

- [J]. Mult Scler Relat Disord, 2018(22): 8-11.
- [10] NTALOUKA M P, ARNAOUTOGLU E, TZIMAS P. Post-operative cognitive disorders: an update[J]. Hippokratia, 2018, 22(4): 147-154.
- [11] 王伟, 俞苏寰, 曹长军, 等. 前颅窝脑膜瘤伴瘤周水肿的治疗[J]. 武汉大学学报(医学版), 2017, 38(1): 151-154.
- [12] TULLOCH I, PALMER S, SCOTT R, et al. Cognitive improvement following repair of a basal encephalocele [J]. Acta Neurochir (Wien), 2018, 160(6): 1225-1229.
- [13] 唐忠, 袁贤瑞, 栗枫, 等. 家兔上矢状窦中1/3及其回流静脉结扎后窦旁脑组织病理结构的变化[J]. 中国临床神经外科杂志, 2011, 16(5): 293-295.
- [14] MOONEN J E, FOSTER-DINGLEY J C, VAN DEN BERG-HUIJSMANS A A, et al. Influence of small vessel disease and microstructural integrity on neurocognitive functioning in older individuals: The DANTE study leiden[J]. AJNR Am J Neuroradiol, 2017, 38(1): 25-30.
- [15] SUTTNER L H, MEJIA A, DEWEY B, et al. Statistical estimation of white matter microstructure from conventional MRI[J]. Neuroimage Clin, 2016, 12(1): 615-623.

肿瘤突变负荷对初诊野生型晚期非鳞状细胞非小细胞肺癌化疗效果的影响

林贵南, 彭杰文, 陈可绪 (广东省中山市人民医院化疗二区, 广东中山 528403)

摘要: 目的 探讨肿瘤突变负荷(TMB)与野生型晚期非鳞状细胞非小细胞肺癌化疗疗效、预后的关系。方法 120例野生型晚期非鳞状细胞非小细胞肺癌患者根据 TMB 检测结果分为低、中、高水平3组, 观察及对比3组患者临床指标相关性、临床疗效、TMB 临界值及其与无进展生存时间(PFS)、总生存时间(OS)关系。结果 高水平组有吸烟史者多, 客观缓解率(ORR)最高, PFS 最短, OS 最长($P<0.05$)。高水平 TMB 可明显影响其 PFS、OS($P<0.05$)。结论 TMB 对野生型晚期非鳞状细胞非小细胞肺癌化疗患者有一定影响, 可为临床初诊野生型晚期肺癌患者治疗提供指导。

关键词: 肿瘤突变负荷; 晚期非鳞状细胞非小细胞肺癌; 疗效; 预后

中图分类号: R734.2

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610(2021)02-0176-04

Effect of tumor mutation burden on the chemotherapy for wild-type advanced non-squamous non-small cell lung cancer

LIN Gui-nan, PENG Jie-wen, CHEN Ke-xu (Chemotherapy Ward II, Zhongshan City People's Hospital, Zhongshan 528403, China)

Abstract: Objective To investigate the relationship between tumor mutation burden (TMB) and efficacy and prognosis of chemotherapy for wild-type advanced non-squamous non-small cell lung cancer. Methods A total of 120 patients with wild-type advanced non-squamous non-small cell lung cancer were divided into three groups according to the TMB test results, Low-Level Group, Intermediate-Level Group and High-Level Group. The relevance of clinical indicators, clinical efficacy and TMB margin as well as their relationship with PFS and OS of the three groups were observed and compared. Results The High-Level Group had more patients with smoking history, higher objective response rate (ORR), shortest PFS and longest OS ($P<0.05$). High TMB level might significantly affect the PFS and OS ($P<0.05$). Conclusion TMB has certain effect on patients undergoing chemotherapy for wild-type advanced non-squamous non-small cell lung cancer, which provides guidance for the treatment of wild-type advanced lung cancer.

Key words: tumor mutation burden; advanced non-squamous non-small cell lung cancer; curative effect; prognosis

肺癌现今是世界上发病率、致死率以及致畸残率最高的一种恶性肿瘤, 近年来由于环境和人群生活

方式改变导致肺癌发生率不断增高^[1], 多数患者确诊时病情已发展至晚期, 不适合接受手术治疗而进行化疗^[2]。野生型晚期非鳞状细胞非小细胞肺癌主要采用一线化疗, 相较于二线、三线化疗对患者更为经济、理想。肿瘤突变负荷(TMB)是近年临床肺癌治疗疗

基金项目: 中山市医学科研项目(No.2019J015)

收稿日期: 2020-09-02; 修订日期: 2020-11-18

作者简介: 林贵南(1983-), 男, 硕士, 主治医师

效预测和预后评估的研究热点^[3-4]。本研究对 TMB 与初诊野生型晚期非鳞状细胞非小细胞肺癌化疗疗效、预后关系进行探讨。

1 资料和方法

1.1 一般资料

选取 2014 年 1 月–2018 年 12 月在本医院进行化疗的野生型晚期非鳞状细胞非小细胞肺癌患者,依据均数抽样公式, U 为检验水准 α 对应的 U 值, σ 为总体标准差, δ 为容许误差,依据实验得出标准差 $\sigma = 1.06$,取 $\alpha = 0.05$, $\delta = 0.1$,得出样本量为 100,考虑到失访率以及抽样误差在 100 人的样本量基础上增加 20% 的样本数,扩展为 120 例。纳入标准:(1)均为初诊非鳞状细胞非小细胞肺癌;(2)影像学检查可见有远处器官转移;(3)基因检测为表皮生长因子受体(EGFR) 常见突变和间变性淋巴瘤激酶(ALK) 融合基因阴性;(4)一线接受培美曲塞和顺铂方案;(5)有化疗前组织标本用于 TMB 检测;(6)临床资料完整。排除标准:(1)合并其他恶性肿瘤者;(2)肿瘤突变负荷检测前已接受放疗、化疗者;(3)妊娠期者。经本院医学伦理委员会批准,将入组患者按肿瘤突变负荷水平分为 3 组,高水平组 $TMB \geq 20 \text{ mut/Mb}$ ($n=25$),中水平组 $6 \text{ mut/Mb} \leq TMB < 20 \text{ mut/Mb}$ ($n=47$),低水平组 $TMB < 6 \text{ mut/Mb}$ ($n=48$)。

1.2 方法

所有患者化疗前均利用二代测序方法检测肿瘤组织标本 TMB 水平,具体为:采集患者肿瘤组织标本,采集完成后利用甲醛固定并进行石蜡包埋,然后采用苏木精-伊红进行染色,经病理专家判定选取肿瘤细胞含量超过 10% 组织。同时采集患者静脉血作为阴性对照,采集 8~10 mL 外周血并置于 EDTA 抗凝管中,然后进行离心,其白细胞沉淀则作为阴性对照。样本处理完成后进行组织、白细胞 DNA 提取,试剂盒购自于 Qiagen 公司,文库制备试剂盒购自于 Kapa biosystems 公司,文库纯化和 PCR 扩增结束后开始目标基因富集及测序。对 DNA 文库添加标签并混合样本,在文库 416 个癌症相关基因编码区域以及 16 个基因的内含子利用定制生物素型 DNA 探针捕获、杂交,并采用 Illumina p5、p7 引物和 Kapa biosystems 公司提供的新一代测序文库扩增高保真热启动聚合酶预混液扩增文库 DNA,文库富集后测序。测序数据采用 Trimmomatic25 软件过滤排除低质量/N 碱基,利用 GATK 软件对单核苷酸变异、插入缺失突变进行分析并剔除常见变异。TMB 由编码区域单核苷酸变异、插入缺失突变组成,同时剔除原发性肺

癌驱动基因突变以及移码突变、抑癌基因截短突变,并将组织标本和白细胞进行对比剔除种系突变。化疗方案为:培美曲塞[齐鲁制药有限公司,国药准字 H20060672,规格 0.2 g(按 $C_{20}H_{21}N_5O_6$ 计)]500 mg/m²,静滴,第 1 天;顺铂(江苏豪森药业集团有限公司,国药准字 H20040812,规格 2 mL:10 mg)75 mg/m²,静滴,第 1 天;每 3 周一疗程。首次接受培美曲塞前 1 周肌注维生素 B₁₂ 1 000 μ g,口服叶酸 400 μ g/d,并于培美曲塞用药当天、隔天、前 1 d 口服地塞米松 4 mg,2 次/d。以首次治疗时间为观察起点,对患者以电话或上门形式进行随访,末次随访时间为 2018 年 12 月 31 日。

1.3 观察指标

(1)肿瘤突变负荷与患者临床指标相关性。(2)临床疗效^[5]:客观缓解率(ORR)、无进展生存时间(PFS)和总生存时间(OS), $ORR = (\text{完全缓解(CR)例数} + \text{部分缓解(PR)例数}) / \text{总例数} \times 100\%$;PFS 为接受治疗开始时间至患者病情进展或死亡时间,OS 为接受治疗开始时间至患者死亡、末次随访时间。(3)TMB 临界值。(4)不同水平 TMB 与 PFS、OS 关系。

1.4 统计学处理

采用统计学软件 SPSS22.0 分析和处理,计量资料采取 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析;计数资料采取率(%)表示,比较行 χ^2 检验。利用 Spearman 秩相关性分析 TMB 与临床指标相关性;利用 ROC 统计方法计算肿瘤突变负荷的最佳临界值;Log-rank 检验方法比较不同 TMB 水平 PFS 及 OS 时间;Cox 回归分析 TMB 对 PFS 及 OS 的预后影响。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床资料

高水平组有吸烟史者多($P < 0.05$),见表 1。

2.2 临床疗效

高水平组 ORR 最高,OS 时间最长($P < 0.05$),见表 2。

2.3 TMB 对 PFS、OS 的影响

对所有肺癌化疗患者年龄、性别、吸烟史、临床类型、临床分期、ECOG-PS 评分、家族肿瘤史、TMB 水平等行单因素分析,结果显示 TMB 水平对患者 PFS、OS 影响作用明显($P < 0.05$)。多因素 Cox 回归分析显示高水平 TMB 对 PFS、OS 预后影响显著($P < 0.05$),低、中水平 TMB 影响削弱,见表 3、4。

表1 3组患者临床资料的比较 (例)

指标	低水平组 (n=48)	中水平组 (n=47)	高水平组 (n=25)
年龄/岁			
<60	35	37	13
≥60	13	10	12
性别			
男	28	22	14
女	20	25	11
吸烟史			
有	29	27	24
无	19	20	1
ECOG-PS 评分/分			
0	36	34	17
1	9	10	8
2	1	2	0
3	2	1	0
临床类型			
腺癌	45	44	21
大细胞癌	1	2	1
肉瘤样癌	2	1	3
临床分期			
ⅢB	5	7	2
Ⅳ	43	40	23
家族肿瘤史			
有	25	21	14
无	23	26	11

3组吸烟史比较: $P<0.05$

3 讨论

野生型晚期肺腺癌属于异质性肿瘤,选择有效疗效预测和预后指标对于临床意义重大。TMB是目前一直在研究的生物标志物,有利于临床筛查适合接受免疫治疗的患者,促进临床有效治疗^[6-7]。因多数晚期癌症患者无法提供足够肿瘤组织进行检测,而液体活检在临床肿瘤中已逐渐应用,为TMB发展提供了良好基础。当患者体内TMB水平较高时,肿瘤细胞所

产生的新抗原数量、种类增加,从而提高免疫识别概率,同时机体抗肿瘤免疫应答反应被免疫检查点抑制剂激活使肿瘤细胞杀伤率增加。2019年NCCN指南将TMB检测列入,快速推动了TMB在临床治疗中的应用。一项研究表明高水平TMB与各癌症类型生存率明显相关,可提高整体生存率^[8]。

本研究结果显示3组不同水平TMB患者其吸烟史比较有统计学意义,提示吸烟可能影响肺癌患者TMB水平,分析其原因可能与吸烟致使大量诱变剂暴露有关。在Wang等^[9]研究中也指出高水平TMB与吸烟有关。本研究中高水平TMB患者ORR明显高于低、中水平TMB患者,提示高水平TMB患者ORR较低、中水平TMB患者改善明显,其原因可能是受TMB水平和化疗响应率之间影响。在非小细胞肺癌临床治疗相关报道中,多个研究均表明高水平TMB患者ORR、PFS、OS优于低水平TMB患者^[10-13],并可提高患者免疫应答。但本研究中PFS与临床报道不具有一致性,分析原因认为可能与驱动突变因素影响有关,为进一步对此进行论证可考虑在之后研究中对驱动突变因素进行具体分析。本研究结果显示,高水平TMB患者的OS长于低、中水平TMB患者,提示TMB对患者的OS具有预测作用,可在临床治疗中提示有关治疗方案制定。高水平TMB患者OS更长的原因可能是高水平TMB患者体内癌细胞产生新抗原较多,因此可被免疫细胞识别可能性大,故而患者在免疫治疗中获益更多,总生存时间随之延长。有关报道显示高水平TMB与临床预后较好有关,Owada-Ozaki^[14]、Devarakonda等^[15]研究指出高水平TMB是影响非小细胞癌预后的重要因素,可辅助预测免疫检查点抑制剂疗效从而改善患者生存状况。本研究Cox回归分析显示,高水平TMB对患者PFS、OS影响显著,可见在临床中对其预后具有预测作用。虽然TMB是一项简单、容易获得的临床标志物,且被证实可用于临床非小细胞肺癌疗效及预后预测,但关于TMB检测尚无统一标准,临床操作中可受肿瘤组织标本数量或质量、检测时间长、检测方法、肿瘤组织异质性等因素影响限制其应用。

表2 3组临床疗效的比较

组别	n	CR/%	PR/%	ORR/%	PFS/月	OS/月
低水平组	48	4(8.3)	2(4.2)	6(12.5)	6.04±1.59	7.21±2.10
中水平组	47	2(4.3)	3(6.4)	5(10.6)	6.10±1.32	8.14±2.37
高水平组	25	6(24.0)	4(16.0)	10(40.0) ^a	5.98±1.73	18.86±1.39 ^a

与低、中水平组比较:^a $P<0.05$

表3 TMB水平对患者PFS的影响

因素	回归系数	标准误差值	wald χ^2 值	P值	相对危险度
低水平 TMB	1.218	0.611	3.974	0.047	3.380
中水平 TMB	1.225	0.573	4.570	0.033	3.404
高水平 TMB	0.549	0.153	12.875	0.000	1.732

表4 TMB水平对患者OS的影响

因素	回归系数	标准误差值	wald χ^2 值	P值	相对危险度
低水平 TMB	1.296	0.562	5.318	0.022	3.655
中水平 TMB	0.814	0.335	5.904	0.016	2.257
高水平 TMB	0.685	0.186	13.563	0.000	1.984

参考文献:

- [1] 孙翠翠, 张斯萌, 温倜, 等. 晚期非小细胞肺癌肿瘤生长速率与临床病理特征及预后的相关性[J]. 中国医科大学学报, 2019, 48(8): 673-677.
- [2] 劳逸, 黄璐, 王辉, 等. 吉非替尼与化疗交叉应用于EGFR敏感突变型晚期非小细胞肺癌一、二线治疗的效果观察[J]. 广东医科大学学报, 2018, 36(2): 207-210.
- [3] 吴鹏, 赵玉梅, 杨玲麟. 肿瘤突变负荷作为非小细胞肺癌免疫疗效预测标志物的研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(19): 2414-2418.
- [4] CHANG H, SASSON A, SRINIVASAN S, et al. Bioinformatic methods and bridging of assay results for reliable tumor mutational burden assessment in non-small-cell lung cancer[J]. Mol Diagn Ther, 2019, 23(4): 507-520.
- [5] 蒋琼慧, 路泽军, 杨平. 肿瘤免疫治疗疗效评价标准——iRECIST 解读[J]. 转化医学杂志, 2020, 9(1): 57-60.
- [6] TAFE L J. Non-small cell lung cancer as a precision oncology paradigm: Emerging targets and tumor mutational burden (TMB)[J]. Adv Anat Pathol, 2020, 27(1): 3-10.
- [7] 马杰, 曾瑄, 张波. 非小细胞肺癌免疫治疗新兴生物标志物: 肿瘤突变负荷及相关研究进展[J]. 中华病理学杂志, 2019, 48(12): 987-992.
- [8] SAMSTEIN R M, LEE C, SHOUSHARI A N, et al. Tumor mutational load predicts survival after immunotherapy across multiple cancer types[J]. Nat Genet, 2019, 51(2): 202-206.
- [9] WANG C, LIANG H, LIN C, et al. Molecular subtyping and prognostic assessment based on tumor mutation burden in patients with lung adenocarcinomas[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(17): 4251.
- [10] GOODMAN A M, 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.
- [11] HELLMANN M D, NATHANSON T, RIZVI H, et al. Genomic features of response to combination immunotherapy in patients with advanced non-small-cell lung cancer[J]. Cancer Cell, 2018, 33(5): 843-852.
- [12] CARBONE D P, RECK M, PAZ-ARES L, et al. First-line nivolumab in stage IV or recurrent non-small-cell lung cancer[J]. N Engl J Med, 2017, 376(25): 2415-2426.
- [13] ANTONIA S J, LÓPEZ-MARTIN J A, BENDELL J, et al. Nivolumab alone and nivolumab plus ipilimumab in recurrent small-cell lung cancer (CheckMate 032): a multicentre, open-label, phase 1/2 trial[J]. Lancet Oncol, 2016, 17(7): 883-895.
- [14] OWADA-OZAKI Y, MUTO S, TAKAGI H, et al. Prognostic impact of tumor mutation burden in patients with completely resected non-small cell lung cancer: Brief report[J]. J Thorac Oncol, 2018, 13(8): 1217-1221.
- [15] DEVARAKONDA S, ROTOLO F, TSAO M S, et al. Tumor mutation burden as a biomarker in resected non-small-cell lung cancer[J]. J Clin Oncol, 2018, 36(30): 2995-3006.