

• 临床研究 •

## 免疫检查点分子在子宫内膜癌中的表达及临床意义

张丽萍, 林雪萍, 宋辉, 雷萍, 朱巧英<sup>△</sup>

610045 成都, 四川省妇幼保健院 检验科

**[摘要]** **目的:** 免疫检查点抑制剂在多种实体肿瘤中疗效显著,但是在子宫内膜癌中尚未大规模应用。研究表明程序性死亡蛋白 1(programmed death protein-1, PD-1)/程序性死亡蛋白配体 1(programmed death protein-ligand 1, PD-L1)在 *POLE* 突变型、微卫星不稳定型(microsatellite instability, MSI)子宫内膜癌中表达升高,而其他免疫检查点分子的表达情况并不清楚。本研究旨在全面分析多种免疫检查点分子在子宫内膜癌中的表达及临床意义。**方法:** 通过分析 TCGA 数据库中最新子宫内膜癌数据,比较多种免疫检查点分子与病理类型、分子亚型、患者预后的关系。**结果:** 采用外显子及 RNA 测序数据对子宫内膜癌进行分子分型,分型结果与以往研究一致性较高。免疫抑制分子 *PD-1/PD-L1*、*CTLA-4/CD80* 和 *LAG-3* 在 *POLE* 突变型、MSI 型子宫内膜癌中高表达。*FGLI* 作为 *LAG-3* 配体,在 MSI 型和无特异性分子变异(NSMP)亚型中高表达。受体分子 *PD-1*、*CTLA-4*、*TIM-3*、*LAG-3* 高表达与患者总生存期延长相关。*FGLI* 高表达与总生存及无复发生存延长显著相关,其他配体分子与预后相关性无统计学意义。*FGLI* 在子宫内膜样癌中显著高表达,而在浆液性/混合型癌中表达较低。*FGLI* 与多种淋巴细胞、巨噬细胞丰度无显著相关性,提示该基因可能主要表达于癌细胞。此外,*FGLI* 高表达肿瘤中肿瘤突变负荷显著升高。**结论:** 除 *PD-1/PD-L1* 外,其他免疫检查点分子(如 *LAG-3/FGLI*)也在子宫内膜癌中异常表达,这为该类疾病的免疫治疗提供了新思路。

**[关键词]** 子宫内膜癌; 免疫治疗; 免疫检查点; PD-1; FGLI

**[中图分类号]** R737.33; R730.3 **[文献标志码]** A doi:10.3969/j.issn.1674-0904.2019.06.003

**引文格式:** Zhang LP, Lin XP, Song H, et al. Expression of immune checkpoint molecules in endometrial carcinoma and its clinical significance[J]. J Cancer Control Treat, 2019, 32(6):486-493. [张丽萍, 林雪萍, 宋辉, 等. 免疫检查点分子在子宫内膜癌中的表达及临床意义[J]. 肿瘤预防与治疗, 2019, 32(6):486-493.]

## Expression of Immune Checkpoint Molecules in Endometrial Carcinoma and Its Clinical Significance

Zhang Liping, Lin Xueping, Song Hui, Lei Ping, Zhu Qiaoying

Department of Clinical Laboratory, Sichuan Provincial Hospital for Women and Children, Chengdu 610045, Sichuan, China

**Corresponding author:** Zhu Qiaoying, E-mail: zhuqiaoyingshe@163.com

**[Abstract]** **Objective:** Immune checkpoint inhibitor treatment is effective in several solid tumors, but they have not been widely used in endometrial carcinoma (EC). Previous studies have shown that programmed death protein-1 (*PD-1*)/programmed death protein-ligand 1 (*PD-L1*) is significantly elevated in *POLE* mutant EC and EC with MSI, while the expression of other immune checkpoint molecules is not yet clearly known. The purpose of this study is to comprehensively analyze the expression of various immune checkpoint molecules in EC and its clinical significance. **Methods:** By analyzing the EC data in TCGA database, this study investigated the relationship between various immune checkpoint molecules and EC molecular subtypes, pathological types and prognosis of patients. **Results:** First, we used exon sequencing and RNA sequencing data to classify molecular subtypes of EC. The classification results were consistent with previous studies. We found that the immune checkpoint molecules, *PD-1/PD-L1*, *CTLA-4/CD80* and *LAG-3/FGLI*, were highly expressed in *POLE* mutant EC and EC with MSI. *FGLI* was highly expressed in MSI and no specific molecular profile subtypes. High expression of *PD-1*, *CTLA-4*, *TIM-3* and *LAG-3* was associated with prolonged overall survival. High-expression of *FGLI* was significantly associated with prolonged overall survival and relapse-free survival, while other ligands were not significantly associated with prognosis. *FGLI* was highly expressed in endometrioid carcinomas, and the expression of *FGLI* was relatively low in serous or mixed tumors. *FGLI* was not significantly correlated with

**[收稿日期]** 2019-01-14 **[修回日期]** 2019-05-11

**[通讯作者]** <sup>△</sup>朱巧英, E-mail: zhuqiaoyingshe@163.com

the abundance of various lymphocytes and macrophages, suggesting that *FGLI* may be expressed by cancer cells. In addition, the tumor mutation burden was significantly higher in *FGLI*-high tumors than in *FGLI*-low tumors. **Conclusion:** In addition to *PD-1/PD-L1*, other immunosuppressive pathways (especially *LAG-3/FGLI*) are dysregulated in EC, which suggests novel potential strategies for EC immunotherapy.

[Key words] Endometrial carcinoma; Immunotherapy; Immune checkpoint; PD-1; FGLI

子宫内膜癌(endometrial carcinoma, EC)是女性生殖系统 3 大恶性肿瘤之一,发病率居世界女性恶性肿瘤的第 6 位<sup>[1]</sup>。近年来,我国女性 EC 发病率呈逐年上升趋势<sup>[2-3]</sup>。早期 EC 主要以手术治疗为主,预后良好,5 年生存率可达 74%~91%<sup>[4]</sup>。而对于转移或复发性患者,化疗、放疗等治疗方法疗效有限,5 年生存率仅 20%~26%<sup>[4]</sup>,迫切需要探索新的有效的治疗方法。2013 年,Science 杂志将肿瘤免疫治疗列为重要的科学突破,提示免疫疗法将在癌症治疗领域发挥里程碑式的作用<sup>[5]</sup>。其中,免疫检查点抑制剂(抗 *PD-1/PD-L1*)已经用于治疗多种实体肿瘤,且疗效显著。然而,目前免疫检查点抑制剂疗法应用于 EC 仍处于试验阶段。

免疫检查点分子异常表达是肿瘤免疫逃逸的机制之一。由癌细胞、DC 细胞、巨噬细胞或骨髓来源的抑制细胞表达的抑制性配体,与 T 细胞表面受体分子结合后激活负性通路,抑制 T 细胞增殖或抗肿瘤活性<sup>[6]</sup>。目前已发现多条免疫检查点通路与肿瘤免疫逃逸相关,如 *PD-1/PD-L1*, *CTLA-4/CD80*, *TIM-3/Gal-9* 和 *LAG-3/FGLI*<sup>[7-9]</sup>。在 EC 中,免疫检查点的研究目前主要集中在 *PD-1/PD-L1* 通路。2013 年,美国癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)项目将 373 例 EC 分为 4 种分子亚型: *POLE* 突变型(7%);微卫星不稳定型(microsatellite instability, MSI)(28%);拷贝数低型(39%)和拷贝数高型(26%)<sup>[10]</sup>。之后,Stelloo 等<sup>[11]</sup>通过免疫组化、一代测序等技术将 EC 分为 *POLE* 突变型, MSI 型,无特异性分子变异(no specific molecular profile, NSMP)和 *TP53* 突变型,分别对应于上述 TCGA 的四种分子亚型。研究发现,*POLE* 突变型和 MSI 亚型的肿瘤突变负荷(tumor mutation burden, TMB)明显升高<sup>[10]</sup>,而高 TMB 的肿瘤更容易从 *PD-1/PD-L1* 抑制剂中治疗获益<sup>[12-13]</sup>。此外,*POLE* 突变的 EC 组织中浸润 T 细胞、CD8+ T 细胞以及 *PD-1* 表达显著升高<sup>[14]</sup>。近期的几个案例报道也显示,PD-1 单抗治疗 *POLE* 突变型 EC 疗效显著<sup>[15-16]</sup>。这些结果提示 *POLE* 突变与 MSI 亚型的 EC 可能更适合 *PD-1/PD-L1* 阻断治疗<sup>[17-18]</sup>。然而,其他各种免

疫检查点分子在 EC 组织中的表达及意义目前并不清楚,限制了其他免疫疗法的应用及患者筛选。

本研究采用 TCGA 数据库中最最新的 EC 病例及其基因数据( $n = 521$ ),验证了 4 种分子亚型与患者临床特征以及肿瘤免疫表型的关系。同时分析了多种免疫检查点分子在 EC 中的表达情况,及其与肿瘤微环境、患者预后的关系。这些结果揭示了不同 EC 亚型中各种免疫抑制分子的表达特征,为免疫治疗在 EC 中的应用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 TCGA 数据库中 EC 病例信息

截止 2018 年 11 月,TCGA 数据库共收集 EC 患者 560 例。下载患者临床信息、肿瘤组织全外显子测序数据(maf 文件)、RNA-seq 数据(counts 文件)。经整理,三类数据齐备的病例数为 521 例,可用于后续分析。

### 1.2 生物信息学分析

根据 TCGA 下载的全外显子测序结果(maf 文件),采用 MSIseq 软件<sup>[19]</sup>对肿瘤的 MSI 状态进行预测。*POLE*、*TP53* 基因的突变信息直接从 maf 文件中提取。对于 *POLE* 基因,选取其核酸外切酶结构域的突变,这些突变导致 DNA 聚合酶  $\xi$  失去错配修复功能,从而广泛引起基因突变<sup>[17]</sup>。按照 Stelloo 提出的基因分型规则,将 EC 组织分为 *POLE* 突变型、MSI 型、NSMP 型以及 *TP53* 突变型<sup>[11]</sup>。

对于 RNA-seq 的原始 reads 数据,采用 TPM (transcripts per million)的方法进行标准化处理<sup>[20]</sup>。各种免疫细胞、肿瘤间质细胞在肿瘤组织中的丰度由这些细胞的基因标志物进行计算。基因标志物采用 Prat 等<sup>[21]</sup>整理的不同免疫细胞、间质细胞的标志基因。具体某种细胞丰度的计算采用文献报道的方法<sup>[22]</sup>,即以该细胞所有标志基因的平均表达值作为细胞丰度指标。

### 1.3 统计学分析

四种 EC 分子亚型与病例组织学类型、分期、分级、年龄的相关性采用卡方检验或 Fisher 精确法检验。各种免疫细胞成分、免疫检查点分子在不同分

子亚型、不同组织学类型中的表达差异采用 *t* 检验或秩和检验。TMB 在不同患者组别中的差异分析采用秩和检验。采用 Kaplan-Meier 曲线比较患者总生存期 (overall survival, OS) 和无复发生存期 (relapse-free survival, RFS), log-rank 检验计算统计学显著性。对于不同的免疫检查点基因, 通过基因表达值的中位值将患者分为高、低表达两组。 *FGLI* 基因表达值与各种细胞成分的相关性分析采用 Pearson 方法。所有统计计算采用 R 软件 (版本 3.5.1) 进行, 双侧  $P < 0.05$  作为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 基于全外显子测序和 RNA 测序数据对 EC 进行分子分型

521 例 EC 患者的中位年龄 64 岁 (区间 31 ~ 90 岁)。按照病理类型, 子宫内膜样腺癌 389 例

(74.7%), 浆液性腺癌 110 例 (21.1%), 混合型癌 22 例 (4.2%)。病理学分级为 G1、G2、G3 的患者分别为 96 例 (18.4%)、115 例 (22.1%)、310 例 (59.5%)。按照 Stelloo 的分型规则<sup>[11]</sup>, 全部患者被分为 *POLE* 突变型 (41 例)、MSI 型 (154 例)、NSMP 型 (171 例) 和 *TP53* 突变型 (155 例)。四种分子亚型与组织病理学类型、肿瘤分期、肿瘤分级、患者年龄均具有显著关联 (图 1A)。其中 *TP53* 突变型主要与浆液性癌、肿瘤高分级、患者高年龄相关。与 *TP53* 突变型/NSMP 型相比, *POLE* 突变型和 MSI 型 EC 中总白细胞 (CD45)、T 淋巴细胞及 CD8 + T 细胞成分显著升高 ( $P < 0.001$ , 图 1B)。然而, 这些细胞在 *POLE* 突变型和 MSI 型之间并没有显著差异。生存分析表明, 四种分子亚型中, *POLE* 突变型预后较好, *TP53* 突变型预后最差 (OS 和 RFS 均为  $P < 0.001$ , 图 1C)。

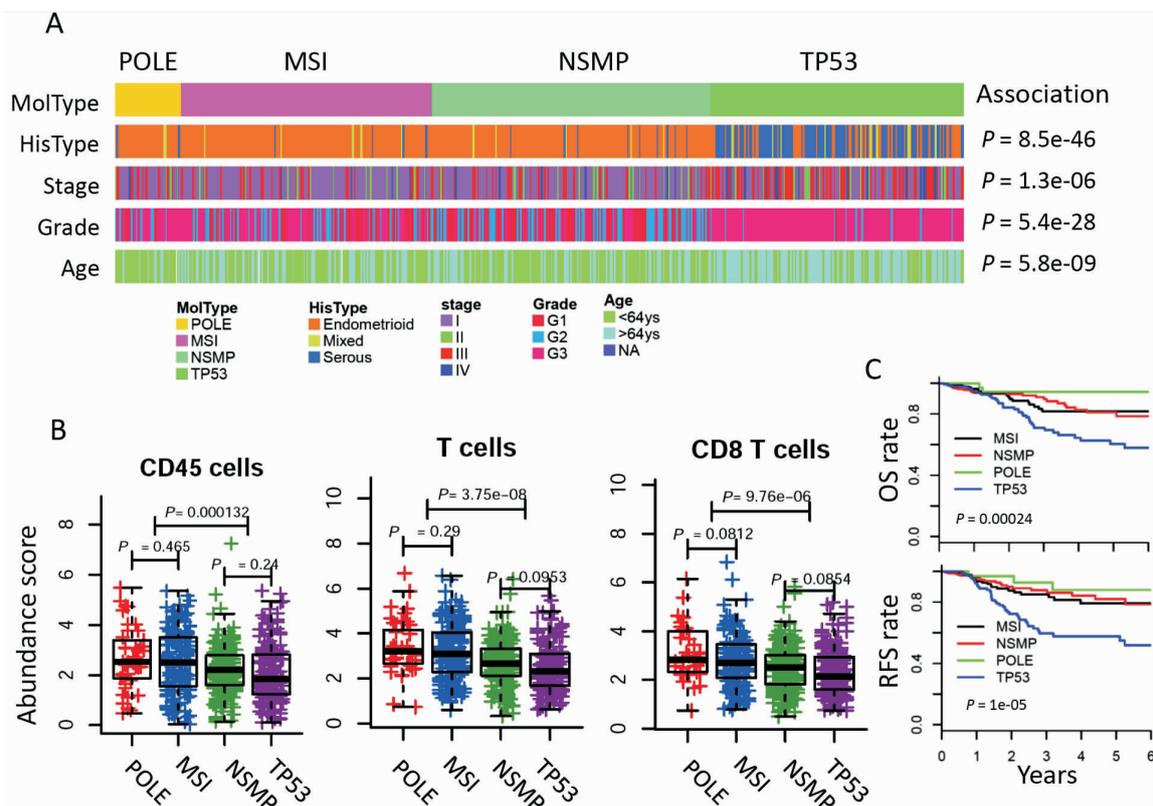


图 1 TCGA 数据库中 EC 的分子分型

Figure 1. Molecular Subtypes of EC from TCGA

A. Correlation between four molecular subtypes and clinical and pathological parameters. *P* value was calculated by Chi-square test or Fisher exact test. B. Analysis of infiltrating lymphocyte abundance in four molecular subtypes. *P* value was calculated by *t*-test. C. Kaplan-Meier method was used to plot OS and RFS of four molecular subtypes. *P* value was calculated by log-rank test.

### 2.2 免疫检查点分子在 4 种 EC 分子亚型中的表达情况

*PD-1* 及其配体分子 *PD-L1* 和 *PD-L2* 在 *POLE*/

MSI 亚型中表达显著高于 *TP53*/NSMP 亚型 ( $P < 0.01$ , 图 2)。*PD-1*/*PD-L1*/*PD-L2* 表达在 *POLE* 与 MSI 两种亚型之间差异无统计学意义。类似地,

*CTLA-4* ( $P < 0.001$ ) 及配体 *CD80* 的表达 ( $P = 0.006$ ) 在 *POLE/MSI* 两种亚型中的表达高于另外两种亚型。不过, *CTLA-4* 的另一个配体 *CD86* ( $P = 0.062$ ) 在四种亚型中无明显变化。虽然 *TIM-3* 在 *POLE/MSI* 亚型中表达高于 *NSMP/TP53* 亚型 ( $P = 0.006$ ), 但其配体 *Gal-9* 在四种亚型中的表达差异

无统计学意义 ( $P = 0.096$ )。 *POLE/MSI* 亚型中 *LAG-3* 表达较 *NSMP/TP53* 亚型升高, 差异具有显著统计学意义 ( $P < 0.001$ )。作为 *LAG-3* 的配体, *FGL1* 分子则主要在 *MSI* 及 *NSMP* 两种亚型中高表达 (图 2)。

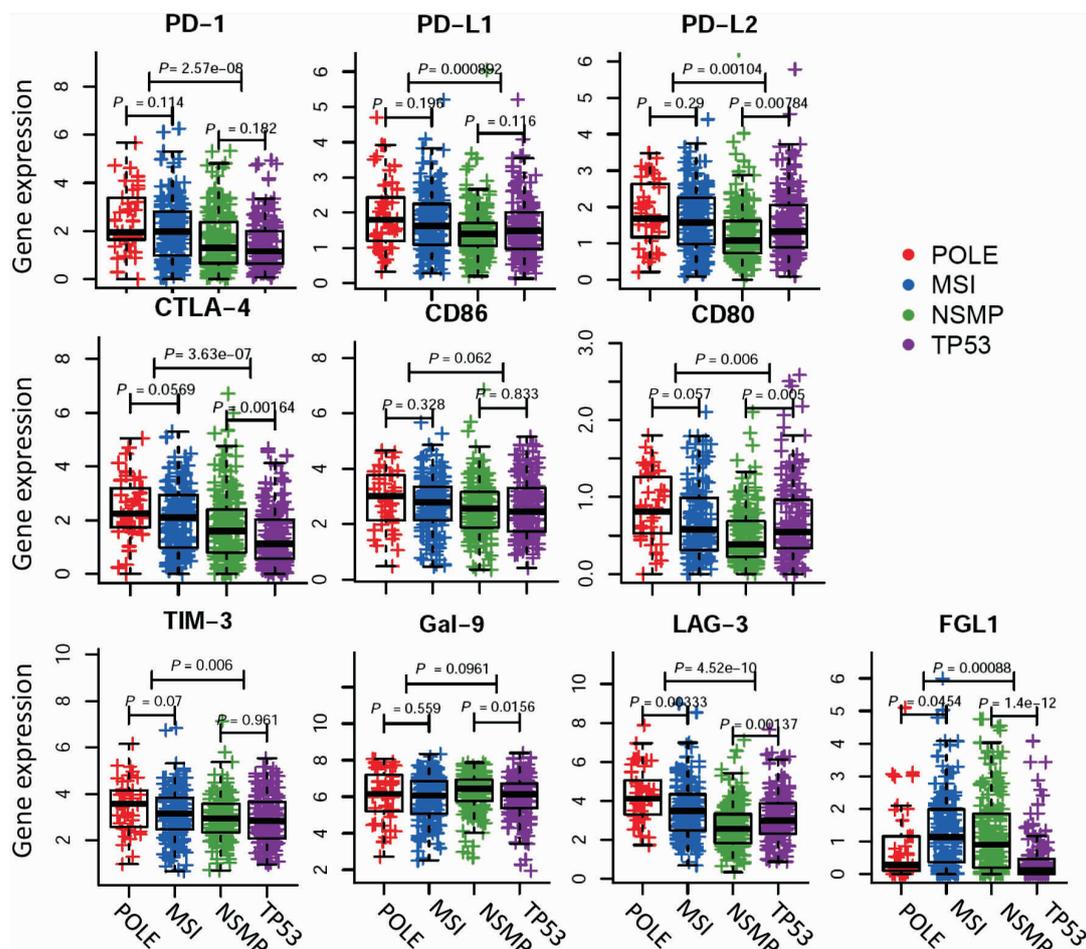


图 2 四种分子亚型中不同免疫检查点分子的表达分析

Figure 2. Expression of Diverse Immune Checkpoint Molecules in Four Molecular Subtypes of EC

Expression of receptors/ligands (*PD-1/PD-L1/PD-L2*, *CTLA-4/CD80/CD86*, *TIM-3/Gal-9*, *LAG-3/FGL1*) in four molecular subtypes was analyzed, and difference in gene expression among groups was compared by *t*-test.

### 2.3 免疫检查点分子与 EC 患者预后的关系

在各种免疫检查点受体分子中, *CTLA-4* 和 *PD-1* 高表达的患者 OS 显著延长 ( $P < 0.05$ , 图 3A)。 *TIM-3* 和 *LAG-3* 高表达组 OS 也有延长趋势, 但差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。在相应配体分子中, *CD80*、*PD-L1*、*Gal-9* 表达均与 OS 无显著相关。但是, *FGL1* 高表达组的 OS 较低表达组更好, 差异具有统计学意义 ( $P = 0.007$ , 图 3A)。多数免疫检查点分子 (包括 *CTLA-4/CD80*、*PD-1/PD-L1*、*TIM-3/Gal-9* 和 *LAG-3*) 与 RFS 并无显著相关 ( $P > 0.05$ , 图 3B)。然而, *FGL1* 高表达与 RFS 延长显著相关

( $P < 0.001$ , 图 3B)。

### 2.4 *LAG-3/FGL1* 通路是 EC 潜在的免疫治疗靶点

进一步分析 *LAG-3/FGL1* 基因表达与病理类型的关系, 发现 *LAG-3* 在子宫内膜样癌 (endometrioid)、混合型癌 (mixed)、浆液性癌 (serous) 中的表达差异无统计学意义 (图 4A)。 *FGL1* 在子宫内膜样癌中的表达显著高于另外两种病理学类型 ( $P < 0.001$ , 图 4A)。生存分析表明, 在子宫内膜样癌中, *FGL1* 高表达与 RFS 延长显著相关 ( $P = 0.012$ , 图 4B)。 *FGL1* 高表达组与低表达组相比 OS 有延长趋势, 但差异无统计学意义 ( $P = 0.140$ , 图 4B)。在浆

液性/混合型癌中, *FGL1* 表达与 OS 或 RFS 的差异 均无统计学意义 ( $P > 0.05$ , 图 4B)。

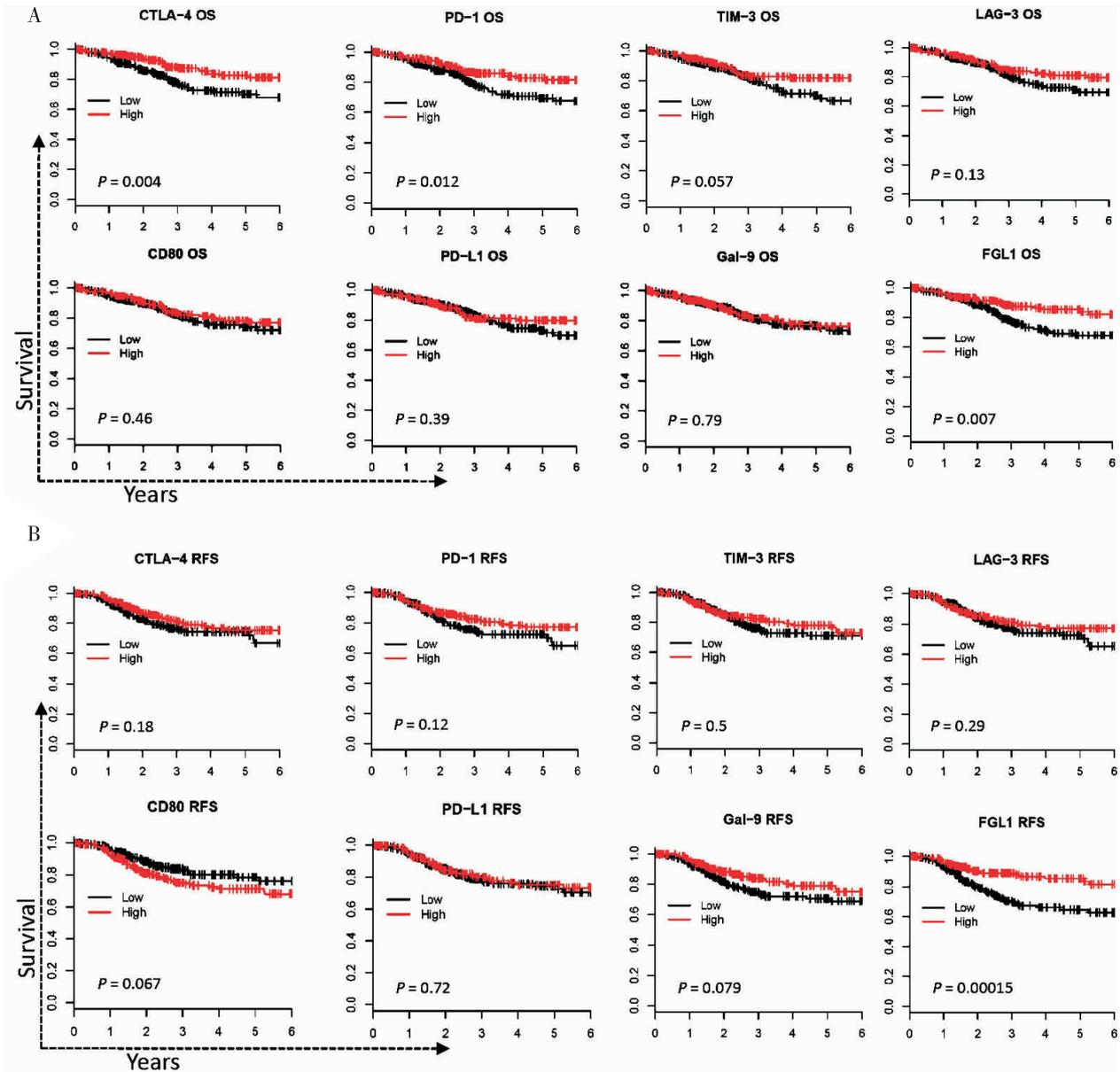


图3 各种免疫检查点分子与 EC 患者预后的相关性分析。根据每个基因的表达值,按中位值作为阈值将患者分为高 (High)、低 (Low) 表达两组。采用 Kaplan-Meier 法绘制两组患者的生存曲线,用 log-rank 检验计算统计显著性。

Figure 3. Correlation between Expression of Immune Checkpoint Molecules and Prognosis of EC Patients

According to the expression value of each gene, patients were divided into high- and low-expression groups using median as the threshold. Kaplan-Meier curves of two groups were compared by log-rank test. (A) Analysis for OS. (B) Analysis for RFS.

通过分析 *LAG-3*/*FGL1* 表达与肿瘤微环境中浸润淋巴细胞的关系,发现 *LAG-3* 与 CD8 + T 淋巴细胞成分显著相关 ( $r > 0.75$ , 图 4C),而 *FGL1* 与 CD8 + T 淋巴细胞无明显相关性 ( $r < 0.1$ , 图 4C)。同样, *FGL1* 与 Treg 细胞、巨噬细胞等免疫负调控细胞也无明显相关性 ( $r < 0.1$ , 图 4C)。我们推测 *FGL1* 主要表达于癌细胞,因此比较了癌组织与 23 例正常对照组

织中 *FGL1* 的表达。与正常组织相比,子宫内膜样癌组织中 *FGL1* 表达显著升高 ( $P < 0.001$ , 图 4D)。而浆液性/混合型癌组织与正常组织相比, *FGL1* 表达差异无统计学意义 ( $P = 0.300$ , 图 4D)。此外, *FGL1* 高表达的肿瘤组织中,肿瘤突变负荷显著升高 ( $P = 0.020$ , 图 4E)。

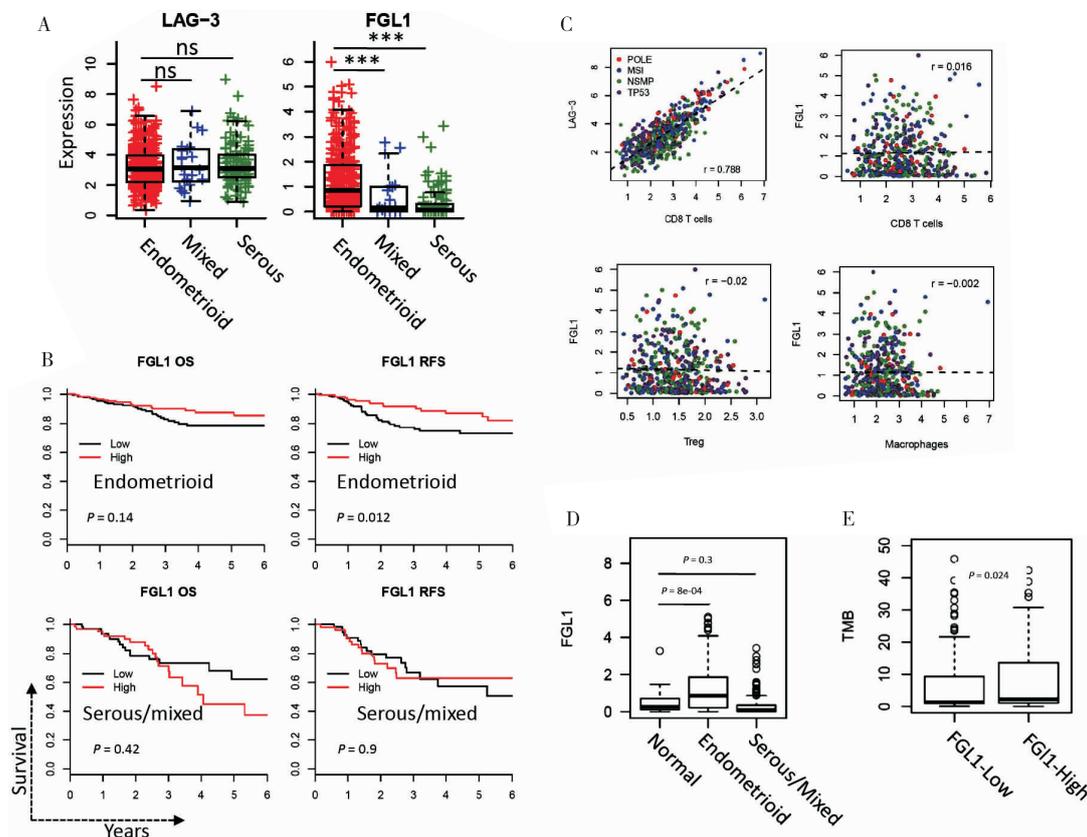


图 4 LAG-3/FGL1 免疫检查点通路分析

Figure 4. Analysis of LAG-3/FGL1 Immune Checkpoint Pathway

A. Expression of *LAG-3* and *FGL1* in endometrioid, mixed and serous carcinomas. Comparison between groups was conducted by *t*-test; ns = not significant; \*\*\* =  $P < 0.001$ . B. Subgroup analysis of relationship between *FGL1* and prognosis. Correlation between *FGL1* expression and OS in endometrioid carcinoma, that between *FGL1* expression and RFS in endometrioid carcinoma, that between *FGL1* expression and OS in serous/mixed carcinoma, and that between *FGL1* expression and RFS in serous/mixed carcinoma were analyzed, respectively. *P* value was calculated by log-rank test. C. Pearson correlation (*r* is correlation coefficient) between *LAG-3/FGL1* and the infiltration abundance of various immune cells. D. Expression of *FGL1* in normal tissue, endometrioid carcinomas and serous/mixed carcinomas were different. *t*-test was used to compare the difference between groups. E. Relationship between *FGL1* expression and TMB. Patients were divided into two groups according to the median value of *FGL1* expression. Difference of TMB between groups was calculated by Mann-Whitney test.

### 3 讨论

近年来,免疫治疗在抗肿瘤领域取得巨大进展。其中,免疫检查点抑制剂如 Ipilimumab (靶向 *CTLA-4*)、Nivolumab 和 Pembrolizumab (靶向 *PD-1*) 已经获批用于临床治疗,靶向 *LAG-3* 的抑制剂也已开展临床试验。针对晚期/复发性 EC,虽然目前尚无大规模随机对照临床试验结果,但多项小样本试验、个案报道提示免疫治疗有巨大潜力。比如,PD-1 抗体 Pembrolizumab 治疗 MMR 基因缺陷型复发性 EC,总反应率和疾病控制率分别为 55% 和 89%<sup>[23]</sup>。另一项研究报道了 2 例多次复发、难治性 EC 患者,应用 PD-1 抑制剂 Nivolumab 进行治疗,治疗反应良好<sup>[16]</sup>。然而,临床试验 KEY-Note 028 纳入了 24 例

PD-L1 表达评分大于 1 的、MSI-H 型 EC 患者,经 Pembrolizumab 治疗后,总有效率仅为 12.5%<sup>[24]</sup>。这些结果表明,虽然免疫治疗能让部分 EC 患者获益,如何筛选获益患者、以及药物选择仍有待进一步研究。

EC 的四种分子亚型与免疫检查点抑制剂治疗反应有潜在关联。*POLE* 突变型和 MSI 型肿瘤具有广泛的基因突变,TMB 更高。研究表明,在非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 中高 TMB 与 PD-1/PD-L1 抑制剂获益显著相关<sup>[12-13]</sup>。可能是因为高 TMB 的肿瘤有机会产生更多肿瘤新抗原,由此刺激抗肿瘤免疫应答反应。文献还报道,*POLE* 突变型 EC 组织中浸润 T 细胞和 CD8 + T 细胞数目,以及 *PD-1* 表达显著升高<sup>[14]</sup>。本研究对

TCGA 数据库中更新后的 521 例 EC 患者进行再分析,同样证实 *POLE* 突变型和 MSI 型的肿瘤中总白细胞、T 细胞以及 CD8 + T 细胞浸润程度显著升高。这与 TCGA 样本的 HE 染色一致,其结果显示 *POLE* 突变型肿瘤中淋巴细胞浸润最丰富,而 MSI 型的浸润程度介于 *POLE* 突变型和微卫星稳定型之间<sup>[15]</sup>。本研究也再次证实 *POLE* 突变型和 MSI 型 EC 中 *PD-1* 和 *PD-L1* 的表达明显高于另外两种亚型。Eggink 等<sup>[25]</sup>通过免疫组化的方法也同样证明该现象。*TIM-3* 作为免疫检查点分子,在肿瘤免疫逃逸中发挥作用,可作为潜在的肿瘤免疫治疗靶点<sup>[26]</sup>。本研究虽然发现 *TIM-3* 在 *POLE*/MSI 型 EC 中高表达,但其配体 *Gal-9* 在四种分子亚型中表达差异无统计学意义,与预后的相关性也无统计学意义。因此,靶向 *TIM-3*/*Gal-9* 通路在 EC 中的意义尚需进一步研究。此外,我们发现免疫抑制分子 *CTLA-4*/*CD80* 在 *POLE* 突变型和 MSI 型中的表达显著高于 *TP53* 突变型及 NSMP 亚型。因此,抗 *PD-1*/*PD-L1* 和抗 *CTLA-4* 治疗在 *POLE* 突变型和 MSI 型中的应用均值得进一步深入研究。

*LAG-3* 是活化 T 细胞表面的另一个免疫抑制性受体。*LAG-3* 在肿瘤浸润淋巴细胞表面中表达上调,而阻断 *LAG-3* 可以提高抗肿瘤 T 细胞反应<sup>[27-28]</sup>。此外,同时阻断 *LAG-3* 和 *PD-1* 两条通路比单独阻断任何一条通路具有更好的抗肿瘤效应,提示 *LAG-3* 与 *PD-1* 在肿瘤免疫逃逸机制中起协同作用<sup>[9, 27-28]</sup>。因此 *LAG-3* 是一个重要的免疫治疗靶点,目前已经在血液肿瘤 (NCT02061761) 和实体肿瘤 (NCT01968109) 中开展相关临床试验。本研究发现 *LAG-3* 在 EC 的四种分子亚型中的表达趋势与 *PD-1*/*CTLA-4* 相似,提示抗 *LAG-3* 可能作为 EC 治疗靶点。*FGLI* 最近刚被鉴定为 *LAG-3* 的配体,在肿瘤免疫抑制中发挥重要作用<sup>[9]</sup>。本研究发现,*FGLI* 在 EC 中的表达趋势与其他免疫抑制分子有一定差别。比如 *FGLI* 在 *POLE* 突变亚型中表达并不高,而在 MSI 中表达升高。此外,*FGLI* 在 NSMP 中表达也异常升高。进一步分析发现,*FGLI* 的表达与 T 细胞、Treg 细胞、巨噬细胞等间质细胞成分均无相关性,而在子宫内膜样癌中显著高于正常对照组织。这与文献报道一致,*FGLI* 在 NSCLC 中主要表达于癌细胞,而肿瘤间质表达较低<sup>[9]</sup>。在 NSCLC 组织中,*FGLI* 高表达与患者不良预后显著相关<sup>[9]</sup>。本研究发现在子宫内膜样癌中,*FGLI* 高表达的患者 RFS 较好,而在浆液性或混合型癌中 *FGLI* 表达与

患者预后的关系无统计学意义。这表明,*LAG-3*/*FGLI* 通路调控较为复杂,在不同癌种、不同病理学类型中可能有不同机制。总之,*LAG-3*/*FGLI* 通路在 EC 中异常表达,提示该通路可作为 EC 免疫治疗的另一个候选靶点,为后续基础研究和临床研究提供了思路。

综上所述,抗 *PD-1*/*PD-L1* 治疗 EC 在小样本试验中已经显示出较好的治疗反应和临床获益。本研究通过分析 TCGA 数据库中较大样本的 EC 基因数据,发现 *PD-1*/*CTLA-4* 和 *LAG-3* 分子在 *POLE* 突变型和 MSI 型 EC 中表达升高。特别是 *LAG-3*/*FGLI* 通路的表达特征具有重要临床意义。因此,单独靶向其中任意一条通路或联合阻断多条通路,均可作为 EC 免疫治疗的候选策略。

**作者声明:**本文第一作者对于研究和撰写的论文出现的不端行为承担相应责任;

**利益冲突:**本文全部作者均认同文章无相关利益冲突;

**学术不端:**本文在初审、返修及出版前均通过中国知网 (CNKI) 科技期刊学术不端文献检测系统学术不端检测;

**同行评议:**经同行专家双盲外审,达到刊发要求。

#### [参考文献]

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68 (6): 394-424.
- [2] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [3] 韩仁强,武鸣,罗鹏飞,等. 2014 年江苏省恶性肿瘤发病和死亡分析 [J]. 肿瘤预防与治疗, 2018, 31(1): 24-31.
- [4] Morice P, Leary A, Creutzberg C, et al. Endometrial cancer [J]. Lancet, 2016, 387(10023): 1094-1108.
- [5] Couzin-Frankel J. Breakthrough of the year 2013, Cancer immunotherapy [J]. Science, 2013, 342(6165): 1432-1433.
- [6] Rabinovich GA, Gabrilovich D, Sotomayor EM. Immunosuppressive strategies that are mediated by tumor cells [J]. Annu Rev Immunol, 2007, 25: 267-296.
- [7] Nguyen LT, Ohashi PS. Clinical blockade of PD1 and LAG3-potential mechanisms of action [J]. Nat Rev Immunol, 2015, 15 (1): 45-56.
- [8] Shin DS, Ribas A. The evolution of checkpoint blockade as a cancer therapy: what's here, what's next? [J]. Curr Opin Immunol, 2015, 33: 23-35.

- [9] Wang J, Sanmamed MF, Datar I, et al. Fibrinogen-like protein 1 is a major immune inhibitory ligand of LAG-3 [J]. *Cell*, 2019, 176(1-2): 334-347, e312.
- [10] Cancer Genome Atlas Research N, Kandoth C, Schultz N, et al. Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma [J]. *Nature*, 2013, 497(7447): 67-73.
- [11] Stelloo E, Bosse T, Nout RA, et al. Refining prognosis and identifying targetable pathways for high-risk endometrial cancer; a TransPORTEC initiative [J]. *Mod Pathol*, 2015, 28(6): 836-844.
- [12] Carbone DP, Reck M, Paz-Ares L, et al. First-Line nivolumab in stage IV or recurrent non-small-cell lung cancer [J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(25): 2415-2426.
- [13] Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A, et al. Cancer immunology. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer [J]. *Science*, 2015, 348(6230): 124-128.
- [14] Bellone S, Centritto F, Black J, et al. Polymerase epsilon (POLE) ultra-mutated tumors induce robust tumor-specific CD4 + T cell responses in endometrial cancer patients [J]. *Gynecol Oncol*, 2015, 138(1): 11-17.
- [15] Mehnert JM, Panda A, Zhong H, et al. Immune activation and response to pembrolizumab in POLE-mutant endometrial cancer [J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(6): 2334-2340.
- [16] Santin AD, Bellone S, Buza N, et al. Regression of chemotherapy-resistant polymerase epsilon (POLE) ultra-mutated and MSH6 hyper-mutated endometrial tumors with nivolumab [J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(23): 5682-5687.
- [17] 高境泽, 吴霞. 子宫内膜癌分子分型与 PD-1/PD-L1 阻断治疗 [J]. *中国免疫学杂志*, 2018, 4(34): 623-627.
- [18] 郭建宾, 段华, 钱海利, 等. 抗 PD-1/PD-L1 免疫治疗在子宫内膜癌中的研究和应用 [J]. *癌症进展*, 2017, 12(15): 1380-1388.
- [19] Huang MN, McPherson JR, Cutcutache I, et al. MSIsq: software for assessing microsatellite instability from catalogs of somatic mutations [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 13321.
- [20] Wagner GP, Kin K, Lynch VJ. Measurement of mRNA abundance using RNA-seq data: RPKM measure is inconsistent among samples [J]. *Theory Biosci*, 2012, 131(4): 281-285.
- [21] Prat A, Navarro A, Pare L, et al. Immune-related gene expression profiling after PD-1 blockade in non-small cell lung carcinoma, head and neck squamous cell carcinoma, and melanoma [J]. *Cancer Res*, 2017, 77(13): 3540-3550.
- [22] Cao B, Wang Q, Zhang H, et al. Two immune-enhanced molecular subtypes differ in inflammation, checkpoint signaling and outcome of advanced head and neck squamous cell carcinoma [J]. *Oncoimmunology*, 2018, 7(2): e1392427.
- [23] Fader AN, Diaz LA, Armstrong DK, et al. Preliminary results of a phase II study: PD-1 blockade in mismatch repair-deficient, recurrent or persistent endometrial cancer [J]. *Gynecol Oncol*, 2016, 141(Suppl 1): 206-207.
- [24] Ott PA, Bang YJ, Berton-Rigaud D, et al. Safety and antitumor activity of pembrolizumab in advanced programmed death ligand 1-positive endometrial cancer: results from the KEYNOTE-028 Study [J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35(22): 2535-2541.
- [25] Eggink FA, Van Gool IC, Leary A, et al. Immunological profiling of molecularly classified high-risk endometrial cancers identifies POLE-mutant and microsatellite unstable carcinomas as candidates for checkpoint inhibition [J]. *Oncoimmunology*, 2017, 6(2): e1264565.
- [26] He Y, Cao J, Zhao C, et al. TIM-3, a promising target for cancer immunotherapy [J]. *Onco Targets Ther*, 2018, 11: 7005-7009.
- [27] Goding SR, Wilson KA, Xie Y, et al. Restoring immune function of tumor-specific CD4 + T cells during recurrence of melanoma [J]. *J Immunol*, 2013, 190(9): 4899-4909.
- [28] Matsuzaki J, Gnjatic S, Mhawech-Fauceglia P, et al. Tumor-infiltrating NY-ESO-1-specific CD8 + T cells are negatively regulated by LAG-3 and PD-1 in human ovarian cancer [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(17): 7875-7880.