of somatic mutations in cancer genome⁽⁴⁷⁾

Other forms of precision cancer treatment

Immune checkpoint inhibitor (ICI)

การเกิด anti-tumor response มีอุปสรรคมากมาย ระบบภูมิคุ้มกันส่วนหนึ่งถูกกลไก negative feedback หลายขั้นตอนมายับยั้งการทำลายเซลล์มะเร็งจาก escape mechanism เช่น CTLA-4 บน T cell จับ CD80/86 บน DC cell เกิดเป็นการยับยั้งใน ขั้นตอนที่ 3 หรือ PD-1 บน T cell จับ PD-L1 บนเซลล์มะเร็งเกิดเป็นการยับยั้งในขั้นตอนที่ 7⁽⁴⁸⁾ (รูปที่ 1) immune checkpoint therapy คือ การใช้ antibody พุ่งเป้าไปขัดขวาง checkpoint molecule ที่ยับยั้งการทำงานของ T Cell (มักเป็น CD8+ cytotoxic T cell) เหล่านี้เช่น anti-CTLA-4, anti-PD-1, anti-PD-L1^(18, 49) ทำให้ T cell ถูกปลดปล่อยและกลับมาทำลายเซลล์มะเร็งได้ (รูปที่ 3) ข้อจำกัดของการรักษาวิธีนี้คือ การรักษาได้ผลแตกต่างกันเนื่องจากบางคนมีการยับยั้งในแต่ละขั้นตอน มากน้อยต่างกัน tumor relapse จาก escape mechanism ไม่มี biomarker ที่ใช้บ่งบอกการตอบสนองหรือการเป็นพิษต่อร่างกาย รวมไปถึงทำให้เกิด autoimmune-like reaction⁽⁴⁴⁾

Neoantigen สามารถนำมาต่อยอดในการรักษาด้วย ICI โดยมีการศึกษาพบว่า การตอบสนองของ T cell ต่อ neoantigen เพิ่มขึ้นเมื่อใช้ร่วมกับ anti-CTLA-4 ในการรักษา melanoma⁽⁵⁰⁾

รวมถึงพยากรณ์ clinical response เพราะสัมพันธ์กับ mutational load ตาม neoantigen⁽⁵¹⁾ ตัวอย่างการใช้ในปัจจุบัน เช่น anti-CTL-A4: Ipilimumab ใน melanoma⁽⁵²⁾, anti-PD-1: Nivolumab ใน melanoma และ lung cancer⁽⁵³⁾

Tumor-directed monoclonal antibody (anti-tumor mAb)

Monoclonal antibody คือ antibody ที่สร้างมาเพื่อให้ต่อสู้กับสิ่งแปลกปลอมที่จำเพาะชนิดเดียว (single epitope) นำมาใช้ในการรักษามะเร็งโดยการสร้าง Ab ที่สามารถจับกับ tumor antigen แล้วกระตุ้นให้เกิดการทำลายเซลล์นั้นผ่าน macrophage (เรียกว่า antibody-dependent cellular cytotoxicity, ADCC) หรือทำลายเซลล์ผ่าน complement cascade (เรียกว่า complement-dependent cytotoxicity, CDC)⁽⁵⁴⁾ mAb ยังสามารถนำมาใช้เป็นเป้าให้ cytotoxic agent เข้าไปเลือกทำลายแต่เซลล์มะเร็งได้ เช่น ใช้ mAb ที่มียา, cytokine, enzyme หรือสาร radioisotope อยู่ด้วย⁽⁵⁵⁾ ไปจับกับ tumor antigen ให้เกิดการทำลายเฉพาะที่เซลล์นั้น ๆ (antibody drug conjugate, ADC)⁽⁴⁴⁾ เพื่อลดผลข้างเคียงที่จะเกิดกับเซลล์ปกติข้างเคียงอย่างการให้รังสีรักษาหรือเคมีบำบัด ซึ่งการใช้ mAb เป็นการรักษาแบบ immunotherapy ที่ใช้ในปัจจุบันและได้รับการยอมรับมากที่สุด ตัวอย่างการใช้ในปัจจุบันเช่น rituximab, transtuzumab, cetuximab, pertuzumab ที่ใช้ในการรักษามะเร็งเต้านม มะเร็งลำไส้ใหญ่ มะเร็งต่อมน้ำเหลือง เป็นต้น แต่ก็ยังมีอาการข้างเคียงหลายอย่างเช่น ไข้ ปวดเมื่อยตามตัว คลื่นไส้อาเจียนไปจนถึงหายใจลำบากได้⁽⁵⁶⁾

Oncolytic virus therapy

เป็นการใช้ไวรัสทั่วไปหรือผ่านการดัดแปลงพันธุกรรม⁽⁵⁷⁾ ให้เข้าไปแบ่งตัวในเซลล์มะเร็งจนทำให้เกิด primary cell death โดย oncolytic response หรือเกิด endogenous antitumor response จากการกระตุ้น innate และ adaptive immunity ผ่านการปล่อยสาร danger signal เช่น danger-associated molecular pattern signal, TAA⁽⁵⁸⁾ โดยเชื่อว่าไวรัสจะเพิ่มจำนวนเฉพาะเซลล์มะเร็งเนื่องจากบกพร่องกลไกต่อสู้กับไวรัส⁽⁴⁴⁾ ข้อจำกัดของวิธีนี้คือยังไม่มี administration route ที่เหมาะสมเท่าไรนัก การฉีดเข้าทางหลอดเลือดดำหรือแดง ทำให้เกิดกำจัดยาที่เร็วเกิน (rapid elimination) ส่วน intratumor assess พบว่าอาจให้การตอบสนองที่ไม่ดี เช่น T-VEC ใน melanoma⁽⁵⁹⁾

Adoptive T cell: tumor infiltrating lymphocyte (TIL)

เป็นการเพิ่มปริมาณ T cell ที่จำเพาะกับมะเร็งนั้นให้สามารถทำลายมะเร็งได้มากขึ้น โดยนำ T cell ที่ได้จากชิ้นเนื้อมะเร็งที่ตัดออกมา มาเลือกและเพาะเพิ่มจำนวน (selection และ isolation) ในห้องปฏิบัติการ โดยใช้ growth factor เช่น IL-2⁽⁶⁰⁾ แล้วใส่กลับเข้าไปในตัวคนไข้ แต่ไม่ได้มีการตัดต่อพันธุกรรมของ T cell เป็นการใช้ T cell ของร่างกายที่สามารถจำเซลล์มะเร็งนั้นได้อยู่แล้ว

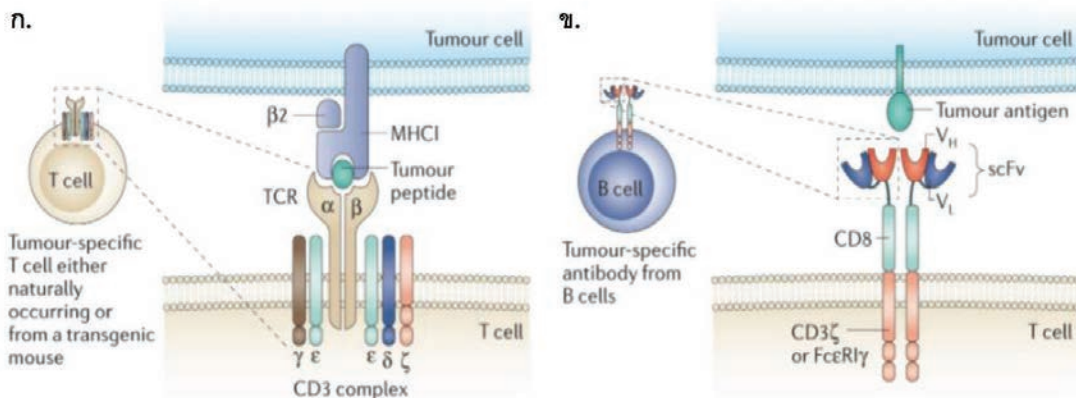
ทำให้มีข้อดีคือ ไม่จำเป็นต้องหา neoantigen หรือ HLA typing ของคนไข้ อีกทั้งยังมีความจำเพาะต่อมะเร็งแบบ heterogeneity อีกด้วย ทำให้มี highly specific ต่อมะเร็งและ low toxicity ต่อเซลล์ข้างเคียง⁽⁴⁴⁾ ข้อจำกัดคือ กระบวนการเก็บและเพาะยาก อาจจะยังนำมาใช้ในทางคลินิกได้ลำบาก

T cell receptor (TCR) gene-modified T cell therapy

เป็นการนำ T cell จากตัวคนไข้หรือผู้อื่นมาติดต่อพันธุกรรมของ receptor ให้สามารถจับแบบจำเพาะกับเซลล์มะเร็งโดยจับกับเป้าหมาย tumor antigen ผ่านการนำเสนอจาก MHC molecule⁽⁴⁴⁾ เมื่อทำการดัดแปลงและเพิ่มจำนวน T cell แล้วจึงใส่กลับเข้าไปในตัวคนไข้ให้ไปทำลายมะเร็ง ทำให้สามารถกระตุ้นให้ T cell ทำงานตอบสนองได้มากขึ้นและยังมีความจำเพาะสูงกับ tumor antigen แต่วิธีนี้มีข้อจำกัดคือ T cell ต้องอาศัย MHC ในการนำเสนอ ทำให้ใน solid tumor ที่มีกระบวนการ evasion จากการ down regulation ของ MHC ตอบสนองต่อการรักษาไม่ดีเท่าไร มีการทำลายเซลล์ปกติข้างเคียงเมื่อนำมาใช้ในทางคลินิก⁽⁶¹⁾ อีกทั้ง HLA allele มีความหลากหลายในแต่ละบุคคล ทำให้การติดต่อ TCR ต้องทำขึ้นมาเฉพาะบุคคลนั้น⁽⁶²⁾ TCR จึงยังไม่เป็นที่นิยมมากนัก

Chimeric antigen receptor T cell: CAR-T therapy

เป็นการนำ T cell จากตัวคนไข้หรือผู้อื่นมาติดต่อพันธุกรรมของ receptor เช่นเดียวกับ TCR แต่ต่างกันตรงที่ออกแบบให้เป็น antibody-based บริเวณ extracellular domain สามารถจับ tumor antigen ที่อยู่บนผิวของ cell โดยไม่ต้องพึ่ง MHC⁽⁴⁴⁾ (รูปที่ 10⁽⁶⁶⁾) ซึ่งสร้างโดยการใส่ CAR genes ผ่านพาหะไวรัสเข้าไปใน T cell⁽⁶³⁾ CAR ไม่จำเป็นต้องใช้ MHC ในการนำเสนอจึงสามารถจับได้ทั้ง antigen, carbohydrate, proteoglycan ที่อยู่บนผิวเซลล์⁽⁶⁴⁾ การนำมาใช้ทางคลินิกได้ผลที่ดีมากใน Hematologic malignancies แต่ยังมีข้อจำกัดคือยังได้ผลการรักษาที่ไม่ดีนักใน solid tumor ยังไม่มีความจำเพาะต่อมะเร็งมากพอจนทำให้เกิดการทำลายเซลล์ปกติข้างเคียง รวมไปถึงภาวะ cytokine release syndrome (CRS) เนื่องจากมีการปล่อยสาร cytokine จำนวนมากจนทำให้เกิดไข้ต่ำ ๆ DIC หรืออาจร้ายแรงจนถึงขั้น RS/CLS failure ได้⁽⁴⁴⁾ ตัวอย่างการใช้ในปัจจุบันเช่น anti-CD19 CAR-T: tisagenlecleucel (FDA approval) ในการรักษา B cell ALL ในคนไข้ที่อายุน้อยกว่า 25 ปี⁽⁶⁵⁾



รูปที่ 10. แสดงความแตกต่างของ TCR และ CAR-T therapy⁽⁶⁶⁾

ก. แสดงถึง TCR สามารถจับกับ tumor antigen ที่ต้องอาศัยการนำเสนอด้วย MHC บนผิวมะเร็ง
 ข. แสดงถึง CAR-T therapy มี antibody ที่ extracellular domain สามารถจับ tumor antigen บนผิวเซลล์มะเร็งได้โดยไม่ต้องมี MHC

Precision cancer treatment: update on clinical practice

Urological malignancy

Prostate cancer

มะเร็งต่อมลูกหมากเหมาะสำหรับการใช้ immunotherapy ในการรักษาด้วยหลายเหตุผล ทั้งเป็นมะเร็งที่สามารถพบ tumor-associated antigen (TAA) มาเป็นเป้าหมายของวัคซีนได้มาก มะเร็งต่อมลูกหมากยังเป็นมะเร็งที่โตช้าและสามารถตรวจพบได้เร็ว (early detection) จากค่า PSA ทำให้เริ่มรักษาได้เร็ว เหมาะกับวัคซีนมะเร็งที่ต้องใช้ระยะเวลาเป็นหลักเดือนกว่าจะได้ระดับการรักษาที่ได้ผล อีกทั้งทำให้ได้ผลการรักษาที่ดีกว่าเพราะในระยะแรกยังมีปริมาณเซลล์มะเร็งไม่มาก ร่วมกับระบบภูมิคุ้มกันยังทำงานได้ดีตอบสนองต่อการสร้าง exogenous immunotherapy⁽⁶⁷⁾

Sipuleucel-T (dendritic vaccine)

เป็น therapeutic cancer vaccine ตัวแรกในคนที่ได้รับการรับรองจาก FDA ตั้งแต่ปี ค.ศ. 2010⁽⁴³⁾ ใช้รักษาคนไข้ metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC) ที่ไม่มีอาการหรือมีอาการน้อย โดยอาศัย dendritic cell ของคนไข้แต่ละคน การศึกษาของ IMPACT Study พบว่า ช่วยเพิ่ม OS อย่างมีนัยสำคัญ เพิ่ม median survival 4.1 เดือน (25.8 เดือนใน sipuleucel และ 21.7 เดือนใน control) และเพิ่มอัตราการรอดชีวิตใน 3 ปี (ร้อยละ 37.1 ใน sipuleucel และ ร้อยละ 23.0 ในกลุ่มควบคุม) ถึงแม้จะไม่มีต่อ time to disease progression ก็ตาม⁽⁶⁸⁾

PROSTVAC (viral-based vaccine)

เป็นวัคซีนรักษามะเร็งโดยใช้ poxvirus เป็นพาหะในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน มีการพยายามนำ PROSTVAC มาใช้ในการรักษามะเร็ง mCRPC พบว่าช่วยเพิ่ม OS ใน phase II⁽⁶⁹⁾ แต่หลังจากศึกษา phase III พบว่า PROSTVAC อย่างเดียวไม่ช่วยเพิ่ม OS เมื่อเทียบกับการให้ PROSTVAC ร่วมกับ GM-CSF และ placebo (median survival 34.4 และ 33.2 และ 34.3 เดือน ตามลำดับ)⁽⁷⁰⁾ โดยสรุปแล้วยังไม่มีหลักฐานชัดเจนเกี่ยวกับประสิทธิภาพของวัคซีนนี้ แต่การให้ร่วมกับยาอื่น (combination therapy) อาจต้องได้รับการศึกษาต่อไป

Personalized peptide vaccine (PPV)

เป็นการสกัด peptide จากพื้นผิวของเซลล์มะเร็งของคนไข้ในหลาย ๆ ตำแหน่ง และนำมาสร้างเป็นวัคซีนมีการศึกษาครั้งแรกในปี ค.ศ. 2010⁽⁷¹⁾ โดยศึกษาเปรียบเทียบผลของการยับยั้งมะเร็งและผลข้างเคียงของ PPV ร่วมกับ estramustine phosphate (EMP) แบบขนาดต่ำ (280 มก./วัน) เทียบกับ EMP ขนาดมาตรฐาน (500 มก./วัน) ใน metastatic หรือ nonmetastatic CRPC จำนวน 57 ราย การศึกษาพบว่า progression-free survival (PFS) เป็น 8.5 เดือนในกลุ่มที่ได้รับ PPV และ EMP ขณะที่กลุ่มที่ได้รับ EMP อย่างเดียวได้เพียง 2.8 เดือน และ os ยาวกว่าในกลุ่มที่ได้รับวัคซีนอย่างมีนัยสำคัญ

การศึกษาในปี ค.ศ. 2016⁽⁷²⁾ ได้นำคนไข้ CRPC ในระยะเริ่มต้น (asymptomatic or minimally symptomatic) ที่ยังไม่เคยได้รับยาเคมีบำบัดมาก่อน จำนวน 72 ราย มาสุ่มเลือกรับ PPV และ low-dose dexamethasone เทียบกับ dexamethasone อย่างเดียวในอัตราส่วน 1: 1 โดยกลุ่มที่ได้รับ dexamethasone อย่างเดียว ถ้าพบว่ามี biochemical หรือ radiographic progression จะถูกให้ PPV และ low-dose dexamethasone แทน พบว่า progression free survival ในกลุ่มให้ PPV และ low-dose dexamethasone เป็น 22 เดือน และในกลุ่มที่ได้รับ dexamethasone เพียงอย่างเดียวเป็น 7 เดือน ส่วน median os ในกลุ่ม PPV และ low-dose dexamethasone เป็น 73.9 เดือน และในกลุ่ม dexamethasone เพียงอย่างเดียวเป็น 34.9 เดือน ซึ่งจากการศึกษานี้ ทำให้ PPV ได้ถูกนำมาศึกษามากขึ้นในกลุ่ม CRPC ระยะเริ่มต้น

Bladder cancer

Bacillus calmette-guerin (BCG)

BCG เป็น immune-modulating agent ใช้เป็นการรักษามาตรฐานสำหรับมะเร็งกระเพาะปัสสาวะที่ได้รับรองจาก FDA ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1990 ปัจจุบันถูกแนะนำในการรักษาอ้างอิงจาก NCCN guidelines⁽⁷³⁾ ให้ทำ intravesical BCG หลังทำ TUR-BT เพราะจากการศึกษา meta-analyses พบว่าช่วยลดการเป็นซ้ำในมะเร็งกระเพาะปัสสาวะประเภท high-grade Ta and T1⁽⁷⁴⁾ ถึงแม้ว่า

จะยังไม่สามารถอธิบายกลไกการทำงานได้อย่างชัดเจน แต่พบว่าช่วยกระตุ้นการเกิด antitumor response ได้ทั้ง innate และ adaptive immunity โดย BCG เข้าไปอยู่ในเซลล์มะเร็งของกระเพาะปัสสาวะ (internalization) ทำลายเซลล์โดยตรง และ BCG antigen ยังไปกระตุ้นการทำงานของ APC นำเสนอผ่าน MHC ให้ T cell มารวมตัวที่กระเพาะปัสสาวะ ทำลายเซลล์มะเร็งโดย cytotoxic T cell ได้^(75, 76)

Atezolizumab (anti-PD-L1 antibody: ICI)

การรักษามาตรฐานของ locally advanced และ metastatic urothelial carcinoma คือการใช้เคมีบำบัดด้วยยา cisplatin แต่คนไข้เกือบร้อยละ 50 ไม่เหมาะสมด้วยจากอายุ โรคประจำตัว หรือโรคไต⁽⁷⁷⁾ การใช้เคมีบำบัดสูตรอื่นให้ผลการรักษาไม่ดีนก จนเมื่อปี ค.ศ. 2016 atezolizumab ได้รับการรับรองจาก FDA เป็น second-line ในการรักษา locally advanced และ metastatic bladder cancer แต่เป็น first-line ในการรักษาคนไข้ที่ไม่สามารถใช้หรือไม่ตอบสนองต่อ cisplatin-based treatment⁽⁷⁸⁻⁷⁹⁾ การศึกษา phase III IMvigor211 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของ atezolizumab กับการให้ chemotherapy ชนิดอื่นในผู้ป่วย locally advanced และ metastatic urothelial carcinoma ที่ไม่สามารถใช้ platinum-based chemotherapy พบว่า OS ไม่ต่างกัน แต่ atezolizumab มีผลข้างเคียงน้อยกว่า⁽⁸⁰⁾

Personalized peptide vaccine (PPV)

ในมะเร็งกระเพาะปัสสาวะยังมีการศึกษาค่อนข้างน้อย ในปี ค.ศ. 2016⁽⁸¹⁾ มีการศึกษาครั้งแรกในคนไข้ 80 ราย ที่เป็นมะเร็งกระเพาะปัสสาวะ และมีการลุกลามหลังจากได้ platinum-based chemotherapy โดยสุ่มในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 ให้ได้รับ PPV และ best supportive case (BSC) เทียบกับ BSC อย่างเดียว พบว่า progression-free survival (PFS) ไม่มีความแตกต่างระหว่าง 2 กลุ่ม แต่ median os ยาวกว่าในกลุ่ม PPV และ BSC (7.9 เดือน) เทียบกับ BSC อย่างเดียว (4.1 เดือน)

Renal cell carcinoma (RCC)

RCC เป็นมะเร็งเป้าหมายหลักของการใช้ immunotherapy เนื่องจากไม่ค่อยมีรังสีรักษา หรือยาเคมีบำบัดที่มีประสิทธิภาพมากนักในการรักษา metastatic RCC⁽⁶⁷⁾ การพยายามใช้ immunotherapy เริ่มต้นขึ้นเมื่อพบว่า ผู้ป่วยที่มีการแสดงออกของ PD-L1 มักสัมพันธ์กับพยากรณ์โรคที่ไม่ดีของ RCC เนื่องจากบ่งบอกถึงการมี immunosuppression จึงเชื่อว่าหากขัดขวาง PD-1-PD-L1 interaction จะช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันได้⁽⁸²⁾ ทำให้การรักษา RCC เดิมที่เน้น antiangiogenic therapy (VEGF pathway) เปลี่ยนมาเป็น anti-PD-1-based therapy เป็นหลักทั้งในยาที่เป็นด่านแรก ๆ รวมไปถึงยาทางเลือกอื่น ๆ

Nivolumab (anti-PD1 antibody: ICI)

มีการศึกษาพบว่า nivolumab ช่วยเพิ่ม OS ในคนไข้เมื่อเทียบกับการรักษาด้วย everolimus (antiangiogenic therapy)⁽⁸²⁾ ยา ini จึงได้รับการรับรองจาก FDA ในปี ค.ศ. 2015 เป็นยาตัวแรกในการรักษา RCC โดยเป็น second-line ในผู้ป่วย advanced RCC⁽⁸³⁾ ต่อมาในปี ค.ศ. 2018 FDA รับรองการรักษาด้วย nivolumab ร่วมกับ ipilimumab (anti-CTLA4) ให้เป็นการรักษา first-line สำหรับคนไข้ advanced clear cell RCC กลุ่ม intermediate and poor-risk รวมถึงใน NCCN guideline⁽⁸⁴⁾ เนื่องจากการศึกษา phase III checkmate214 พบว่าการให้ nivolumab ร่วมกับ ipilimumab ช่วยเพิ่ม OS และ PFS มากกว่าการให้ sunitinib อย่างมีนัยสำคัญ⁽⁸⁵⁾

Pembrolizumab (anti-PD1 antibody: ICI)

ในปี ค.ศ. 2019 FDA รับรองการรักษาด้วย pembrolizumab ร่วมกับ axitinib (antiangiogenic therapy) ให้เป็น first-line ในการรักษา RCC⁽⁸⁶⁾ การศึกษา phase III KEYNOTE-426 พบว่าการใช้ pembrolizumab ร่วมกับ axitinib ใน untreated advanced RCC เพิ่ม OS, PFS และ objective response rate เมื่อเทียบกับการใช้ sunitinib อย่างมีนัยสำคัญ⁽⁸⁷⁾ มีการศึกษา post-hoc analysis เพื่อประเมินหลังติดตามเป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่ายังคงให้ประสิทธิภาพที่ดีกว่าการใช้ sunitinib (ระยะเวลาการติดตาม median 27 เดือน)⁽⁸⁸⁾

Cancer vaccines in RCC

ก่อนหน้านี้มีหลายการศึกษาพยายามผลิตวัคซีนเพื่อใช้ในการรักษา RCC มาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1987⁽⁸⁹⁾ หลายการศึกษาได้เข้าไปถึงการทําวิจัย phase III ซึ่งยังได้ผลที่ไม่น่าพึงพอใจเท่าไรนัก แต่การหา therapeutic vaccine สำหรับ RCC ยังไม่ถึงทางตัน การศึกษาล่าสุดที่มาได้ไกลที่สุดในปัจจุบันคือการทำ dendritic vaccine ชื่อ AGS-003 คล้ายกับ sipuleucel-T ที่ใช้รักษา prostate cancer ซึ่งขณะนี้กำลังศึกษาอยู่ใน phase III⁽⁹⁰⁾ คาดว่าน่าจะได้ผลการรักษาที่ดี โดยอ้างอิงจากการศึกษา phase II ในปี ค.ศ. 2012 คนไข้ metastatic clear cell RCC ที่วินิจฉัยใหม่ 21 ราย ได้ถูกทำ nephrectomy หรือ metastasectomy เพื่อให้ได้เนื้อเยื่อสกัด mRNA เพื่อนำไปสร้าง autologous monocyte และผลิต personalized dendritic cell-based vaccine (AGS-003) คนไข้จะได้รับยา sunitinib ร่วมกับ AGS-003 พบว่าในคนไข้กลุ่ม intermediate risk (1-2 MSKCC risk factor) มี progression-free survival 14.9 เดือน และ median overall survival มากกว่า 28.3 เดือน และในกลุ่ม poor risk (3-4 MSKCC risk factor) มี progression-free survival 6 เดือน และ median overall survival 7.9 เดือน โดยที่ทั้งหมดไม่มี grade 3/4 AEs รายงานเลย⁽⁹¹⁾

other malignancy

Melanoma

เป็นมะเร็งที่มีอัตราการกลายพันธุ์ของยีนสูง (high genetic heterogeneity) (รูปที่ 10) การรักษาด้วยยาเคมีบำบัดตอบสนองไม่ดีเพราะดื้อยาได้ง่าย ทำให้ยังไม่มีการรักษา advanced melanoma ที่ให้ผลน่าพึงพอใจนอกไปจากการผ่าตัด melanoma จึงเป็นตัวเลือกแรก ๆ ที่ถูกเลือกนำมารักษาด้วย immunotherapy เพราะคาดว่าจะตอบสนองต่อการรักษาได้ดีจนกลายเป็นจุดเปลี่ยนของการพัฒนา immunotherapy ใน solid tumor

Ipilimumab (anti-CTLA-4 antibody: ICI)

เป็นการรักษาอย่างแรกที่เพิ่ม median และ long-term survival rate ใน metastatic melanoma^(52, 92) จึงได้รับการรับรองจาก FDA ในปี ค.ศ. 2011 ทั้งในรูปแบบ monotherapy และ combination therapy ตามมาในปี ค.ศ. 2015 โดยการให้ร่วมกับ nivolumab เป็น first-line therapy สำหรับ unresectable/metastatic melanoma กลุ่มที่ไม่มี BRAF mutation⁽⁹³⁾ มีสองการศึกษาที่สนับสนุนการรับรองนี้ เนื่องจากพบว่าช่วยเพิ่ม OS, PFS และการตอบสนองขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เทียบกับการให้ monotherapy (nivolumab, ipilimumab) เพียงอย่างเดียวในการรักษา advance melanoma กลุ่มที่ไม่มี BRAF mutation แต่ในขณะเดียวกันก็เพิ่มผลข้างเคียงตามมาด้วย^(94, 95) ปัจจุบันพบว่า ipilimumab ด้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม anti-PD1 antibody ที่พัฒนาทีหลัง ความนิยมจึงเริ่มลดลงในยากลุ่มนี้

Pembrolizumab (anti-PD1 antibody: ICI)

เป็น anti-PD1 ตัวแรกที่ได้รับรองจาก FDA เป็น monotherapy ในการรักษา unresectable/metastatic melanoma ในผู้ป่วยที่มี disease progression หลังได้ ipilimumab⁽⁹⁶⁾ อิงจากการศึกษา phase II keynote 002 ปี ค.ศ. 2015 พบว่าเพิ่ม PFS เมื่อเทียบกับการให้ยาเคมีบำบัด⁽⁹⁷⁾ เมื่อความนิยมของ anti-PD-1 เพิ่มขึ้นและค้นพบว่ามีผลข้างเคียงที่น้อยกว่า anti-CTLA-4 จึงมีการศึกษา Phase III keynote 006 เปรียบเทียบระหว่าง pembrolizumab กับ ipilimumab พบว่า pembrolizumab มีประสิทธิภาพดีกว่าทั้งในแง่ OS, PFS และมี side effect น้อยกว่าการใช้ ipilimumab⁽⁹⁸⁾ ปัจจุบัน NCCN guidelines 2020 จึงเลือกใช้ pembrolizumab (preferred regimens) เหนือกว่า ipilimumab⁽⁹⁹⁾

Nivolumab (anti-PD1 antibody: ICI)

เป็น anti-PD1 อีกหนึ่งตัวที่ได้รับรองจาก FDA ในปี ค.ศ. 2014 เป็น monotherapy ในการรักษา metastatic melanoma ในกลุ่มที่ไม่มี BRAF mutation โดยการศึกษา phase III Checkmate 066 เปรียบเทียบ nivolumab กับ dacarbazine ซึ่งเป็นการยาเคมีบำบัดสูตรมาตรฐาน พบว่า Nivolumab เพิ่ม 1-year survival rate, OS และ PFS เทียบกับ dacarbazine⁽¹⁰⁰⁾ ประกอบ

กับการศึกษา phase III checkmate 037 ที่พบว่าผู้ป่วยที่เคยได้รับ ipilimumab ยังสามารถตอบสนองต่อการให้ nivolumab ได้ ปัจจุบัน NCCN guidelines จึงได้นำ nivolumab มาใช้เป็นการรักษา first-line therapy (category 1) ใน unresectable/metastatic melanoma⁽⁹⁹⁾ นอกจากนี้ FDA ยังรับรองการใช้ nivolumab ร่วมกับ ipilimumab ดังที่กล่าวไปข้างต้น

Talimogene laher-parepvec (T-VEC)

เป็นการใช้ herpes simplex virus-1 ที่ผ่านการดัดต่อพันธุกรรมในการผลิตวัคซีนเพื่อให้เข้าไปเพิ่มจำนวนในเซลล์มะเร็ง ส่งผลให้กระตุ้นภูมิคุ้มกันและสร้าง granulocyte macrophage–colony stimulating factor (GM-CSF) ดึงดูด antigen presenting cell นำไปสู่การนำเสนอให้ T cell⁽¹⁰¹⁾ โดยต้องฉีดเข้าไปในตุ่มมะเร็ง (intralesion) ทำให้มีผลข้างเคียงน้อยกว่าการใช้ immunotherapy แบบอื่น การศึกษา phase III OPTiM พบว่า T-VEC เพิ่ม response rate และ median OS เมื่อเทียบกับการให้ GM-CSF⁽¹⁰²⁾ จึงเป็น Oncolytic therapy ตัวแรกที่ได้รับรองจาก FDA ในปี 2015 สำหรับรักษา melanoma ที่แพร่กระจายไปผิวหนังหรือต่อมน้ำเหลือง⁽¹⁰³⁾ และเป็น initial treatment ในปัจจุบันตามคำแนะนำของ NCCN guidelines ปี ค.ศ. 2020 สำหรับรักษา melanoma กลุ่มนี้

Personalized neoantigens vaccine

เริ่มมีการทดลองนำ personalized vaccine มาใช้ในรักษามะเร็งตั้งแต่ปี ค.ศ. 2017 โดยเริ่มจาก melanoma เป็นชนิดแรก มีสองการศึกษาที่ช่วยยืนยันถึงประสิทธิภาพของวัคซีนในขั้นต้น การศึกษาแรกเป็น phase I ของ Patrick และคณะนำผู้ป่วย high-risk melanoma (stage IIIB ขึ้นไป) มาให้วัคซีนจำเพาะบุคคลหลังผ่าตัด พบว่า 4 ใน 6 รายไม่พบการเกิดโรคซ้ำเมื่อตรวจติดตามไปเฉลี่ย 25 เดือน⁽¹⁰⁴⁾ การศึกษาที่สองเป็น phase I ของ Sahin และคณะ พบว่าวัคซีนช่วยเพิ่มการตอบสนองของ T cell, ลดการเกิดโรคซ้ำและอาจรวมไปถึงเพิ่ม PFS⁽¹⁰⁵⁾

Colorectal cancer

Pembrolizumab (anti-PD1 antibody: ICI)

เป็น first-line treatment ตัวแรกที่ได้รับรองเมื่อปี ค.ศ. 2020 ให้เป็น monotherapy สำหรับผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่ที่ผ่าตัดไม่ได้หรือเป็นระยะแพร่กระจายที่มี microsatellite instability-high (MSI-H) หรือ mismatch repair deficient (dMMR) อ้างอิงจากการศึกษา phase III KEYNOTE177 พบว่า ในผู้ป่วย MSI-H/dMMR unresectable/metastatic colorectal cancer การให้ pembrolizumab เพิ่ม PFS และลดผลข้างเคียงเมื่อเทียบกับการให้ยาเคมีบำบัด⁽¹⁰⁶⁾ ส่วนด้านอัตราการรอดชีวิตต้องการการศึกษาระยะยาวต่อไป

Therapeutic cancer vaccine

ความพยายามในการใช้ cancer vaccine ใน CRC ยังไม่ค่อยประสบความสำเร็จนัก มีการใช้วัคซีนหลายแบบทั้ง autologous, peptide, dendritic cell vaccine แม้กระทั่ง viral-based vaccine ที่มีประสิทธิภาพดีในมะเร็งชนิดก่อนอื่น ๆ กลับให้ผลที่ไม่ค่อยดีนักใน CRC หลายการศึกษาให้ผลไม่สอดคล้องกันในการใช้ไวรัสแต่ละชนิด⁽¹⁰⁷⁾ เช่น การใช้ HSV-based vaccine ในคนไข้พบว่าอาจจะช่วยควบคุมโรคได้⁽¹⁰⁸⁾ แต่การศึกษาที่ใช้ pox virus ไม่ช่วยให้อาการและการตอบสนองของภูมิคุ้มกันดีขึ้น⁽¹⁰⁹⁾ โดยรวมแล้วปัจจุบันยังไม่มียาวัคซีนมะเร็งสำหรับ CRC ที่ได้ประโยชน์ในแง่อัตราการรอดชีวิตเมื่อเทียบกับการรักษามาตรฐาน⁽¹¹⁰⁾ ทำให้ยังไม่สามารถนำมาใช้ในทางคลินิกได้ การพัฒนาของวัคซีนใน CRC ยังต้องทำต่อไปและเริ่มเน้นไปในการให้เป็น combine therapy ร่วมกับ ICI, chemotherapy

Pancreatic cancer

Pembrolizumab (anti-PD1 antibody: ICI)

มะเร็งตับอ่อนมักมีพยากรณ์โรคที่ไม่ดี การรักษาที่ยังมีประสิทธิภาพไม่ดีและมีอัตราการรอดชีวิตต่ำ การใช้ immunotherapy เองก็ยังไม่ได้เปลี่ยนแปลงการรักษาทางคลินิกของมะเร็งนี้ไปในทางที่ดีเท่าไรนัก ปัจจุบัน FDA รับรองการใช้ pembrolizumab เพียงตัวเดียวในการรักษา advanced pancreatic cancer เฉพาะกลุ่มที่มี microsatellite instability (MSI-H) หรือ DNA mismatch repair (dMMR) ซึ่งพบแค่ร้อยละ 1-2 ของ pancreatic cancer⁽¹¹¹⁾

GVAX vaccine (whole tumor cell vaccine)

เป็น GM-CSF gene-transfected tumor cell vaccine เป็นวัคซีนที่มีมานานหลายสิบปีแล้ว ถึงแม้จะผ่านการศึกษา phases I และ II ที่เหมือนจะช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกัน^(112, 113) แต่จากการศึกษา ECLIPSE study ในปี ค.ศ. 2015 พบว่าการให้ GVAX ร่วมกับ cyclophosphamide และ *Listeria*-based vaccine ไม่ช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิตไปมากกว่ายาเคมีบำบัด⁽¹¹⁴⁾ ทำให้ปัจจุบัน GVAX vaccine รวมไปถึง *Listeria*-based vaccine ไม่ได้ได้รับการศึกษาต่อ

precision cancer treatment: ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

ปัจจุบันทางคณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยได้มีการพัฒนา neoantigens vaccines โดยร่วมมือกับแพทย์ผู้เชี่ยวชาญด้านมะเร็งในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ เพื่อเก็บรวบรวมตัวอย่างมะเร็งของผู้ป่วยมาทำนาย neoantigens ไปใช้ผลิตวัคซีนรักษามะเร็ง ซึ่งปัจจุบันได้มีการเก็บข้อมูลสำหรับ melanoma, breast cancer, colon cancer แล้ว และยังต้องการตัวอย่างมะเร็งชนิดอื่น ๆ อีกทั้งขณะนี้กำลังทำวิจัยศึกษา phase I ในการให้ neoantigens vaccines สำหรับผู้ป่วย advanced solid tumor ในโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์

เอกสารอ้างอิง

1. Hyuna Sung PhD, Jacques Ferlay MSc, ME, Rebecca L. Siegel MPH, Mathieu Laversanne MSc, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries: GLOBOCAN sources and methods. *A Cancer Journal for Clinicians* 2021;209-49.
2. Bray F, Jemal A, Grey N, Ferlay J, Forman D. Global cancer transitions according to the Human Development Index (2008-2030): a population-based study. *Lancet Oncol* 2012;13:790-801.
3. Galluzzi L, Vacchelli E, Bravo-San Pedro JM, Buqué A, Senovilla L, Baracco EE, et al. Classification of current anticancer immunotherapies. *Oncotarget* 2014;5:12472-508.
4. Pan-cancer analysis of whole genomes. *Nature* 2020;578:82-93.
5. Kudrin A, Hanna MG, Jr. Overview of the cancer vaccine field: are we moving forward? *Hum Vaccin Immunother* 2012;8:1135-40.
6. Boon T, Cerottini J-C, Van Den Eynde B, Van Der Bruggen P, Van Pel A. Tumor antigens recognized by T lymphocytes. *Annu Rev Immunol* 1994;12:337-65.
7. Chen DS, Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity* 2013;39:1-10.
8. Hollingsworth RE, Jansen K. Turning the corner on therapeutic cancer vaccines. *NPJ Vaccines* 2019;4:7.
9. Motz GT, Coukos G. Deciphering and reversing tumor immune suppression. *Immunity* 2013;39:61-73.
10. Chen DS, Mellman I. Elements of cancer immunity and the cancer-immune set point. *Nature* 2017;541:321-30.
11. Soularue E, Lepage P, Colombel JF, Coutzac C, Faleck D, Marthey L, et al. Enterocolitis due to immune checkpoint inhibitors: a systematic review. *Gut* 2018;67:2056-67.
12. Gubin MM, Artyomov MN, Mardis ER, Schreiber RD. Tumor neoantigens: building a framework for personalized cancer immunotherapy. *J Clin Invest* 2015;125:3413-21.
13. Lennerz V, Fatho M, Gentilini C, Frye RA, Lifke A, Ferel D, et al. The response of autologous T cells to a human melanoma is dominated by mutated neoantigens. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:16013-8.
14. Bobisse S, Foukas PG, Coukos G, Harari A. Neoantigen-based cancer immunotherapy. *Ann Transl Med* 2016;4:262.
15. Schumacher TN, Schreiber RD. Neoantigens in cancer immunotherapy. *Science* 2015;348:69-74.

16. Zhang X, Sharma PK, Peter Goedegebuure S, Gillanders WE. Personalized cancer vaccines: Targeting the cancer mutanome. *Vaccine* 2017;35:1094-100.
17. Blank CU, Haanen JB, Ribas A, Schumacher TN. Cancer immunology. The “cancer immunogram”. *Science* 2016;352:658-60.
18. Wolf Y, Samuels Y. Cancer research in the era of immunogenomics. *ESMO Open* 2018;3:e000475.
19. Van Allen EM, Miao D, Schilling B, Shukla SA, Blank C, Zimmer L, et al. Genomic correlates of response to CTLA-4 blockade in metastatic melanoma. *Science* 2015;350:207-11.
20. Matsushita H, Sato Y, Karasaki T, Nakagawa T, Kume H, Ogawa S, et al. Neoantigen Load, Antigen Presentation Machinery, and Immune Signatures Determine Prognosis in Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *Cancer Immunol Res* 2016;4:463-71.
21. Gerlinger M, Rowan AJ, Horswell S, Math M, Larkin J, Endesfelder D, et al. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. *N Engl J Med* 2012;366:883-92.
22. Burrell RA, McGranahan N, Bartek J, Swanton C. The causes and consequences of genetic heterogeneity in cancer evolution. *Nature* 2013;501:338-45.
23. Hiley C, de Bruin EC, McGranahan N, Swanton C. Deciphering intratumor heterogeneity and temporal acquisition of driver events to refine precision medicine. *Genome Biol* 2014;15:453.
24. Rosenberg SA, Yang JC, Restifo NP. Cancer immunotherapy: moving beyond current vaccines. *Nat Med* 2004;10:909-15.
25. Schumacher TN, Hacohen N. Neoantigens encoded in the cancer genome. *Curr Opin Immunol* 2016;41:98-103.
26. Wood LD, Parsons DW, Jones S, Lin J, Sjöblom T, Leary RJ, et al. The genomic landscapes of human breast and colorectal cancers. *Science* 2007;318:1108-13.
27. Nowell PC. The clonal evolution of tumor cell populations. *Science* 1976;194:23-8.
28. Parmiani G, De Filippo A, Novellino L, Castelli C. Unique human tumor antigens: immunobiology and use in clinical trials. *J Immunol* 2007;178:1975-9.
29. Li L, Goedegebuure P, Mardis ER, Ellis MJ, Zhang X, Herndon JM, et al. Cancer genome sequencing and its implications for personalized cancer vaccines. *Cancers (Basel)* 2011;3:4191-211.
30. Behjati S, Tarpey PS. What is next generation sequencing? *Arch Dis Child Educ Pract Ed* 2013;98:236-8.

31. Yin Q, Tang J, Zhu X. Next-generation sequencing technologies accelerate advances in T-cell therapy for cancer. *Brief Funct Genomics* 2019;18:119-28.
32. Louten J. Features of Host Cells: Cellular and Molecular Biology Review. *Essential Human Virology* 2016:31-48.
33. Nik-Zainal S. Insights into cancer biology through next-generation sequencing. *Clin Med (Lond)* 2014;14 Suppl 6:s71-7.
34. Kotowski M, Bogacz A, Bartkowiak-Wieczorek J, Bukowska A, Surowiec N, Dziewanowski K, et al. The Importance of New Generation Sequencing (NGS) HLA Typing in Renal Transplantation-Preliminary Report. *Transplant Proc* 2018;50:1605-15.
35. Catalano I, Grassi E, Bertotti A, Trusolino L. Immunogenomics of Colorectal Tumors: Facts and Hypotheses on an Evolving Saga. *Trends Cancer* 2019;5:779-88.
36. Sahin U, Türeci Ö. Personalized vaccines for cancer immunotherapy. *Science* 2018;359:1355-60.
37. He Q, Jiang X, Zhou X, Weng J. Targeting cancers through TCR-peptide/MHC interactions. *J Hematol Oncol* 2019;12:139.
38. Zvyagin IV, Tsvetkov VO, Chudakov DM, Shugay M. An overview of immunoinformatics approaches and databases linking T cell receptor repertoires to their antigen specificity. *Immunogenetics* 2020;72:77-84.
39. Corse E, Gottschalk RA, Allison JP. Strength of TCR-peptide/MHC interactions and in vivo T cell responses. *J Immunol* 2011;186:5039-45.
40. Jenkins MR, Tsun A, Stinchcombe JC, Griffiths GM. The strength of T cell receptor signal controls the polarization of cytotoxic machinery to the immunological synapse. *Immunity* 2009;31:621-31.
41. Tian Y. Predicting T cell receptor specificity with deep learning [Internet]. 2019 [cited 2020 Oct 8]. Available from: <https://becominghuman.ai/predicting-t-cell-receptor-specificity-with-deep-learning-12757a899e8b>.2019.
42. Van der Burg SH, Arens R, Ossendorp F, van Hall T, Melief CJ. Vaccines for established cancer: overcoming the challenges posed by immune evasion. *Nat Rev Cancer* 2016;16:219-33.
43. Hu Z, Ott PA, Wu CJ. Towards personalized, tumour-specific, therapeutic vaccines for cancer. *Nat Rev Immunol* 2018;18:168-82.
44. Marin-Acevedo JA, Soyano AE, Dholaria B, Knutson KL, Lou Y. Cancer immunotherapy beyond immune checkpoint inhibitors. *J Hematol Oncol* 2018;11:8.
45. Corbière V, Chapiro J, Stroobant V, Ma W, Lurquin C, Lethé B, et al. Antigen spreading contributes to MAGE vaccination-induced regression of melanoma metastases. *Cancer Res*

2011;71:1253-62.

46. Han G. How to develop personalized neoantigen vaccines? [Internet]. 2020 [cited 2020 Oct 9]. Available from: <https://www.molecularcloud.org/p/how-to-develop-personalized-neoantigen-vaccines>.
47. Martincorena I, Campbell PJ. Somatic mutation in cancer and normal cells. *Science* 2015;349:1483-9.
48. Kakimi K, Karasaki T, Matsushita H, Sugie T. Advances in personalized cancer immunotherapy. *Breast Cancer* 2017;24:16-24.
49. Rowshanravan B, Halliday N, Sansom DM. CTLA-4: a moving target in immunotherapy. *Blood* 2018;131:58-67.
50. Van Rooij N, Van Buuren MM, Philips D, Velds A, Toebes M, Heemskerk B, et al. Tumor exome analysis reveals neoantigen-specific T-cell reactivity in an ipilimumab-responsive melanoma. *J Clin Oncol* 2013;31:e439-42.
51. Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A, Kvistborg P, Makarov V, Havel JJ, et al. Cancer immunology. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer. *Science* 2015;348:124-8.
52. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, Weber RW, Sosman JA, Haanen JB, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med* 2010;363:711-23.
53. Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, Gettinger SN, Smith DC, McDermott DF, et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med* 2012;366:2443-54.
54. Kimiz-Gebologlu I, Gulce-Iz S, Biray-Avci C. Monoclonal antibodies in cancer immunotherapy. *Mol Biol Rep* 2018;45:2935-40.
55. Adams GP, Weiner LM. Monoclonal antibody therapy of cancer. *Nat Biotechnol* 2005;23:1147-57.
56. Oldham RK, Dillman RO. Monoclonal antibodies in cancer therapy: 25 years of progress. *J Clin Oncol* 2008;26:1774-7.
57. Kaufman HL, Kohlhapp FJ, Zloza A. Oncolytic viruses: a new class of immunotherapy drugs. *Nat Rev Drug Discov* 2015;14:642-62.
58. Chiocca EA, Rabkin SD. Oncolytic viruses and their application to cancer immunotherapy. *Cancer Immunol Res* 2014;2:295-300.
59. Rehman H, Silk AW, Kane MP, Kaufman HL. Into the clinic: Talimogene laherparepvec (T-VEC), a first-in-class intratumoral oncolytic viral therapy. *J Immunother Cancer* 2016;4:53.

60. Rosenberg SA, Packard BS, Aebersold PM, Solomon D, Topalian SL, Toy ST, et al. Use of tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin-2 in the immunotherapy of patients with metastatic melanoma. A preliminary report. *N Engl J Med* 1988;319:1676-80.
61. Farkona S, Diamandis EP, Blasutig IM. Cancer immunotherapy: the beginning of the end of cancer? *BMC Med* 2016;14.
62. Velcheti V, Schalper K. Basic Overview of Current Immunotherapy Approaches in Cancer. *Am Soc Clin Oncol Educ Book* 2016;35:298-308.
63. Zhang C, Liu J, Zhong JF, Zhang X. Engineering CAR-T cells. *Biomark Res* 2017;5:22.
64. Dotti G, Gottschalk S, Savoldo B, Brenner MK. Design and development of therapies using chimeric antigen receptor-expressing T cells. *Immunol Rev* 2014;257:107-26.
65. O'Leary MC, Lu X, Huang Y, Lin X, Mahmood I, Przepiorka D, et al. FDA Approval Summary: Tisagenlecleucel for Treatment of Patients with Relapsed or Refractory B-cell Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia. *Clin Cancer Res* 2019;25:1142-6.
66. Kershaw MH, Westwood JA, Darcy PK. Gene-engineered T cells for cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2013;13:525-41.
67. Kimura T, Egawa S, Uemura H. Personalized peptide vaccines and their relation to other therapies in urological cancer. *Nat Rev Urol* 2017;14:501-10.
68. Kantoff PW, Higano CS, Shore ND, Berger ER, Small EJ, Penson DF, et al. Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer. *N Engl J Med* 2010;363:411-22.
69. Kantoff PW, Schuetz TJ, Blumenstein BA, Glode LM, Bilhartz DL, Wyand M, et al. Overall survival analysis of a phase II randomized controlled trial of a Poxviral-based PSA-targeted immunotherapy in metastatic castration-resistant prostate cancer. *J Clin Oncol* 2010;28:1099-105.
70. Gulley JL, Borre M, Vogelzang NJ, Ng S, Agarwal N, Parker CC, et al. Phase III Trial of PROSTVAC in Asymptomatic or Minimally Symptomatic Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. *J Clin Oncol* 2019;37:1051-61.
71. Noguchi, M et al. A randomized phase II trial of personalized vaccine plus low dose estramustine phosphate (EMP) versus standard dose EMP in patients with castration resistance prostate cancer. *Cancer Immunol. Immunother.* 59, 1001-1009 (2010)
72. Yoshimura, K. et al. A phase 2 randomized controlled trial of personalized peptide vaccine immunotherapy with low-dose dexamethasone versus dexamethasone alone in chemotherapy-naïve castration-resistant prostate cancer. *Eur Urol.* 70, 25-41 (2016)
73. Flaig TW, Spiess PE, Agarwal N, Bangs R, Boorjian SA, Buyyounouski MK, et al. Bladder Cancer, Version 3.2020, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr*

Canc Netw 2020;18:329-54.

74. Han RF, Pan JG. Can intravesical bacillus Calmette-Guérin reduce recurrence in patients with superficial bladder cancer? A meta-analysis of randomized trials. *Urology* 2006;67:1216-23.
75. Redelman-Sidi G, Glickman MS, Bochner BH. The mechanism of action of BCG therapy for bladder cancer--a current perspective. *Nat Rev Urol* 2014;11:153-62.
76. Pettenati C, Ingersoll MA. Mechanisms of BCG immunotherapy and its outlook for bladder cancer. *Nat Rev Urol* 2018;15:615-25.
77. Konala VM, Adapa S, Aronow WS. Immunotherapy in Bladder Cancer. *Am J Ther* 2019.
78. Rosenberg JE, Hoffman-Censits J, Powles T, van der Heijden MS, Balar AV, Necchi A, et al. Atezolizumab in patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma who have progressed following treatment with platinum-based chemotherapy: a single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet* 2016;387:1909-20.
79. Suzman DL, Agrawal S, Ning YM, Maher VE, Fernandes LL, Karuri S, et al. FDA Approval Summary: Atezolizumab or Pembrolizumab for the Treatment of Patients with Advanced Urothelial Carcinoma Ineligible for Cisplatin-Containing Chemotherapy. *Oncologist* 2019;24:563-9.
80. Powles T, Durán I, van der Heijden MS, Loriot Y, Vogelzang NJ, De Giorgi U, et al. Atezolizumab versus chemotherapy in patients with platinum-treated locally advanced or metastatic urothelial carcinoma (IMvigor211): a multicentre, open-label, phase 3 randomised controlled trial. *Lancet* 2018;391:748-57.
81. Noguchi, M et al. An open-label, randomized phase II trial of personalized peptide vaccination in patients with bladder cancer that progressed after platinum-based chemotherapy. *Clin Cancer Res.* 22, 54-60 (2016)
82. Motzer RJ, Escudier B, McDermott DF, George S, Hammers HJ, Srinivas S, et al. Nivolumab versus Everolimus in Advanced Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med* 2015;373:1803-13.
83. Xu JX, Maher VE, Zhang L, Tang S, Sridhara R, Ibrahim A, et al. FDA Approval Summary: Nivolumab in Advanced Renal Cell Carcinoma After Anti-Angiogenic Therapy and Exploratory Predictive Biomarker Analysis. *Oncologist* 2017;22:311-7.
84. Motzer RJ, Jonasch E, Boyle S, Carlo MI, Manley B, Agarwal N, et al. NCCN Guidelines Insights: Kidney Cancer, Version 1.2021. *J Natl Compr Canc Netw* 2020;18:1160-70.
85. Motzer RJ, Rini BI, McDermott DF, Arén Frontera O, Hammers HJ, Carducci MA, et al. Nivolumab plus ipilimumab versus sunitinib in first-line treatment for advanced renal cell carcinoma: extended follow-up of efficacy and safety results from a randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2019;20:1370-85.

86. Rini BI, Battle D, Figlin RA, George DJ, Hammers H, Hutson T, et al. The society for immunotherapy of cancer consensus statement on immunotherapy for the treatment of advanced renal cell carcinoma (RCC). *J Immunother Cancer* 2019;7:354.
87. Rini BI, Plimack ER, Stus V, Gafanov R, Hawkins R, Nosov D, et al. Pembrolizumab plus Axitinib versus Sunitinib for Advanced Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med* 2019;380:1116-27.
88. Plimack ER, Rini BI, Stus V, Gafanov R, Waddell T, Nosov D, et al. Pembrolizumab plus axitinib versus sunitinib as first-line therapy for advanced renal cell carcinoma (RCC): Updated analysis of KEYNOTE-426. 2020;38:5001.
89. Yoshimura K, Uemura H. Role of vaccine therapy for renal cell carcinoma in the era of targeted therapy. 2013;20:744-55.
90. Ball MW, Allaf ME, Drake CG. Recent advances in immunotherapy for kidney cancer. *Discov Med* 2016;21:305-13.
91. Figlin RA, Amin A, Dudek A, Logan T, Lance RS, Holzbeierlein JM, et al. Phase II study combining personalized dendritic cell (DC)-based therapy, AGS-003, with sunitinib in metastatic renal cell carcinoma (mRCC). 2012;30:348.
92. Delyon J, Maio M, Lebbé C. The ipilimumab lesson in melanoma: achieving long-term survival. *Semin Oncol* 2015;42:387-401.
93. Opdivo-Yervoy Combination Approved for Melanoma—First Combination-Immunotherapy Regimen for Cancer. 2015;37:39.
94. Wolchok JD, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Rutkowski P, Grob JJ, Cowey CL, et al. Overall Survival with Combined Nivolumab and Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med* 2017;377:1345-56.
95. Postow MA, Chesney J, Pavlick AC, Robert C, Grossmann K, McDermott D, et al. Nivolumab and ipilimumab versus ipilimumab in untreated melanoma. *N Engl J Med* 2015;372:2006-17.
96. Khoja L, Butler MO, Kang SP, Ebbinghaus S, Joshua AM. Pembrolizumab. *J Immunother Cancer* 2015;3:36.
97. Ribas A, Puzanov I, Dummer R, Schadendorf D, Hamid O, Robert C, et al. Pembrolizumab versus investigator-choice chemotherapy for ipilimumab-refractory melanoma (KEYNOTE-002): a randomised, controlled, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2015;16:908-18.
98. Robert C, Schachter J, Long GV, Arance A, Grob JJ, Mortier L, et al. Pembrolizumab versus Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med* 2015;372:2521-32.
99. National Comprehensive Cancer Network. Cutaneous Melanoma : NCCN evidence blocksTM Version 4.2020 - September 1, 2020 [Internet]. 2020 [cited 2020 Oct 21]. Available from:

https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/cutaneous_melanoma_blocks.pdf.

100. Robert C, Long GV, Brady B, Dutriaux C, Maio M, Mortier L, et al. Nivolumab in previously untreated melanoma without BRAF mutation. *N Engl J Med* 2015;372:320-30.
101. Ott PA, Hodi FS. Talmogene Laherparepvec for the Treatment of Advanced Melanoma. *Clin Cancer Res* 2016;22:3127-31.
102. Andtbacka RHI, Collichio F, Harrington KJ, Middleton MR, Downey G, Öhrling K, et al. Final analyses of OPTiM: a randomized phase III trial of talimogene laherparepvec versus granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in unresectable stage III-IV melanoma. *J Immunother Cancer* 2019;7:145.
103. Pol J, Kroemer G, Galluzzi L. First oncolytic virus approved for melanoma immunotherapy. *Oncoimmunology* 2016;5:e1115641.
104. Ott PA, Hu Z, Keskin DB, Shukla SA, Sun J, Bozym DJ, et al. An immunogenic personal neoantigen vaccine for patients with melanoma. *Nature* 2017;547:217-21.
105. Sahin U, Derhovanessian E, Miller M, Kloke BP, Simon P, Löwer M, et al. Personalized RNA mutanome vaccines mobilize poly-specific therapeutic immunity against cancer. *Nature* 2017;547:222-6.
106. Andre T, Shiu K-K, Kim TW, Jensen BV, Jensen LH, Punt CJA, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for microsatellite instability-high/mismatch repair deficient metastatic colorectal cancer: The phase 3 KEYNOTE-177 Study. 2020;38:LBA4-LBA.
107. Kreidieh M, Mukherji D, Temraz S, Shamseddine A. Expanding the Scope of Immunotherapy in Colorectal Cancer: Current Clinical Approaches and Future Directions. *BioMed Research International* 2020;2020:9037217.
108. Geevarghese SK, Geller DA, de Haan HA, Hörer M, Knoll AE, Mescheder A, et al. Phase I/II study of oncolytic herpes simplex virus NV1020 in patients with extensively pretreated refractory colorectal cancer metastatic to the liver. *Hum Gene Ther* 2010;21:1119-28.
109. Kaufman HL, Lenz HJ, Marshall J, Singh D, Garrett C, Cripps C, et al. Combination chemotherapy and ALVAC-CEA/B7.1 vaccine in patients with metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2008;14:4843-9.
110. Golshani G, Zhang Y. Advances in immunotherapy for colorectal cancer: a review. *Therap Adv Gastroenterol* 2020;13:1756284820917527.
111. Luchini C, Brosens LAA, Wood LD, Chatterjee D, Shin JI, Sciammarella C, et al. Comprehensive characterisation of pancreatic ductal adenocarcinoma with microsatellite instability: histology, molecular pathology and clinical implications. *Gut* 2020.

112. Jaffee EM, Hruban RH, Biedrzycki B, Laheru D, Schepers K, Sauter PR, et al. Novel allogeneic granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-secreting tumor vaccine for pancreatic cancer: a phase I trial of safety and immune activation. *J Clin Oncol* 2001;19:145-56.
113. Lutz E, Yeo CJ, Lillemoe KD, Biedrzycki B, Kobrin B, Herman J, et al. A lethally irradiated allogeneic granulocyte-macrophage colony stimulating factor-secreting tumor vaccine for pancreatic adenocarcinoma. A Phase II trial of safety, efficacy, and immune activation. *Ann Surg* 2011;253:328-35.
114. Le DT, Picozzi VJ, Ko AH, Wainberg ZA, Kindler H, Wang-Gillam A, et al. Results from a Phase IIb, Randomized, Multicenter Study of GVAX Pancreas and CRS-207 Compared with Chemotherapy in Adults with Previously Treated Metastatic Pancreatic Adenocarcinoma (ECLIPSE Study). *Clin Cancer Res* 2019;25:5493-502.