



免疫治疗的研究进展概述（三）
——免疫分型

臻和（北京）科技有限公司

医学事务部编
二〇一八年3月份

CONTENTS目录

01



免疫分型（TMIT）的定义

02



TMIT与TMB的关系

03



TMIT分型对PD-1/PD-L1抑制剂治疗预测的重要性

04



联合免疫分型和TMB预测PD-1/PD-L1抑制剂有效率

05



用TMIT筛选PD-1/PD-L1抑制剂治疗获益人群的缺陷



3.免疫分型 (TMIT)

Tumor Microenvironment Immune Type

3.1 什么是免疫分型 (TMIT) ?

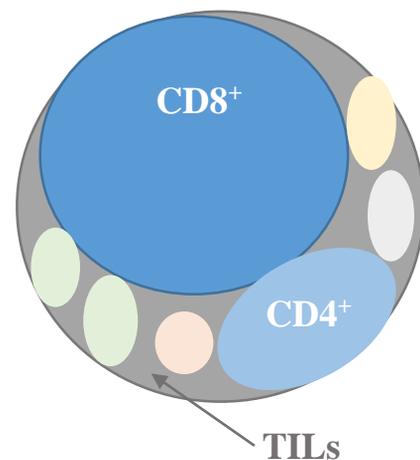
✦ 免疫分型 (Tumor Microenvironment Immune Type, TMIT)

- 根据肿瘤浸润淋巴细胞(TILs)和PD-L1表达的存在或缺失可将肿瘤微环境分成4种类型，称为肿瘤免疫分型TMIT

	TILs ⁺	TILs ⁻
PD-L1 ⁺	TMIT I型	TMIT III型
PD-L1 ⁻	TMIT IV型	TMIT II型

✦ 肿瘤浸润淋巴细胞 (Tumor-Infiltrating Lymphocytes, TILs)

- 指那些离开血流进入到肿瘤中的免疫细胞；
- 体外刺激扩增的TILs主要由CD8⁺和少量的CD4⁺T淋巴细胞组成，还包含一些其他细胞
- MHC I类分子表达于所有的有核细胞，主要由CD8⁺T细胞识别；
- MHC II类分子主要表达于APC，主要由CD4⁺T细胞识别，所以目前研究较多的是CD8⁺
- 当存在大量的TILs⁺时，表明机体启动了对抗肿瘤的免疫反应；
- TILs与杀死肿瘤细胞有关，肿瘤中淋巴细胞的存在通常与较好的临床转归(术后或免疫治疗后)有关。



https://en.wikipedia.org/wiki/Tumor-infiltrating_lymphocytes

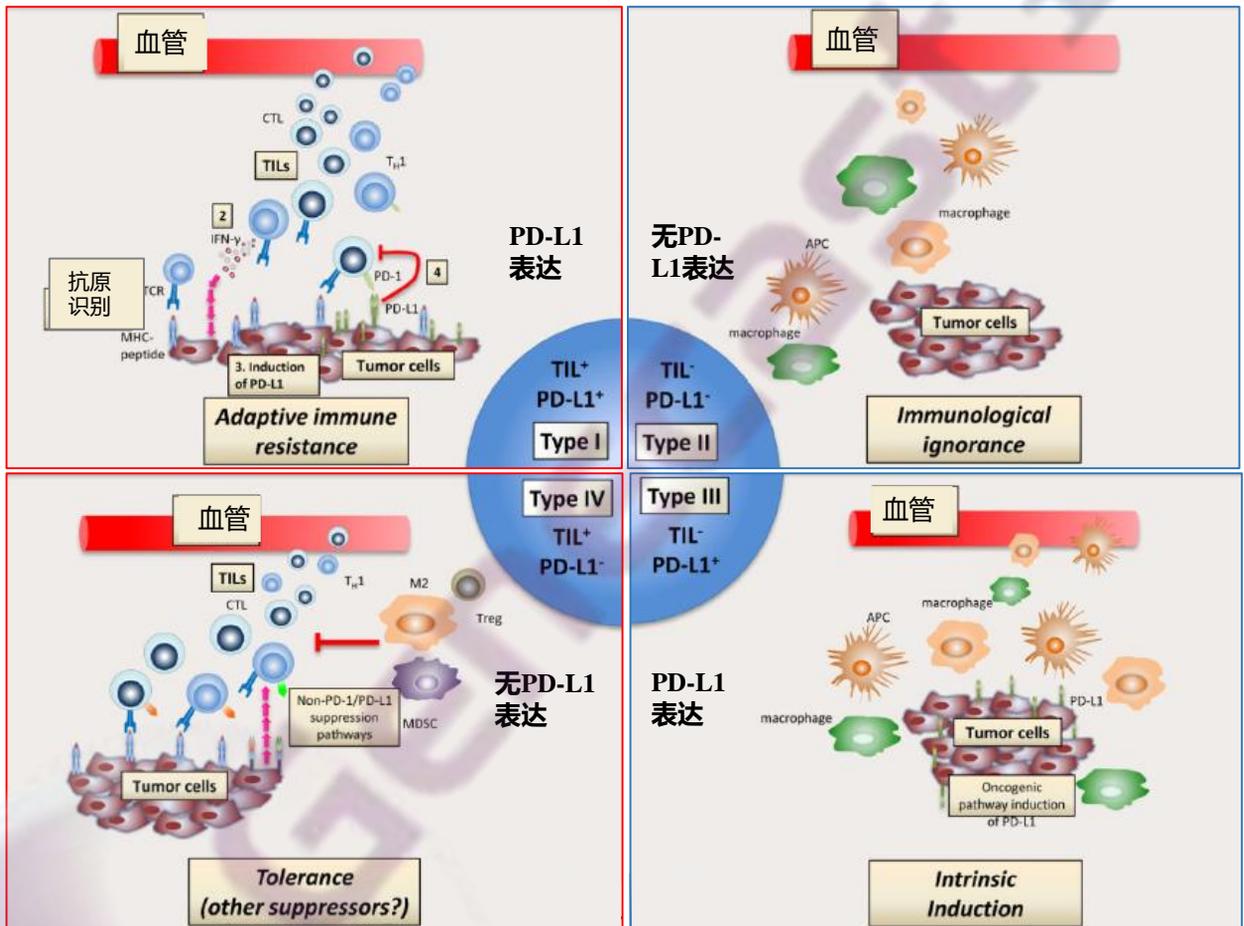


✦ TMIT分型

➤ 本文2015年6月发表在*Cancer Res.* 上, **IF: 9.122**, 基于PD-L1和 T细胞浸润, 将癌症分层。

热肿瘤 (T细胞浸润)

冷肿瘤 (缺乏T细胞浸润)



Cancer Res. 2015 Jun 1;75(11):2139-45.

- 本文阐明在未来十年, 癌症免疫疗法可能成为许多癌症的主要治疗方式;
- 目前根据是否有肿瘤浸润性淋巴细胞 (TILs) 及PD-L1表达情况, 分为四种不同类型的肿瘤微环境;
- 从理论上讲, PD-1/PD-L1抑制剂对TMIT I型肿瘤有效可能性大。



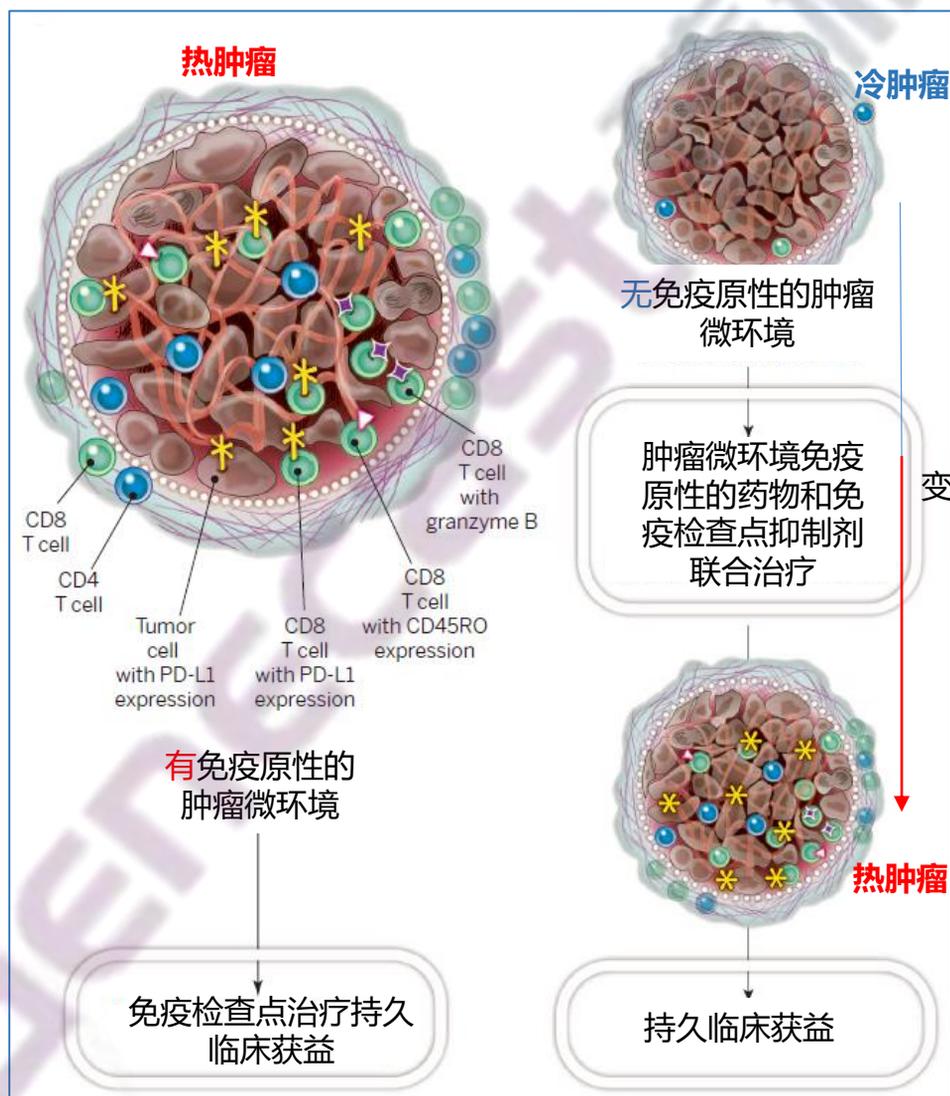
冷肿瘤和热肿瘤

- **热肿瘤**：有免疫原性的肿瘤 (immunogenic tumor)，或者说存在浸润淋巴细胞 (TMIT I和IV型)
- **冷肿瘤**：无免疫原性的肿瘤 (non-immunogenic tumor)，或者说无淋巴细胞浸润 (TMIT II和III型)



知多少？

- “冷热肿瘤”很多人听到这一词汇习惯性地以为讲的是温度，但是所谓的热和冷，主要反映的是肿瘤内免疫细胞的数量、类型以及状态；
- 肿瘤可能与大家所认为的不同，并不是一群癌细胞无规则聚集在一起，而是一个复杂的系统，里面既有癌变的细胞，也有很多共生的正常细胞（eg：血管内皮细胞、免疫细胞等），正常细胞和癌细胞之间相互作用、互相影响。



Science. 2015 Apr 3;348(6230):56-61

三个维度评价

1. **热肿瘤与冷肿瘤**：若为冷肿瘤，因为没有T细胞浸润，可能使用PD-1/PD-L1抑制剂的效果不佳，应先考虑使T细胞浸润（或者说将冷肿瘤转为热肿瘤）；
2. 对于PD-L1不表达的热肿瘤，使用PD-1/PD-L1抑制剂的疗效不佳，可以考虑其他抑制；
3. 对于PD-L1高表达的热肿瘤，一般使用PD-1/PD-L1抑制剂的疗效好，但也不是全部都适合PD-1/PD-L1抑制剂治疗，还需要进一步分析肿瘤微环境中的免疫细胞类型和功能状态，从而来决定最佳的免疫治疗方案。



3.2 TMIT与TMB的关系

➤ 本文2017年8月发表在*Theranostics*.上, **IF: 8.766** , 14种实体瘤的肿瘤微环境进行基因组测序分析。

- 本文对TMIT分型进行了全面的免疫基因组学分析, 将其分为四组, 基于PD-L1+CD8A或PD-L1+cytolytic活性(CYT)表达, 以筛选对PD-1/PD-L1抑制剂治疗获益的实体瘤患者。
- 在The Cancer Genome Atlas (TCGA)数据库中, 查阅到TMIT与TMB/新抗原的关系的文献, 共6685例样本, 涉及14种实体瘤, 具体的数据如下表。

TMIT与TMB/新抗原的关系	癌种	英文缩写	样本例数
TMIT与TMB/新抗原 无关	恶性脑胶质瘤	GBM	166
	前列腺癌	PRAD	495
	头颈鳞癌	HNSC	521
TMIT I型与TMB/新抗原 正相 关	膀胱癌	BLCA	407
	乳腺癌	BRCA	1098
	宫颈癌	CESC	303
	大肠癌	COAD	382
	胃腺癌	STAD	415
	肺腺癌	LUAD	513
	肺鳞癌	LUSC	501
	皮肤黑色素瘤	SKCM	468
TMIT I型与TMB/新抗原 负相 关	肾透明细胞癌	KIRC	534
	肝细胞癌	LIHC	373
	甲状腺癌	THCA	509

Theranostics. 2017 Aug 22;7(14):3585-3594.



★ 为什么TMB-H和PD-L1高表达患者对PD-1/PD-L1抑制剂有效率仍然低？

➤ 本文2017年在ESMO大会上提出了，II期临床试验Checkmate 275的探索性分析：肿瘤突变负荷对使用纳武单抗二线治疗尿路上皮癌患者的影响。

- TMB<5mt/Mb+PD-L1(-)可能是PD-1/PD-L1抑制剂单药有效的下限

	ALL		TMB		TMB-H		TMB-M		TMB-L		
	ALL	PD-L1<1%	PD-L1≥1%								
人数 (N)	270	146	124	69	70	23	24	21	25	25	21
ORR (%)	20	15.8	25.0	17.4	22.9	30.4	33.3	23.8	12.0	0	23.8
PFS (月)	2.0	1.87	3.53	1.87	2.30	3.02	3.52	1.77	1.94	1.77	3.12
OS (月)	8.57	5.95	11.63	5.68	10.28	NR	10.6	4.53	11.3	4.96	8.57

TMB-H : >167 (≈11.1mt/Mb)

Galsky MD, et al. ESMO 2017 abstr 848

TMB-M : 85-166

TMB-L : <85 (≈5.66mt/Mb)

★ 为什么TMB-H和PD-L1高表达患者对PD-1/PD-L1抑制剂有效率仍然有限 (ORR 20%-60%) ？

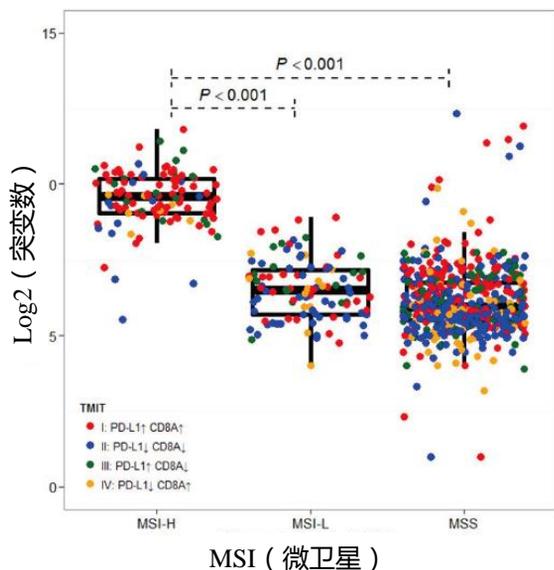


- 上一期的电子期刊中提到了，采用TMB筛选 PD-1/PD-L1抑制剂治疗获益人群是有局限性的；
- 因为TMB体现的是新抗原的数量，无法更具体的体现新抗原的免疫原性，不能决定是否诱导机体产生抗肿瘤免疫效应；
- 所以，筛选PD-1/PD-L1抑制剂治疗获益人群，可能还需考虑TMIT。

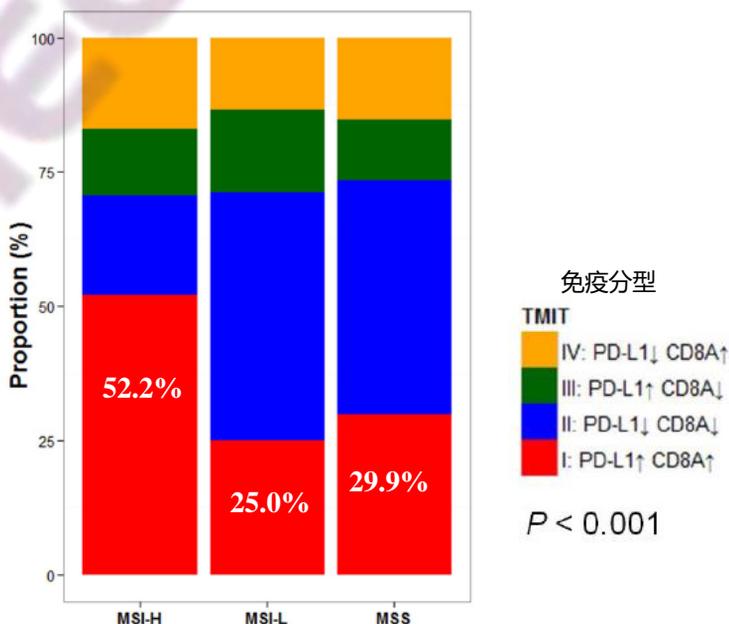
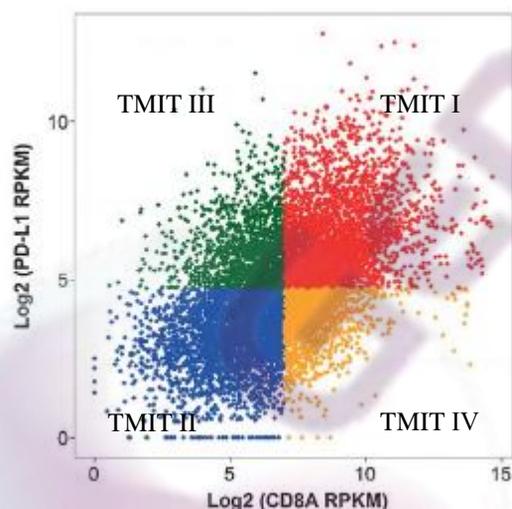


3.3 TMIT分型对PD-1/PD-L1抑制剂治疗预测的重要性

➤ 本文2016年5月发表在 *Clin Cancer Res.* 上, **IF: 9.619**, 基于PD-L1和CD8⁺T细胞浸润的肿瘤微环境的泛癌症免疫基因组分析



- 据报道, MSI有肿瘤原性的高突变负荷特性
- MSI-H组的肿瘤比MSI-L组和MSS组突变数显著高
- MSI-H组肿瘤的TMIT I比例 (52.2%) 明显高于MSI-L组 (25.0%) 和MSS组 (29.9%)
- **CD8A的表达与细胞毒活性和PD-1表达显著相关**



Clin Cancer Res. 2016 May 1;22(9):2261-70.

- 泛癌种的TMIT I型, 定义为PD-L1和CD8A高表达, 与大量的体细胞突变以及新抗原、PD-L1扩增和致癌病毒的感染有显著的相关性;
- 评估了PD-L1的表达和TILs分布情况对PD-1/PD-L1抑制剂治疗预测的重要性



➤ 本文2017年8月发表在*J Clin Oncol.*上, **IF:24.008**, Atezolizumab用于筛选PD-L1表达的晚期NSCLC患者作为一线或后线治疗的II期临床试验 (BIRCH), 试验表明PD-L1 的状态可能是一个筛选Atezolizumab获益人群的预测标志物。

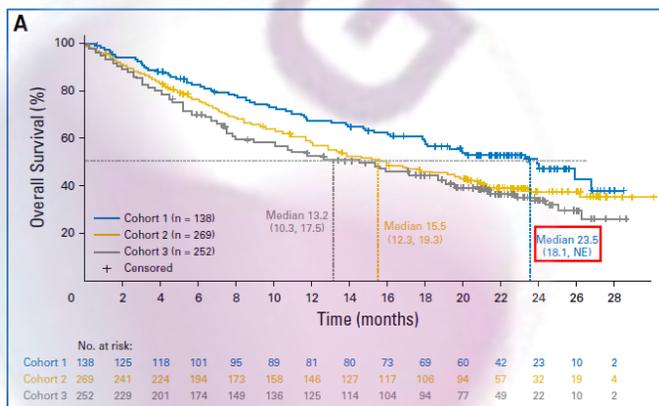


J Clin Oncol. 2017 Aug 20;35(24):2781-2789.

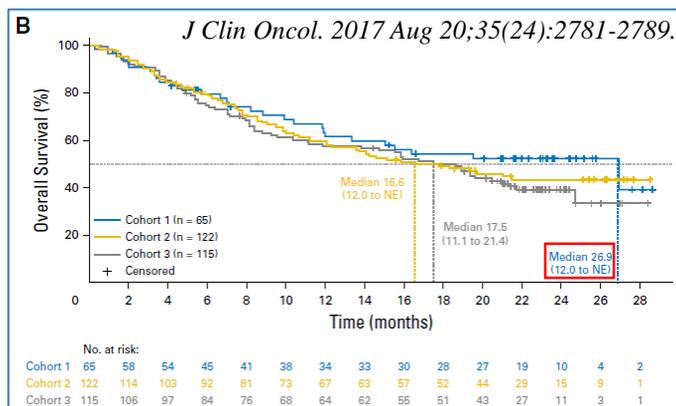
➤ **TC ≥ 50% or IC ≥ 10% PD-L1表达的人群, 对Atezolizumab的ORR与OS更长, 疗效更好**

- TC2/3或IC2/3亚组治疗的ORR为18%-20%
- 1,2,3线的中位OS分别为23.5,15.5,13.2个月
- 响应情况与EGFR or KRAS的突变状态无关

- TC3 or IC3亚组的ORR是26%-31%
- 1,2,3线的中位OS分别为26.9,17.5,16.6个月
- TC3 or IC3, 一线治疗组OS最高, 疗效最佳



(A) TC2/3或IC2/3亚组(意向治疗人群)

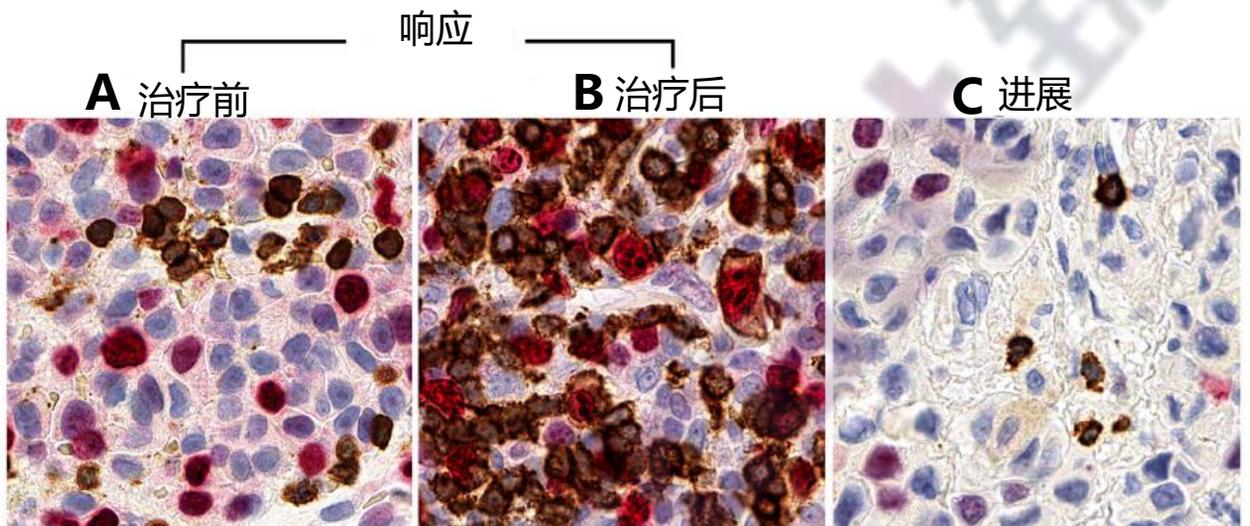


(B) TC3或IC3亚组

- TC3 or IC3 = TC (肿瘤细胞) ≥ 50% or IC (免疫细胞) ≥ 10% PD-L1表达的细胞
- TC2/3 or IC2/3 = TC or IC ≥ 5% PD-L1表达的细胞



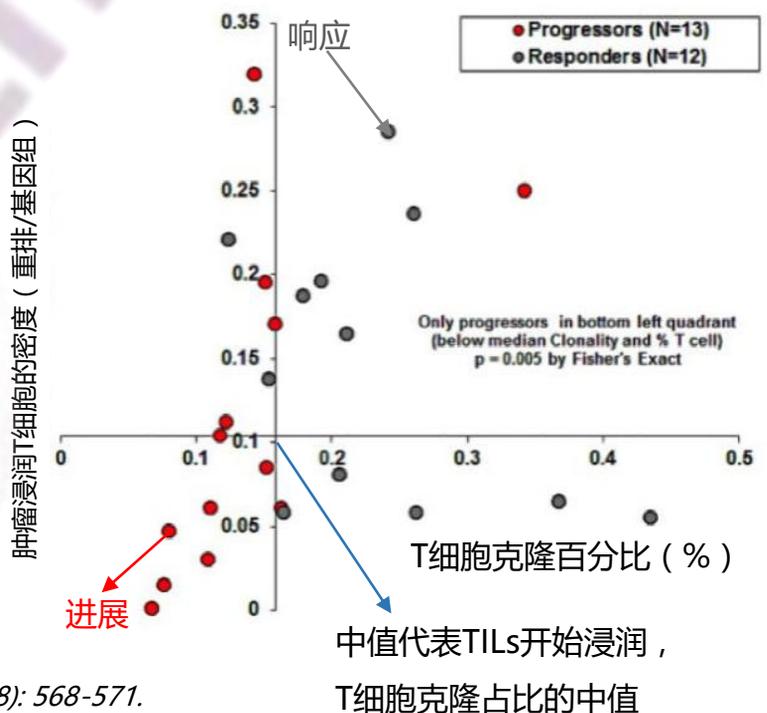
➤ 2014年5月发表在*Nature*.上, **IF:40.137**, 以及2014年5月发表在*Clin Cancer Res.*上, **IF: 9.619** 的两篇文献, 研究表明 PD-1抑制剂和CTLA-4抑制剂治疗黑色素瘤, 能提高患者的抗肿瘤免疫应答效率 (TILs细胞的浸润程度与T细胞克隆种类、数量), 可以通过对T细胞受体测序来预测肿瘤免疫治疗的疗效。



Tumeh, et al. *Nature* 2014; 515(7528): 568-571.

恶性肿瘤中CD8⁺ T细胞的增殖 (CD8⁺/Ki67⁺双色IHC法检测), 肿瘤治疗前 (图A) 到治疗后的临床响应 (图B) 及肿瘤进展 (图C) 。

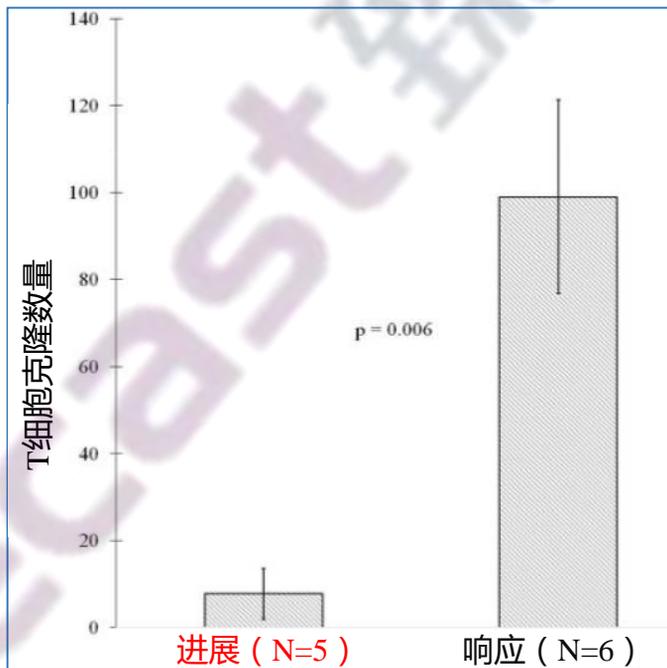
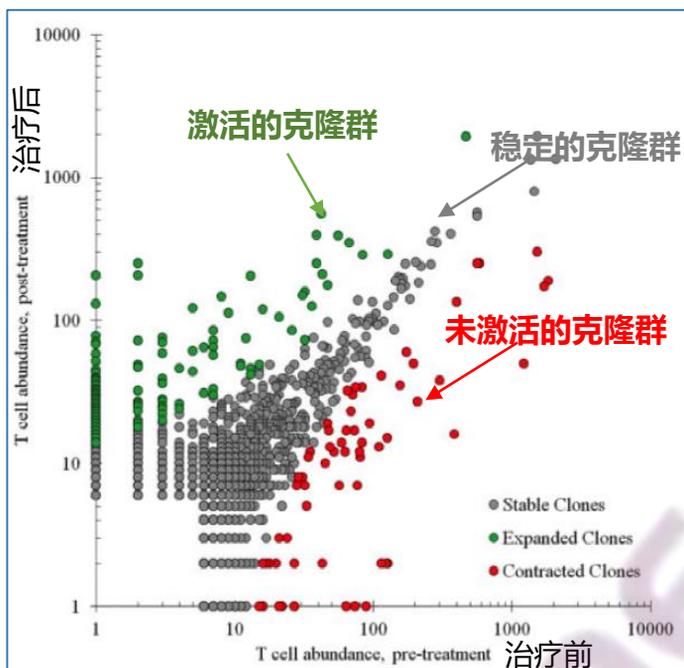
- TILs浸润较少与T细胞克隆占比中值较低的转移的黑色素瘤患者, 在进行派姆单抗 (pembrolizumab) 治疗后都进展了
- 所以, 可以通过检测T细胞受体来预测肿瘤免疫治疗的疗效



Tumeh, et al. *Nature* 2014; 515(7528): 568-571.



- PD-1抑制剂应答组患者的肿瘤组织局部出现CD8⁺T细胞增殖、T细胞受体的种类和数量较进展组上升；
- 所以TILs的浸润程度越多以及T细胞的数量与种类越多，患者对PD-1抑制剂抑制剂响应的可能性越大。

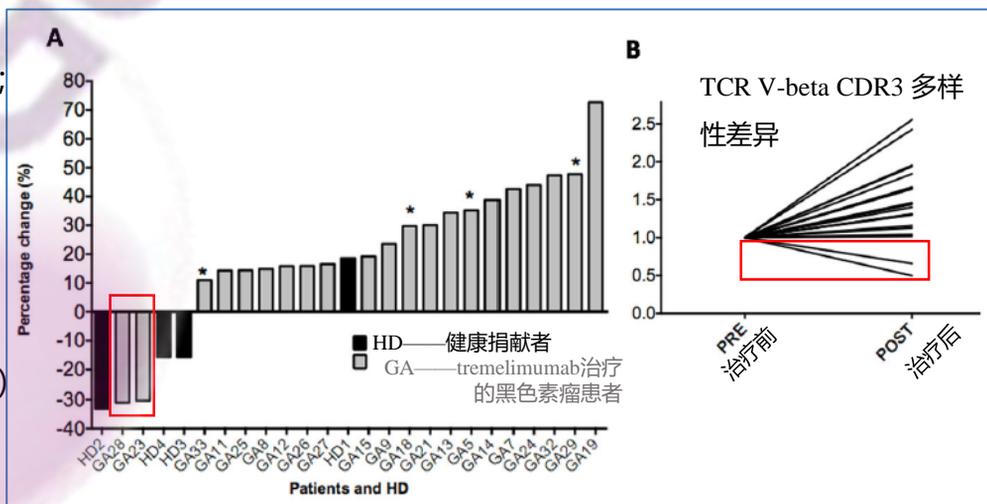


Tumeh, et al. Nature 2014; 515(7528): 568-571.

➤ CTLA-4抑制剂(tremelimumab)应答组患者的外周血中T细胞受体多样性增加

A图：分析了HD与GA在基线与治疗后的变化比例；有2个GA的TCR V-beta CDR3多样性降低；

B图：基线与经过tremelimumab治疗后的外周血样本，比较基线(1.0)与治疗后的TCR V-beta CDR3多样性是增加还是降低。



Clin Cancer Res. 2014 May 1;20(9):2424-32

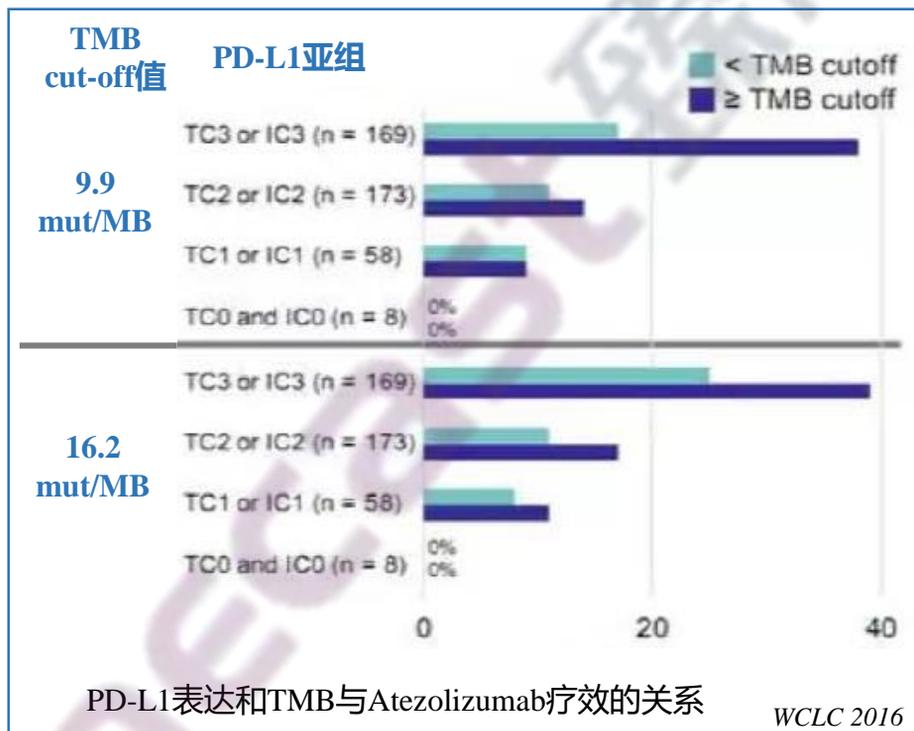


3.4 联合免疫分型和TMB预测PD-1/PD-L1抑制剂的有效率

➤ 2016年的WCLC报道了PD-L1的表达和TMB与PD-L1抑制Atezolizumab治疗晚期NSCLC患者疗效的关系

TMB值 Mt/Mb	PD-L1表达情况	ORR (%)
<9.9	-	0
>9.9	+++	40

- TMB与PD-L1表达弱相关，与TILs表达无关
- PD-L1高表达与TMB-H组的有效率最高
- PD-L1低表达患者仍有少数人对Atezolizumab有响应
- TMB<9.9，PD-L1阴性的患者，有效率为0



★ TC与IC中PD-L1的表达情况

PD-L1 TC评分标准		PD-L1 IC评分标准	
TC评分	肿瘤细胞中的PD-L1表达占比 (%)	IC评分	免疫细胞中的PD-L1表达占比 (%)
TC3	≥50%	IC3	≥10%
TC2	≥5% and <50%	IC2	≥5% and <10%
TC1	≥1% and <5%	IC1	≥1% and <5%
TC0	<1%	IC0	<1%

J Clin Oncol. 2017 Aug 20;35(24):2781-2789.

TC : tumor cells , 肿瘤细胞 ;

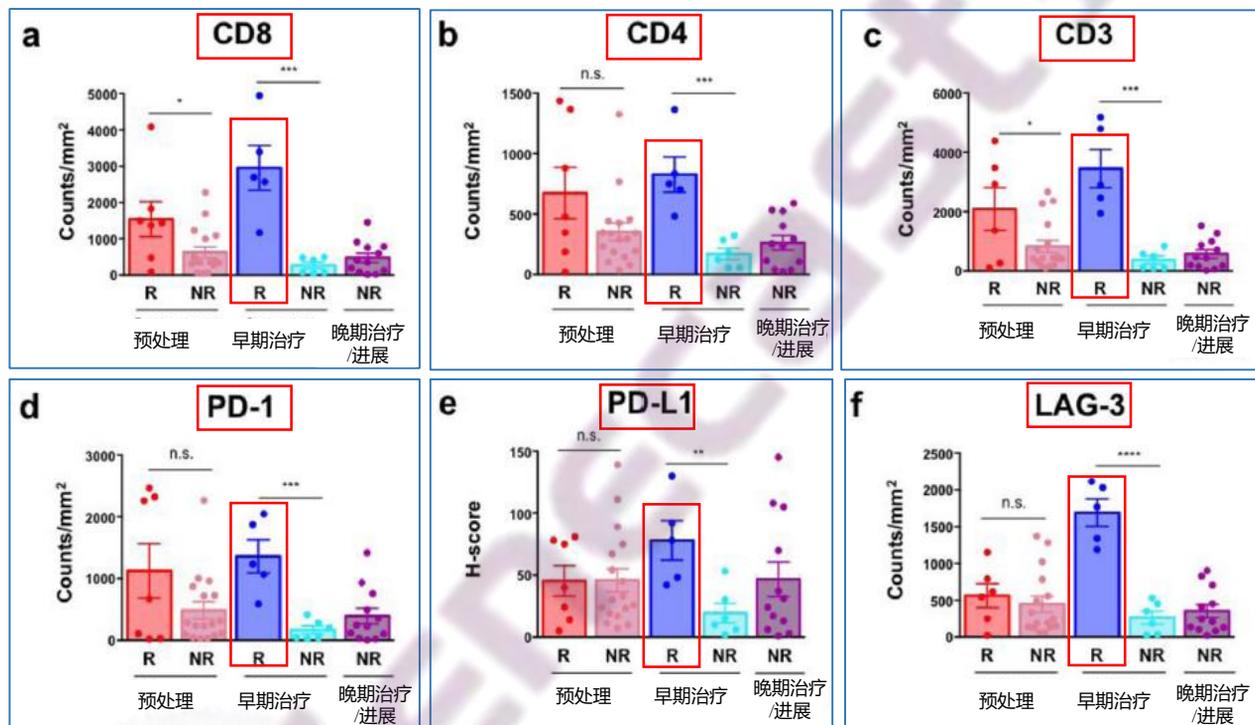
IC : tumor-infiltrating immune cells , 免疫细胞 ;



3.5 用基线TMIT筛选PD-1/PD-L1抑制剂治疗获益人群的缺陷

✦ 3.5.1 低估TMIT I型人群：PD-1抑制剂促进T细胞浸润，改变免疫分型

➤ 本文2016年8月发表在*Cancer Discov.*上，IF: 20.011，对早期治疗的活检组织进行免疫分型，可以对PD-1抑制剂的疗效高度预测



Cancer Discov. 2016 August ; 6(8): 827–837.

注：R——Responders应答，NR——non-responders无反应

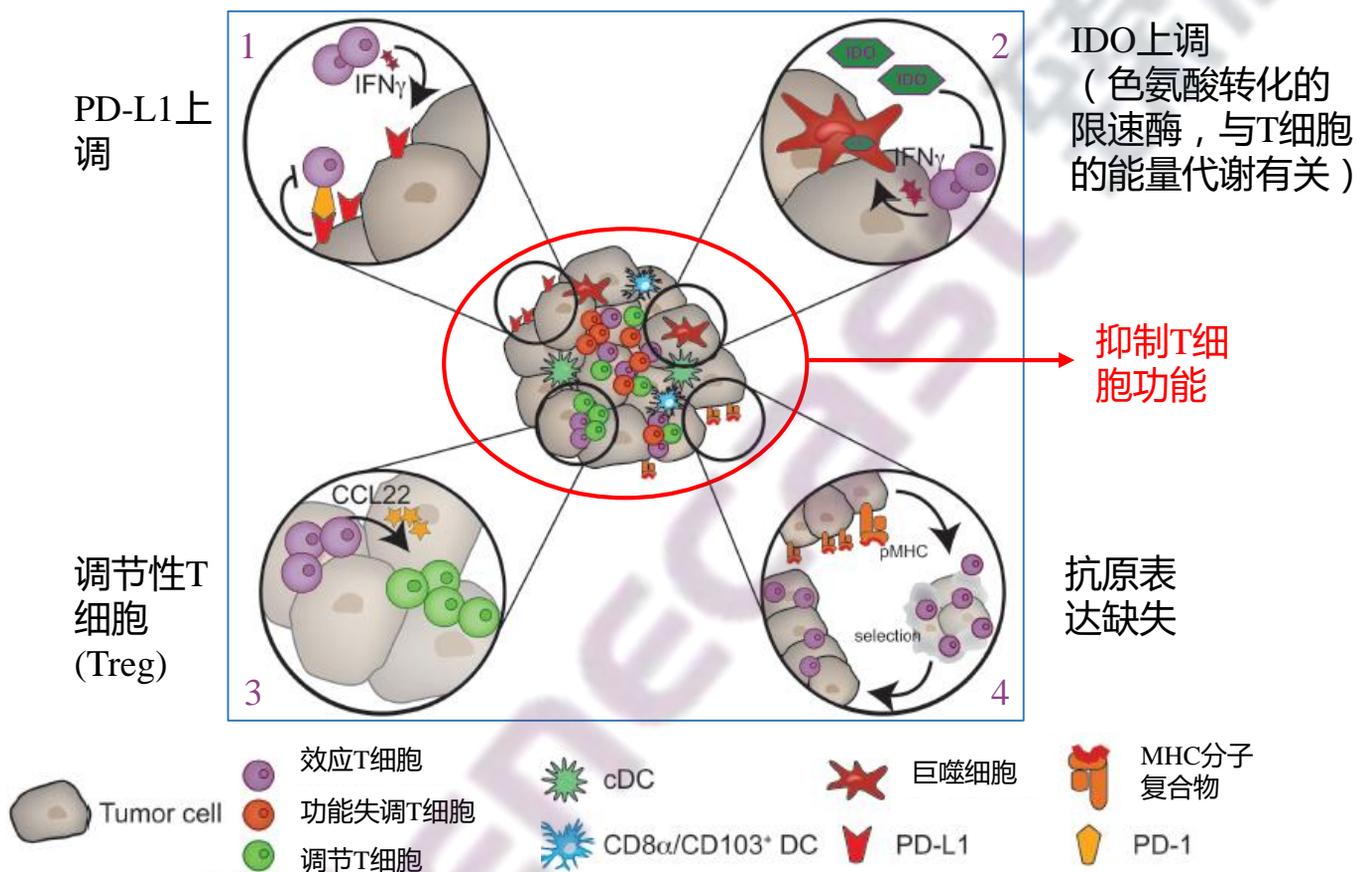
- 接受PD-1抑制剂治疗的57名患者，其中46名患者最初接受了CLTA-4抑制剂治疗，11名患者未接受
- 在预处理、早期治疗和晚期治疗/进展这三个时间点进行肿瘤活检
- 其中，经过早期治疗的活检组织的免疫分型，可对PD-1抑制剂疗效高度预测

PD-1抑制剂促进T细胞浸润，改变免疫分型



✦ 3.5.2 TMIT I型可能并存多种免疫逃逸方式

➤ 本文2016年8月发表在*Int Immunol.*上，IF: 3.748，T细胞炎症的肿瘤微环境存在免疫逃逸，TMIT I型可能并存多种免疫逃逸方式



Int Immunol. 2016 Aug;28(8):383-91.

图中详细展示了T细胞炎症性肿瘤微环境中四种主要的免疫逃逸机制：

1. PD-L1上调：通过PD-L1与PD-1的结合，抑制T细胞的增殖活化；
2. IDO上调：IDO1上调，可抑制T细胞功能和损害免疫监视；
3. 调节性T细胞：通过CCL22(源自效应T细胞)来招募调节性T细胞(Treg)；
4. 抗原表达缺失：肿瘤细胞特异性抗原表达缺失，抗原提呈分子表达下降，导致肿瘤免疫原性下降，间接抑制了T细胞功能；

总之，这些免疫逃逸机制通过不同途径抑制T细胞功能，导致T细胞表型功能紊乱，促进肿瘤细胞的免疫逃逸。



✦ 小结

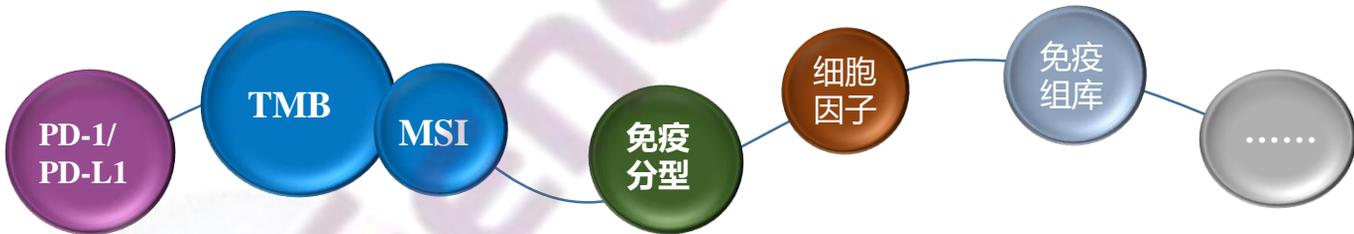


- 对于PD-1/PD-L1抑制剂的biomarker，免疫分型TMIT是PD-L1和TMB/MSI检测的另一个补充
- 用TMIT筛选PD-1/PD-L1抑制剂的优势人群需要更进一步的探索

✦ 思考



- 对于PD-1/PD-L1抑制剂的biomarkers，您认为哪些最有前景？
- 如何在临床实践中实现精准的抗肿瘤免疫治疗？



臻和（北京）科技有限公司简介

- 国家高新技术企业，经纬中国、正心谷创新资本、雅惠精准医疗基金、凯风创投等多家机构累计投资超过4亿元；
- 2家独立医学检验所资质，近3000m²符合卫计委高通量测序实验室标准；
- 北京800m²医学检验所、无锡1800m²检验所（分子、病理、免疫），泰州1900m²符合GMP生产基地；
- 无锡1800m²肿瘤精准诊疗大数据中心（在建中），肿瘤专科门诊；
- 北京协和医学院、北京大学医学部检验医学教育培训实习基地。



臻于至善 | 和合致远

臻和（北京）科技有限公司



一定要关注我们哦，下期内容更精彩

医学事务部编

本期参考文献

1. Teng MW, Ngiew SF, et al. *Classifying Cancers Based on T-cell Infiltration and PD-L1*. *Cancer Res*. 2015 Jun 1;75(11):2139-45.
2. Sharma P, Allison JP. *The future of immune checkpoint therapy*. *Science*. 2015 Apr 3;348(6230):56-61.
3. Chen YP, Zhang Y, et al. *Genomic Analysis of Tumor Microenvironment Immune Types across 14 Solid Cancer Types: Immunotherapeutic Implications*. *Theranostics*. 2017 Aug 22;7(14):3585-3594.
4. Galsky MD, Sazi A, Szabo PM, et al. *Impact of Tumor Mutation Burden on Nivolumab Efficacy in Second-Line Urothelial Carcinoma Patients: Exploratory Analysis of the Phase II CheckMate 275 Study*. *ESMO 2017 abstr 846*.
5. Ock CY, Keam B, et al. *Pan-Cancer Immunogenomic Perspective on the Tumor Microenvironment Based on PD-L1 and CD8 T-Cell Infiltration*. *Clin Cancer Res*. 2016 May 1;22(9):2261-70.
6. Peters S, Gettinger S, et al. *Phase II Trial of Atezolizumab As First-Line or Subsequent Therapy for Patients With Programmed Death-Ligand 1-Selected Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer (BIRCH)*. *J Clin Oncol*. 2017 Aug 20;35(24):2781-2789.
7. Tumeh PC, Harview CL, et al. *PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance*. *Nature*. 2014 Nov 27;515(7528):568-71.
8. Robert L, Tsoi J, et al. *CTLA4 blockade broadens the peripheral T cell receptor repertoire*. *Clin Cancer Res*. 2014 May 1;20(9):2424-32.
9. Chen PL, Roh W, et al. *Analysis of Immune Signatures in Longitudinal Tumor Samples Yields Insight into Biomarkers of Response and Mechanisms of Resistance to Immune Checkpoint Blockade*. *Cancer Discov*. 2016 Aug;6(8):827-37.
10. Spranger S. *Mechanisms of tumor escape in the context of the T-cell-inflamed and the non-T-cell-inflamed tumor microenvironment*. *Int Immunol*. 2016 Aug;28(8):383-91.

