

• 临床研究 •

基于 CIN 和 TILs 密度的联合模型对 NSCLC 免疫治疗疗效的预测价值

王雪春, 邱红美, 顾学红, 施谷平, 贾佳

【摘要】目的 分析染色体不稳定性(CIN)和肿瘤浸润淋巴细胞(TILs)密度与非小细胞肺癌(NSCLC)免疫治疗疗效的关系, 建立 CIN 和 TILs 密度的联合模型, 并验证该模型效能。**方法** 选取 2022 年 6 月至 2024 年 8 月嘉兴市第一医院收治的 NSCLC 患者 117 例, 经手术切除获取蜡块标本, 采用全集基因组超低通量(ULP-WGS)检测 CIN, 多重荧光免疫组化检测 TILs 密度。患者均行免疫治疗, 根据疗效分为无效组和有效组。采用多因素 Logistic 回归模型分析 NSCLC 免疫治疗疗效的影响因素, 并构建预测模型; 采用受试者工作特征曲线(ROC)验证预测模型的效能。**结果** 117 例患者中免疫治疗无效率 60.68%。无效组 TNM 分期Ⅳ期、组织分化程度未/低分化的构成比、CIN 评分及 Treg 细胞密度均高于有效组(均 $P < 0.05$), CD8⁺细胞毒性 T 细胞、CD45RO⁺记忆 T 细胞、CD56⁺自然杀伤(NK)细胞密度均低于有效组(均 $P < 0.05$); 多因素分析显示, CIN 评分、Treg 细胞密度、CD8⁺细胞毒性 T 细胞、CD45RO⁺记忆 T 细胞、CD56⁺NK 细胞密度是 NSCLC 免疫治疗无效的影响因素(均 $P < 0.05$); 基于 CIN 和 TILs 密度的联合模型预测 NSCLC 免疫治疗无效的曲线下面积(AUC)为 0.944(95%CI: 0.886 ~ 0.978, $P < 0.05$), 灵敏度为 91.55%, 特异度为 93.48%; 校准曲线显示, 该预测模型的预测概率与实际概率一致性良好。**结论** CIN 评分、Treg 细胞密度、CD8⁺细胞毒性 T 细胞、CD45RO⁺记忆 T 细胞、CD56⁺NK 细胞密度是 NSCLC 免疫治疗无效的影响因素, 据此构建的预测模型在预测 NSCLC 免疫治疗效果上具有良好的区分度。

【关键词】 非小细胞肺癌; 染色体不稳定性; 肿瘤浸润淋巴细胞; 免疫治疗; 预测

doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2025.05.007

【中图分类号】 R734.2 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1671-0800(2025)05-0471-05

非小细胞肺癌(non small-cell lung cancer, NSCLC)是临床最常见的肺癌类型, 约占所有肺癌的 85%~90%, 且发病率和死亡率呈逐年上升趋势^[1]。随着免疫检查点抑制剂等免疫治疗的应用, NSCLC 治疗迎来了新的希望, 其通过激活患者自身免疫系统来对抗肿瘤, 已被证明能有效延长部分患者生存期^[2-3]。但免疫治疗疗效在患者间存在显著异质性, 部分患者可能会出现无效或不良反应等情况^[4]。肿瘤免疫微环境主要包括肿瘤细胞、免疫细胞、基质细胞及细胞外基质, 其中肿瘤浸润淋巴细胞(tumor Infiltrating lymphocytes, TILs)作为免疫系统与肿瘤相互作用的重要媒介, 不仅可反映肿瘤的免疫特征, 还可作为免疫治疗疗效的潜在预测标志物, 其密度被认为与患者预后、免疫逃逸机制和免疫治疗反应存

在相关性^[5]。除免疫因素外, 染色体不稳定性(chromosomal instability, CIN)也是影响肿瘤免疫微环境的重要因素之一, 其不仅驱动了肿瘤遗传异质性, 还与肿瘤免疫逃逸、肿瘤抗原呈递及免疫检查点表达等过程密切相关^[6]。目前已有研究尝试整合多种免疫及基因组指标以预测免疫治疗疗效^[7], 但整体预测效能并不理想。本研究旨在基于 CIN 和 TILs 密度构建一种新的联合预测模型, 并评估其对 NSCLC 患者免疫治疗疗效的预测价值, 以期免疫治疗的精准化应用提供科学依据, 现报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选取 2022 年 6 月至 2024 年 8 月嘉兴市第一医院收治的 NSCLC 患者 117 例, 其中男 66 例, 女 51 例; 年龄 42 ~ 78 岁, 平均(61.3±7.4)岁。纳入标准: (1)经组织学或细胞学确诊为 NSCLC^[8], 且处于 IIIB 期或Ⅳ期; (2)符合免疫治疗适应证, 并接受免疫检查点抑制剂单药或联合治疗; (3)可提供

基金项目: 浙江省医药卫生科技计划项目(2022KY1237)

作者单位: 314000 浙江省嘉兴, 嘉兴市第一医院(王雪春、邱红美、顾学红、施谷平); 上海生物信息技术研究中心(贾佳)

通信作者: 邱红美, Email: qhm19880309@sina.com

足量肿瘤组织样本,确保能进行 CIN 评分、TILs 密度评估和其他生物标志物检测;(4)年龄 > 18 岁。排除标准:(1)合并其他恶性肿瘤;(2)既往诊断有活动性自身免疫性疾病或需长期免疫抑制治疗者;(3)对程序性死亡受体 1/配体 1 (programmed death 1/programmed death molecule ligand 1, PD-1/PD-L1) 抑制剂成分存在明确过敏史或不耐受者;(4)入组前 4 周内接受过其他形式的抗肿瘤治疗,包括化疗、靶向治疗、放疗或试验性治疗等;(5)使用过大剂量糖皮质激素(等效泼尼松 > 10 mg/d)或其他免疫抑制药物,且无法中断治疗者;(6)存在影响预后的严重伴随疾病。本研究获得嘉兴市第一医院伦理委员会批准,所有研究对象均同意参加本研究并签署书面知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 临床资料收集 通过查询病案系统、询问家属或患者等方式收集临床资料,包括性别、年龄、体质质量指数(body mass index, BMI)、吸烟指数、合并症(糖尿病、高血压、冠心病)、肿瘤直径、体力状况(performance status, PS)评分、TNM 分期、组织分化程度及浸润深度等。

1.2.2 CIN 检测 获取患者蜡块标本,通过全集基因组超低通量(ultra-low pass whole genome sequencing, ULP-WGS)对脱蜡处理后的 DNA 样本进行低覆盖度高通量测序,检测组织样本的 CIN。根据拷贝数变异的数量、频率及分布等,计算 CIN 评分^[9]。

1.2.3 TILs 密度检测 经多重荧光免疫组化(multiple immunohistochemistry, mIHC)检测 TILs 密度。对组织切片进行脱蜡、抗原修复(热诱导法)及封闭处理,随后依次使用针对 CD3、CD4、CD8、FOXP3、CD20、CD56、CD1a 及 CD83 等标志物的抗体,结合酪胺信号放大(tyramine signal amplification, TSA)技术和不同波长荧光染料(Opal 系列)进行多轮染色,每轮染色后通过微波灭活辣根过氧化物酶以避免交叉反应。完成标记后,经多光谱成像系统采集图像,通过光谱分离技术精准识别各亚群,基于 DAPI 核定位定量计算单位肿瘤区域内 TILs 亚型密度。

1.2.4 免疫治疗疗效判断^[10] 完全缓解:所有可测量和可评估的肿瘤病灶完全消失,并且持续至少 4

周,所有结节短径均 < 10 mm;部分缓解:1 个以上的可测量病灶上观察到肿瘤病灶的最大直径总和减少 ≥ 30%;进展:肿瘤病灶的最大直径总和增加 > 20%,或者出现新的肿瘤病灶;稳定:病灶缩小/增大在进展与部分缓解标准之间。将完全缓解、部分缓解、稳定患者纳入有效组,进展患者纳入无效组。

1.3 统计方法 采用 SPSS 25.0 软件处理数据,计数资料以例数和百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验;正态分布计量资料以均数 ± 标准差表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验;非正态分布计量资料以 *M* (*Q*₁, *Q*₃) 表示,组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验;影响因素分析采用多因素 Logistic 回归模型(逐步向前法)。采用 R 语言(R3.6.3)程序包建立风险预测模型,经受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)评估模型的预测效能,并计算曲线下面积(area under curve, AUC)。*P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料比较 117 例患者中完全缓解 10 例,部分缓解 16 例,稳定 20 例,进展 71 例。有效组 46 例(39.32%),无效组 71 例(60.68%)。无效组 TNM 分期 IV 期、组织分化程度未/低分化的构成比均高于有效组(均 *P* < 0.05),见表 1。

2.2 两组 CIN 评分及 TILs 密度比较 无效组 CIN 评分、Treg 细胞密度均高于有效组(均 *P* < 0.05),CD8⁺细胞毒性 T 细胞、CD45RO⁺记忆 T 细胞、CD56⁺自然杀伤(NK)细胞密度均低于有效组(均 *P* < 0.05),见表 2。

2.3 NSCLC 免疫治疗疗效的多因素分析 以免疫治疗疗效(无效=1,有效=0)为因变量,TNM 分期(III 期=0,IV 期=1)、组织分化程度(中/高分化=0,未/低分化=1)、CIN 评分(实际值)、CD8⁺细胞毒性 T 细胞密度(实际值)、Treg 密度(实际值)、CD45RO⁺记忆 T 细胞密度(实际值)、CD56⁺NK 细胞密度(实际值)为自变量行多因素 Logistic 回归模型分析。校正前显示,TNM 分期 IV 期、未/低分化、CIN 评分、Treg 细胞密度是 NSCLC 免疫治疗无效的危险因素(均 *P* < 0.05),CD8⁺细胞毒性 T 细胞、CD45RO⁺记忆 T 细胞、CD56⁺NK 细胞密度是保护因素(均 *P* < 0.05),见表

3. 校正后显示,CIN 评分、Treg 细胞密度是 NSCLC 免疫治疗无效的危险因素(均 $P < 0.05$),CD8⁺细胞

毒性 T 细胞、CD45RO⁺记忆 T 细胞、CD56⁺NK 细胞密度是保护因素(均 $P < 0.05$),见表 4。

表 1 两组非小细胞肺癌患者一般资料比较				
项目	无效组 (n=71)	有效组 (n=46)	$\chi^2(t)[Z]$ 值	P 值
性别[例(%)]			3.57	> 0.05
男	45(63.38)	21(45.65)		
女	26(36.62)	25(54.35)		
年龄(岁)	62.8±8.2	60.3±7.2	(1.70)	> 0.05
BMI(kg/m ²)	23.35±2.16	22.97±2.45	(0.88)	> 0.05
吸烟指数(支X年)	350(120,410)	260(80,400)	[1.81]	> 0.05
合并症[例(%)]				
糖尿病	14(19.72)	5(10.87)	1.61	> 0.05
高血压	21(29.58)	9(19.57)	1.47	> 0.05
冠心病	9(12.68)	5(10.87)	0.09	> 0.05
肿瘤直径(cm)	4.05±0.81	3.82±0.74	(1.55)	> 0.05
PS 评分(分)	3(1,4)	3(1,4)	[1.30]	> 0.05
TNM 分期[例(%)]			4.29	< 0.05
III期	39(54.93)	34(73.91)		
IV期	32(45.07)	12(26.09)		
组织分化程度[例(%)]			4.59	< 0.05
中高分化	42(59.15)	36(78.26)		
未/低分化	29(40.85)	10(21.74)		
浸润深度[例(%)]			1.46	> 0.05
T1 ~ T2	32(45.07)	26(56.52)		
T3 ~ T4	39(54.93)	20(43.48)		

注:BMI 为体质量指数,PS 评分为体力状况评分

2.4 NSCLC 免疫治疗疗效预测模型的构建 纳入 CIN 评分、CD8⁺细胞毒性 T 细胞、Treg 细胞、CD45RO⁺记忆 T 细胞、CD56⁺NK 细胞构建 NSCLC 免疫治疗疗效预测模型,见图 1。

2.5 NSCLC 免疫治疗疗效预测模型的预测效能 该预测模型预测 NSCLC 免疫治疗无效的 AUC 为 0.944 (95%CI: 0.886 ~ 0.978, $P < 0.05$),灵敏度为 91.55%,特异度为 93.48%,见图 2。该预测模型的预测概率与实际概率一致性良好,具有良好的预测精度,见图 3。

3 讨论

免疫检查点抑制剂的使用改变了 NSCLC 的治疗格局,已成为晚期肿瘤患者的重要选择之一^[11-12]。但 NSCLC 的病理机制和免疫微环境决定了疾病的异质性和治疗难度,癌细胞通常表现出较高的基因组不稳定性 and 免疫抑制性微环境,导致免疫逃逸,免疫治疗的整体有效率低于 30%^[13-14]。因此,迫切需要探索生物标志物,特别是能够整合肿瘤基因组和微环境特征的综合性指标,以优化 NSCLC 免疫治疗效

表 2 两组非小细胞肺癌患者 CIN 评分及 TILs 密度比较				
项目	无效组(n=71)	有效组(n=46)	t 值	P 值
CIN 评分(分)	12.54±2.46	10.16±2.01	5.84	< 0.05
CD3 ⁺ T 细胞(个/视野)	19.85±3.96	18.42±3.65	1.97	> 0.05
CD4 ⁺ 辅助性 T 细胞(个/视野)	35.62±7.02	37.91±7.53	1.68	> 0.05
CD8 ⁺ 细胞毒性 T 细胞(个/视野)	53.61±8.17	66.89±10.51	7.66	< 0.05
Treg 细胞(个/视野)	21.47±4.12	7.43±2.97	19.98	< 0.05
CD20 ⁺ B 细胞(个/视野)	68.78±13.72	64.37±12.41	1.76	> 0.05
CD45RO ⁺ 记忆 T 细胞(个/视野)	252.37±45.42	301.74±60.32	5.04	< 0.05
CD56 ⁺ NK 细胞(个/视野)	6.74±1.93	9.92±2.17	8.29	< 0.05
CD1a ⁺ 未成熟 DCs(个/视野)	101.61±20.51	107.97±15.74	1.79	> 0.05
CD83 ⁺ 成熟 DCs(个/视野)	39.77±7.92	37.14±7.27	1.81	> 0.05

注:CIN 为染色体不稳定性,TILs 为肿瘤浸润淋巴细胞,NK 细胞为自然杀伤细胞

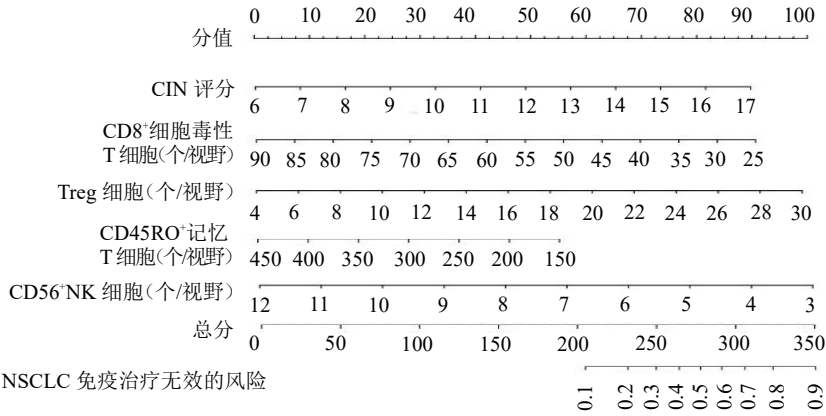
表 3 校正前 NSCLC 免疫治疗疗效影响因素的多因素分析						
变量	B 值	SE 值	Wald χ^2 值	P 值	OR 值	95% CI
TNM 分期IV期	0.694	0.200	12.079	< 0.05	2.003	1.354 ~ 2.962
未/低分化	0.482	0.200	5.831	< 0.05	1.620	1.095 ~ 2.396
CIN 评分	0.997	0.360	7.681	< 0.05	2.710	1.339 ~ 5.485
CD8 ⁺ 细胞毒性 T 细胞	-0.587	0.213	7.595	< 0.05	0.556	0.366 ~ 0.844
Treg 细胞	1.215	0.433	7.862	< 0.05	3.371	1.442 ~ 7.883
CD45RO ⁺ 记忆 T 细胞	-0.629	0.201	9.793	< 0.05	0.533	0.360 ~ 0.791
CD56 ⁺ NK 细胞	-0.876	0.315	7.734	< 0.05	0.416	0.225 ~ 0.772

注:NSCLC 为非小细胞肺癌,CIN 为染色体不稳定性

表 4 校正后 NSCLC 免疫治疗疗效影响因素的多因素分析

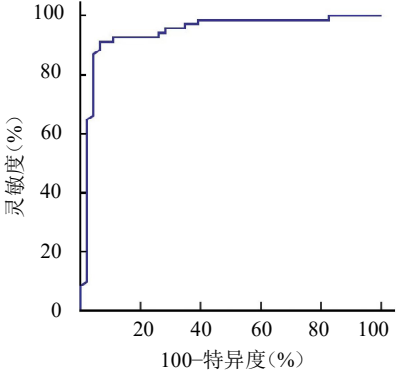
变量	B 值	SE 值	Wald χ^2 值	P 值	OR 值	95% CI
CIN 评分	0.608	0.277	4.807	< 0.05	1.836	1.067 ~ 3.161
CD8 ⁺ 细胞毒性 T 细胞	-0.913	0.385	5.624	< 0.05	0.401	0.189 ~ 0.854
Treg 细胞	0.967	0.260	13.794	< 0.05	2.630	1.579 ~ 4.381
CD45RO ⁺ 记忆 T 细胞	-0.745	0.254	8.603	< 0.05	0.475	0.289 ~ 0.781
CD56 ⁺ NK 细胞	-0.594	0.213	7.777	< 0.05	0.552	0.364 ~ 0.838

注: NSCLC 为非小细胞肺癌, CIN 为染色体不稳定性



注: NSCLC 为非小细胞肺癌, CIN 为染色体不稳定性

图 1 NSCLC 免疫治疗疗效的预测模型

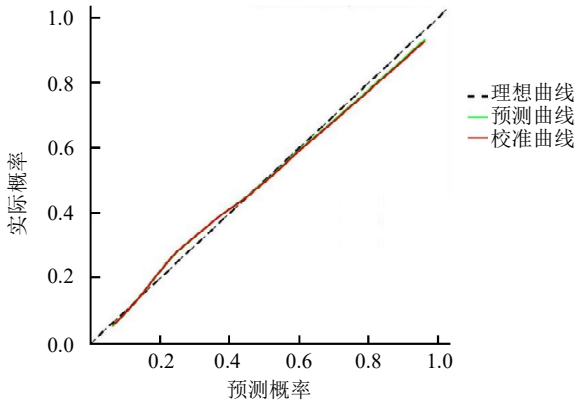


注: NSCLC 为非小细胞肺癌

图 2 预测模型预测 NSCLC 免疫治疗疗效的 ROC 曲线

果的预测策略。

本研究结果显示, CIN 评分、Treg 细胞密度是 NSCLC 免疫治疗无效的危险因素 (均 $P < 0.05$), CD8⁺细胞毒性 T 细胞、CD45RO⁺记忆 T 细胞、CD56⁺ NK 细胞密度是其保护因素 (均 $P < 0.05$)。高 CIN 评分反映了肿瘤基因组的不稳定性, 可通过基因组重排和拷贝数变异, 引发癌基因扩增和抑癌基因缺失, 增强肿瘤细胞增殖能力; 同时, 其具有更强的适应性, 通过选择性生存机制规避免疫系统杀伤^[15]。有研究显示^[6], CIN 会导致细胞质 DNA 积累, 进而促进环鸟苷酸-腺苷酸合成酶-干扰素基因刺激蛋白信号转导, 激活 T 细胞介导的免疫反应, 其活性高低与免疫治疗的效果相关。这表明 CIN 有作为免疫疗法效果预测生物标志物的潜力。Treg 细胞是肿瘤微环境中的关键免疫抑制性成分, 其通过分泌免疫抑制因子, 直接抑制效应性 T 细胞和 NK 细胞功能, 并通过消耗肿瘤微环境中 L-精氨酸和 L-色氨酸, 削弱免疫效应^[16]。CD8⁺细胞毒性 T 细胞是免疫系统对抗肿瘤的核心效应细胞, 其通过分泌颗粒酶和穿孔素直接杀伤肿瘤细胞^[17]。在免疫治疗下, 阻断 PD-1/PD-L1 轴的抑制信号, 恢复 CD8⁺ T 细胞的抗肿瘤活性, 从



注: NSCLC 为非小细胞肺癌

图 3 预测模型预测 NSCLC 免疫治疗疗效的校准曲线

而改善患者预后。CD45RO⁺记忆 T 细胞在肿瘤免疫中的作用体现在其快速反应能力和长效抗肿瘤记忆形成上, 这些细胞在识别抗原后迅速激活, 同时促进抗原交叉递呈和肿瘤特异性效应细胞扩增, 增强免疫治疗整体效应。谭琪凡等^[18]发现, 肿瘤组织中 CD45RO⁺记忆 T 细胞密度与 NSCLC 的临床病理特征及预后显著相关, 可作为新的生存预后标志物。CD56⁺ NK 细胞作为先天免疫系统的重要组成部分, 在非主要组织相容性复合物 (major histocompatibility complex, MHC) 限制条件下可直接识别和清除肿瘤细胞, 通过杀伤受体介导途径识别肿瘤相关抗原, 在 PD-L1 高表达的免疫抑制性环境中, 弥补

CD8⁺ T 细胞功能的不足^[19]。

风险预测模型是一种直观易懂的可视化工具，能够整合多个预测因素并帮助进行个体风险评估和决策制定。本研究基于 CIN 评分与不同 TILs 密度构建的联合模型，具有良好的预测效能，可帮助临床医生识别免疫治疗效果不佳的高风险患者。

综上所述，CIN 评分、Treg 细胞密度是 NSCLC 免疫治疗无效的危险因素，CD8⁺细胞毒性 T 细胞、CD45RO⁺记忆 T 细胞、CD56⁺ NK 细胞密度是保护因素，上述因素联合构建的预测模型对预测 NSCLC 免疫治疗效果的效能良好。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 王雪春：论文撰写、统计学分析、论文修改、经费支持；邱红美：论文撰写、论文修改；顾学红：数据整理；施谷平：论文撰写；贾佳：实验操作、论文撰写、统计学分析、研究指导

参 考 文 献

- [1] ETTINGER D S, WOOD D E, AISNER D L, et al. Non-small cell lung cancer, version 3.2022, NCCN clinical practice guidelines in oncology[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2022, 20(5): 497-530.
- [2] SUN L, BLEIBERG B, HWANG W T, et al. Association between duration of immunotherapy and overall survival in advanced non-small cell lung cancer[J]. JAMA Oncol, 2023, 9(8): 1075-1082.
- [3] DE SCORDILLI M, MICHELOTTI A, BERTOLI E, et al. Targeted therapy and immunotherapy in early-stage non-small cell lung cancer: Current evidence and ongoing trials[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(13): 7222.
- [4] VORUGANTI T, SOULOS P R, MAMTANI R, et al. Association between age and survival trends in advanced non-small cell lung cancer after adoption of immunotherapy[J]. JAMA Oncol, 2023, 9(3): 334-341.
- [5] TAY C, TANAKA A, SAKAGUCHI S. Tumor-infiltrating regulatory T cells as targets of cancer immunotherapy[J]. Cancer Cell, 2023, 41(3): 450-465.
- [6] SOKAČ M, AHRENFELDT J, LITCHFIELD K, et al. Classifying cGAS-STING activity links chromosomal instability with immunotherapy response in metastatic bladder cancer[J]. Cancer Res Commun, 2022, 2(8): 762-771.
- [7] MONKMAN J, KIM H, MAYER A, et al. Multi-omic and spatial dissection of immunotherapy response groups in non-small cell lung cancer[J]. Immunology, 2023, 169(4): 487-502.
- [8] 赫捷,李竟,陈万青,等.中国肺癌筛查与早诊早治指南(2021,北京)[J].中国肿瘤,2021,30(2):81-111.
- [9] ZHENG J, XU F, LI G Y, et al. The value of chromosome instability detected by low-pass whole-genome sequencing in preoperative prediction of sentinel lymph node metastasis in breast cancer[J]. Front Oncol, 2024, 14: 1434526.
- [10] WAHL R L, JACENE H, KASAMON Y, et al. From RECIST to PERCIST: Evolving Considerations for PET response criteria in solid tumors[J]. J Nucl Med, 2009, 50(Suppl 1): 122S-150S.
- [11] OLIVEIRA G, WU C J. Dynamics and specificities of T cells in cancer immunotherapy[J]. Nat Rev Cancer, 2023, 23(5): 295-316.
- [12] CARLISLE J W, LEAL T. Advancing immunotherapy in small cell lung cancer[J]. Cancer, 2023, 129(22): 3525-3534.
- [13] WANG J, GONG R N, ZHAO C Y, et al. Human FOXP3 and tumour microenvironment[J]. Immunology, 2023, 168(2): 248-255.
- [14] LI S T, WANG A X, WU Y Y, et al. Targeted therapy for non-small-cell lung cancer: New insights into regulated cell death combined with immunotherapy[J]. Immunol Rev, 2024, 321(1): 300-334.
- [15] CHEN M T, LINSTRAR, VAN VUGT M A T M. Genomic instability, inflammatory signaling and response to cancer immunotherapy[J]. Biochim Biophys Acta BBA Rev Cancer, 2022, 1877(1): 188661.
- [16] KANG J H, ZAPPASODI R. Modulating Treg stability to improve cancer immunotherapy[J]. Trends Cancer, 2023, 9(11): 911-927.
- [17] CHEN Y X, YU D N, QIAN H, et al. CD8⁺ T cell-based cancer immunotherapy[J]. J Transl Med, 2024, 22(1): 394.
- [18] 谭琪凡,李浩洋,俞孟军,等.CD45RO⁺记忆 T 细胞作为非小细胞肺癌患者预后标志物的研究[J].中国肺癌杂志,2021,24(4): 254-264.
- [19] KUSHWAHA A C, MRUNALINI B, MALHOTRA P, et al. CD56-targeted in vivo genetic engineering of natural killer cells mediates immunotherapy for acute myeloid leukemia[J]. Nanoscale, 2024, 16(42): 19743-19755.

收稿日期:2024-12-27

(本文编辑:孙海儿)