

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.03.013

· 临床研究 ·

非小细胞肺癌组织微卫星不稳定与 T 淋巴细胞浸润的关系

桑友洲^a,梅静思^a,于文文^a,张喜英^a,魏枫^a,于津浦^a,任秀宝^{a,b}(天津医科大学肿瘤医院 a. 免疫室,国家肿瘤临床医学研究中心,天津市肿瘤免疫与生物治疗重点实验室; b. 生物治疗科,天津 300060)

[摘要] **目的:** 分析非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)组织错配修复蛋白 MLH1、MSH2 和 MSH6 的表达和 T 淋巴细胞浸润情况,探讨微卫星不稳定(microsatellite instability, MSI)与 NSCLC 组织 T 淋巴细胞浸润的关系。**方法:** 收集天津医科大学肿瘤医院 2004 年至 2010 年 NSCLC 组织标本 100 例,应用免疫组化法检测癌组织中 MLH1、MSH2 和 MSH6 的表达,以其中 1 种及 1 种以上蛋白表达阴性者判定为 MSI;同时检测 T 淋巴细胞浸润情况,并分析 MSI 与 NSCLC 临床病理特征的关系。**结果:** NSCLC 组织中 MSI 检出率 24%,少于微卫星稳定(microsatellite stability, MSS)。MSI NSCLC 组织中 T 淋巴细胞浸润明显高于 MSS 者。免疫组化结果显示:MSI NSCLC 组织 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞浸润数目明显多于 MSS NSCLC 组织,两者差异有统计学意义($P < 0.05$)。MSI 与患者的年龄有关($P < 0.05$),而与患者的性别、肿瘤组织类型、肿瘤大小、淋巴结有无转移和肿瘤有无远处转移均无关($P > 0.05$)。**结论:** MSI 影响 NSCLC 肿瘤免疫微环境,MSI 的检测可为 NSCLC 免疫治疗效应提供预测指标。

[关键词] 非小细胞肺癌;微卫星不稳定;T 淋巴细胞浸润

[中图分类号] R734.2; R730.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-385X(2016)03-0371-07

The relationship of microsatellite instability with infiltration of T lymphocytes in tissues of non-small cell lung cancer

SANG Youzhou^a, MEI Jingsi^a, YU Wenwen^a, ZHANG Xiyi^a, WEI Feng^a, YU Jinpu^a, REN Xiubao^{a,b}(a. National Clinical Research Center for Cancer, Tianjin Key Laboratory of Cancer Immunology and Biotherapy, Department of Immunology; b. Department of Biotherapy, Cancer Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300060, China)

[Abstract] **Objective:** To analyze expressions of the mismatch repair proteins, MLH1, MSH2 and MSH6, and infiltration of T lymphocytes in tissues of non-small cell lung cancer (NSCLC) and to explore a relationship of microsatellite instability (MSI) with infiltration of T lymphocytes in NSCLC. **Methods:** One hundred samples of NSCLC tissues diagnosed in Cancer Institute and Hospital, Tianjin Medical University between 2004 and 2010 were collected. Expressions of the MLH1, MSH2 and MSH6, and infiltration of T lymphocytes in the carcinoma tissues were examined with immunohistochemical assay. The carcinoma tissues with one negative expression among the above proteins were determined as MSI, and clinical pathologic characteristics of MSI NSCLC were analyzed. **Results:** Detection rate of MSI in NSCLC tissues was 24%, that was lower than that in MSS. Infiltration of T lymphocytes in the tissues of MSI NSCLC was obviously higher than that in MSS. Results of the immunohistochemical assays showed that numbers of CD3⁺, CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocytes infiltrated in the tissues of MSI NSCLC were significantly higher than those in the tissues of MSS NSCLC ($P < 0.05$). MSI situation in the cases was related with their age ($P < 0.05$) but not with their gender, pathological type of tumor, primary tumor size, involvement of regional lymph node and distant metastasis ($P > 0.05$). **Conclusion:** MSI affects the tumor immune microenvironment of NSCLC, which might provide a novel predictive indicator for immunotherapy of NSCLC.

[基金项目] 国家重点基础研究发展计划(973计划)资助项目(No. 2012CB9333004);国家自然科学基金资助项目(No. 81272221);天津医科大学肿瘤医院博士启动基金(No. B1309)。Project supported by the National Basic Research Program of China(973 Program)(No. 2012CB9333004), the National Natural Science Foundation of China(No. 81272221), and the PhD Research Foundation from Cancer Hospital of Tianjin Medical University(No. B1309)

[作者简介] 桑友洲(1989-),男,山东省寿光市人,硕士生,主要从事肿瘤生物治疗的研究,E-mail: youzhouang@163.com

[通信作者] 任秀宝(REN Xiubao, corresponding author),E-mail: renxiubao@tjmuch.com

[优先发表] http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20160527.1647.010.html

[**Key words**] non-small lung cancer; microsatellite instability; infiltration of T lymphocyte

[Chin J Cancer Biother, 2016, 23(3): 371-377. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.03.013]

在人类基因组中,微卫星 DNA 主要是由 1~6 个核苷酸形成的短重复序列。微卫星不稳定(microsatellite instability, MSI)是指在 DNA 复制过程中由于错配修复基因(mismatch repair, MMR)的缺陷而导致短的重 DNA 序列发生插入或缺失等改变^[1]。MMR 基因主要包括 *hMLH1*、*hPMS2*、*hMSH2*、*hMSH6* 等,其中 *hMLH1*、*hMSH2* 和 *hMSH6* 起主要作用。研究^[2]发现,MSI 结直肠癌组织中大量淋巴细胞浸润并且 PD-1 和 CTLA-4 免疫监测点分子表达上调。虽然在目前的临床试验中发现结直肠癌患者对抗 PD-1/PD-L 治疗反应性较差,但最新研究^[3]证实 MSI 结直肠癌对抗 PD-1 治疗有更好的疗效。在非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)中是否存在同样现象,目前鲜有报道。本研究利用免疫组织化学技术检测 NSCLC 微卫星稳定状态及 T 淋巴细胞浸润情况,并分析 MSI 与 NSCLC 临床病理特征的关系,探讨 MSI 是否影响 T 淋巴细胞浸润,为 NSCLC 的免疫治疗提供预测指标。

1 材料与方法

1.1 组织标本与试剂

收集天津医科大学肿瘤医院 2004 年至 2010 年资料完整且病理诊断为 NSCLC 组织标本 100 例,其中肺腺癌 50 例、肺鳞癌 50 例,男性 70 例、女性 30 例,中位年龄 62 岁(36~83 岁)。根据第 7 版 AJCC NSCLC TNM 分期标准分期, I 期 32 例、II 期 29 例、III 期 28 例和 IV 期 11 例;淋巴结转移 47 例、无淋巴结转移 53 例;有远处转移 11 例、无远处转移 89 例。术前均未接受放、化疗。

鼠抗人 MLH1 单克隆抗体、兔抗人 MSH2 单克隆抗体、兔抗人 MSH6 单克隆抗体、兔抗人 CD3 单克隆抗体、鼠抗人 CD4 单克隆抗体、兔抗人 CD8 单克隆抗体、抗体稀释液和 DAB 显色液均购自北京中杉金桥生物技术有限公司,二抗及 EnVision 两步法免疫组化检测试剂盒购自福州迈新生物技术有限公司。

1.2 免疫组化检测微卫星不稳定

免疫组化技术检测 MLH1、MSH2 和 MSH6 蛋白的表达。组织切片常规脱蜡水化,EDTA 抗原修复液(pH 8.0)高压抗原修复,3%过氧化氢室温封闭 30 min。抗体稀释液稀释鼠抗人 MLH1 抗体(1:50)、兔抗人 MSH2 抗体(1:100)和兔抗人 MSH6 抗体(1:100),加一抗后 4℃湿盒孵育过夜,加二抗室温孵

育,DAB 显色,光镜观察。用 PBS 代替一抗作为阴性对照,以已知阳性切片作为阳性对照。结果判定:以细胞核出现黄褐色或棕黄色颗粒为 MLH1、MSH2、MSH6 阳性细胞,根据阳性细胞百分比及阳性细胞染色强度进行评分。(1)染色强度分级:无着色 0 分;淡黄色 1 分;棕黄色 2 分;棕褐色 3 分。(2)阳性细胞百分比分级:≤25% 为 1 分;26%~50% 为 2 分;51%~75% 为 3 分;76%~100% 为 4 分。染色强度与阳性细胞百分比评分的乘积:≥2 分为阳性,表示蛋白不缺失;≤1 分为阴性,表示蛋白缺失。MLH1、MSH2 和 MSH6 蛋白至少一个缺失,定义为 MSI,三者表达都为阳性定义为微卫星稳定(microsatellite stability, MSS)。

1.3 免疫组化检测肿瘤组织 T 淋巴细胞浸润

免疫组化技术检测 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞浸润。组织切片常规脱蜡水化。在 EDTA 抗原修复液(pH 8.0)中高压抗原修复,抗体稀释液稀释兔抗人 CD3 抗体(1:100);鼠抗人 CD4 抗体(1:50);兔抗人 CD8 抗体(1:100),加一抗后 4℃湿盒孵育过夜,加二抗室温孵育,DAB 显色,光镜观察。PBS 代替一抗为阴性对照,淋巴结切片染色为阳性对照。淋巴细胞浸润统计方法:光镜下(×400)随机选取 5 个淋巴细胞浸润最密集的不重叠区域进行细胞计数,取 5 个区域淋巴细胞数平均值。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 软件 17.0,用 χ^2 检验和 Mann-Whitney U 检验, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NSCLC 组织中 MSI 检出率少于 MSS

本实验利用免疫组化法检测 100 例 NSCLC 病例标本,共检测出 24 例 MSI,MSI 检出率为 24%。肺腺癌和肺鳞癌的 MSI 检出率分别为 26%(13/50)和 22%(11/50)。MLH1、MSH2 和 MSH6 蛋白在 MSI 和 MSS NSCLC 组织中的表达见图 1。

2.2 MSI NSCLC 的临床病理特征

100 例 NSCLC 标本的病理资料分析(表 1)发现,年龄 ≤ 60 岁的患者有 45 例,其中 MSI 15 例(33.33%)。MSI 检出率与患者年龄有关($P < 0.05$),但与患者性别、肿瘤组织类型、淋巴结有无转移,肿瘤有无远处转移和肿瘤大小无关($P > 0.05$)。此外,各项病理指标在 MSI 和 MSS 间无显

著性差异 ($P > 0.05$) (表 2)。

2.3 MSI 对 NSCLC 组织中 T 淋巴细胞浸润的影响
免疫组化法检测 24 例 MSI NSCLC 组织标本

CD3⁺、CD4⁺ 和 CD8⁺ T 淋巴细胞浸润情况, 随机匹配 28 例 MSS NSCLC 组织。T 淋巴细胞在 MSI 和 MSS 中的浸润见图 2。

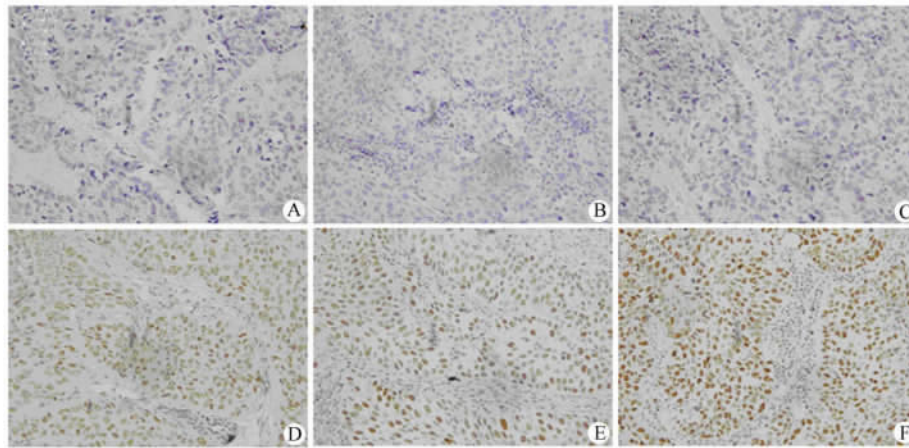


图 1 MLH1、MSH2 和 MSH6 蛋白在 MSI 和 MSS NSCLC 组织中的表达 (×200)

Fig. 1 Expressions of MLH1, MSH2, and MSH6 proteins in NSCLC tissues with MSI or MSS (×200)

A, B and C: Expressions of MLH1, MSH2 and MSH6 proteins in NSCLC tissues with MSI, respectively;
D, E and F: Expressions of MLH1, MSH2 and MSH6 proteins in NSCLC tissues with MSS, respectively

表 1 NSCLC 组织中 MSI 与临床病理特征的关系
Tab.1 Relationship between MSI in NSCLC tissues and clinic pathological features

| Pathological feature | Case (N) | MSI [n(%)] | χ^2 | P |
|----------------------|----------|------------|----------|-------|
| Gender | | | | |
| Man | 70 | 17(24.29) | 0.010 | 0.919 |
| Woman | 30 | 7(23.33) | | |
| Age (t/a) | | | | |
| ≤ 60 | 45 | 15(33.33) | 3.907 | 0.048 |
| > 60 | 55 | 9(16.36) | | |
| Pathological type | | | | |
| Adenocarcinoma | 50 | 13(26.00) | 0.219 | 0.640 |
| Squamous carcinoma | 50 | 11(22.00) | | |
| pTstage | | | | |
| T1 ~ T2 | 70 | 14(20.00) | 2.047 | 0.153 |
| T3 ~ T4 | 30 | 10(33.33) | | |
| pNstage | | | | |
| N0 | 53 | 13(24.53) | 0.412 | 0.814 |
| N1 | 21 | 4(19.05) | | |
| N2 | 26 | 7(26.92) | | |
| pMstage | | | | |
| M0 | 89 | 22(24.72) | 0.229 | 0.632 |
| M1 | 11 | 2(18.18) | | |

表 2 不同微卫星状态 NSCLC 组织的临床病理指标 (n)
Tab.2 Clinic pathological indexes of NSCLC tissues with MSI or MSS (n)

| Pathological index | MSI | MSS | P |
|--------------------|-----|-----|-------------|
| Mean age(t/a) | 57 | 60 | |
| Gender | | | $P = 0.962$ |
| Man | 17 | 20 | |
| Woman | 7 | 8 | |
| Pathological type | | | $P = 0.764$ |
| Adenocarcinoma | 13 | 14 | |
| Squamous carcinoma | 11 | 14 | |
| pTstage | | | $P = 0.098$ |
| T1 | 9 | 8 | |
| T2 | 5 | 14 | |
| T3 | 9 | 4 | |
| T4 | 1 | 2 | |
| pNstage | | | $P = 0.268$ |
| N0 | 13 | 9 | |
| N1 | 4 | 6 | |
| N2 | 7 | 13 | |
| pMstage | | | $P = 0.872$ |
| M0 | 22 | 26 | |
| M1 | 2 | 2 | |

pTstage: Pathological T stage, the primary tumor site;
pNstage: Pathological N stage, the involvement of regional lymph node; pMstage: Pathological M stage, the presence of distant metastatic spread or otherwise

pTstage: Pathological T stage, the primary tumor site;
pNstage: Pathological N stage, the involvement of regional lymph node; pMstage: Pathological M stage, the presence of distant metastatic spread or otherwise

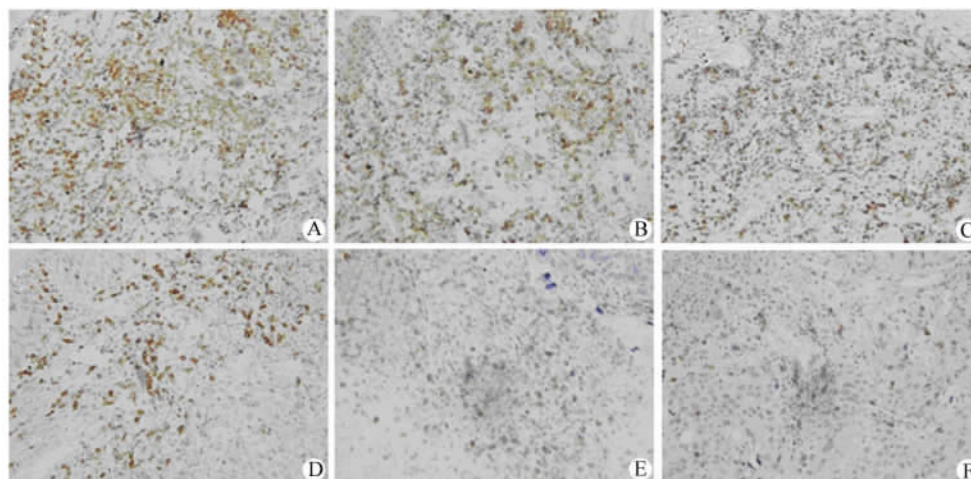


图 2 不同微卫星状态 NSCLC 组织中 T 淋巴细胞的浸润情况(×200)

Fig.2 Infiltration of T-lymphocytes in NSCLC tissues with MSI or MSS(×200)

A, B and C: The infiltration of CD3⁺, CD4⁺ and CD8⁺ T-lymphocytes in MSI respectively;
D, E and F: The infiltration of CD3⁺, CD4⁺ and CD8⁺ T-lymphocytes in MSS respectively

免疫组化法分别检测 NSCLC、肺腺癌和肺鳞癌 MSI 组和 MSS 组 CD3⁺、CD4⁺ 和 CD8⁺ T 淋巴细胞浸润,结果显示这三类肺癌 MSI 组 T 淋巴细胞浸润

数目均明显高于 MSS 组,两组间差异都有统计学意义(图 3 ~ 5;表 3 ~ 5)。

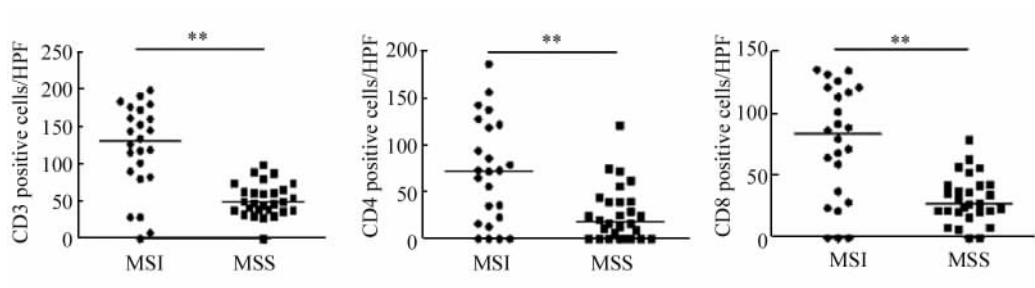


图 3 MSI 组与 MSS 组 NSCLC 组织中 T 淋巴细胞浸润

Fig.3 Infiltration of T lymphocytes in MSI and MSS groups of NSCLC tissues

Positive cells/HPF: The number of CD3⁺, CD4⁺ and CD8⁺ T-lymphocytes in per high-power field respectively.
** $P < 0.01$ vs MSS group.

表 3 MSI 组与 MSS 组 NSCLC 组织中 T 淋巴细胞浸润的差异(n , Mann-Whitney U-test)

Tab.3 Infiltration differences of T lymphocytes in MSI and MSS groups of NSCLC tissues(n , Mann-Whitney U-test)

| Type of infiltration | MSI ($N = 24$) | | | MSS ($N = 28$) | | | P |
|----------------------|------------------|----------------|----------------|------------------|----------------|----------------|-------|
| | Median | Lower quartile | Upper quartile | Median | Lower quartile | Upper quartile | |
| CD3 ⁺ TIL | 129.90 | 83.65 | 169.60 | 47.90 | 36.95 | 63.90 | <0.01 |
| CD4 ⁺ TIL | 71.90 | 17.45 | 120.75 | 17.80 | 0 | 39.15 | <0.01 |
| CD8 ⁺ TIL | 82.70 | 30.30 | 119.45 | 27.00 | 20.55 | 41.80 | <0.01 |

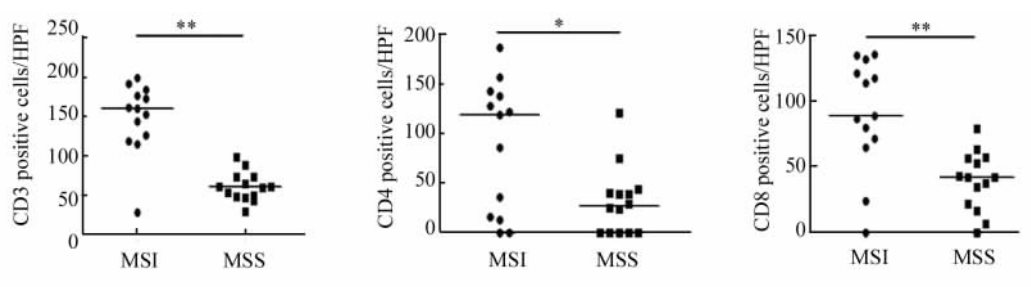


图 4 MSI 组与 MSS 组肺腺癌组织 T 淋巴细胞浸润

Fig. 4 Infiltration of T lymphocytes in MSI and MSS groups of lung adenocarcinoma

Positive cells/HPF: the number of CD3⁺, CD4⁺ and CD8⁺ T-lymphocytes in per high-power field respectively

* $P < 0.05$ vs MSS group, ** $P < 0.01$ vs MSS group

表 4 MSI 组与 MSS 组肺腺癌组织 T 淋巴细胞浸润的差异 (n, Mann-Whitney U-test)

Tab. 4 Infiltration differences of T-lymphocytes in MSI and MSS groups of lung adenocarcinoma tissues (n, Mann-Whitney U-test)

| Type of infiltration | MSI (N = 13) | | | MSS (N = 14) | | | P |
|----------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-------|
| | Median | Lower quartile | Upper quartile | Median | Lower quartile | Upper quartile | |
| CD3 ⁺ TIL | 159.40 | 122.50 | 179.60 | 60.30 | 48.35 | 73.20 | <0.01 |
| CD4 ⁺ TIL | 118.20 | 14.40 | 140.40 | 26.60 | 0 | 40.25 | 0.043 |
| CD8 ⁺ TIL | 88.40 | 67.40 | 125.60 | 41.80 | 20.35 | 56.25 | 0.001 |

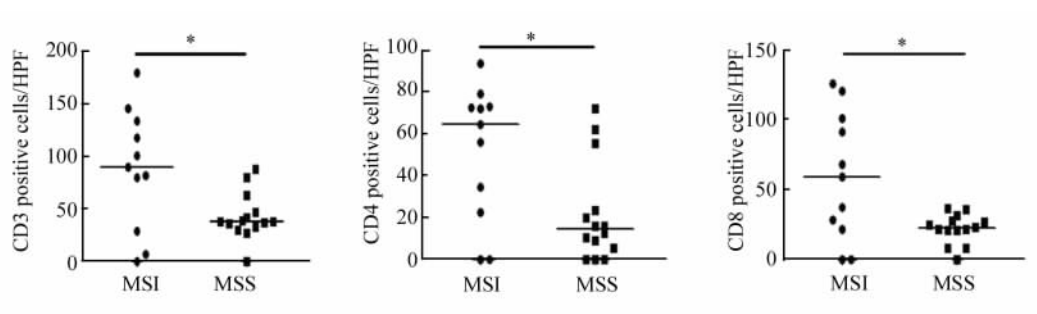


图 5 MSI 组与 MSS 组肺鳞癌组织 T 淋巴细胞浸润

Fig. 5 T-lymphocyte infiltration in MSI and MSS groups of lung squamous carcinoma tissues

Positive cells/HPF: the number of CD3⁺, CD4⁺ and CD8⁺ T-lymphocytes in per high-power field respectively

* $P < 0.05$ vs MSS group, ** $P < 0.01$ vs MSS group

表 5 MSI 组与 MSS 组肺鳞癌组织 T 淋巴细胞浸润的差异 (n, Mann-Whitney U-test)

Tab. 5 Infiltration differences of T-lymphocytes in MSI and MSS groups of lung squamous carcinoma tissues (n, Mann-Whitney U-test)

| Type of infiltration | MSI (N = 11) | | | MSS (N = 14) | | | P |
|----------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-------|
| | Median | Lower quartile | Upper quartile | Median | Lower quartile | Upper quartile | |
| CD3 ⁺ TIL | 89.80 | 28.60 | 133.60 | 37.70 | 31.80 | 50.40 | 0.046 |
| CD4 ⁺ TIL | 64.20 | 22.40 | 72.80 | 14.10 | 4.05 | 31.35 | 0.024 |
| CD8 ⁺ TIL | 58.80 | 21.80 | 101.20 | 22.20 | 17.35 | 28.25 | 0.028 |

3 讨论

肺癌是世界上常见的人类恶性肿瘤,其中 NSCLC 占肺癌总数的 80% 左右。目前对于 NSCLC 的治疗以手术、放疗和化疗等综合治疗方案为主,由于大多数患者就诊时已经是晚期,所以治疗效果不甚满意,尤其是晚期患者预后很差,5 年生存率低于 15%^[4]。即使是早期肺癌患者,术后也有超过 40% 的患者出现肿瘤复发^[5]。因此探索 NSCLC 新的治疗方法具有非常重要的意义。

近年来随着免疫学的快速发展,人们对肿瘤抗原、肿瘤免疫监视和肿瘤免疫逃逸等问题有了新的了解和认识,肿瘤免疫治疗也受到越来越多的重视。近年来,肺癌免疫治疗在肿瘤疫苗和免疫检查点抑制剂等方面取得了重要进展。例如, MAGE-A3 (melanoma-associated antigen-A3) 已经被证实为肺腺癌预后不良的独立预测因子^[6],并且 MAGE-A3 抗原特异性肿瘤性疫苗作为唯一的肺癌术后治疗疫苗已经进入 III 期临床试验,正在评估其术后辅助治疗效果。除此之外, L-BLP25 和 TG4010 等肿瘤疫苗也在临床试验中取得了进展^[7-8]。免疫检查点抑制剂近几年逐渐成为研究热点,其中抗 CTLA-4 和抗 PD-1/PD-L1 治疗研究较多。研究发现在动物实验中阻断 CTLA-4 和 PD-1/PD-L1 表现出显著的抗肿瘤效应,并且抗 PD-1/PD-L1 治疗在 NSCLC 患者的临床研究中观察到较好的疗效及安全性。

虽然免疫治疗已经成为肿瘤患者治疗手段之一,但依然存在很多问题需要解决。例如,免疫检查点抑制剂治疗费用较高,预测或筛选能获益的患者尤为重要。结直肠癌对抗 PD-1/PD-L1 治疗反应性较差曾被证实^[9],但最新研究却发现存在 MSI 的结直肠癌患者接受抗 PD-1/PD-L1 治疗后比 MSS 患者获得更好的治疗效果^[3],这提示 MSI 可以作为结直肠癌抗 PD-1/PD-L1 治疗良好反应性的预测因子。此外,在 MSI 结直肠癌组织中发现大量淋巴细胞浸润,其浸润程度明显高于 MSS 者^[9],而还证实高密度淋巴细胞浸润(尤其是 CD8⁺ 淋巴细胞)的结直肠癌患者预后更好^[10],这说明抗肿瘤免疫反应能够控制结直肠癌的进展。

在 NSCLC 中是否存在同样的现象,目前鲜有文献报道。本研究通过对 NSCLC 组织中 MSI 及淋巴细胞浸润的检测,探讨 MSI 是否影响 NSCLC 免疫微环境。目前临床常采用免疫组化(IHC)法和 PCR 法作为 MSI 的检测手段,与 PCR 法相比, IHC 具有操作方便、费用低以及对实验设备要求不高等优点,

具有较高的临床应用价值。本实验利用 IHC 法检测了 100 例 NSCLC 组织的 MLH1、MSH2 和 MSH6 的表达情况,检测出 MSI 患者 24 例。通过对 MSI 与临床病理指标的相关性分析发现, MSI 与患者性别、肿瘤组织类型、淋巴结有无转移,肿瘤有无远处转移和肿瘤大小无关,但年龄 ≤ 60 岁的患者 MSI 的检出率较高,提示年轻 NSCLC 患者更易出现 MSI。与 MSI 结直肠癌类似,本研究在 NSCLC 中发现 NSCLC-MSI 组织内淋巴细胞的浸润数量明显高于 NSCLC-MSS 组织,并且两者之间存在统计学差异。这说明 MSI 可能影响 NSCLC 肿瘤免疫微环境。对 MSI 肿瘤组织淋巴细胞浸润增多机制研究^[11]发现,在 MSI 肿瘤组织内位于基因外显子区域的微卫星序列反复突变,引起蛋白质框移突变,导致机体产生大量异常多肽片段,而这些异常多肽更易被免疫系统识别,进而引起更有效的免疫应答反应,其中免疫细胞的浸润增多是其重要表现。最近研究^[12]发现,突变产生的新抗原可被 T 淋巴细胞识别,这可能是过继免疫细胞治疗有效临床反应的主要因素。并且在小鼠模型中,被免疫检查点抑制剂激活的 T 淋巴细胞能够有效识别产生的新抗原。

PD-1/PD-L1 信号通路在很多肿瘤及其肿瘤微环境中上调,利用针对 PD-1 或其配体 PD-L1 的抗体对多种类型肿瘤产生显著疗效,包括黑素瘤、肾癌和 NSCLC 等^[13]。PD-L1 在免疫细胞表面的表达与是否是 PD-1/PD-L1 阻断治疗反应的重要预测指标^[3]。在转移性黑素瘤中 T 淋巴细胞浸润密度对抗 PD-1/PD-L1 治疗有预测作用,肿瘤组织内存在因 PD-1/PD-L1 结合而活性受抑制的大量 T 淋巴细胞,接受免疫检查点抑制剂治疗时表现有效的抗肿瘤反应^[14]。本实验已发现,在 NSCLC-MSI 组织存在大量淋巴细胞浸润,并且 NSCLC 的两个亚型肺腺癌和肺鳞癌中 MSI 组淋巴细胞的浸润数目都显著高于 MSS 组。研究^[15]发现, T 淋巴细胞的浸润数量和活性是抗 PD-1/PD-L1 免疫检查点阻断治疗有效的前提, T 淋巴细胞活性常因 PD-1 与 PD-L1 的结合受到抑制。利用抗 PD-1/PD-L1 抗体阻断 PD-1/PD-L1 通路而激活淋巴细胞活性,将产生更强的肿瘤细胞杀伤效应,提示 NSCLC-MSI 因存在大量淋巴细胞浸润将显现更好的抗 PD-1/PD-L1 治疗反应性,这对患者获得更好的免疫治疗反应起到预测作用。

综上所述,错配修复系统缺陷引起微卫星不稳定,进而影响 NSCLC 肿瘤免疫微环境。MSI 检测为 NSCLC 免疫治疗反应应答提供潜在的预测指标。通过对 NSCLC 患者免疫治疗前的 MSI 检测,患者有望在抗

PD-1/PD-L1 等免疫治疗中获取更好的治疗效果。

[参 考 文 献]

- [1] GEIERSBACH K B, SAMOWITZ W S. Microsatellite instability and colorectal cancer [J]. Arch Pathol Lab Med, 2011, 135 (10): 1269-1277. DOI: 10.5858/arpa.2011-0035-RA.
- [2] SMYRK T C, WATSON P, KAUL K, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes are a marker for microsatellite instability in colorectal carcinoma [J]. Cancer, 2001, 91(12): 2417-2422. DOI: 10.1002/1097-0142(20010615)91:12<2417::AID-CNCR1276>3.0.CO;2-U.
- [3] LE D T, URAM J N, WANG H, et al. PD-1 Blockade in tumors with mismatch-repair deficiency [J]. N Engl J Med, 2015, 372 (26): 2509-2520. DOI: 10.1056/nejme1510353.
- [4] OHE Y, ISHIZUKA N, TAMURA T, et al. Long-term follow-up of patients with unresectable locally advanced non-small cell lung cancer treated with chemoradiotherapy: a retrospective analysis of the data from the Japan Clinical Oncology Group trials (JCOG0003A) [J]. Cancer Sci, 2003, 94(8): 729-734. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2003.tb01510.x.
- [5] ZHENG Y W, LI R M, ZHANG X W, et al. Current adoptive immunotherapy in non-small cell lung cancer and potential influence of therapy outcome [J]. Cancer Invest, 2013, 31(3): 197-205. DOI: 10.3109/07357907.2013.775294.
- [6] GURE A O, CHUA R, WILLIAMSON B, et al. Cancer-testis genes are coordinately expressed and are markers of poor outcome in non-small cell lung cancer [J]. Clin Cancer Res, 2005, 11 (22): 8055-8062. DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-05-1203.
- [7] BUTTS C, MURRAY N, MAKSYMIAK A, et al. Randomized phase II B trial of BLP25 liposome vaccine in stage III B and IV non-small-cell lung cancer [J]. J Clin Oncol, 2005, 23(27): 6674-6681. DOI: 10.1200/jco.2005.13.011.
- [8] QUOIX E, RAMLAU R, WESTEEL V, et al. Therapeutic vaccination with TG4010 and first-line chemotherapy in advanced non-

small-cell lung cancer: a controlled phase 2B trial [J]. Lancet Oncol, 2011, 12(12): 1125-1133. DOI: 10.1016/s1470-2045(11)70259-5.

- [9] LLOSA N J, CRUISE M, TAM A, et al. The vigorous immune microenvironment of microsatellite instable colon cancer is balanced by multiple counter-inhibitory checkpoints [J]. Cancer Discov, 2015, 5(1): 43-51. DOI: 10.1186/2051-1426-3-s2-p410.
- [10] GALON J, ANGELL H K, BEDOGNETTI D, et al. The continuum of cancer immunosurveillance: prognostic, predictive, and mechanistic signatures [J]. Immunity, 2013, 39(1): 11-26. DOI: 10.1016/j.immuni.2013.07.008.
- [11] BODMER W, BISHOP T, KARRAN P. Genetic steps in colorectal cancer [J]. Nat Genet, 1994, 6(3): 217-219. DOI: 10.1038/ng0394-217.
- [12] GUBIN M M, ZHANG X, SCHUSTER H, et al. Checkpoint blockade cancer immunotherapy targets tumour-specific mutant antigens [J]. Nature, 2014, 515(7528): 577-581. DOI: 10.1038/nature13988.
- [13] TOPALIAN S L, HODI F S, BRAHMER J R, et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer [J]. N Engl J Med, 2012, 366(26): 2443-2454. DOI: 10.1056/NEJMoa1200690.
- [14] TUMEH P C, HARVIEW C L, YEARLEY J H, et al. PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance [J]. Nature, 2014, 515(7528): 568-571. DOI: 10.1038/nature13954.
- [15] QUIGLEY D A, KRISTENSEN V. Predicting prognosis and therapeutic response from interactions between lymphocytes and tumor cells [J]. Mol Oncol, 2015, 9(10): 2054-2062. DOI: 10.1016/j.molonc.2015.10.003.

[收稿日期] 2015 - 12 - 25

[修回日期] 2016 - 03 - 30

[本文编辑] 宋关鸿

· 读者 · 作者 · 编者 ·

文稿中须写成斜体的外文字符

在科技文稿中出现许多外文字符,它们有的是正体、有的是斜体。正体和斜体外文字符各有其特定含义和用法,切不可混淆使用。现根据有关标准和规则,把生物医学文稿中须要写成斜体的外文字符归纳为以下几类:

(1)生物学中拉丁学名的属名和种名(包括亚属、亚种、变种)应斜体,例如大肠杆菌 *Escherichia coli*、幽门螺杆菌 *Helicobacter pylori* 等。(2)各种基因的缩写符号应斜体(基因表达产物缩写符号应写成正体),例如人脆性 X 智力低下基因 1 的符号为 *FMRI*、原癌基因 *RAF1*(人)、病毒癌基因 *v-raf-1*(鼠)、抑癌基因 *p53*(鼠)等。(3)限制性内切核酸酶缩写符号中前 3 个字母应斜体,例如 *Hind* III、*Bam* H I、*Sal* I 等。(4)各种统计学符号应斜体,例如样本数 *n*、均数 \bar{x} 、样本差 *s*、*t* 检验、*F* 检验、概率 *P*、相关系数 *r* 等。(5)各种物理量的量符号应斜体(*pH* 用正体除外),例如长度 *l*、面积 *A*(或 *S*)、体积 *V*、质量 *m*、时间 *t*、压力 *p*、相对分子质量 *M_r*、物质的量浓度 *c_B* 等。(6)化学中表示旋光性、分子构型、构象、取代基等符号应斜体,例如左旋 *L*-、右旋 *D*-、邻位 *o*-、对位 *p*-、反式 *trans*-、顺式 *cis*- 等。(7)数学中用字母表示的变数和一般函数应斜体。(8)英文中使用的某些拉丁词应斜体,例如 *vs*、*in situ*、*in vivo*、*in vitro* 等。

(本刊编辑部)