

基于二代测序技术探究胃癌中医证型的基因突变特征

李朝燕^{1,2}, 徐燕¹, 黄晨³, 韩晨¹, 李清林^{1,4}, 秦梦梦¹, 刘锋¹, 朱晓虹¹, 曹妮达¹, 赵刚³, 赵爱光¹

(1. 上海中医药大学附属龙华医院, 上海 200032; 2. 上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院, 上海 200437; 3. 上海交通大学医学院附属仁济医院, 上海 200127; 4. 中国科学院大学附属肿瘤医院(浙江省肿瘤医院), 中国科学院基础医学与肿瘤研究所, 浙江 杭州 310022)

摘要: [目的] 利用二代测序技术研究胃癌中医证型的基因突变特征, 从肿瘤基因组层面初步探索胃癌中医证候的客观化指标, 指导临床精准治疗。[方法] 收集临床病理分期为 I~IV 期且未经任何治疗的胃癌患者, 根据 2011 年《胃癌中医诊疗方案》进行辨证分型, 采用二代测序技术(含 450 个肿瘤相关突变基因)检测肿瘤细胞的基因突变情况, 结合临床资料和中医证型进行生物信息学分析, 从而探究胃癌中医证型的基因突变特点。[结果] 共有 130 例 I~IV 期胃癌患者纳入本研究, 辨证分型为脾气虚证、血虚证、热毒证等共 8 个单证。对中医单证和测序获得的 363 个突变基因进行分析, 得到与各单证相关的高频和驱动基因, 脾气虚证多见 *ARID1A*、*PIK3CA*、*APC* 基因突变; 血虚证多见 *KMT2C* 基因突变; 热毒证多见 *TGFBR2*、*HNF1A*、*ERBB3*、*KMT2D* 基因突变。130 例患者中共有 92 例携带与单证证型相关的突变基因, 采用无监督层次聚类分析得到脾虚热毒证这一特征证型, 该复合证型多有 Hippo、TGF- β 等信号通路的激活, 表现为微卫星高度不稳定(MSI-H)和高肿瘤突变负荷(TMB)的特点。[结论] 不同单证的胃癌患者具有不同的基因突变特征, 脾气虚证多有 *PIK3CA*、*ARID1A*、*APC* 基因突变; 新发胃癌患者多为虚实夹杂的复合证型, 辨证为脾虚热毒证的胃癌患者可能是免疫治疗的适宜人群。

关键词: 胃癌; 中医证型; 脾气虚证; 二代测序技术; 基因突变; 肿瘤突变负荷

中图分类号: R735.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2021)10-0794-09

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2021.10.A013

Gene Mutations of Gastric Cancer with Different Traditional Chinese Medicine Syndromes Detected with Next Generation Sequencing

LI Zhao-yan^{1,2}, XU Yan¹, HUANG Chen³, HAN Chen¹, LI Qing-lin^{1,4}, QIN Meng-meng¹, LIU Feng¹, ZHU Xiao-hong¹, CAO Ni-da¹, ZHAO Gang³, ZHAO Ai-guang¹

(1. Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine(TCM), Shanghai 200032, China; 2. Yueyang Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine(TCM), Shanghai 200437, China; 3. Renji Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200127, China; 4. The Cancer Hospital of the University of Chinese Academy of Sciences(Zhejiang Cancer Hospital), Institute of Basic Medicine and Cancer(IBMC), Chinese Academy of Sciences, Hangzhou 310022, China)

Abstract: [Purpose] To explore the gene mutation patterns of gastric cancer with different traditional Chinese medicine (TCM) syndromes detected with next generation sequencing (NGS). [Methods] One hundred and thirty patients with TNM stage I~IV gastric cancer were enrolled in the study. The *Gastric Cancer TCM Diagnosis and Treatment Guidelines* published in 2011 was used for syndrome differentiation. NGS (including 450 tumor-related genes) and bioinformatics methods were used to explore the characteristics of gene mutations in gastric cancer with different TCM syndromes. [Results] The gastric cancer patients were classified as 8 single TCM syndromes. Total 363 mutated genes were obtained from sequencing, and 92 patients carried mutated genes related to the single syndrome. The mutations of *ARID1A*, *PIK3CA* and *APC* were mainly found in the "Piqixu" syndrome; *KMT2C* gene mutation was common in "Xuexu" syndrome; *TGFBR2*, *HNF1A*, *ERBB3* and *KMT2D* gene mutations were commonly found in "Redu" syndrome. The

收稿日期: 2021-06-09; 修回日期: 2021-08-18

基金项目: 科技部国家重点研发计划(2017YFC1700605)

李朝燕、徐燕为共同第一作者

通信作者: 赵爱光, E-mail: aiguanzhao@qq.com

unsupervised hierarchical cluster analysis was used to obtain the characteristic syndrome type of “Piqixu” syndrome with “Redu” syndrome. Most of the complex syndrome activated the Hippo and TGF- β signal pathway, which were characterized by microsatellite instability-high(MSI-H) and high tumor mutation burden(TMB). [Conclusion] Gastric cancer patients with different single TCM syndrome have characteristic gene mutations, and most of them were *PIK3CA*, *ARID1A*, *APC* gene mutations. Patients with newly diagnosed gastric cancer are likely to have complex TCM syndromes mixed with deficiency and excess. Patients with the complex syndromes of “Piqixu with Redu” may be suitable for immunotherapy.

Key words: gastric cancer; traditional Chinese medicine(TCM) syndromes; Piqixu syndrome; next generation sequencing; gene mutation; tumor mutation burden

由于胃癌的高度异质性,传统的组织病理学分型难以反映肿瘤的内在特性和指导后续的个体化治疗^[1],随着基因测序、生物分析技术以及大数据分析工具的出现,胃癌治疗进入精准医学时代。二代测序技术(next generation sequencing,NGS)作为基因组学的重要研究手段和工具,具有较高的灵敏度^[2-4],越来越广泛地应用于临床。

辨证是中医学对病变本质的认识,“证”是中医治疗的前提和基础。但长期以来,研究手段的匮乏影响了中医证候的客观化进程,进而制约了中医学诊疗的发展和推广。基因组学从整体水平上反映基因在疾病发生发展的不同阶段随时空动态演变的过程,与中医学以证候概括发病过程有显著的相似之处。现代医学生物学指导下的理论思维认为每一个证候群都有其特定的生物学基础,基于“有诸内必形之于外,有诸外必根诸内”的思考,本文对130例新发胃癌患者进行450个肿瘤相关突变基因测序,得到高频和驱动基因,同时结合临床信息和中医辨证分型进行分析,从而探索胃癌中医证型的基因突变特征,或可找到中医证候的客观化指标,为胃癌的个体化精准治疗策略提供新的思路。

1 资料与方法

1.1 临床资料

2018年6月至2019年12月在上海中医药大学附属龙华医院和上海交通大学医学院附属仁济医院就诊的初治胃癌病例,按照中华人民共和国卫生部《中国常见恶性肿瘤诊治规范》和《胃癌诊疗常规(2011年版)》,手术或胃镜病理学诊断明确为腺癌,

依据2016年AJCC/UICC胃癌TNM分期第8版进行临床病理分期。收集患者临床信息,包括出生年月、性别、烟酒史、肿瘤家族史等人口学指标;肿瘤部位、病理类型、Lauren分型、侵犯层次(T)、区域淋巴结(N)、远处转移(M)等病理信息。

1.2 伦理学原则

本研究在ClinicalTrials.gov注册登记,并通过伦理委员会批准,龙华医院伦理批件号为2018LC-SY014,上海交通大学医学院附属仁济医院伦理批件号为2018-120。本研究符合伦理学原则,所有患者均签署知情同意书,同意样本采集及进行该研究,使用10 mL的steck采血管收集全血,分离并入库保存;手术患者收集新鲜组织或病理切片,未手术患者收集胃镜活检组织或病理切片。

1.3 中医辨证分型

新发胃癌病例入院后填写中医症状调查表,详细记录与辨证相关的症状、体征、舌苔、脉象等。依据国家中医药管理局医政司发布的2011版《胃癌中医诊疗方案(试行)》进行中医辨证分型,分为4个虚证(脾气虚证、胃阴虚证、血虚证、脾肾阳虚证)和4个实证(热毒证、痰湿证、血瘀证、肝胃不和证)。所有单证均判定为是或否,每例病例的单证组合即为该患者的中医辨证分型。由2名副高职称以上的中医师独立辨证分型,如中医分型的结果不一致,则经过讨论共同确定。

1.4 DNA提取和靶标捕获测序

1.4.1 测序步骤

将福尔马林固定石蜡包埋(FFPE)的肿瘤组织和匹配的血液样本移送至上海至本科技OriGeneMed有限公司进行基因检测(含有450个肿瘤相关基因

肿瘤体细胞变异),对苏木精和伊红(Hematoxylin-Eosin,HE)染色的载玻片进行复查以确认每个病例的病理诊断,所有进行DNA提取的样品都至少含有20%的肿瘤细胞。①组织DNA提取:使用QIAamp DNA FFPE组织试剂盒和QIAamp DNA Blood Midi试剂盒从FFPE和血液样品中提取匹配血中的肿瘤样品和白细胞的基因组DNA。通过Qubit测量DNA浓度并将其标准化为20~50 ng/ μ L,从全血中分离出的白细胞用作匹配的正常对照。②NGS文库制备和基于Capture的靶向DNA测序:对DNA进行末端修复,磷酸化和衔接子连接。通过AMPure磁珠选择大小为200~400 bp的片段,然后与捕获探针诱饵杂交,与磁珠杂交选择和PCR扩增。随后进行生物分析仪高灵敏度DNA分析以评估片段的质量和大小。索引的样品在Novaseq 6000测序仪上对末端读数,使用Illumina仪器捕获基因并以800倍的平均覆盖率对其进行测序。

1.4.2 肿瘤突变负荷(TMB)及肿瘤微卫星不稳定性(MSI)估算

对每个样本的CSYS(cancer sequencing YS panel)测序数据计算获取每兆碱基中体细胞突变数目,该数目为TMB值;微卫星正常肿瘤不稳定性分析(MANTIS)算法量化MSI,MANTIS评分 ≥ 0.4 的样品被认为是微卫星高度不稳定型(microsatellite instability-high,MSI-H)^[5]。

1.5 数据处理方法

1.5.1 数据管理

建立EpiData数据库进行双人双机录入,录入后审核和校对。录入的数据资料形成一览表导入Excel表格,根据赋值表对信息进行编码赋值。

1.5.2 统计学处理

统计分析使用R语言(GenVisR)、SPSS(v.22.0)和GraphPad Prism(v.8.0)软件进行,oncodriveCLUST算法识别驱动基因,“Ward.D2”算法进行无监督层次聚类,基因集变异分析(gene set variation analysis,GSVA)计算通路激活情况,计数资料采用频数(构成比)进行统计描述,计量资料将采用均数 $\pm$ 标准差进行统计描述,对计量资料进行比较时先作正态分布与方差齐性检验,符合正态分布时采用 t 检验,不符合正态分布时采用Wilcoxon秩和检验。参数的置信区间估计采用95%置信区间,定性变量采用卡方检

验,所有统计检验均为双侧检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 中医证型分布情况

共有130例胃癌病例纳入本研究,男性95例,女性35例,男女比例为2.71:1。年龄范围在29~85岁之间,中位年龄65岁。I期病例10例,II期15例,III期87例,IV期18例。97.7%(127/130)的FFPE样品为手术标本,2.3%(3/130)为胃镜活检标本。

中医证型的单证分布情况显示,出现频率由高到低依次为脾气虚证66.2%(86/130),肝胃不和证47.7%(62/130),痰湿证35.4%(46/130),热毒证23.8%(31/130),血虚证20.0%(26/130),血瘀证16.9%(22/130),脾肾阳虚证13.1%(17/130),胃阴虚证6.9%(9/130)。

对130例患者进行单证的分别辨证后,单证的组合即为每例患者的中医证型。结果显示,130例患者中,11.5%的患者辨证为单证证型(15/130);50.8%的患者辨证为2个单证的复合证型(66/130);33.9%的患者辨证为3个单证的复合证型(44/130);3.8%的患者辨证为4个单证的复合证型(5/130)。其中,86.2%(112/130)为虚实夹杂的复合证型,7.7%(10/130)为单纯虚证,6.1%(8/130)为单纯实证。

2.2 胃癌中医单证的肿瘤相关基因突变特点

2.2.1 中医单证与临床病理特征的相关性

通过中医单证与临床病理特征的相关性分析发现,女性及无吸烟史患者的中医证型多为血虚证、血瘀证,IV期患者的中医证型多为脾肾阳虚证(Table 1)。

2.2.2 胃癌中医单证的基因突变特点

我们利用NGS技术对130例患者的450个肿瘤相关基因进行测序后得到相应的突变信息,结果共鉴定出363个突变基因,根据基因突变的频率,前20个高频突变基因为TP53、LRP1B、ARID1A、FAT3、FAT4、RNF43、KMT2D、GLI3、ERBB3、PIK3CA、SPTA1、ACVR2A、APC、ARID1B、CDH1、KMT2C、CCND1、NF1、PREX2、TGFB2。基于oncodriveCLUST算法得到RNF43、PIK3CA、ACVR2A、TGFB2、KRAS、PTEN、TFE3、ERBB2、TGFB1、HNF1A、RAD50、FGFR2共12个驱动基因。将中医证型与高频和驱动基因进行相关性

Table 1 Correlation between TCM syndromes and clinicopathological characteristics

Factor	N	Piqixu		Xueyu		Weiyinxu		Pishenyangxu		Ganweibule		Redu		Tanshi		Xueyu	
		Yes	P	Yes	P	Yes	P	Yes	P	Yes	P	Yes	P	Yes	P	Yes	P
Age(years old)																	
<65	62	43		11		3		10		31		13		24		10	
≥65	68	43	0.461	15	0.539	6	0.584	7	0.324	31	0.615	18	0.462	22	0.449	12	0.818
Gender																	
Male	95	66		14		6		13		43		22		36		12	
Female	35	20	0.188	12	0.013	3	0.952	4	0.964	19	0.361	9	0.762	10	0.324	10	0.032
Smoking																	
No	85	54		23		7		11		38		19		30		19	
Yes	45	32	0.385	3	0.011	2	0.655	6	0.950	24	0.349	12	0.583	16	0.976	3	0.043
Drinking																	
No	98	61		23		8		13		46		25		31		9	
Yes	32	25	0.051	3	0.165	1	0.600	4	0.735	16	0.616	6	0.501	15	0.083	3	0.338
History of GC																	
No	116	76		23		8		13		54		26		41		21	
Yes	14	10	0.887	3	0.561	1	0.654	4	0.161	8	0.454	5	0.270	5	0.978	1	0.512
Primary site																	
ECJ	22	13		4		1		5		12		4		8		3	
GC	108	73	0.442	22	0.539	8	0.983	12	0.260	50	0.480	27	0.682	38	0.916	19	0.889
Lauren typing																	
Intestinal	71	46		14		7		6		33		21		26		10	
Diffuse	41	24	0.194	9	0.903	1	0.265	9	0.292	18	0.454	6	0.214	16	0.410	10	0.754
Mixing	18	16		3		1		2		11		4		4		2	
TNM Stage																	
I	10	3		4		0		1		4		2		2		2	
II	15	12		4		0		0		6		5		3		3	
III	87	62	0.864	14	0.273	7	0.133	10	0.010	43	0.469	20	0.677	33	0.079	11	0.404
IV	18	9		14		2		6		9		4		8		6	

Notes: GC: gastric cancer; ECJ: esophagogastric junction

分析发现,脾气虚证多见 *APC*、*ARID1A*、*PIK3CA* 基因突变 (Table 2); 血虚证多见 *KMT2C* 基因突变 (Table 3); 热毒证多见 *TGFB2*、*HNF1A*、*ERBB3*、*KMT2D* 基因突变 (Table 4)。

中医单证与非高频/驱动突变基因的相关性分析发现,脾气虚证多见 *APC* ($P=0.004$) 基因突变,而少见 *BLK* ($P=0.006$)、*MYC* ($P=0.037$)、*TAF1* ($P=0.044$) 基因突变; 血虚证多见 *CTNNB1* ($P=0.014$) 基因突变; 胃阴虚证多见 *MYC* ($P=0.000$)、*CTCF* ($P=0.038$)、*NBN* ($P=0.038$)、*STK11* ($P=0.038$) 基因突变; 脾肾阳虚证多见 *BLK* ($P=0.047$) 基因突变; 肝胃不和证多见 *PREX2* ($P=0.002$)、*DDR1* ($P=0.049$) 基因突变,而少见 *FBXW7* ($P=0.018$)、*CREBBP* ($P=0.029$) 基因突变; 热毒证多见 *CTCF* ($P=0.000$)、*SMARCB1* ($P=0.003$)、*TNFAIP3* ($P=0.013$)、*TNK2* ($P=0.019$)、*TFE3* ($P=0.029$)、*CIC* ($P=0.036$)、*HDAC9* ($P=0.042$)、*PIK3CD* ($P=0.042$) 基因突变,痰湿证多见 *CYP2D6* ($P=0.042$)、*NKX2-1* ($P=0.042$) 基因突变,而少见 *TNK2* ($P=0.049$) 基因突变; 未发现血瘀证相关的肿瘤突变基因。

2.2.3 脾气虚证相关突变基因的 GO 和 KEGG 富集分析

脾气虚证是出现频率最高的证型,对脾气虚证相关突变基因进行 GO 和 KEGG 富集分析。结果显示,与脾气虚证相关突变基因显著关联的 GO 术语有 3 145 个,功能类别多与激酶活性有关 ($P<0.05$); 显著关联的信号通路有 147 条,包括 PI3K/Akt、ErbB、Rap1、FoxO、MAPK、PD-L1 和 PD-1 检查点、JAK-STAT、细胞周期、凋亡等多条信号通路 (Figure 1)。

2.2.4 中医单证与 MSI 和 TMB 的相关性

130 例病例中,117 例为微卫星稳定型 (microsatellite stability, MSS),13 例患者为 MSI-H,中医单证与 MSI 状态的相关性分析显示,热毒证患者多为 MSI-H ($P=0.007$) (Table 5)。

130 例患者的 TMB 值在 0.0~78.5 mut/Mb 之间,44 例患者为高 TMB (≥ 10.0 mut/Mb)。中医单证与 TMB 的相关性分析显示,高 TMB 多见于脾气虚证 ($P=0.010$),而脾肾阳虚证 ($P=0.018$) 则相反 (Figure 2)。

2.3 胃癌中医复合证型的肿瘤相关基因突变特点

2.3.1 复合证型的基因突变特点

130 例患者中有 92 例携带与单证证型相关的突变基因,通过无监督层次聚类将其聚为两类患者,结果显示,队列 1 有 78 个病例,队列 2 有 14 个病

Table 2 High frequency/driver gene mutation characteristics of Piqixu syndrome

Factor	Non-Piqixu(n=44)	Piqixu(n=86)	P
<i>APC</i>			
WT	44	73	0.004
MUT	0	13	
<i>ARID1A</i>			
WT	40	59	0.005
MUT	4	27	
<i>PIK3CA</i>			
WT	43	70	0.011
MUT	1	16	

Notes: WT: wild type; MUT: mutation type

Table 3 High frequency/driver gene mutation characteristics of Xuexu syndrome

Factor	Non-Xuexu(n=26)	Xuexu(n=104)	P
<i>KMT2C</i>			
WT	20	97	0.004
MUT	6	7	

Notes: WT: wild type; MUT: mutation type

Table 4 High frequency/driver gene mutation characteristics of Redu syndrome

Factor	Non-Redu(n=99)	Redu(n=31)	P
<i>TGFB2</i>			
WT	94	24	0.008
MUT	5	7	
<i>HNF1A</i>			
WT	98	27	0.011
MUT	1	4	
<i>ERBB3</i>			
WT	90	23	0.029
MUT	9	8	
<i>KMT2D</i>			
WT	87	22	0.046
MUT	12	9	

Notes: WT: wild type; MUT: mutation type

例,将两队列病例数与中医单证进行卡方检验显示,两队列在脾气虚证 ($P=0.048$) 和热毒证 ($P=0.018$) 的构成比比较差异有统计学意义,而其他 6 个证型则未见明显统计学意义,显示脾气虚证和热毒证的复合证型是队列 2 的特征证型,即脾虚热毒证 (Figure 3)。

对两队列进行 GSVA 分析,比较两组患者间通路激活情况的差异,结果显示,队列 1 多见 NF- κ B 信号通路、P53 信号通路、凋亡、PI3K 等信号通路的激活; 队列 2 (脾虚热毒证) 多见 ErbB 信号通路、RAS 信号通路、趋化因子信号通路、肌动蛋白细胞骨架的调控、Hippo 及 TGF- β 等信号通路的激活 (Figure 4)。

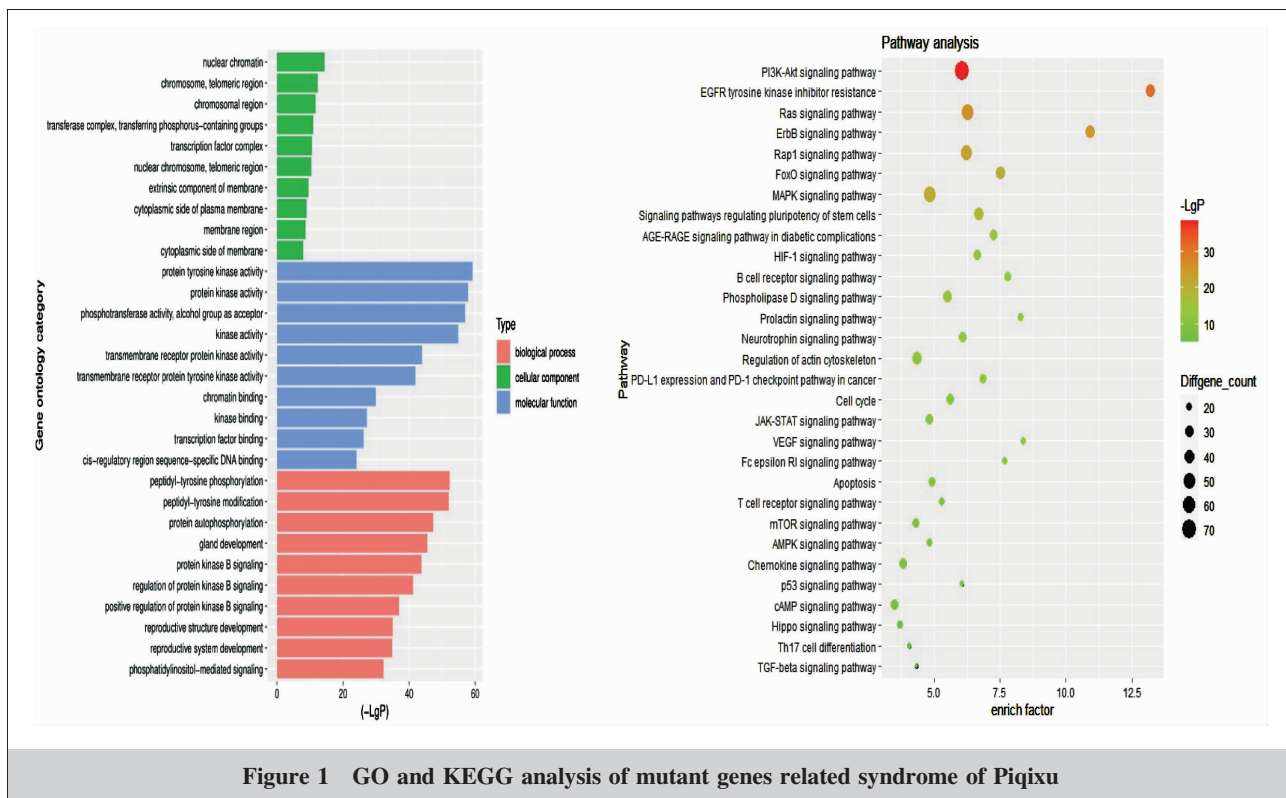


Table 5 Correlation between TCM syndromes and MSI status

Factor	MSI status		<i>P</i>
	MSS	MSI-H	
Piqixu			
No	43	1	0.073
Yes	74	12	
Xuexu			
No	94	10	0.723
Yes	23	3	
Weiyinxu			
No	108	13	0.597
Yes	9	0	
Pishenyangxu			
No	100	13	0.215
Yes	17	0	
Ganweibuhe			
No	60	8	0.482
Yes	57	5	
Redu			
No	93	6	0.007
Yes	24	7	
Tanshi			
No	74	10	0.501
Yes	43	3	
Xueyu			
No	96	12	0.585
Yes	21	1	

2.3.2 两队列与 MSI 状态和 TMB 的相关性

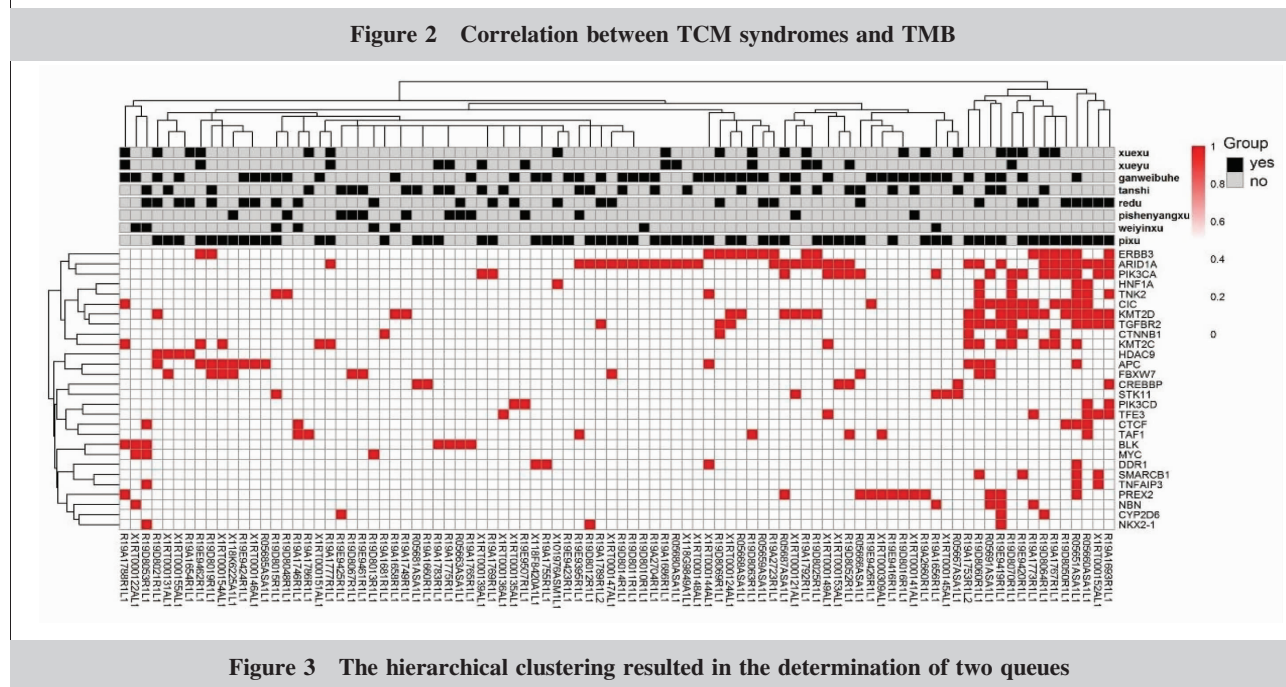
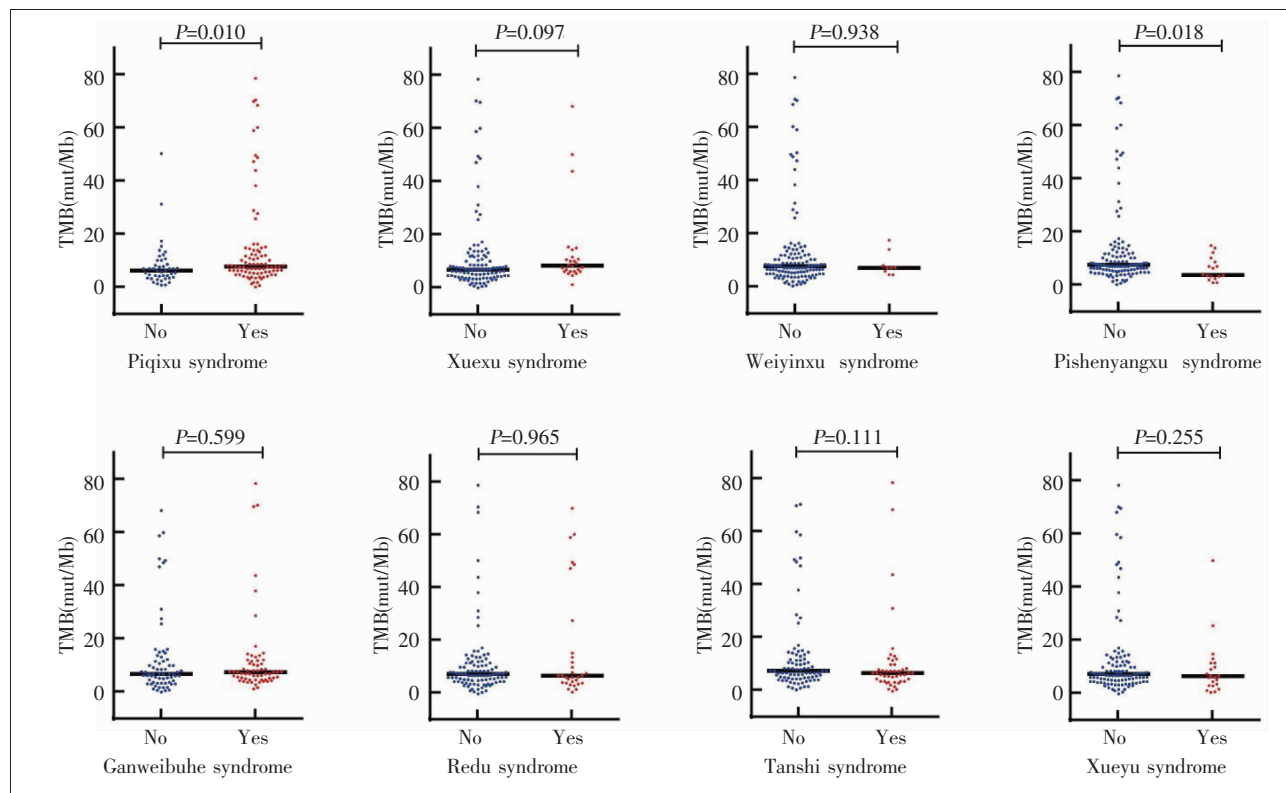
两队列与 MSI 状态和 TMB 关系分析显示,MSI-H 和高 TMB 均多见于队列 2(脾虚热毒证),组间有统计学意义($P=0.000$)(Table 6,Figure 5)。

3 讨 论

胃癌是难治的常见消化系统恶性肿瘤之一,是由多种基因突变和表观遗传异常所驱动的高度异质性疾病,涉及多基因改变、多通路、多阶段的过程。利用多组学技术分析总结出的分子分型可为胃癌的临床治疗和预后提供更精准的依据,弥补了传统组织学分型、TNM 分期的不足,但是多组学价格昂贵、操作难度大决定了现阶段胃癌的分子分型无法普遍推广。

本文利用 NGS 方法分析了 130 例胃癌患者的基因突变信息,并结合生物信息学方法,挖掘中医证型的基因突变特征,将中医证候客观化、具体化,对于从新的角度指导临床实践具有重要意义。本文对 130 例新发胃癌病例进行规范化中医辨证分型后发现出现频率最高的单证证型为脾气虚证 (66.2%),与文献报道结果一致^[6-7],也显示大多数胃癌患者在发病初始就存在着不同程度的脾虚,也再一次证实了

PIK3CA 突变导致 PI3K 活性增加^[11], 通过 Akt/mTOR 依赖或非依赖性的方式促进肿瘤发生^[12]。本文中 29.2% 患者携带有 *ARID1A* 基因突变 (38/130), *ARID1A* 以移码缺失突变为主, 与 cBioPortal 数据库 *ARID1A* 在胃癌中 16.7%~30.7% 的突变频率相符, *ARID1A* 基因缺失会增加 Akt 磷酸化水平, 导



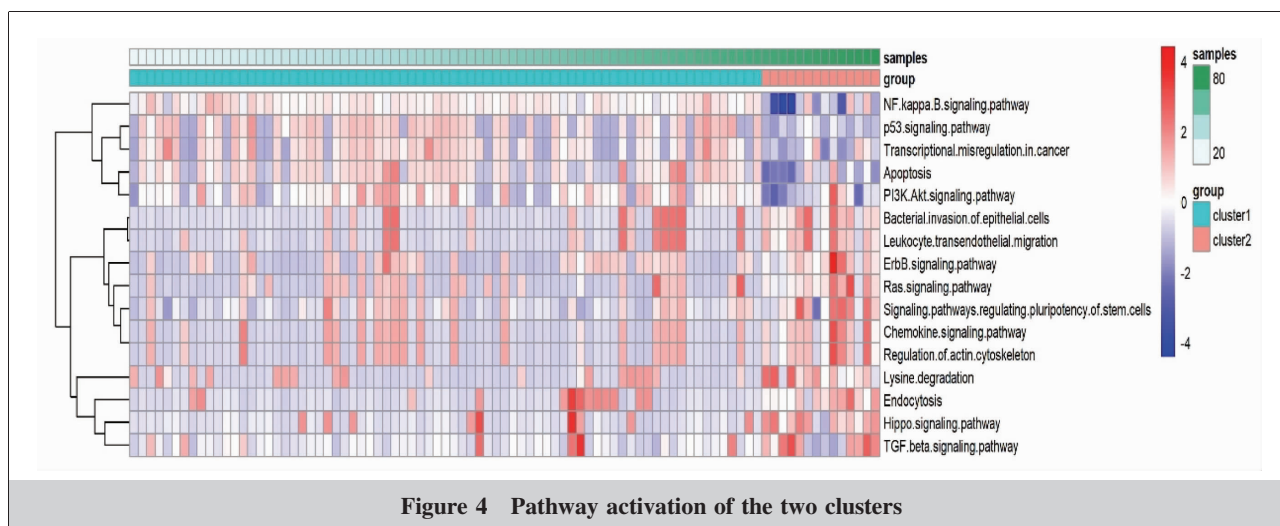


Figure 4 Pathway activation of the two clusters

Table 6 Correlation between two clusters and MSI status

MSI status	Cluster 1 (n=78)	Cluster 2 (n=14)	P
MSS	77	12	<0.001
MSI-H	1	2	

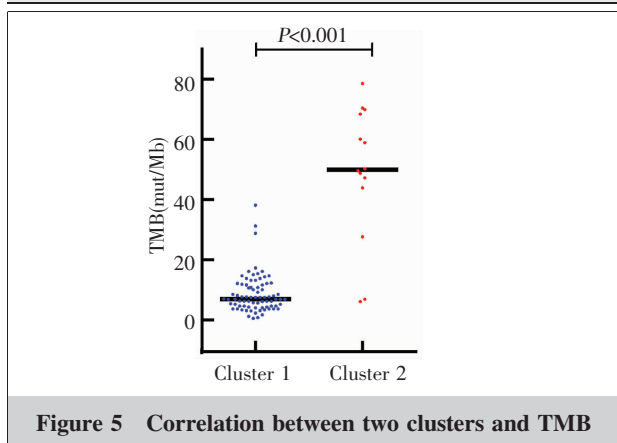


Figure 5 Correlation between two clusters and TMB

致 PI3K/Akt 通路激活^[13]。脾气虚证的基因突变特点提示 PIK3CA、ARID1A 及 PI3K/Akt/mTOR 信号通路可能是中医健脾法治疗胃癌的潜在靶点及信号通路。

然而胃癌致病因素复杂多样，多种病理因素相互交织，多候相兼，症状各异，单一病机往往难以解释诸多证候，复合证型可能更能准确概括和把握疾病最本质的特征^[14]，本文的研究结果中单一证型仅占 11.5%，88.5% 的胃癌患者表现为两证或多证组合的复合证型。免疫治疗是目前抗肿瘤治疗的热点，免疫检查点抑制剂的效果明显^[15-16]，但由于其应用有效的患者范围较小，评估免疫治疗的生物标志物比较局限，仍有大部分患者尚未被证实能从免疫检查点抑制剂治疗中获益，因此，胃癌免疫治疗获益人

群的筛选是目前亟待解决的问题。MSI 和 TMB 是已被证实的评估免疫治疗的生物标志物，KEYNOTE-062 研究^[17]的亚组分析显示，MSI-H/dMMR 晚期胃癌患者的总缓解率(ORR)为 57%，帕博利珠单抗可使 MSI-H 患者生存获益；与 KEYNOTE-158^[18-19]中的非高 TMB 实体瘤相比，使用帕博利珠单抗的高 TMB 实体瘤(≥ 10 mut/Mb)具有更高的 ORR(30.3% vs 6.7%)和更高的无进展生存(PFS)率。本文发现 MSI-H 和高 TMB 多见于脾虚热毒型的患者，提示辨证为脾虚热毒证的胃癌患者是免疫治疗的适宜人群，可能从免疫治疗中生存获益。热毒证与炎症关系密切，热毒证中胃脘灼痛、消谷善饥、舌红苔黄、脉滑数的实火症状似乎也符合“热”肿瘤的征象，与现代学者认为的出现淋巴细胞浸润和炎症的“热”肿瘤对免疫检查点抑制剂更有效的观点相吻合，未来可开展更深入的临床与基础研究来验证脾虚热毒证与免疫治疗的相关性。

本文将中医证型和 NGS 检测的基因组数据相结合，从证候—基因组学层面深入探讨胃癌虚实夹杂的证候本质，挖掘基因突变图谱与中医证型分布之间的潜在关系。本研究不足处在于，由于肿瘤的复杂性、中医证型的易变性等特点，加之样本量较小，所得结论有待更大样本量的临床与基础研究进一步证明。未来我们将在此研究的基础上，继续深入研究各个证型与其相关的肿瘤突变基因之间的内在联系及其在胃癌发生、发展各个阶段的不同价值及意义。

参考文献：

[1] Gullo I, Carneiro F, Oliveira C, et al. Heterogeneity in

- gastric cancer;from pure morphology to molecular classifications[J]. Pathobiology,2018,85(1-2):50-63.
- [2] Wang K,Yuen ST,Xu JC,et al. Whole-genome sequencing and comprehensive molecular profiling identify new driver mutations in gastric cancer [J]. Nat Genet,2014,46(6):573-582.
- [3] Chen KX,Yang D,Li XC,et al. Mutational landscape of gastric adenocarcinoma in Chinese;implications for prognosis and therapy[J]. Proc Natl Acad Sci U S A,2015,112(4):1107-1112.
- [4] 马强,孙婉玲. 二代测序技术在多发性骨髓瘤分子遗传学检测中的应用[J]. 肿瘤学杂志,2020,26(2):98-101.
Ma Q,Sun WL. Application of next-generation sequencing in detecting molecular genetic alterations of multiple myeloma[J]. Journal of Chinese Oncology,2020,26(2):98-101.
- [5] Kautto EA,Russell B,Jharna M,et al. Performance evaluation for rapid detection of pan-cancer microsatellite instability with MANTIS[J]. Oncotarget,2017,8(5):7452-7463.
- [6] 杨亚平,吴娟,佟书娟,等. 胃癌的中医证型分布规律多因素研究[J]. 时珍国医国药,2012,23(10):2565-2567.
Yang YP,Wu J,Tong SJ,et al. Syndrome description of gastric cancer in terms of TCM syndrome differentiation[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research,2012,23(10):2565-2567.
- [7] 王程燕,谢长生. 6970例胃癌辨证分型临床报道的统计分析[J]. 云南中医学院学报,2015,38(3):58-61.
Wang CY,Xie CS. Statistical analysis of clinically reported syndromes differentiation of 6970 gastric cancer cases [J]. Journal of Yunnan University of Traditional Chinese Medicine,2015,38(3):58-61.
- [8] Xu Y,Zhao AG,Li ZY,et al. Survival benefit of traditional Chinese herbal medicine for patients with advanced gastric cancer[J]. Integr Cancer Ther,2012,15(9):1-9.
- [9] 朱晓虹,赵爱光,李宏伟,等. 基于健脾为基础的辨证治疗方案对ⅢC期胃癌根治术后患者无病生存期的影响[J]. 中国肿瘤,2016,25(7):569-574.
Zhu XH,Zhao AG,Li HW,et al. TCM syndrome differentiation and treatment based on invigorating spleen for patients with stage Ⅲ C gastric cancer after curative surgery [J]. China Cancer,2016,25(7):569-574.
- [10] 李朝燕,赵爱光,竹永宝,等. 基于健脾法探讨中药胃肠安对晚期胃癌的影响[J]. 中华中医药杂志,2019,60(7):592-596.
Li ZY,Zhao AG,Zhu YB,et al. Effects of herbal formula Weichangan in advanced gastric cancer based on invigorating spleen method[J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy,2019,60(7):592-596.
- [11] Meric-Bernstam F,Akcahanat A,Chen H,et al. PIK3CA/PTEN mutations and Akt activation as markers of sensitivity to allosteric mTOR inhibitors[J]. Clin Cancer Res,2012,18(6):1777-1789.
- [12] Vasudevan KM,Barbie DA,Davies MA,et al. AKT-independent signaling downstream of oncogenic PIK3CA mutations in human cancer[J]. Cancer Cell,2009,16(1):21-32.
- [13] Samartzis EP,Gutsche K,Dedes KJ,et al. Loss of ARID1A expression sensitizes cancer cells to PI3K- and AKT-inhibition[J]. Oncotarget,2014,5(14):5295-5303.
- [14] 陈慧君,张宁苏,邢向荣. 原发性胃癌中医证候病性分布特点研究[J]. 云南中医中药杂志,2018,39(9):16-20.
Chen HJ,Zhang NS,Xing XR. Study on the distribution characteristics of TCM syndromes in primary gastric cancer[J]. Yunnan Journal of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica,2018,39(9):16-20.
- [15] Kato K,Satoh T,Muro K,et al. A subanalysis of Japanese patients in a randomized,double-blind,placebo-controlled,phase 3 trial of nivolumab for patients with advanced gastric or gastro-esophageal junction cancer refractory to,or intolerant of,at least two previous chemotherapy regimens (ONO-4538-12,ATTRACTION-2) [J]. Gastric Cancer,2019,22(2):344-354.
- [16] Boku N,Ryu MH,Kato K,et al. Safety and efficacy of nivolumab in combination with S-1/ capecitabine plus oxaliplatin in patients with previously untreated,unresectable,advanced,or recurrent gastric/ gastroesophageal junction cancer;interim results of a randomized,phase II trial (ATTRACTION-4)[J]. Ann Oncol,2019,30(2):250-258.
- [17] Shitara K,Van Cutsem E,Bang YJ,et al. Efficacy and safety of pembrolizumab or pembrolizumab plus chemotherapy vs chemotherapy alone for patients with first-line,advanced gastric cancer;the KEYNOTE-062 phase 3 randomized clinical trial[J]. JAMA Oncol,2020,6(10):1571-1580.
- [18] Marabelle A,Fakih M,Lopez J,et al. Association of tumour mutational burden with outcomes in patients with advanced solid tumours treated with pembrolizumab: prospective biomarker analysis of the multicohort,open-label,phase 2 KEYNOTE-158 study [J]. Lancet Oncol,2020,21(10):1353-1365.
- [19] Marabelle A,Le DT,Ascierto PA,et al. Efficacy of pembrolizumab in patients with noncolorectal high microsatellite instability/mismatch repair-deficient cancer;results from the phase II KEYNOTE-158 study [J]. J Clin Oncol,2020,38(1):1-10.