

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.11.002

· 专家论坛(专题) ·

胃癌分子分型与个体化免疫治疗

孙智沉, 刘宝瑞(南京大学医学院附属鼓楼医院 肿瘤中心, 江苏 南京 210008)

[摘要] 胃癌是我国发病率和死亡率最高的恶性肿瘤之一, 手术、放化疗等传统手段对胃癌的疗效均有限。胃癌具有高度异质性, 随着对胃癌分子水平研究的深入和免疫治疗的快速发展, 个体化免疫治疗成为胃癌治疗领域最具前景的方向之一。近年来陆续提出的胃癌分子分型系统不仅对胃癌的基因和分子表达特征进行了准确且全面的描述, 而且能够提供肿瘤相关的分子免疫学信息, 对胃癌免疫治疗优势人群的界定、治疗策略的选择和开发具有指导意义。基于目前相对完善的几种胃癌分子分型系统, 本文就胃癌分子分型与免疫治疗的相关性及由此衍生的胃癌个体化免疫治疗新策略展开讨论。

[关键词] 胃癌; 分子分型; 免疫治疗

[中图分类号] R735.2; R392.12 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)11-1094-05

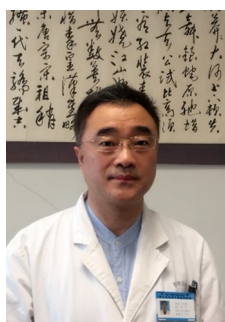
Molecular classification of gastric cancer and individualized immunotherapy

SUN Zhichen, LIU Baorui (The Comprehensive Cancer Centre, Drum Tower Hospital Affiliated to Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, Jiangsu, China)

[Abstract] Gastric cancer (GC) is one of the malignant tumors with the highest morbidity and mortality in China, and conventional therapies such as surgery, chemotherapy and radiotherapy have limited curative effect on it. GC is highly heterogeneous. With the research on GC deepening into a molecular level and the rapid development of immunotherapy, individualized immunotherapy has become the most promising technology in the field of GC therapy. Several molecular classifications have been put forward in recent years, accurately as well as comprehensively depicting the genomic and molecular characteristics of GC. Moreover, molecular classifications also provided molecular immunological information of GC, which gave implications for the screening of benefit population and treatment decision-making. Based on the several existing GC molecular classifications, this review discussed the guiding significance of molecular classifications on the development and application of GC individualized immunotherapy.

[Key words] gastric cancer; molecular classification; immunotherapy

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(11): 1094-1098. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.11.002]



刘宝瑞, 主任医师、教授、博士生导师, 美国 MD、Anderson Cancer Center 博士后, 南京大学医学院附属鼓楼医院副院长、肿瘤中心主任、南京大学临床肿瘤研究所所长。担任中国抗癌协会肿瘤整合分会副主任、中国生物医学工程学会肿瘤靶向治疗技术分会主委、江苏省医学会肿瘤化疗与生物治疗分会候任主

委等。主要从事消化系统肿瘤的个体化药物治疗及靶向免疫治疗, 主持国家自然科学基金项目 8 项(含国际合作研究重大项目 1 项)。获国家发明专利 10 项, 获中华医学科技二、三等奖和教育部科技进步二等奖等多个奖项。主编临床肿瘤学专著 5 部, 以第一或通信作者身份发表 SCI 论文 145 篇。E-mail: baorui-liu@nju.edu.cn

胃癌(gastric carcinoma, GC)是世界发病率最高的恶性肿瘤之一, 每年全球新发胃癌例数约 98.9

万例, 病死率在各种恶性肿瘤中位居第三。我国每年胃癌新发病例占世界胃癌总人数的 47%, 且 60% 以上患者就诊时即为局部晚期或进展期, 5 年生存率不足 30%^[1-2]。手术、化疗及放疗等传统治疗手段对胃癌的疗效有限, 曲妥珠单抗(trastuzumab)、阿帕替尼(apatinib)、雷莫芦单抗(ramucirumab)等分子靶向药物虽然陆续被批准用于胃癌, 但胃癌的靶向治疗仍远远落后于肺癌、乳腺癌、肠癌等常见肿瘤^[3-4]。近年来, 肿瘤免疫治疗取得了突破性进展, 包括免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors)、肿瘤疫苗以及免疫细胞过继回输(adoptive cell

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No.81672367)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81672367)

[作者简介] 孙智沉(1993-), 女, 博士生, 主要从事肿瘤免疫治疗研究, E-mail: casablanca1993@163.com

[通信作者] 刘宝瑞(LIU Baorui, corresponding author)

transfer, ACT)在内的免疫疗法在多种肿瘤的治疗中均取得了一定的疗效^[5-9]。其中免疫检查点抑制剂程序性死亡受体-1(programmed death receptor 1, PD-1)单抗已于2017年9月被美国FDA批准用于晚期复发或转移性胃癌的治疗。胃癌具有高度异质性,传统的组织病理学分型难以客观地反映肿瘤的内在特性和指导后续的个体化治疗。随着胃癌的研究进入分子水平,研究者尝试从基因组、转录组及蛋白表达层面探索胃癌的发生发展机制和内在特性,并在此基础上对胃癌进行亚型分类,陆续提出了新加坡-杜克分型(Singapore-Duke)分型、癌症基因组图谱(TCGA)分型、亚洲癌症研究组织(ACRA)分型、麻省总医院分型等胃癌分子分型系统。上述分型系统对胃癌的基因和分子表达特征进行了准确且全面地描述,与临床转归显示出较好的相关性,并且对个体化化疗及分子靶向治疗方案的筛选及疗效预测具有指导意义。目前,胃癌的免疫治疗依然面临着总体治疗反应率偏低、缺乏理想的免疫治疗靶点等问题。胃癌分子分型能提供肿瘤相关的分子免疫学信息,对胃癌免疫治疗优势人群的界定、治疗策略的选择和开发具有指导意义。因此,本文从目前相对完善的几种胃癌分子分型系统、胃癌分子分型对免疫治疗的指导意义,以及由此衍生的胃癌个体化免疫治疗新策略等几个方面展开讨论。

1 胃癌分子分型

胃癌是一类具有高度异质性的肿瘤,不同亚型之间往往表现出差异化的生物学行为。长期以来,研究者尝试从不同角度对胃癌进行分类。胃癌的传统组织病理分型主要基于肿瘤组织的形态结构以及细胞生物学特征,常用的包括Borrmann分型、Lauren分型和WHO分型,然而这些分型系统与疾病预后相关性差,临床指导意义有限。随着基因芯片、二代测序等分子生物学技术的发展,目前胃癌的研究已进入分子水平。基于肿瘤组织染色体、基因组、转录组以及表观遗传学水平的改变,研究者对胃癌进行亚型分类,即胃癌的分子分型。目前较为完善的胃癌分子分型系统包括:新加坡-杜克分型、TCGA分型、ACRA分型和麻省总医院分型。

1.1 新加坡-杜克分型

新加坡-杜克分型由LEI等^[10]于2013年首次提出。基于对248例胃癌组织及其相关分子的综合性分析,该系统将胃癌分为3种亚型:(1)增殖型(proliferative subtype):基因组不稳定,TP53突变率高,DNA低甲基化;组织病理学分型往往对应Lauren美国麻省总医院^[13]提出了一项以蛋白和mRNA表达为

肠型;(2)间充质型(mesenchymal subtype),基因表达具有肿瘤干细胞、上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition,EMT)的特征,TP53突变率低,E-cadherin低表达,对PI3K-AKT-mTOR信号通路抑制剂敏感,组织病理学分型往往对应Lauren弥漫型;(3)代谢型(metabolic subtype),其基因表达特征与正常胃黏膜类似,TP53突变率低,相较其他两型对于氟尿嘧啶(5-FU)化疗敏感性高,术后应用5-FU方案辅助化疗预后较好。

1.2 TCGA分型

胃癌TCGA分型在2014年发表于Nature^[11]上,是TCGA计划中的一部分。基于对295例未经治疗的胃癌患者的综合分析,该系统将胃癌分为4个亚型:(1)EB病毒(epstein-barr virus,EBV)阳性型,约占9%,临床好发于胃底和胃体,多见于男性,该型具有DNA超甲基化、PIK3CA高频突变以及PD-L1/PD-L2过表达等特征,且往往伴随免疫相关信号通路的激活;(2)微卫星不稳定(microsatellite instability,MSI)型,约占22%,临床好发于胃窦或幽门,多见于女性,初诊年龄较高(中位年龄79岁),该型MLH1启动子区域高度甲基化,基因组突变负荷高;(3)基因组稳定(genomically stability,GS)型,约占20%,初诊年龄偏低(中位年龄59岁),多对应Lauren弥漫型,该型CDH1、RHOA基因突变率高,且常见CLDN18-ARHGAP融合现象;(4)染色体不稳定(chromosomal instability,CIN)型:约占50%,好发于胃食管交界处和贲门,往往对应Lauren肠型,该型TP53突变率高,伴随标志性的异倍染色体的出现和RTK-RAS通路的激活。

1.3 ACRG分型

ACRG分型是由亚洲癌症研究组织(Asian Cancer Research Group,ACRG)发起的一项共纳入300例患者的胃癌分子分型研究,于2015年发表于Nat Med^[12]。ACRG分型将胃癌分为4种亚型:(1)MSI型:多为Lauren肠型,临床上多分期较早(I或II期),预后最佳;(2)微卫星稳定(microsatellite stability,MSS)/EMT型:较其他亚型发病年龄显著偏低,细胞黏附基因CDH1表达缺失,多对应Lauren弥漫型,且分期较晚(III或IV期),4种亚型中预后最差;(3)MSS/TP53⁺型;(4)MSS/TP53⁻型。MSS/TP53⁺型和MSS/TP53⁻型均好发于男性,多对应Lauren肠型,预后介于MSI型和MSS/EMT型之间。但MSS/TP53⁺型较其他亚型EBV阳性率明显偏高。

1.4 麻省总医院分型

以上3种胃癌分子分型均依赖于基因组测序、拷贝数分析、DNA甲基化分析等分子生物学技术,成本高、耗时长,在当今临床条件下实用性较差。2016年基础的胃癌分子分型系统,该系统采用免疫组织化

学、原位杂交技术等常规病理技术,通过对EBER、p53、MLH1、PMS2等14项指标的检测和评价,将胃癌分为5种亚型:(1)EBV阳性型胃癌,约占5%,以EBER核染色阳性为标志,具有DNA泛甲基化、淋巴细胞浸润增多及PD-L1高表达等特点;(2)MSI型,约占16%,特征为MLH1或/和PMS2表达缺失,伴随DNA高度甲基化,TP53高频突变,多对应Lauren肠型;(3)E-cadherin异常型胃癌,约占21%,CDH1基因高频突变,E-cadherin表达缺失或不表达,Lauren分型以弥漫型为主,相当于TCGA分型的基因组稳定型;(4)P53异常型胃癌,约占51%,TP53高频突变,相当于TCGA分型的染色体不稳定型;(5)P53正常型胃癌,P53正常表达,对5-FU敏感可能性大。

上述几种胃癌分子分型系统虽然在样本人群、分析方法、检测指标等方面均存在差异,不能相互取代,但在具体的亚型划分和特征描述方面又有一定程度上的重叠,客观反映出胃癌部分基因及分子表达与临床特征的相关性,对胃癌的预后评估、疗效预测和个体化治疗方案的选择具有一定的指导价值。

2 胃癌分子分型与免疫治疗

迄今为止,胃癌的治疗依然是一项世界性的难题。继手术、化疗、放疗以及分子靶向治疗之后,免疫治疗因其疗效显著而持久、副作用小等优势成为胃癌治疗的另一手段,目前正受到前所未有的关注。近年来,以PD-1单抗为代表的免疫检查点抑制剂在不同实体瘤的临床治疗中均取得了一定疗效,并于2017年9月正式被美国FDA批准用于晚期复发或转移性胃癌的治疗。尽管如此,PD-1单抗治疗的总体应答率仅有20%~40%,考虑到其昂贵的价格和可能存在的副作用,PD-1单抗治疗适用人群的筛选显得尤为重要^[14-15]。另一方面,虽然胃癌的总体突变率在实体瘤中居前5位,却缺乏高频的热点突变^[16-17]。理想的胃癌免疫治疗靶点的缺乏,大大限制了针对胃癌的肿瘤疫苗和免疫细胞过继回输治疗的发展。

多项研究显示,EBV病毒相关抗原以及微卫星不稳定导致的高频肿瘤突变抗原均有望成为胃癌免疫治疗的理想靶点;基于上述胃癌分子分型,MSI型胃癌和EBV阳性型胃癌患者均有望成为免疫治疗的潜在获益人群^[18-19]。

2.1 MSI型胃癌

微卫星稳定性是胃癌分子分型的一项重要指标。TCGA、ACRG分型以及新近提出的基于蛋白和mRNA表达的麻省总医院分型,均将MSI型胃癌独立分为一个型别。MSI型胃癌中,错配修复基因的突变导致了肿瘤组织总体突变负荷高,且常常伴随着有丝

分裂通路的激活。然而MSI型胃癌在ACRG分型及麻省总院分型中均显示与较好的预后相关。研究^[20]显示,MSI型胃癌具有较高水平的淋巴细胞浸润,提示MSI型胃癌相对良好的预后可能与机体免疫相关。另一方面,研究证实PD-1/PD-L1以及CTLA-4等免疫检查点抑制剂在高突变负荷的肿瘤如恶性黑色素瘤、非小细胞肺癌中更容易取得好的疗效,而低频至中频突变负荷的肿瘤往往对其不敏感^[21-22]。目前,由肿瘤基因突变产生的新抗原已被证实是成功免疫治疗的主要作用靶点,与良好的临床免疫治疗疗效密切相关^[21,23-24]。MSI型胃癌因其高突变负荷、高新抗原频率的特征,有望成为包括免疫检查点在内的临床免疫治疗潜在的获益群体^[25-26]。与之相对应的是,早在被FDA批准应用于胃癌之前,免疫检查点抑制剂PD-1单抗已于同年5月被批准用于多种实体瘤微卫星不稳定亚型的治疗^[27]。

2.2 EBV阳性型胃癌

EBV感染在胃癌的发生发展中具有重要作用,全球EBV相关胃癌(EBV-associated gastric carcinoma, EBVaGC)约占胃癌总患者人数的10%^[28]。TCGA分型和麻省总医院分型均将EBV阳性型胃癌独立分为一个型别;而ACRG分型中也明确提示MSS/TP53⁺亚型的EBV阳性率较其他亚型高。多种分型系统中,EBV阳性均与良好的预后相关。有研究^[29]表明EBVaGC与其他亚型相比有更好的预后,且预后与淋巴细胞的浸润相关,提示机体免疫状态与EBVaGC发生发展的过程密切相关。

EBVaGC具有如下特征:(1)肿瘤组织PD-L1高表达,EBVaGC往往伴有免疫相关基因的扩增,其中编码PD-L1、PD-L2的基因都有明显扩增;(2)局部高水平淋巴细胞浸润,EBVaGC伴有明显的细胞趋化因子水平的改变,能更多地吸引T淋巴细胞浸润至肿瘤局部;(3)高频基因突变,EBVaGC具有以PIK3CA(10%~80%)、ARID1A(47%~55%)以及AKT2(38%)为主的特征性高频基因突变^[30]。肿瘤组织的高PD-L1表达、高水平淋巴细胞浸润以及高突变负荷均为免疫检查点阻断治疗获益的生物标志,提示EBVaGC有望成为胃癌中免疫检查点阻断治疗的优势人群。

另一方面,以TILs、CAR-T、TCR-T为代表的特异性细胞毒性T淋巴细胞(CTL)过继回输治疗是目前肿瘤免疫治疗的另一热点,在多种实体瘤的治疗中初显成效。胃癌特异性肿瘤抗原的缺乏大大限制了针对胃癌的细胞免疫治疗的发展,EBV相关蛋白作为病毒抗原具有较高的免疫原性,一定程度上弥补了胃癌免疫治疗靶点的缺乏。目前靶向EBV潜伏膜蛋白2A(latent membrane protein 2A, LMP2A)的免疫治疗的疗效已在EBV阳性鼻

咽癌及恶性淋巴瘤的抗肿瘤治疗中获得证实^[31-32]。

3 胃癌个体化免疫治疗新策略

基于EBVaGC在免疫治疗中的潜在优势,笔者团队以EBVaGC为研究对象,首次建立了CRISPR-Cas9介导的T细胞PD-1基因敲除技术,成功验证了其抗肿瘤效果并进一步探索其潜在临床应用价值^[33-34]。

研究显示,EBV LMP2A抗原在EBVaGC中表达率高达50%,EBV LMP2A抗原的部分表位肽,如HLA-A2限制性表位356-364、426-434抗原肽的免疫原性已在EBV阳性鼻咽癌及恶性淋巴瘤中获得证实。笔者团队前期采用HLA-A2限制性的EBV-LMP2A 356-364抗原肽成功从健康人PBMC中诱导扩增出特异性CTL;四聚体流式细胞术检查结果显示,自体DC负载EBV-LMP2A 356-364抗原肽诱导第14天,EBV-LMP2A-356特异性T细胞占CD8⁺T细胞的比例高达(47.1±5.2)%;体外实验显示,对于EBV病毒阳性的AGS-EBV胃癌细胞株,EBV-LMP2A特异性抗原肽刺激的DC-CTL对肿瘤的杀伤作用明显优于单纯的CIK组;且杀伤作用具有抗原特异性,经EBV-LMP2A特异性抗原肽刺激的DC-CTL对表达AGS-EBV细胞的杀伤率明显强于不表达EBV-LMP2A的AGS细胞,且杀伤率随着效靶比的增高而增强。

另一方面,多项证据显示EBVaGC是免疫检查点阻断治疗的潜在获益人群。笔者团队的研究中同样发现,EBV-LMP2A-CTL在体外培养诱导扩增的过程中,伴有免疫抑制分子PD-1的明显升高,且EBV阳性肿瘤细胞系也显示出IFN- γ 诱导的PD-L1升高。免疫检查点是机体维持免疫自稳、避免自身免疫疾病的保护机制,由于PD-1/PD-L1抗体治疗对免疫检查点通路的广泛抑制作用,PD-1/PD-L1单抗等免疫检查点抑制剂疗效的发挥往往伴随着多种不良反应。随着基因编辑技术广泛应用于免疫治疗,利用基因编辑T细胞调节其免疫调控分子的表达被认为是T细胞抗原受体编辑之外的又一独具临床应用价值的领域。有研究者^[35]指出,通过基因编辑技术敲除表达于T细胞上的负性调节分子从而逆转免疫耐受是抑制肿瘤的可行的策略。因此,笔者团队在获取特异性EBV-LMP2A-CTL的基础上,采用CRISPR-Cas9基因编辑的方法,成功建立了CRISPR-Cas9系统敲除人外周血淋巴细胞PD-1的技术,从而建立起了一项针对EBVaGC的、细胞过继回输和免疫检查点阻断治疗相结合的免疫治疗新策略。笔者团队利用上述技术分别对健康人和LMP2A阳性EBVaGC患者的PBMC进行了PD-1分子的敲除,结果显示相比于对照组,PD-1敲除的EBV-LMP2A-CTL接受抗原再刺激时,IFN- γ 、

TNF- α 、IL-4等细胞因子分泌水平明显升高;且对EBV高表达的AGS-EBV细胞系的杀伤作用特异性增强;在体内实验中,虽然PD-1敲除EBV-LMP2A-CTL的抗肿瘤作用较对照组并无显著差异,然而当联合肿瘤局部低剂量放疗,PD-1敲除EBV-LMP2A-CTL显示出明显优势;对治疗后的肿瘤组织进一步分析显示,PD-1敲除和低剂量放疗均能促进T细胞向肿瘤组织中的迁移和浸润,从而提高抗肿瘤免疫治疗的效果。目前基于该研究成果已有相关临床试验开展,引起国内外同行的广泛关注。

4 结语

在恶性肿瘤治疗日益倡导“个体化治疗”和“精准医疗”的今天,从分子水平重新认识疾病、应用分子分型指导治疗和预测疗效已成为新的趋势。近年来,免疫治疗在多种实体肿瘤治疗中初显疗效,有越来越多的分子免疫标志物被应用于个体化免疫治疗临床转化及疗效预测中。基于现有的胃癌分子分型,对免疫治疗的潜在获益人群进行筛选,有望提高胃癌的临床治疗效果;另一方面,随着对胃癌分子免疫特征研究的深入,有望发现新的生物标志物及潜在的治疗靶点,对胃癌个体化免疫治疗的发展起到推动作用。

[参考文献]

- [1] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132. DOI: 10.3322/caac.21338.
- [2] WAGNER A D, GROTHE W, HAERTING J, et al. Chemotherapy in advanced gastric cancer: a systematic review and meta-analysis based on aggregate data[J]. J Clin Oncol, 2006, 24(18): 2903-2909. DOI: 10.1200/jco.2005.05.0245.
- [3] DE HAAS S, DELMAR P, BANSAL A T, et al. Genetic variability of VEGF pathway genes in six randomized phase III trials assessing the addition of bevacizumab to standard therapy[J]. Angiogenesis, 2014, 17(4): 909-920. DOI: 10.1007/s10456-014-9438-1.
- [4] TABERNERO J, HOFF P M, SHEN L, et al. Pertuzumab plus trastuzumab and chemotherapy for HER2-positive metastatic gastric or gastro-oesophageal junction cancer (JACOB): final analysis of a double-blind, randomised, placebo-controlled phase 3 study[J]. Lancet Oncol, 2018, 19(10): 1372-1384. DOI: 10.1016/s1470-2045(18)30481-9.
- [5] KHALIL D N, SMITH E L, BRENTJENS R J, et al. The future of cancer treatment: immunomodulation, CARs and combination immunotherapy[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2016, 13(5): 273-290. DOI: 10.1038/nrclinonc.2016.25.
- [6] POPOVIC A, JAFFEE E M, ZAIDI N. Emerging strategies for combination checkpoint modulators in cancer immunotherapy[J]. J Clin Invest, 2018, 128(8): 3209-3218. DOI: 10.1172/jci120775.
- [7] DEL PAGGIO J C. Immunotherapy: cancer immunotherapy and the

- value of cure[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(5): 268-270. DOI: 10.1038/nrclinonc.2018.27.
- [8] SHENDEROV E, AMBINDER R F. Resistance is futile: engineering the adoptive T-cell therapies of the future[J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(11): 1140-1142. DOI: 10.1200/jco.2017.76.6618.
- [9] SAHIN U, TURECI O. Personalized vaccines for cancer immunotherapy[J]. *Science*, 2018, 359(6382): 1355-1360. DOI: 10.1126/science.aar7112.
- [10] LEI Z, TAN I B, DAS K, et al. Identification of molecular subtypes of gastric cancer with different responses to PI3-kinase inhibitors and 5-fluorouracil[J]. *Gastroenterology*, 2013, 145(3): 554-565. DOI: 10.1053/j.gastro.2013.05.010.
- [11] BASS A J, THORSSON V, SHMULEVICH I, et al. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma[J]. *Nature*, 2014, 513(7517): 202-209. DOI: 10.1038/nature13480.
- [12] CRISTESCU R, LEE J, NEBOZHYN M, et al. Molecular analysis of gastric cancer identifies subtypes associated with distinct clinical outcomes[J]. *Nat Med*, 2015, 21(5): 449-456. DOI: 10.1038/nm.3850.
- [13] SETIA N, AGOSTON A T, HAN H S, et al. A protein and mRNA expression-based classification of gastric cancer[J]. *Mod Pathol*, 2016, 29(7): 772-784. DOI: 10.1038/modpathol.2016.55.
- [14] 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/NEJMoal200690.
- [15] RIZVI H, SANCHEZ-VEGA F, LA K, et al. Molecular determinants of response to anti-programmed cell death (PD)-1 and anti-programmed death-ligand 1 (PD-L1) blockade in patients with non-small-cell lung cancer profiled with targeted next-generation sequencing[J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(7): 633-641. DOI: 10.1200/jco.2017.75.3384.
- [16] SCHUMACHER T N, SCHREIBER R D. Neoantigens in cancer immunotherapy[J]. *Science*, 2015, 348(6230): 69-74. DOI: 10.1126/science.aaa4971.
- [17] TRAN E, AHMADZADEH M, LU Y C, et al. Immunogenicity of somatic mutations in human gastrointestinal cancers[J]. *Science*, 2015, 350(6266): 1387-1390. DOI: 10.1126/science.aad1253.
- [18] PANG M F, LIN K W, PEH S C. The signaling pathways of Epstein-Barr virus-encoded latent membrane protein 2A (LMP2A) in latency and cancer[J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2009, 14(2): 222-247. DOI: 10.2478/s11658-008-0045-2.
- [19] SUNDAR R, QAMRA A, TAN A L K, et al. Transcriptional analysis of immune genes in Epstein-Barr virus-associated gastric cancer and association with clinical outcomes[J]. *Gastric Cancer*, 2018, 21(6): 1064-1070. DOI: 10.1007/s10120-018-0851-9.
- [20] AMATATSU M, ARIGAMI T, UENOSONO Y, et al. Programmed death-ligand 1 is a promising blood marker for predicting tumor progression and prognosis in patients with gastric cancer[J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(3): 814-820. DOI: 10.1111/cas.13508.
- [21] 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.
- [22] RIZVI N A, HELLMANN M D, SNYDER A, et al. 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.
- [23] HAMID O, ROBERT C, DAUD A, et al. Safety and tumor responses with lambrolizumab (anti-PD-1) in melanoma[J]. *N Engl J Med*, 2013, 369(2): 134-144. DOI: 10.1056/NEJMoal305133.
- [24] GROS A, PARKHURST M R, TRAN E, et al. Prospective identification of neoantigen-specific lymphocytes in the peripheral blood of melanoma patients[J]. *Nat Med*, 2016, 22(4): 433-438. DOI: 10.1038/nm.4051.
- [25] LE D T, DURHAM J N, SMITH K N, et al. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade[J]. *Science*, 2017, 357(6349): 409-413. DOI: 10.1126/science.aan6733.
- [26] ASAOKA Y, IJICHI H, KOIKE K. PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency[J]. *N Engl J Med*, 2015, 373(20): 1979. DOI: 10.1056/NEJMc1510353.
- [27] PRASAD V, KAESTNER V, MAILANKODY S. Cancer drugs approved based on biomarkers and not tumor type-FDA approval of Pembrolizumab for mismatch repair-deficient solid cancers[J]. *JAMA Oncol*, 2018, 4(2): 157-158. DOI: 10.1001/jamaoncol.2017.4182.
- [28] SHINOZAKI-USHIKU A, KUNITA A, FUKAYAMA M. Update on Epstein-Barr virus and gastric cancer (review)[J]. *Int J Oncol*, 2015, 46(4): 1421-1434. DOI: 10.3892/ijo.2015.2856.
- [29] KIM S Y, PARK C, KIM H J, et al. Deregulation of immune response genes in patients with Epstein-Barr virus-associated gastric cancer and outcomes[J/OL]. *Gastroenterology*, 2015, 148(1): 137-147. e139[2018-07-10]. [https://www.gastrojournal.org/article/S0016-5085\(14\)01142-1/fulltext?referrer=http%3A%2F%2Fdx.doi.org%2F10.1053/j.gastro.2014.09.020](https://www.gastrojournal.org/article/S0016-5085(14)01142-1/fulltext?referrer=http%3A%2F%2Fdx.doi.org%2F10.1053/j.gastro.2014.09.020).
- [30] STRONG M J, XU G, COCO J, et al. Differences in gastric carcinoma microenvironment stratify according to EBV infection intensity: implications for possible immune adjuvant therapy[J/OL]. *PLoS Pathog*, 2013, 9(5): e1003341[2018-07-20]. <https://journals.plos.org/plospathogens/article?doi=10.1371/journal.ppat.1003341>.
- [31] LIU G, YAO K, WANG B, et al. Reconstituted complexes of mycobacterial HSP70 and EBV LMP2A-derived peptides elicit peptide-specific cytotoxic T lymphocyte responses and anti-tumor immunity[J]. *Vaccine*, 2011, 29(43): 7414-7423. DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.07.063.
- [32] WANG B, YAO K, LIU G, et al. Computational prediction and identification of Epstein-Barr virus latent membrane protein 2A antigen-specific CD8⁺ T-cell epitopes[J]. *Cell Mol Immunol*, 2009, 6(2): 97-103. DOI: 10.1038/cmi.2009.13.
- [33] SU S, ZOU Z, CHEN F, et al. CRISPR-Cas9-mediated disruption of PD-1 on human T cells for adoptive cellular therapies of EBV positive gastric cancer[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2017, 6(1): e1249558[2018-06-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5283615/>. DOI: 10.1080/2162402x.2016.1249558.
- [34] SU S, HU B, SHAO J, et al. Corrigendum: CRISPR-Cas9 mediated efficient PD-1 disruption on human primary T cells from cancer patients[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 20070. DOI: 10.1038/srep20070.
- [35] LLOYD A, VICKERY O N, LAUGEL B. Beyond the antigen receptor: editing the genome of T-cells for cancer adoptive cellular therapies[J/OL]. *Front Immunol*, 2013, 4: 221[2018-07-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3733021/>. DOI: 10.3389/fimmu.2013.00221.

[收稿日期] 2018-09-30

[修回日期] 2018-10-30

[本文编辑] 韩丹, 阮芳铭