·综 述·

肿瘤突变负荷对非小细胞肺癌免疫治疗疗效的预测价值

殷悦[1],张羽白[2],邢丽娜[1*]
([1]哈尔滨医科大学附属二院肿瘤放疗科,哈尔滨 150086;[2]哈尔滨市第一医院泌尿外科,哈尔滨 150010)

【摘 要】 随着人们对肿瘤免疫研究的深入,免疫检查点抑制剂为代表的免疫治疗在临床试验及实践中获得了满意疗效,但客观缓解率较低,其疗效暂不明确。目前有效预测免疫治疗疗效的标志物一直没有定论。多项临床试验表明肿瘤突变负荷(TMB)与T淋巴细胞识别抗原及免疫疗效呈正相关,可用于预测免疫检查点抑制剂的疗效,但TMB预测免疫治疗疗效尚存在一定的局限性。为此,本文综述了TMB对非小细胞肺癌(NSCLC)免疫治疗疗效的预测价值及目前应用的局限性。

【关键词】 免疫;治疗;非小细胞肺癌;突变
【中图分类号】 R734.2 【文献标志码】 A 【DOI】 10.11915/j.issn.1671-5403.2018.09.165

Predictive value of tumor mutation burden in immunotherapy for non-small-cell lung cancer

YIN Yue[1], ZHANG Yu-Bai[2], XING Li-Na[1*]
([1]Department of Radiation Oncology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, China; [2]Department of Urology, the First Hospital of Harbin, Harbin 150010, China)

【Abstract】 As tumor immunology research continues, the clinical trials and application of immunotherapy represented by the immunological checkpoint inhibitors have achieved satisfactory results, but its objective response rates are low, and its efficacy remains uncertain. The effectiveness of the markers in predicting the immunotherapy efficacy has been inconclusive. A number of clinical trials have found that tumor mutation burden (TMB) is positively correlated with antigens recognized by T-cells and immunotherapy efficacy. It can be, therefore, used to predict the efficacy of immunological checkpoint inhibitors, but with limitations. This article reviewed the predictive value of TMB in immunotherapy for non-small-cell lung cancer and its limitations.

【Key words】 immune; therapy; non-small cell lung cancer; mutation

Corresponding author: XING Li-Na, E-mail: xinglina@medmail.com.cn

非小细胞肺癌(non small cell lung cancer, NSCLC)基因检测及针对突变的靶向治疗开启了肺癌的精准治疗时代,但患者仍不可避免地会出现耐药[1]。随着人们对肿瘤免疫的深入研究,免疫检查点抑制剂由于疗效维持时间长、不良反应较少、与放化疗无交叉耐药等得到了重视,其也可用于驱动基因野生型肺癌患者的精准治疗[2],但仅20%~40%的患者产生应答[3]。免疫检查点抑制剂以程序性死亡受体-1及配体(programmed cell death-1/ligand 1,PD-1/PD-L1)和细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4(cytotoxic T lymphocyte associate antigen-4, CTLA-4)为靶点,在肿瘤免疫中起关键作用[4]。目前免疫治疗相关生物标志物以PD-L1为代表,但由于肿瘤组织周围微环境可干扰PD-L1的表达,因此其表达阳性暂无明确定义,且PD-L1表达只能预测针对PD-1的治疗疗效,对其他免疫治疗无预测意义[5]。近年肿瘤突变负荷(tumor mutation burden, TMB)为代表的新型免疫治疗预测标志物走进人们视野,即检测肿瘤基因编码区的突变总数,TMB水平较高者对免疫检查点抑制剂的免疫应答更强,对肺癌、黑色素瘤、泌尿系等恶性肿瘤的免疫治疗均有预测作用。本文综述了TMB预测NSCLC免疫治疗疗效的价值。

1 TMB概述

基因突变包括胚系突变和体细胞突变。胚系突

收稿日期:2018-01-07;修回日期:2018-02-11
通信作者:邢丽娜,E-mail:xinglina@medmail.com.cn

变又称生殖细胞突变，是脱氧核糖核酸（deoxyribonucleic acid，DNA）水平的遗传性突变；而体细胞突变是获得性突变，是生长发育过程中或受外界因素影响的后天突变。TMB是肿瘤基因组去除胚系突变后的体细胞突变数量，具体是指肿瘤组织内所评估基因的外显子编码区每兆碱基中发生置换、插入和缺失突变的总数，一般以非同义突变总数量表示。

体细胞基因在诱变剂（吸烟、紫外线照射等）影响下可发生突变，进而导致核糖核酸（ribonucleic acid，RNA）及蛋白质异常，新产生的抗原肽被抗原处理相关转运蛋白体（transporter associated with antigen processing，TAP）转运入内质网腔，与Ⅰ类或Ⅱ类主要组织相容性复合体（major histocompatibility complex，MHC）高亲和力结合，并提呈到细胞表面，可被自身免疫系统识别为非自身抗原，从而激活T淋巴细胞产生免疫应答，清除抗原[6]。而非同义突变中，仅10%体细胞基因产生与MHC高亲和力结合的突变肽段，其中仅1%可被肿瘤患者体内的T淋巴细胞识别，对免疫检查点抑制剂产生应答。因此，体细胞基因突变总量与新生非自身抗原及免疫治疗应答情况正相关。同时，研究表明肺癌、胃癌等8种肿瘤抗原突变的量与细胞溶解活性具有一致性，且人类白细胞分化抗原（human leucocyte antigen，HLA）结合肽可预测新抗原表位的点突变。即通过检测TMB肿瘤基因组编码区的突变总数可得出，TMB越高，T淋巴细胞可识别的新抗原越多，免疫杀伤活性越强[7]，免疫治疗疗效越好。

2 TMB水平与NSCLC免疫治疗疗效的相关性

TMB对NSCLC免疫治疗的疗效预测已在多项临床研究中得到证实。Robert等[8]研究表明，黑色素瘤和肺癌患者对免疫检查点抑制剂反应较好者TMB水平往往高于疗效欠佳者。一新英格兰杂志的研究比较了抗PD-1或抗PD-L1治疗27种癌症的中位TMB对应的肿瘤整体有效率（overall response rate，ORR），结果表明TMB水平与55%肿瘤的ORR有相关性，并且对NSCLC和黑色素瘤的预测疗效价值更确切，线性关系公式：整体有效率$=10.8\times\log(X)-0.7$，其中“X”是体细胞DNA每兆碱基突变的数量[9]。另一项针对NSCLC患者的研究中，对30例患者的肿瘤组织进行了基因全外显子组测序及抗PD-L1免疫组织化学检查，结果表明PD-L1表达阳性患者中，高TMB者有效率达91%，低TMB者缓解率仅10%；PD-L1表达阴性患者中，高TMB者疗效同样较好。同时吸烟者基因突变发生率更高，无进展生存期（progression-free survival，PFS）更长[10]。Govindan等[11]也证实吸烟的肺鳞癌患者存在体细胞高频突变。

除此之外，加利福尼亚圣地亚哥摩尔癌症中心一项纳入1638例癌症患者的研究中共有151例患者接受了免疫治疗，主要为NSCLC和黑色素瘤，根据TMB水平分3组：低TMB组（1～5个突变/Mb）65例、中TMB组（6～19个突变/Mb）48例和高TMB组（≥20个突变/Mb）38例。结果表明高TMB组客观缓解率（objective response rate，ORR）为58%，PFS为12.8个月，总生存期（overall survival，OS）未得出。而中低TMB组的ORR仅20%，PFS为3.3个月。高TMB组较中低TMB组患者获益明显，PFS延长3倍。使用抗CTLA-4治疗的15例患者中，高TMB患者的PFS为6.4个月，而中低TMB患者的PFS仅2.7个月[12]。Checkmate 026研究同样证实了TMB预测疗效的价值[13]。将晚期或复发的NSCLC患者进行Nivolumab和含铂化疗药物随机分组对照研究，并进一步对312例（57.7%）患者的肿瘤组织和全血DNA进行全基因测序，经评估后分为低TMB组（0～99个突变/Mb）、中TMB组（100～242个突变/Mb）和高TMB组（≥243个突变/Mb）。结果证实高TMB患者接受免疫治疗患者相比化疗患者的中位PFS（9.7 *vs* 5.8月）和ORR（46.8% *vs* 28.3%）均显著改善，OS相似，其原因可能是65%接受免疫治疗患者进展后转而接受化疗，从而对OS有影响。Rittmeyer等[14]进行的783例患者的OAK和POPLAR研究比较了Atezolizumab单抗（抗PD-L1）与多西他赛标准治疗的OS获益情况，结果显示TMB表达和Atezolizumab单抗疗效呈正相关。此外，研究表明TMB与PD-L1表达并未显示出相关性，提示两者是独立的预测因素。

尽管TMB在多项临床试验中均表现出预测疗效作用，但由于肿瘤免疫机制及微环境尚未完全探索清楚，且基因突变产物具有免疫原性的差异，仍需更多前瞻性研究证实TMB的预测作用。Chowell等[15]指出，部分低TMB患者也能对免疫治疗产生应答，高TMB患者也未必表现很好的免疫治疗疗效，这取决于TMB突变的“质量”即HLA分型。研究共有1500例接受抗CTLA-4或抗PD-1治疗的晚期黑色素瘤或NSCLC患者入组，评估HLA纯合子及杂合子多样性导致的总体生存率差异。研究人员分析HLA杂合子突变是肿瘤免疫逃逸的主要机制之一，HLA多样性减少，使得部分新抗原不能提呈

到细胞表面,T淋巴细胞不能被激活产生免疫应答,进而免疫治疗无应答或产生原发性耐药。HLA多样性越多,尤其是超亚型HLA-B44越多,能提呈新抗原的种类越多,免疫药物疗效越好。另一项研究却证实约40% NSCLC患者存在HLA杂合子缺失,相比HLA无杂合子突变患者,克隆性HLA杂合子缺失突变水平更高,肿瘤细胞亚克隆表现更明显,其非同义突变水平更高,TMB水平高却免疫治疗无效[16]。这一结果仅在非小细胞肺腺癌患者群体中得出,肺鳞状细胞癌中未证实。这对于根据高TMB水平而进行免疫治疗,尤其是对肺腺癌患者的临床用药具有指导意义。以上研究表明TMB预测免疫治疗疗效尚存在一定局限性,仍需更多的研究证实。

3 TMB的应用现状

TMB的检测技术也面临巨大挑战,目前方法包括对肿瘤组织切片或血液标本进行高通量测序(high-throughput sequencing,HTS),检测项目分为全基因组测序、全外显子组测序和选择性基因测序。

全基因组、全外显子组测序检测人体约3万个基因,全面而广泛,但对分析技术要求高,测序时间长且价格昂贵。目前临床应用广泛的为选择性基因测序,而如何筛选不同肿瘤可能致病基因组却是一项难题。Foundation Medicine开发了包含315个基因的选择性基因测序,与全基因组、全外显子组测序相比,其准确率达95%以上[17],但仍需更多前瞻性研究证实。同时选择检测标本方面,部分患者难以获取肿瘤组织样本,且蜡块中DNA/RNA的降解会影响数据的准确性。另外肿瘤的异质性、取样时间不同及测定方法的区别使得石蜡包埋组织样本与血液样本检测TMB的结果一致性也有所偏差。2017年ESMO大会上公布的BFAST研究结果显示[18],取10 ml血浆进行394个基因的体细胞突变检测,与组织标本检测结果对比显示,血检TMB的精确度分析需每20 ng肿瘤至少1%含游离DNA,TMB的界定标准值8~20个突变/Mb,精确度与灵敏度高。这项研究为未来血检TMB的临床应用奠定了研究基础,但TMB的界定标准值仍未确定,不同肿瘤的TMB标准是否相同,不同平台的检测基因数目等均未达成共识,并且其昂贵的价格也为临床实践带来巨大的挑战,这也是TMB应用的局限性。

尽管免疫治疗引领NSCLC走进新的精准治疗时代,一旦有效后疾病缓解期就会延长,因此筛选获益人群极迫切。临床试验及实践表明,肿瘤细胞及肿瘤相关免疫细胞表面表达PD-L1具有一定预测性,但仅针对抗PD-1/PD-L1治疗。TMB在多项大型临床试验中被证实与免疫治疗疗效相关,与PD-L1的检测可互补,但目前TMB预测仍存在特异性不足及局限性,需更多前瞻性研究验证。随着免疫机制研究的深入,上皮细胞向间充质细胞转化、肿瘤浸润淋巴细胞及外周血循环标志物等均有较好的预测前景[19],有待进一步研究证实。相信随着精确预测疗效标志物的出现,免疫治疗会成为更多NSCLC患者,尤其是驱动基因野生型患者的个体化精准治疗模式。

【参考文献】

[1] Ye M, Wang S, Wan T. Combined inhibitions of glycolysis and AKT/autophagy can overcome resistance to EGFR-targeted therapy of lung cancer[J]. J Cancer, 2017, 8(18): 3774-3784. DOI: 10.7150/jca.21035.

[2] Dudnik E, Peled N, Wollner M, *et al*. Ma 02.06 BRAF mutant NSCLC: correlation with PD-L1 expression, TMB, MSI and response to ICPI and anti-BRAF therapy[J]. J Thorac Oncol, 2017, 12(11): S1804-S1805. DOI: 10.1016/j.jtho.2017.09.455.

[3] Rizvi NA, Peters S. Immunotherapy for unresectable stage Ⅲ non-small-cell lung cancer[J]. N Engl J Med, 2017, 377(20): 1986-1988. DOI: 10.1056/NEJMe1711430.

[4] Giroux Leprieur E, Dumenil C, Julie C, *et al*. Immunotherapy revolutionises non-small-cell lung cancer therapy: results, perspectives and new challenges[J]. Eur J Cancer, 2017, 78: 16-23. DOI: 10.1016/j.ejca.2016.12.041.

[5] Diggs LP, Hsueh EC. Utility of pd-L1 immunohistochemistry assays for predicting pd-1/pd-L1 inhibitor response[J]. Biomark Res, 2017, 5: 12. DOI:10.1186/s40364-017-0093-8.

[6] Yarchoan M, Johnson BA 3rd, Lutz ER, *et al*. Targeting neoantigens to augment antitumour immunity[J]. Nat Rev Cancer, 2017, 17(4): 209-222. DOI: 10.1038/nrc.2016.154.

[7] Rooney MS, Shukla SA, Wu CJ, *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.

[8] Robert C, Long GV, Brady B, *et al*. Nivolumab in previously untreated melanoma without BRAF mutation[J]. N Engl J Med, 2015, 372(4): 320-330. DOI: 10.1056/NEJMoa1412082.

[9] Yarchoan M, Hopkins A, Jaffee EM. Tumor mutational burden and response rate to pd-1 inhibition[J]. N Engl J Med, 2017, 377(25): 2500-2501. DOI: 10.1056/NEJMc1713444.

[10] Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A, *et al*. Cancer immunology mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer[J]. Science, 2015, 348(6230): 124-128. DOI: 10.1126/science.aaa1348.

[11] Govindan R, Ding L, Griffith M, *et al*. Genomic landscape of non-small cell lung cancer in smokers and never-smokers[J]. Cell, 2012, 150(6): 1121-1134. DOI: 10.1016/j.cell.2012.08.024.

[12] Goodman AM, Kato S, Bazhenova L, *et al*. Tumor mutational

burden as an independent predictor of response to immunotherapy in diverse cancers [J]. Mol Cancer Ther, 2017, 16(11): 2598-2608. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-17-0386.

[13] Peters S, Creelan B, Hellmann MD, *et al*. Abstract CT082: impact of tumor mutation burden on the efficacy of first-line nivolumab in stage iv or recurrent non-small cell lung cancer: an exploratory analysis of checkmate 026 [J]. Cancer Res, 2017, 77(Supple13): CT082. DOI: 10.1158/1538-7445.AM2017-CT082.

[14] Gandara DR, Kowanetz MK, Mok T.S.K, *et al*. Blood-based biomarkers for cancer immunotherapy: tumor mutational burden in blood (BTMB) is associated with improved atezolizumab (atezo) efficacy in 2L + NSCLC (poplar and oak) [J]. Ann Oncol, 2017, 28(Suppl 5): 460-496. DOI: 10.1093/annonc/mdx380.

[15] Chowell D, Morris LGT, Grigg CM, *et al*. Patient HLA class I genotype influences cancer response to checkpoint blockade immunotherapy[J]. Science, 2018, 359(6375): 582-587. DOI: 10.1126/science.aao4572.

[16] Mcgranahan N, Rosenthal R, Hiley CT, *et al*. Allele-specific HLA loss and immune escape in lung cancer evolution[J]. Cell, 2017, 171(6): 1259-1271. DOI: 10.1016/j.cell.2017.10.001.

[17] Chalmers ZR, Connelly CF, Fabrizio D, *et al*. Analysis of 100 000 human cancer genomes reveals the landscape of tumor mutational burden[J]. Genome Med, 2017, 9(1): 34. DOI: 10.1186/s13073-017-0424-2.

[18] Fabrizio D, Malboeuf C, Lieber D, *et al*. 102P analytic validation of a next generation sequencing assay to identify tumor mutational burden from blood (BTMB) to support investigation of an anti-PD-L1 agent, atezolizumab, in a first line non-small cell lung cancer trial (BFAST)[J]. Ann Oncol, 2017, 28(Suppl 5): 27. DOI: 10.1093/annonc/mdx363.018.

[19] Owada Y, Inoue T, Watanabe Y, *et al*. Exploring the possibility of new biomarkers of immune checkpoint inhibitors for non-small cell lung cancer (NSCLC)][J]. Gan To Kagaku Ryoho, 2017, 44(9): 763-766.

(编辑：王彩霞)

·消 息·

《中华老年多器官疾病杂志》调整文末参考文献著录格式

自2017年1月起,我刊调整录用稿件的文末参考文献著录格式:(1)中文参考文献采用中英文双语著录,中文在前,英文在后;(2)参考文献如有“数字对象唯一标识符(DOI)”编码,应著录,列于末尾。

示例:

[1] Williamson JD, Supiano MA, Applegate WB, *et al*. Intensive *vs* standard blood pressure control and cardiovascular disease outcomes in adults aged ≥75 years: a randomized clinical trial[J]. JAMA, 2016, 315(24): 2673-2682. DOI: 10.1001/jama.2016.7050.

[2] 李葳, 邓雅丽, 卓琳, 等. 阿司匹林对于心血管疾病一级预防的效果及安全性的系统综述及meta分析[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2016, 15(12): 896-901. DOI: 10.11915/j.issn.1671-5403.2016.12.215.
Li W, Deng YL, Zhuo L, *et al*. Effect and safety of aspirin for primary prevention of cardiovascular diseases: a systematic review and meta analysis[J]. Chin J Mult Organ Dis Elderly, 2016, 15(12): 896-901. DOI: 10.11915/j.issn.1671-5403.2016.12.215.

地址：100853 北京市复兴路28号,《中华老年多器官疾病杂志》编辑部
电话：010-66936756
网址：www.mode301.cn
E-mail：zhlndqg@mode301.cn