

多组学技术在探索胃癌免疫治疗标志物中的研究进展

黄亦辉¹, 翁海敏¹, 倪娇娇², 应杰儿²

(1. 浙江中医药大学第二临床医学院, 浙江 杭州 310053; 2. 浙江省肿瘤医院, 中国科学院杭州医学研究所, 浙江 杭州 310022)

摘要: 以免疫检查点抑制剂为代表的免疫治疗已改变了胃癌的治疗格局, 但由于胃癌的复杂性和异质性, 仅有部分人群可从免疫治疗中获益, 目前缺乏有效的疗效预测指标。近年来, 随着高通量测序技术的普及, 免疫标志物研究从单一组学发展到多组学整合, 包括基因组学、转录组学、表观遗传学、微生物组、代谢组学、蛋白质组学、影像组学等。多组学整合从多维度揭示胃癌免疫应答内在机制, 鉴定具有预后和疗效预测功能的生物标志物。人工智能技术解决了多组学数据的复杂性, 并推动建立免疫优势人群筛选模型, 最终实现肿瘤精准医疗。全文综述了不同组学技术探索胃癌免疫治疗标志物的研究进展, 特别强调了多组学整合在其中的重要性, 并展望了胃癌精准免疫治疗应用体系的未来。

关键词: 胃肿瘤; 免疫疗法; 预测标志物; 多组学; 精准诊疗

中图分类号: R735.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2023)10-0818-10

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2023.10.B003

Research Progress of Multiomics Techniques in Exploring Immunotherapy Markers for Gastric Cancer

HUANG Yihui¹, WENG Haimin¹, NI Jiaojiao², YING Jie'er²

(1. Second Clinical Medical College of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China;

2. Zhejiang Cancer Hospital, Hangzhou Institute of Medicine (HIM), Chinese Academy of Sciences, Hangzhou 310022, China)

Abstract: Immunotherapy represented by immune checkpoint inhibitors has changed the treatment pattern of gastric cancer. However, due to the complexity and heterogeneity of gastric cancer, only some people benefit from immunotherapy, and there is currently a lack of effective predictors of efficacy. Therefore, it is of great clinical significance to find new biomarkers and identify advantageous populations. In recent years, with widely using high-throughput sequencing technology, immunomarker research has developed from single-omics to integration of multiple omics (multi-omics), including genomics, transcriptomics, epigenetics, microbiome, metabolomics, proteomics, radiomics, etc. Multi-omics reveals the intrinsic mechanism of immune response to gastric cancer from multiple dimensions, and identifies novel biomarkers for prediction of treatment efficacy and prognosis of patients. Artificial intelligence technology is conducive to solve the complexity of multi-omics data, to develop screening models for identifying immunologically advantageous population, and ultimately to realize the precision medicine for cancer patients. This paper reviews the research progress of various omics techniques and the integration of multiple omics in exploring immunotherapy markers for gastric cancer, and discusses the prospect of precision immunotherapy application system for gastric cancer based on multi-omics.

Subject words: gastric cancer; immunotherapy; predictive markers; multi-omics; precision diagnosis and treatment

胃癌(gastric cancer, GC)/胃食管结合部腺癌(adenocarcinoma of esophageal-gastric junction, AEG)是常见的恶性肿瘤之一, 是全球癌症患者死亡的主

基金项目: 浙江省中医药重点研究项目(2021ZZ005)

通信作者: 应杰儿, E-mail: yingjie@zjcc.org.cn

收稿日期: 2023-09-04; 修回日期: 2023-09-25

要原因之一^[1-2]。由于胃癌早期临床症状的隐蔽性和非典型性, 超过 60% 的患者在诊断时存在局部或远处转移, 使得大部分初诊患者错过了最佳手术时机, 直接进入了药物为主的治疗阶段^[3-4]。目前, 胃癌的治疗药物主要包括化疗药物、分子靶向药物和免疫

检查点抑制剂。化疗,作为肿瘤治疗的基石,已经有充分的循证医学证据及丰富的临床实践经验。在靶向治疗方面,曲妥珠单抗、维迪西妥单抗等抗人表皮生长因子受体 2 (human epidermal growth factor receptor 2,HER2)药物和雷莫西尤单抗、阿帕替尼等抗血管生成通路药物是主力军;针对新兴靶点 Claudin 18.2、FGFR2、HGFR/c-MET 等临床探索也在积极进行中^[5]。近年来,免疫治疗在胃癌治疗中取得突破性进展,PD-1 单抗获批晚期胃癌三线治疗,PD-1 单抗联合化疗也已成为晚期胃癌一线治疗新标准。

尽管胃癌免疫治疗具有广阔前景,但胃癌对免疫治疗的应答率低,仅有部分人群能从免疫治疗中获得长远获益^[6]。由于胃癌患者异质性大,目前尚无统一的免疫治疗预测指标。因此,寻找预测胃癌免疫治疗疗效的新型生物标志物,是当前的研究热点。高通量测序技术的进步和普及,使得从多维度揭示胃癌免疫应答内在机制,并建立优势人群筛选模型成为可能,一些研究团队已取得初步成果。本文总结了基于基因组学及转录组学、表观遗传学、微生物组和代谢组学、蛋白质组学、影像组学等技术手段鉴定胃癌免疫疗效预测标志物的研究进展,并展望了构建胃癌精准免疫治疗预测及转化应用体系的未来方向。

1 胃癌免疫治疗的研究进展

1.1 转移性胃癌免疫治疗的发展历程

KEYNOTE-059 研究和 ATTRACTION-2 研究显示,帕博利珠单抗和纳武利尤单抗单药用于胃癌三线及后线治疗可显著改善患者生存。因此,2017 年国内外指南增加了帕博利珠单抗和纳武利尤单抗在晚期胃癌三线及后线治疗中的适应证^[7-8]。

随着对免疫治疗机制的逐步解析,胃癌免疫治疗临床研究也从后线推进到一线。CheckMate-649、ORIENT-16、RATIONALE 305、KEYNOTE-859 四项Ⅲ期临床研究显示,在标准一线化疗基础上联合 PD-1 单抗可显著改善晚期胃癌患者生存^[9]。因此,国内外指南均将免疫联合化疗写入晚期胃癌一线标准治疗方案中。在上述四项研究中,尽管免疫联合治疗在全人群中均观察到生存获益,但在 PD-L1 综合阳性评分 (combined positive score,CPS)≥5 的人群中获益更为显著。其中在 ORIENT-16 研究中,信迪

利单抗联合化疗延长全人群总生存期 (overall survival,OS)至 15.2 个月,延长 PD-L1 CPS≥5 胃癌患者人群 OS 至 18.4 个月。因此,在《2022 年 CSCO 胃癌诊疗指南》中,免疫联合化疗方案对于 PD-L1 CPS≥5 的人群为Ⅰ级推荐,对于 PD-L1 CPS<5 或检测不可及的人群为Ⅱ级推荐。

尽管在后线和一线治疗均取得一定成功,但胃癌免疫二线治疗疗效尚不明确。395 例 PD-L1 CPS≥1 的 GC/GEJC 患者在 KEYNOTE-061 研究中被随机分为帕博利珠单抗治疗组和紫杉醇治疗组,两组中位 OS 分别为 9.1 个月和 8.3 个月,中位无进展生存期 (progression-free survival,PFS)分别为 1.5 个月和 4.1 个月,总体呈阴性结果,但在 PD-L1 CPS≥10 和微卫星高度不稳定 (microsatellite instability-high,MSI-H)的患者中,二线单用免疫治疗疗效显著优于化疗^[10]。探索性分析结果表明,组织的肿瘤突变负荷 (tumor mutational burden,TMB)与胃癌二线免疫治疗疗效呈显著相关性^[11]。2 年的随访数据显示,随着 PD-L1 表达的增加,帕博利珠单抗比紫杉醇具有更长远的生存获益 (CPS≥5 患者 OS:10.4 个月 vs 8.3 个月;CPS≥10 患者 OS:10.4 个月 vs 8.0 个月)^[10]。此外,Kaplan-Meier 曲线在 CPS≥1 患者中的交叉现象强调了其他生物标志物的重要性。

1.2 围手术期胃癌免疫治疗的发展历程

中国胃肠肿瘤外科联盟 2017 年的全国数据显示,局部进展期胃癌患者比例约 70%。手术切除仍是胃癌唯一可能治愈的方式,但由于人群分期晚,术后复发转移概率大,尤其ⅢC 期胃癌患者的 5 年生存率仅 18.9%。虽然胃癌围手术期治疗近年来取得了长足的进步,但传统化疗模式已达治疗瓶颈,患者远期疗效有待提高,这一现状亟待新的治疗方案来实现突破。免疫治疗已被证实能为晚期胃癌患者带来良好的生存获益,其加入到围手术期治疗中是否能同样提高局部晚期胃癌患者的长期生存?作为具有前景的方向之一,免疫治疗是当前胃癌围手术期治疗的研究重点,多项研究正在积极开展中。

新辅助免疫治疗为局部晚期胃癌治疗带来新的曙光。2022 年 ASCO 大会上报告了 DANTE 研究的中期结果,显示围手术期阿替利珠单抗联合 FLOT 与 FLOT 组相比,在病理降期和病理缓解上显示出获益,且在 PD-L1 高表达和 MSI-H 人群获益更明显^[12]。

2023 年 ASCO 大会上,徐瑞华教授领衔的一项 II 期研究纳入 108 例局部晚期可切除胃癌患者,发现围手术期特瑞普利单抗联合化疗可改善患者的病理退缩,具体表现为肿瘤退缩分级(tumor regression grade, TRG) 0/1 比例(44.4% vs 20.4%)、病理完全缓解(pathologic complete response, pCR)率(24.1% vs 9.3%)、降期比例(46.3% vs 22.2%)显著提升^[13]。在胃癌特殊亚型上,GERCOR NEONIPGA 研究旨在评估纳武利尤单抗联合伊匹木单抗新辅助序贯纳武利尤单抗辅助治疗 MSI-H/错配修复缺陷(mismatch repair deficiency, dMMR)胃癌患者的有效性,共入组 32 例患者,RO 切除率为 100%,TRG 1 级为 58.6%。中位随访 12 个月后,31 例患者均存活,其中 30 例未复发。然而,也有一些研究取得阴性结果。2023 年 6 月,默沙东正式宣布帕博利珠单抗联合化疗围手术期治疗局部晚期可切除胃癌(KEYNOTE-585)研究失败。与单纯化疗组相比,帕博利珠单抗的加入使 pCR 获得显著改善,但无事件生存期(event-free survival, EFS)差异未能达到统计学意义(具体数据暂未披露)。

而目前对于胃癌辅助免疫治疗的作用尚无定论。2023 年 ESMO 会议上公布了 II 期研究 EORTC 1707 VESTIGE 最新结果。该研究纳入 240 例新辅助化疗后手术切除的高复发风险(ypN+和/或 R1)胃癌患者,按 1:1 比例随机分配至接受术后辅助化疗或纳武利尤单抗联合伊匹木单抗治疗^[14]。结果显示,双免疫治疗组相比较于化疗组并未改善患者的无病生存期(disease free survival, DFS)(11.9 个月 vs 23.3 个月),提示化疗在胃癌全程管理中的地位依然不可替代。2023 年 ASCO 会议上,III 期 ATTRACTION-5 研究公布了纳武利尤单抗联合化疗术后辅助治疗病理学 III 期胃癌的疗效。联合组和单纯化疗组 3 年无复发生存(relapse free survival, RFS)率分别为 68.4% 和 65.3%,未达到主要研究终点^[15]。在亚组分析中,ECOG 评分 1 分、病理 III C 期、PD-L1 $\geq$ 1% 的患者能够从辅助免疫治疗中显著获益。另一项单臂 II 期研究纳入 D2 术后组织学确认的 PD-L1 阳性(CPS $>$ 5)、dMMR 或 EB 病毒(Epstein-Barr virus, EBV)阳性的 III 期胃癌患者,接受卡瑞利珠单抗联合多西他赛联合 S-1 术后辅助治疗。中位随访 25 个月后,2 年的 OS 率和 RFS 率分别为 88.9% 和 92.3%,显示出良好

疗效和可接受的安全性,再次印证精准筛选优势人群对于提高胃癌术后辅助免疫治疗疗效的重要性。

1.3 胃癌精准免疫治疗的必要性

免疫治疗具有独特“拖尾效应”,响应人群能获得长期生存获益。2023 年 ASCO GI 会议上,Check-Mate-649 研究的 3 年随访结果显示,在标准化疗基础上联合纳武利尤单抗治疗将晚期胃癌一线患者的 3 年 OS 从 10% 提升到 17%,同时健康相关生活质量维持较好,提示部分患者能从免疫治疗中获得长远获益^[16]。尽管胃癌免疫治疗具有广阔的治疗前景,但胃癌对免疫治疗的应答率低,总体获益人群偏少。目前,在胃癌免疫治疗中用于疗效预测的较为成熟的指标包括 PD-L1、EBV 阳性、MSI-H、TMB 及肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte, TIL)等。然而,由于胃癌患者异质性大,上述指标不足以精准筛选出免疫优势人群,目前尚无统一的免疫治疗预测指标。因此,寻找新型生物标志物,精准筛选免疫优势人群,使得非响应者免于经济负担和不良反应具有重要社会效益,是当前胃癌领域的研究热点。

2 多组学分析在胃癌免疫治疗标志物中的研究进展

近年来,高通量测序技术的进步和普及,使得从多维度揭示胃癌的驱动事件及免疫应答内在机制,并建立新的精准诊疗模型成为可能。多种组学技术通过描述从 DNA 到代谢物的几乎所有生物分子,对胃癌免疫响应机制进行系统表征,包括基因组学、表观基因组学、转录组学、蛋白质组学和代谢组学等。

2.1 基于基因组学相关数据

基因组即指生物所具有的携带遗传信息的遗传物质的总和,包括所有的基因和基因间区域。测序方式包括全基因组测序(WGS)、全外显子组测序(WES)、基因包测序(Panel)等。在胃癌中,已有多项研究揭示特定基因组特征与免疫治疗疗效的相关性。徐瑞华/张东生教授团队的一项研究纳入共 46 例进行免疫联合化疗治疗的胃癌患者,每例患者收集组织样本、基线血浆样本、最佳疗效血浆样本、进展后血浆样本进行 Panel 测序。研究发现 ctDNA 丰度下降预示更好的免疫治疗疗效,且治疗后第一次 ctDNA 阴性患者免疫治疗疗效更佳^[17]。通过分析

ctDNA 突变图谱,发现基线 *TGFBR2*、*RHOA* 和 *PREX2* 基因突变影响免疫治疗的 PFS,证实 ctDNA 丰度及特定基因突变对胃癌免疫疗效具有重要预测价值。

另外,日本的一项研究利用全外显子组测序或二代测序对 45 例 MSI-H/dMMR 的消化道肿瘤患者进行基因分析,再通过转录组学 and 多重荧光免疫组化评估肿瘤微环境,研究发现与野生型 *PTEN* 相比,*PTEN* 突变与较高的客观缓解率 (objective response rate, ORR) 相关 (12.5% vs 54.8%)。低 TMB (TMB-L) 的患者较高 TMB (TMB-H) 的患者 PFS 显著缩短 (2.3 个月 vs 15.6 个月)。因此 TMB-L 和 *PTEN* 突变,特别是与免疫抑制环境相关的磷酸酶结构域突变,是相互排斥的,可能是 MSI-H/dMMR 胃肠道肿瘤患者 PD-1 阻断反应的阴性预测因子^[18]。

为优化评估肿瘤基因组学特征,近期一项大型回顾性研究收集了 48 606 例胃肠道肿瘤标本,进一步探讨了将 TMB 作为微卫星稳定 (microsatellite stable, MSS) 的胃肠道肿瘤免疫治疗预测指标的可行性。研究者经高通量测序识别出 3.29% MSS-TMB-H 的患者, *CDC73*、*CTNNA1*、*ERBB4*、*EZH2*、*JAK2*、*POLE* 等 16 个基因突变与 TMB-H 相关^[19]。可见,并非所有与 TMB-H 相关的突变都能提高抗肿瘤免疫应答,TMB 和正向调节抗肿瘤免疫的基因突变的组合可能是患者选择免疫检查点抑制剂治疗的一个有前景的工具。基于此,构建出改良 TMB 免疫预测模型,以指导免疫检查点抑制剂在该类患者中的治疗策略。

除探讨肿瘤的基因组学特点外,对基因突变特征进行分析也是研究的聚焦点,如细胞焦亡相关基因、肿瘤缺氧相关基因等,但构建出来的预测模型维度较单一。国内有团队分析了 227 个接受免疫治疗的胃肠道肿瘤患者的基因组数据,用 LASSO Cox 回归模型构建了一个胃肠道肿瘤免疫预后特征 (GIPS),包含 *RNF43*、*CREBBP*、*CDKN2A*、*TP53*、*SPEN* 和 *NOTCH3* 共 6 个基因,可以预测胃肠道肿瘤中免疫微环境的炎性表型,并反映抗肿瘤免疫反应的激活程度^[20]。

2.2 基于表观遗传学相关数据

表观遗传变化在不影响核酸序列的条件下,通过对核苷酸和蛋白质进行化学修饰从而调控基因表

达和功能,包括 DNA 甲基化、组蛋白修饰、染色质修饰等。越来越多的证据表明,表观遗传变化在肿瘤发生及进展和抗肿瘤免疫调控中发挥重要作用^[21]。早期胃癌可利用启动子区表观遗传修饰引起的可变转录起始位点使免疫原性 N-末端肽的表达降低,促进肿瘤免疫逃避。一项对晚期胃癌免疫治疗队列的研究发现,高可变启动子利用率的胃癌患者表现出 T 细胞活性标志物水平下降、低免疫治疗反应率以及更短的中位 PFS^[22]。因此,可变启动子利用率是胃癌免疫治疗耐药的潜在机制,也是预测胃癌免疫治疗疗效的新型生物标志物。近 10 年来,已有研究将自噬相关长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 作为免疫治疗生物标志物进行了深入探索,并证明其与癌细胞的生长、生存、染色质修饰、基因组印迹等重要生物学行为密切相关。

2.3 关于转录组学相关数据

转录组测序可反映肿瘤中正在进行的基因表达程序,捕捉基因表达的动态过程,有助于理解肿瘤发生及进展、耐药的分子机制。廖望军教授团队基于转录组数据,开发了肿瘤微环境评分体系 (TME score),可预测胃癌免疫治疗单药或者与化疗或抗血管生成药联合使用的疗效,且在预测性能上优于 TMB、免疫检查点分子等其他标志物,强调了肿瘤微环境评估对胃癌免疫治疗疗效的重要预测价值^[23]。曹雪涛/王春梅/徐瑞华课题组通过 RNA 测序检测了 27 例接受特瑞普利单抗治疗的难治性晚期胃癌患者的活检标本,相较于疾病进展 (progressive disease, PD) 患者,筛选到 *MFSD2A* 基因在部分缓解 (partial response, PR) 患者组织中显著上调^[24]。后续实验结果显示,*MFSD2A* 通过抑制环氧化酶 2-前列腺素合成,阻断胃癌细胞释放 $\text{TGF}\beta 1$,促进 $\text{CD}8^+$ T 细胞激活并减少其耗竭,最终协同增敏 PD-1 抑制剂疗效。

近年来,转录组研究进入空间转录组阶段。该技术可以同时获得细胞的基因表达数据和空间位置信息,探明肿瘤内不同空间位置的分子表达差异,推动对肿瘤微环境的深度解析。贺玖明/季加孚/步召德教授团队利用空间转录组、空间代谢组及空间脂质组技术对胃癌组织进行了保留空间组织定位信息的多组学探索,揭示了胃癌的代谢重塑及细胞特异性的基因-代谢物-脂质间关联,成果于 2023 年发表在 *Nature Communications* 杂志上^[25]。尽管空间转录

组技术在肿瘤领域具有重要应用潜力,但受限于成本较高、分辨率欠佳、数据解析难度高,目前仍未达到广泛应用,其对胃癌免疫治疗疗效预测的作用也有待研究。

2.4 关于蛋白质组学相关数据

蛋白质是连接基因型与表型的关键要素。因此,相比较于基因组或转录组,蛋白质组能更准确地反映细胞的真实状态,在肿瘤的早期诊断和疗效评估等方面发挥重要作用。随着质谱检测技术和数据处理方式的进步,高通量蛋白质组测序在肿瘤中的应用日益广泛。2021年,Loriot等^[26]利用最新的Olink蛋白组技术对基线血浆样本进行蛋白质组测序和分析,筛选到基线升高的白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor, LIF)水平与胃癌免疫治疗患者的不良临床结局相关,且在独立外部队列中进行验证。同时,LIF是一种独立于PD-L1表达水平和肿瘤CD8⁺T细胞浸润水平的新型免疫疗效预测标志物,或许能更好地对胃癌免疫治疗人群进行精准分层。

2.5 基于微生物组相关数据

肠道微生物组的定义为复杂微生物群落、宿主以及微生物和宿主的产物(包括代谢物)的总基因组含量,代表了人体中最大的微生物生态系统。随着扩增子测序、宏基因组学和单细胞测序技术在微生物学中的应用,发现曾经被认为是无菌器官的胃除了有幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)外,还含有其他耐酸细菌。与胃癌相关的微生物群主要包括HP和非幽门螺杆菌(厚壁菌、拟杆菌、梭杆菌、放线菌和变形杆菌)两大类^[27]。细菌组成的变化和微生物组多样性的减少会破坏其与肠道免疫系统的生理相互作用,导致“炎-癌”转化,并影响免疫疗效^[28]。

在临床前和人类研究方面显示,肠道菌群可通过触发T细胞对细菌抗原的反应促进抗肿瘤免疫应答,与肿瘤抗原交叉反应,或通过介导宿主全身效应的小代谢物引起肿瘤特异性抗原识别^[29]。已有多项研究观察到在Hp感染胃癌患者中PD-L1的表达增加以及循环T细胞的非特异性抑制,提示Hp感染病例可能是抗PD-1治疗的潜在候选者^[30]。在以双歧杆菌为代表的放线菌存在情况下,IFN型相关免疫基因在继发性淋巴器官的抗原呈递细胞中上调趋势,可增强PD-1阻断的抗肿瘤作用^[31]。Routy等^[32]将对免疫检查点抑制剂有反应的癌症患者的粪便微

生物群移植到无菌小鼠中,可提高PD-1阻断的抗肿瘤作用。在临床研究方面,彭智/沈琳团队建立一个前瞻性胃癌队列,纳入117例HER2阴性的晚期胃癌患者分别接受单纯化疗、单纯免疫治疗、免疫联合化疗方案。通过检测患者基线的肠道菌群,发现在免疫治疗单药或联合化疗组中,乳酸菌在响应者中明显富集,且与PFS获益存在显著正相关性。上述结论在外部队列中得到进一步验证,揭示肠道菌群是潜在的胃癌免疫治疗患者的分层标志物^[33]。日本的DELIVER临床试验旨在探索肠道微生物的组成是否影响晚期胃癌纳武利尤单抗治疗的有效性,研究结果显示:臭杆菌的存在与进展性胃癌相关,而韦荣氏球菌属的存在与疾病缓解或疾病稳定相关,或可成为晚期胃癌的特异性生物标志物^[34]。

目前微生物组在免疫治疗反应中的作用多见于临床前研究,有利细菌与不利细菌的比例是区分免疫治疗有无应答最受关注的发现,其正朝着将临床前研究结果转化为临床研究的方向发展。另外,微生物组作为免疫治疗的辅助方案为进一步推行消除不利菌群的同时提供免疫增强作用的策略。肠道微生物组可通过产生多胺、短链脂肪酸等代谢产物影响宿主免疫系统,因此将肠道微生物组数据与代谢组数据相结合分析可能将提供更好的预测能力。

2.6 基于代谢组学相关数据

细胞代谢重编程是癌症的重要标志之一。近年来,代谢组作为一种新兴组学技术,在肿瘤中的应用愈来愈广泛,包括疾病风险评估、肿瘤早期筛查、肿瘤亚型鉴别和治疗疗效监测等^[35]。在胃癌中,程向东教授团队回顾性收集全国多中心的962例胃癌患者和982例非胃癌患者外周血血浆,通过纳米颗粒增强激光解吸/电离-质谱技术构建了血浆代谢指纹图谱,并构建了由21个代谢物组成的胃癌诊断模型,其在验证集中的曲线下面积(area under curve, AUC)值达到0.907~0.940,并在264例前瞻性队列中得到有效验证^[36]。以上结果表明,外周血血浆代谢物可作为胃癌早期检测的生物标志物,为胃癌患者早期接受根治性手术和改善生存预后提供了机会。而在治疗响应上,目前仍极为缺乏基于代谢组学探究胃癌免疫疗效预测标志物的相关研究,值得期待。

2.7 单细胞组学相关数据

肿瘤表现出瘤间和瘤内的显著异质性。基于大

量混合细胞的传统组学技术仅提供多个细胞的平均测量值,掩盖了不同细胞亚群的重要特性。而单细胞测序以单细胞分辨率为特征,重点关注肿瘤细胞间的差异,揭开肿瘤内部更深层次的特征,包括单细胞基因组测序、单细胞转录组测序、单细胞蛋白质组测序等。当前,单细胞测序正成为指导肿瘤精准治疗的有力工具,为肿瘤内异质性、肿瘤微环境重编程、肿瘤侵袭转移和治疗耐药性等多个临床问题开辟新的视野^[37]。

在胃癌中,已有多项研究通过单细胞测序揭示了胃癌细胞谱系多样性和瘤内异质性^[38-41]。例如,新加坡的研究团队对31例胃癌患者的48个肿瘤样本进行单细胞转录组测序,发现浆细胞比例增加是弥漫型肿瘤的一个新特征,还发现了不同的癌症相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblasts, CAF)亚型,其中INHBA-FAP高的CAF亚群是临床预后不佳的预测因素^[38]。然而,目前基于单细胞测序探究胃癌免疫治疗疗效标志物的研究仍较少。一项研究对5例局部晚期胃癌患者新辅助免疫治疗(卡瑞利珠单抗联合mFOLFOX6)前后的肿瘤样本进行单细胞转录组测序,发现CD8⁺T细胞的高干扰素 γ (IFN- γ)特征能够预测胃癌对新辅助免疫治疗的反应^[42]。更多的相关研究正在积极开展中,期待结果。

2.8 影像组学相关数据

影像组学是一种具备非侵入性、可重复性和高性价比的从医学图像中提取分子信息的方法。已有研究探索CT或PET/CT影像组学特征的临床用途,并将这些影像组学特征与肿瘤免疫治疗的应答情况结合分析,发掘具有免疫治疗效果预测价值的信息。而在胃癌中,目前尚缺乏基于多组学机器学习的胃癌免疫治疗预测模型,亟待更多临床数据支持。

一项回顾性研究回顾性纳入396例具有术前影像CT图像的胃癌患者,建立影像组学-临床联合模型作为无创性生物标志物预测MSI状态,但预测准确度欠佳^[43]。另有一项研究同样是回顾性的纳入169例胃腺癌患者,提取放射组学特征,基于Boruta算法对训练数据集进行特征筛选,其结果显示放射组学特征对PD-L1表达预测的效果良好(AUC=0.774)^[44]。

人工智能技术除应用于肿瘤放射学外,也可用于分析肿瘤组织的病理学图像。Hinata等^[45]构建了

基于胃癌组织病理学图像的深度学习预测模型,用以筛选出对免疫治疗敏感的人群。对于难以从放射学影像中获取较多有效信息的癌症类型,尤其是一些空腔脏器肿瘤,该方法更为经济且耗时较短,有助于对免疫治疗患者进行有效分层。

3 基于多组学探索胃癌免疫治疗标志物的研究进展

目前已评估了几种免疫治疗的生物标志物,包括MMR或MSI、PD-L1、EBV、TMB-H。但这些单一生物标志物仅关注到肿瘤细胞的固有特征,而忽略了与肿瘤微环境成分的相互作用,因此难以完全有效地筛选胃癌免疫获益人群^[46]。

研究表明,任何一种单一的标志物都难以完全有效地筛选胃癌免疫获益人群。胃癌在基因突变、组织学和代谢特征等方面均表现出复杂性和异构性,因此从单一组学走向多组学整合分析是肿瘤精准免疫治疗的当前热点和必然趋势,将为肿瘤精准分型、个体化治疗、疗效监测、预后判断等提供新的策略。

近年来已有学者开展了基于多组学的肿瘤精准免疫治疗疗效预测的研究。沈琳教授团队基于dMMR/MSI-H胃癌患者队列,通过整合基因组和转录组数据,发现PI3K-AKT-mTOR通路中的突变基因数(the number of mutated genes in the PI3K-AKT-mTOR pathway, NMP)与肿瘤浸润免疫细胞密度呈显著负相关。在免疫治疗疗效预测上,高NMP的患者具有更短的中位PFS和中位OS,与较差的免疫治疗获益相关^[47]。类似地,韩国Jeeyun Lee团队展开了一项前瞻性II期临床试验,招募MSI-H胃癌患者接受帕博利珠单抗单药治疗,并在治疗前后收集肿瘤组织和外周血标本进行WES检测、单细胞转录组测序等检测。研究发现,当患者具有较高的TMB、T细胞浸润更丰富、T细胞受体克隆多样性更大,以及基线时干细胞样耗竭T细胞数量较少等特征时,更可能从免疫单药治疗中获益^[48]。

在另一项单臂II期探索性试验(NCT03878472)中,研究者评估了19例卡瑞利珠单抗联合阿帕替尼联合化疗对cT4a/bN+胃癌新辅助/转化治疗的疗效,并进一步通过WES、转录组测序和T细胞受体测序揭示了RREB1和SSPO突变、免疫相关标签及外周

T 细胞扩增评分可能作为生物标志物^[49]。多组学还显示了新辅助免疫治疗过程中肿瘤优势亚克隆、免疫微环境和 T 细胞受体库的动态变化。目前,对于胃癌整体人群,基于多组学的免疫治疗疗效预测模型相关报道仍较少,亟待更多研究填补领域空白。

4 人工智能相关数据

多组学技术的迅猛发展和广泛应用带来海量测序数据,如何整合和分析这些数据是精准医疗时代的必然技术挑战。人工智能具有强大的计算和模式识别能力,解决了多组学数据的复杂性和异质性,是精准医疗时代强有力的辅助工具。人工智能驱动的多组学分析有望预测患者治疗疗效,改善管理决策,最终为肿瘤患者提供个体化治疗方案。深度学习是人工智能领域最前沿和最有潜力的技术之一,具有在多模态数据中发现非线性和高维关系的高倾向,在处理异构和非结构化数据上具有独特优势,尤其适用于多组学分析^[50]。

目前,人工智能和深度学习已经成功应用到了肿瘤发生的全阶段,从早期风险预测、癌症早期筛查,到肿瘤分子分型,再到生存预后和疗效预测。在胃癌早筛方面,程向东教授团队收集 328 例新确诊胃癌患者及 304 名对照的舌诊成像及舌苔样本,基于舌诊成像及舌苔菌群,开发人工智能深度学习模型用于胃癌诊断,AUC 分别为 0.89 及 0.94,首创了基于中医舌象和人工智能相结合的胃癌诊断与筛查新技术^[51]。

在化疗疗效预测方面,Patrick Tan 教授团队基于Ⅲ期 SAMIT 研究,探究预测胃癌术后辅助化疗疗效的生物标志物。研究者以 DFS 作为标准,将胃癌患者分为紫杉醇敏感组和不敏感组,并对基线胃癌组织进行转录组测序。随后,通过构建随机森林机器学习模型,筛选到了 19 个能够区分紫杉醇治疗敏感性的标签基因,并在内部验证数据集和外部独立队列中验证了模型效能良好^[52]。近期,程向东教授团队提出一种基于深度学习的胃癌新辅助化疗疗效预测方法^[53]。该研究纳入了 1 060 例进展期胃癌患者的 CT 影像和临床信息,通过深度学习的训练与验证,建立了深度学习影像临床模型,预测局部晚期胃癌患者新辅助化疗疗效,为临床制定个性化治疗方案

提供新的理论依据。

在免疫治疗疗效预测方面,沈琳教授团队基于一个胃癌免疫治疗队列,对基线肿瘤组织标本进行多重免疫组化分析(包括 T/B 细胞,巨噬细胞,免疫检查点 PD-1,PD-L1,CTLA-4,TIM-3,LAG-3 等),通过图形分析技术对肿瘤微环境中免疫细胞功能亚型进行识别,分析其数量以及空间结构规律^[54]。该研究最终通过机器学习算法建立了肿瘤浸润免疫细胞特征,证实多维肿瘤浸润免疫细胞的密度和空间分布可以良好预测免疫治疗的反应。李瑞江教授团队通过对 2 686 例胃癌患者 CT 图像的深度学习和放射组学分析,开发了一种无创评估胃癌微环境状态的放射学模型^[55],该模型可预测局部晚期胃癌患者术后辅助化疗和晚期胃癌患者免疫治疗的获益情况,推动胃癌的个性化治疗。

5 挑战与展望

循证医学到精准医学,从传统单一组学到多组学整合驱动,肿瘤精准治疗研究领域取得阶段性成果。免疫治疗已成为晚期胃癌的重要选择,但由于免疫治疗整体应答率低且患者异质性大,精准筛选免疫优势人群十分重要。常规的 PD-L1 和 TMB 预测胃癌免疫疗效的灵敏度和特异度仍待提高,需整合新型组学分析。多种组学测序技术已被用于探究胃癌的免疫微环境及其对免疫药物的响应机制,包括基因组、转录组、蛋白质组、代谢组、单细胞组、宏基因组等。由此而来的海量测序数据也推动了人工智能技术在肿瘤领域的应用,共同推动肿瘤精准医疗发展到更高的水平。

然而,精准医疗在胃癌免疫治疗转化中仍远未达到令人满意的程度。首先,多组学技术的高昂成本、通量限制、操作偏人工化等不足极大地限制了其推广应用,目前优质测序数据仍然稀缺。其次,多组学检测对样本收集规范、样本质检标准、队列设计方案等有更高的要求,样本处理不当和队列均质性欠佳均有可能造成偏倚和重复率差等问题。此外,多组学包含海量异构数据,如何基于人工智能技术提高测序数据可解释性并建立高效预测模型成为一种新的挑战。最后,肿瘤是动态发展的,对免疫治疗疗效的动态监测同样具有广大临床需求。基于组学技术

检测生物标本的动态改变,由于耗费巨大,目前研究匮乏。

关于未来的发展方向,医疗机构、检测实验室和科研中心应密切协作,持续推动胃癌免疫治疗标志物的研究进程。首先,医疗机构需要开展高质量、前瞻性且大规模的免疫队列研究,规范收集患者的临床信息、生物标本和治疗结果,以建立坚实的数据基础。其次,检测实验室应加紧研发高通量、自动化、低成本的测序技术,以确保多组学数据的高效获取和科学处理。同时,科研中心将紧密跟进,对测序数据中的关键节点进行深入的体内外功能验证,为个体化治疗策略的制定提供科学基础。相信未来,在三方的通力合作下,将成功构建多组学、多模态、多维度的胃癌免疫治疗疗效预测体系,最终实现胃癌精准免疫治疗。

参考文献:

- [1] Chen W,Zheng R,Baade PD,et al. Cancer statistics in China,2015[J]. CA Cancer J Clin,2016,66(2): 115-132.
- [2] Siegel RL,Miller KD,Fuchs HE,et al. Cancer statistics, 2021[J]. CA Cancer J Clin,2021,71(1):7-33.
- [3] Huang HL,Leung CY,Saito E,et al. Effect and cost-effectiveness of national gastric cancer screening in Japan: a microsimulation modeling study [J]. BMC Med,2020,18(1):257.
- [4] Thrift AP,El-Serag HB. Burden of gastric cancer [J]. Clin Gastroenterol Hepatol,2020,18(3):534-542.
- [5] Wang FH,Zhang XT,Li YF,et al. The Chinese Society of Clinical Oncology (CSCO): clinical guidelines for the diagnosis and treatment of gastric cancer,2021[J]. Cancer Commun (Lond),2021,41(8):747-795.
- [6] Hogner A,Moehler M. Immunotherapy in gastric cancer[J]. Curr Oncol,2022,29(3):1559-1574.
- [7] Fuchs CS,Doi T,Jang RW,et al. Safety and efficacy of pembrolizumab monotherapy in patients with previously treated advanced gastric and gastroesophageal junction cancer: phase 2 clinical KEYNOTE-059 trial[J]. JAMA Oncol,2018,4(5):e180013.
- [8] Kang YK,Boku N,Satoh T,et al. Nivolumab in patients with advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer refractory to,or intolerant of,at least two previous chemotherapy regimens(ONO-4538-12,ATTRACTION-2): a randomised,double-blind,placebo-controlled,phase 3 trial [J]. Lancet,2017,390(10111):2461-2471.
- [9] Janjigian YY,Shitara K,Moehler M,et al. First-line nivolumab plus chemotherapy versus chemotherapy alone for advanced gastric,gastro-oesophageal junction,and oesophageal adenocarcinoma (CheckMate 649): a randomised, open-label,phase 3 trial [J]. Lancet,2021,398(10294):27-40.
- [10] Fuchs CS,Ozguroglu M,Bang YJ,et al. Pembrolizumab versus paclitaxel for previously treated PD-L1-positive advanced gastric or gastroesophageal junction cancer: 2-year update of the randomized phase 3 KEYNOTE-061 trial[J]. Gastric Cancer,2022,25(1):197-206.
- [11] Shitara K,Ozguroglu M,Bang YJ,et al. Molecular determinants of clinical outcomes with pembrolizumab versus paclitaxel in a randomized,open-label,phase III trial in patients with gastroesophageal adenocarcinoma[J]. Ann Oncol,2021,32(9):1127-1136.
- [12] Al-Batran S-E,Lorenzen S,Thuss-Patience PC,et al. Surgical and pathological outcome,and pathological regression,in patients receiving perioperative atezolizumab in combination with FLOT chemotherapy versus FLOT alone for resectable esophagogastric adenocarcinoma: interim results from DANTE,a randomized,multicenter,phase II b trial of the FLOT-AIO German Gastric Cancer Group and Swiss SAKK[J]. J Clin Oncol,2022,40(16_suppl):4003.
- [13] Nie RC,Jin Y,Liang CC,et al. Perioperative PD-1 antibody toripalimab plus SOX or XELOX chemotherapy versus SOX or XELOX alone for locally advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer: results from a prospective,randomized,open-label,phase II trial[J]. J Clin Oncol,2023,41(16_suppl):4001.
- [14] Smyth E,Mauer M,Cella C,et al. EORTC 1707 VES-TIGE: adjuvant immunotherapy in patients with resected gastroesophageal adenocarcinoma (GEA) following preoperative chemotherapy with high risk for recurrence (ypN+ and/or R1): an open-label randomized controlled phase II study[J]. Ann Oncol,2023,34:S182-S183.
- [15] Kang YK,Kim YW,Boku N,et al. ATTRACTION-5: a phase 3 study of nivolumab plus chemotherapy as postoperative adjuvant treatment for pathological stage III (pStage III) gastric or gastroesophageal junction (G/GEJ) cancer[J]. J Clin Oncol,2023,41(16_suppl):4000.
- [16] Moehler M,Wyrwicz L,Chen C,et al. O-10 Health-related quality of life (HRQOL) in patients with advanced gastric, gastroesophageal junction,or esophageal adenocarcinoma cancer (GC/GEJC/EAC): 36-month results of CheckMate 649 nivolumab plus chemotherapy(N+C) versus chemo (C) [J]. Ann Oncol,2023,34:S185.

- [17] Jin Y, Chen DL, Wang F, et al. The predicting role of circulating tumor DNA landscape in gastric cancer patients treated with immune checkpoint inhibitors[J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1):154.
- [18] Chida K, Kawazoe A, Kawazu M, et al. A low tumor mutational burden and PTEN mutations are predictors of a negative response to PD-1 blockade in MSI-H/dMMR gastrointestinal tumors[J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(13):3714–3724.
- [19] Wang J, Xiu J, Farrell A, et al. Mutational analysis of microsatellite-stable gastrointestinal cancer with high tumour mutational burden: a retrospective cohort study[J]. *Lancet Oncol*, 2023, 24(2):151–161.
- [20] Jiao X, Wei X, Li S, et al. A genomic mutation signature predicts the clinical outcomes of immunotherapy and characterizes immunophenotypes in gastrointestinal cancer[J]. *NPJ Precis Oncol*, 2021, 5(1):36.
- [21] Hogg SJ, Beavis PA, Dawson MA, et al. Targeting the epigenetic regulation of antitumour immunity [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19(11):776–800.
- [22] Sundar R, Huang KK, Kumar V, et al. Epigenetic promoter alterations in GI tumour immune-editing and resistance to immune checkpoint inhibition[J]. *Gut*, 2022, 71(7):1277–1288.
- [23] Zeng D, Wu J, Luo H, et al. Tumor microenvironment evaluation promotes precise checkpoint immunotherapy of advanced gastric cancer[J]. *J Immunother Cancer*, 2021, 9(8):e002467.
- [24] Zhang B, Wang CM, Wu HX, et al. MFSD2A potentiates gastric cancer response to anti-PD-1 immunotherapy by reprogramming the tumor microenvironment to activate T cell response[J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2023 Aug 4. doi: 10.1002/cac2.12476.[Online ahead of print]
- [25] Sun C, Wang A, Zhou Y, et al. Spatially resolved multi-omics highlights cell-specific metabolic remodeling and interactions in gastric cancer[J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1):2692.
- [26] Loriot Y, Marabelle A, Guegan JP, et al. Plasma proteomics identifies leukemia inhibitory factor (LIF) as a novel predictive biomarker of immune-checkpoint blockade resistance[J]. *Ann Oncol*, 2021, 32(11):1381–1390.
- [27] Guo Y, Cao XS, Zhou MG, et al. Gastric microbiota in gastric cancer: different roles of *Helicobacter pylori* and other microbes[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12:1105811.
- [28] Crowder SL, Jim HSL, Hogue S, et al. Gut microbiome and cancer implications: potential opportunities for fermented foods [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2023, 1878(3):188897.
- [29] Wang L, Peng F, Peng C, et al. Gut Microbiota in tumor microenvironment: a critical regulator in cancer initiation and development as potential targets for Chinese medicine [J]. *Am J Chin Med*, 2021, 49(3):609–626.
- [30] Zhu Y, Zhu F, Ba H, et al. *Helicobacter pylori* infection and PD-L1 expression in gastric cancer: a meta-analysis [J]. *Eur J Clin Invest*, 2023, 53(2):e13880.
- [31] Lee SH, Cho SY, Yoon Y, et al. *Bifidobacterium bifidum* strains synergize with immune checkpoint inhibitors to reduce tumour burden in mice[J]. *Nat Microbiol*, 2021, 6(3):277–288.
- [32] Routy B, Le Chatelier E, Derosa L, et al. Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors[J]. *Science*, 2018, 359(6371):91–97.
- [33] Han Z, Cheng S, Dai D, et al. The gut microbiome affects response of treatments in HER2-negative advanced gastric cancer[J]. *Clin Transl Med*, 2023, 13(7):e1312.
- [34] Sunakawa Y, Matoba R, Inoue E, et al. Genomic pathway of gut microbiome to predict efficacy of nivolumab in advanced gastric cancer: DELIVER trial (JACCRO GC-08) [J]. *J Clin Oncol*, 2021, 39(3_suppl):161.
- [35] Schmidt DR, Patel R, Kirsch DG, et al. Metabolomics in cancer research and emerging applications in clinical oncology[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(4):333–358.
- [36] Xu Z, Huang Y, Hu C, et al. Efficient plasma metabolic fingerprinting as a novel tool for diagnosis and prognosis of gastric cancer: a large-scale, multicentre study[J]. *Gut*, 2023, 72(11):2051–2067.
- [37] Lei Y, Tang R, Xu J, et al. Applications of single-cell sequencing in cancer research: progress and perspectives[J]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1):91.
- [38] Kumar V, Ramnarayanan K, Sundar R, et al. Single-cell atlas of lineage states, tumor microenvironment, and subtype-specific expression programs in gastric cancer [J]. *Cancer Discov*, 2022, 12(3):670–691.
- [39] Chen J, Liu K, Luo Y, et al. Single-cell profiling of tumor immune microenvironment reveals immune irresponsiveness in gastric signet-ring cell carcinoma [J]. *Gastroenterology*, 2023, 165(1):88–103.
- [40] Wang R, Dang M, Harada K, et al. Single-cell dissection of intratumoral heterogeneity and lineage diversity in metastatic gastric adenocarcinoma [J]. *Nat Med*, 2021, 27(1):141–151.
- [41] Zhang M, Hu S, Min M, et al. Dissecting transcriptional heterogeneity in primary gastric adenocarcinoma by single

- p>cell RNA sequencing[J].
- Gut*
- ,2021,70(3):464–475.
- [42] Li S,Li K,Tian F,et al. A high interferon gamma signature of CD8 (+) T cells predicts response to neoadjuvant immunotherapy plus chemotherapy in gastric cancer [J]. *Front Immunol*,2022,131056144.
- [43] Zhao H,Gao J,Bai B,et al. Development and external validation of a non-invasive imaging biomarker to estimate the microsatellite instability status of gastric cancer and its prognostic value: the combination of clinical and quantitative CT-imaging features[J]. *Eur J Radiol*,2023,162110719.
- [44] Gu X,Yu X,Shi G,et al. Can PD-L1 expression be predicted by contrast-enhanced CT in patients with gastric adenocarcinoma? A preliminary retrospective study [J]. *Abdom Radiol (NY)*,2023,48(1):220–228.
- [45] Hinata M,Ushiku T. Detecting immunotherapy-sensitive subtype in gastric cancer using histologic image-based deep learning[J]. *Sci Rep*,2021,11(1):22636.
- [46] Nie Y,Zhao W,Lu L,et al. Predictive biomarkers and new developments of immunotherapy in gastric cancer: a 2023 update[J]. *Am J Cancer Res*,2023,13(7):3169–3184.
- [47] Wang Z,Wang X,Xu Y,et al. Mutations of PI3K-AKT-mTOR pathway as predictors for immune cell infiltration and immunotherapy efficacy in dMMR/MSI-H gastric adenocarcinoma[J]. *BMC Med*,2022,20(1):133.
- [48] Kwon M,An M,Klempner SJ,et al. Determinants of response and intrinsic resistance to PD-1 blockade in microsatellite instability-high gastric cancer [J]. *Cancer Discov*,2021,11(9):2168–2185.
- [49] Li S,Yu W,Xie F,et al. Neoadjuvant therapy with immune checkpoint blockade,antiangiogenesis,and chemotherapy for locally advanced gastric cancer [J]. *Nat Commun*,2023,14(1):8.
- [50] Tran KA,Kondrashova O,Bradley A,et al. Deep learning in cancer diagnosis,prognosis and treatment selection[J]. *Genome Med*,2021,13(1):152.
- [51] Yuan L,Yang L,Zhang S,et al. Development of a tongue image-based machine learning tool for the diagnosis of gastric cancer: a prospective multicentre clinical cohort study[J]. *E Clinical Medicine*,2023,57:101834.
- [52] Sundar R,Barr Kumarakulasinghe N,Huak Chan Y,et al. Machine-learning model derived gene signature predictive of paclitaxel survival benefit in gastric cancer: results from the randomised phase III SAMIT trial[J]. *Gut*,2022,71(4):676–685.
- [53] Hu C,Chen W,Li F,et al. Deep learning radio-clinical signatures for predicting neoadjuvant chemotherapy response and prognosis from pretreatment CT images of locally advanced gastric cancer patients [J]. *Int J Surg*,2023,109(7):1980–1992.
- [54] Chen Y,Jia K,Sun Y,et al. Predicting response to immunotherapy in gastric cancer via multi-dimensional analyses of the tumour immune microenvironment[J]. *Nat Commun*,2022,13(1):4851.
- [55] Jiang Y,Zhou K,Sun Z,et al. Non-invasive tumor microenvironment evaluation and treatment response prediction in gastric cancer using deep learning radiomics[J]. *Cell Rep Med*,2023,4(8):101146.