

FGFR突变对癌症免疫治疗和肿瘤微环境的临床意义：一项泛癌症研究

王力, 任志旋, 冷朝晖*

九江学院附属医院肿瘤科, 江西 九江

收稿日期: 2023年4月16日; 录用日期: 2023年5月9日; 发布日期: 2023年5月16日

摘要

目的: 探讨成纤维细胞生长因子受体(FGFRs)在多种癌症中的作用。方法: 从TCGA泛癌数据中获得了33种癌症中FGFRs (FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4)的基因表达和临床数据, 以及它们与肿瘤微环境(TME)的关联, 此外, 从cBioPortal数据获得了1661例接受免疫治疗的癌症患者的临床数据。结果: FGFRs在不同肿瘤类型中的表达存在明显差异, 且与患者的总生存期相关。FGFRs与免疫浸润亚型、间质细胞浸润水平和肿瘤干细胞显著相关。并且FGFRs突变被证实与高TMB相关。FGFRs突变患者接受免疫检查点抑制剂(ICIs)治疗的总生存(OS)较好(FGFRs: $P = 0.0096$)。最后, 我们建立了一个新的列线图来预测接受ICIs治疗的癌症患者的预后。结论: 我们的系统预后列线图显示出预测ICIs治疗预后的巨大潜力。

关键词

FGFR, 泛癌, 免疫检查点抑制剂

Clinical Implications of FGFR Mutations for Cancer Immunotherapy and Tumor Microenvironment: A Pan-Cancer Study

Li Wang, Zhixuan Ren, Zhaohui Leng*

Department of Oncology, Jiujiang University Affiliated Hospital, Jiujiang Jiangxi

Received: Apr. 16th, 2023; accepted: May 9th, 2023; published: May 16th, 2023

*通讯作者。

文章引用: 王力, 任志旋, 冷朝晖. FGFR 突变对癌症免疫治疗和肿瘤微环境的临床意义: 一项泛癌症研究[J]. 临床医学进展, 2023, 13(5): 7734-7745. DOI: 10.12677/acm.2023.1351081

Abstract

Objective: To investigate the effect of Fibroblast growth factor receptors (FGFRs) in multiple forms of cancer. **Method:** Gene expression and clinical data of FGFRs (FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4) and their association with tumor microenvironment (TME) in 33 cancer types were obtained from the TCGA pan-cancer data. Moreover, clinical and response data of 1661 cancer patients who received immunotherapy were downloaded from cBioPortal database. **Result:** The expression of FGFRs was significantly different in different cancer types, and it was related to the overall survival of patients. In addition, FGFRs were significantly correlated with immune infiltrate subtypes, the level of stromal cell infiltration and tumor stem cells. The mutation of FGFRs was confirmed to be associated with TMB. Moreover, patients with FGFRs mutations had a better overall survival (OS) to immune checkpoint inhibitors (ICIs) treatment (FGFRs: $P = 0.0096$). We built a novel nomogram to predict the prognosis of cancer patients with ICIs treatment. **Conclusion:** Our systematic prognostic nomogram showed a great potential to predict the prognosis of ICIs treatment.

Keywords

FGFR, Pan-Cancer, Immune Checkpoint Inhibitors

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

免疫检查点抑制剂(Immune checkpoint inhibitors, ICIs)在过去 10 年迅速兴起,已被证明是肿瘤治疗领域的重大突破。尽管 ICIs 已在多种人类癌症中成功应用,但只有部分的晚期癌症患者通过免疫检查点抑制剂治疗获得长久的生存[1] [2]。并非所有患者对免疫检查点抑制剂有应答,甚至部分患者会出现严重的免疫不良反应[3]。程序性死亡配体-1 (Programmed cell death 1 ligand 1)、肿瘤突变负荷(Tumor mutational burden)、肿瘤浸润免疫细胞(Tumor-infiltrating immune cells)、错配修复(Mismatch repair)和微卫星不稳定性(Microsatellite Instability)等生物标志物被许多研究证实与免疫治疗相关[4]。然而,目前尚无明确的癌症免疫治疗检测指南,并且随着新的临床和转化数据的出现,该领域正在迅速发展。因此,探索一种能够预测肿瘤免疫治疗预后的系统性生物标志物至关重要。

成纤维细胞生长因子受体(Fibroblast growth factor receptors, FGFRs)是一种典型的生长因子受体,主要包括 FGFR1、FGFR2、FGFR3 和 FGFR4,具有胞内酪氨酸激酶结构域和胞外免疫球蛋白样结构域[5] [6] [7] [8]。成纤维细胞生长因子(FGFs)通过其受体(FGFRs)信号传导调节细胞存活、发育、分化、免疫和代谢[9] [10] [11] [12]。FGFR 信号通路与其他几个重要的细胞内通路相关,如 PI3K/Akt、Wnt、hedgehog 和骨形态发生蛋白[12] [13]。FGFR 突变在恶性肿瘤中常见,约占 7% [12]。然而,到目前为止,关于 FGFRs 家族在不同人类肿瘤中的系统性研究还很缺乏。

为了探索新的生物标志物来评估患者的免疫状态,并评估免疫治疗的敏感性,我们研究了来自 TCGA 数据库的泛癌组织样本中 FGFRs 的表达情况,并研究 FGFRs 表达与肿瘤微环境的关系。此外,我们从 cBioPortal 数据库下载了 1662 例接受免疫检查点抑制剂治疗的晚期癌症患者的测序结果[14]。最后,基于 cBioPortal 数据库的临床病理信息,我们开发了一个新的系统的列线图来预测接受免疫检查点抑制剂的癌

症患者的预后。

2. 资料和方法

2.1. 数据下载和处理

本研究从 TCGA 数据库中下载泛癌数据, 包括 RNA-Seq 转录组、临床数据、免疫亚型和基于 mRNA (mas) 和 DNA 甲基化(DNAss)的干性评分。TCGA 泛癌数据包括胃癌, 非小细胞肺癌等 33 种肿瘤类型。其中 15 种肿瘤类型无或少于 5 个相关正常组织样本, 因此对剩下的肿瘤类型进行了后续分析。共获得样本量 11,057 份。

从 cBioPortal 数据库下载了 1662 例接受 ICI 治疗的晚期癌症患者的临床和疗效数据。通过二代测序 (NGS) 对患者的肿瘤进行了分析[14]。这项研究的临床信息包括年龄、性别、肿瘤类型(膀胱癌、乳腺癌、原发性不明癌、结肠直肠癌、胶质瘤、头颈部癌、黑色素瘤、非小细胞肺癌、肾细胞癌)、药物类型(PD-1/PD-L1、CTLA-4、联合治疗)、生存时间、TMB 等。为了探索每个 FGFRs 突变与 ICI 患者生存期之间的关系, 我们排除了原发性不明的癌症患者样本。临床信息的详细信息见于表 1。

Table 1. Clinical data of cBioPortal for cancer genomics

表 1. cBioPortal 数据库患者信息

临床特征	FGFRs 突变组	FGFRs 野生组
总人数	149	1422
生产状态		
存活	91 (61.1%)	685 (48.2%)
死亡	58 (38.9%)	737 (51.8%)
年龄		
<50	16 (10.7%)	249 (17.5%)
≥50	133 (89.3%)	1173 (82.5%)
性别		
男	99 (66.4%)	889 (62.5%)
女	50 (33.6%)	533 (37.5%)
治疗方式		
PD-1/PDL-1 抑制剂	116 (77.9%)	1113 (78.3%)
CTLA4 抑制剂	11 (7.4%)	87 (6.1%)
联合治疗	22 (14.7%)	222 (15.6%)

2.2. FGFRs 的生物信息学相关分析

我们分析了 TCGA 队列中肿瘤和正常组织之间 FGFRs 的差异表达情况。同时分析了 FGFRs 表达与患者总生存期之间的关系。通过 ESTIMATE 免疫评分和间质评分分析不同肿瘤微环境中免疫细胞和间质细胞的浸润水平。此外, 我们定义了 6 种免疫亚型来测量肿瘤微环境中的免疫浸润, 使用免疫亚型分析 FGFRs 表达和肿瘤微环境中免疫浸润类型之间的关系。采用 Spearman 相关法检测 FGFRs 表达与各评分之间的关系。

2.3. 列线图的构建

在 cBioPortal 数据库中分析肿瘤和正常组织之间 FGFRs 的突变情况。在本研究中, 采用 Kaplan-Meier

生存分析方法分析 FGFRs 突变的生存差异，并采用 log-rank 检验检测显著差异。根据 Kaplan-Meier 生存分析选择的变量构建列线图。采用 R 软件包“rms”构建列线图。此外，我们通过 C-index 和矫正曲线来评估预后列线图的准确性。

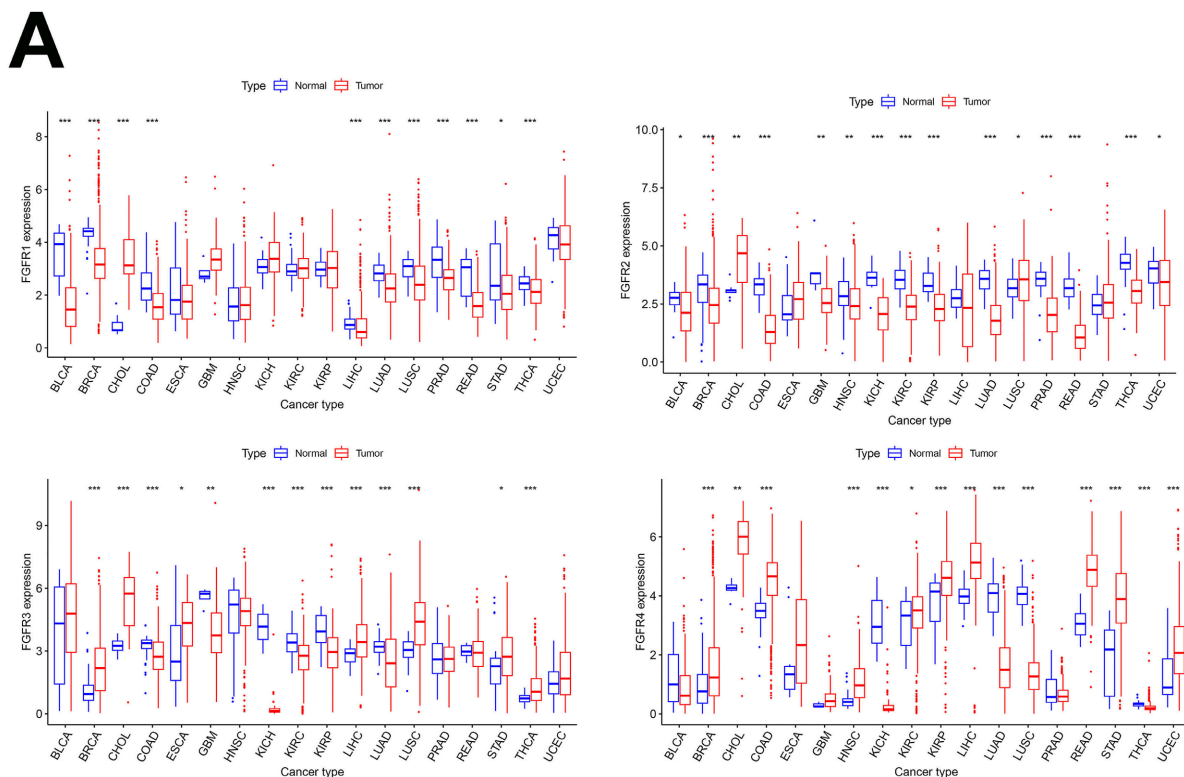
2.4. 统计分析

采用 R 3.6.1 软件、Perl 软件和 GraphPad Prism 9.0 软件进行统计学分析。采用 Wilcoxon 检验方法分析 FGFRs 在肿瘤和正常组织中的表达差异。Kaplan-Meier 分析采用时序检验比较不同组间的生存差异。 $P < 0.05$ 定义为差异具有统计学意义。

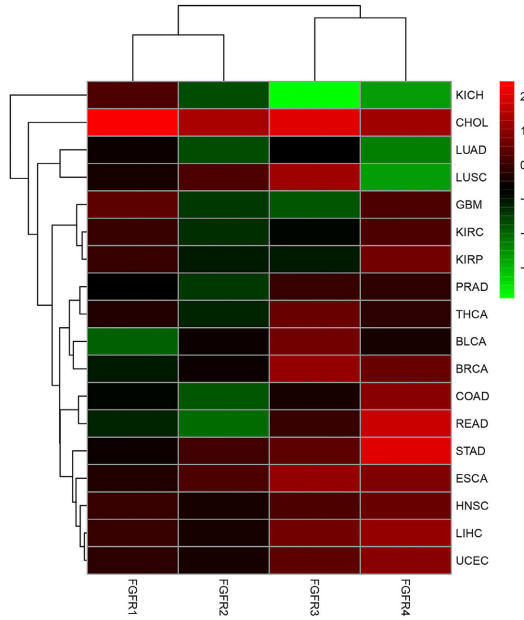
3. 结果

3.1. 泛癌中 FGFRs 的表达和预后关系

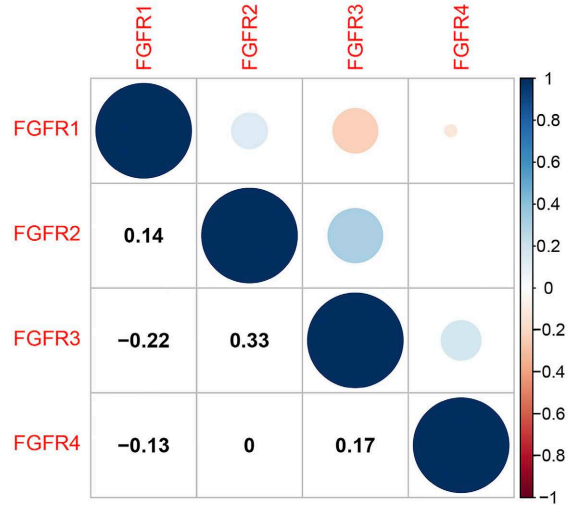
FGFR1 在 BLCA、BRCA、COAD、LUAD、LUSC、PRAD、READ、THCA、CESC、LIHC、SKCM、UCEC 的正常组织中的表达高于肿瘤组织(图 1)。FGFR1 在 CHOL 和 PCPG 的肿瘤组织中的表达高于正常组织。FGFR2 在 BRCA、COAD、KICH、KIRC、KIRP、LUAD、PRAD、READ、THCA、BLCA、GBM、PCPG、UCEC、LIHC 的正常组织中表达高于肿瘤组织。FGFR2 在 SKCM 和 CHOL 肿瘤组织中表达高于正常组织。FGFR3 在 COAD、GMB、KICH、KIRC、KIRP、LUAD 的正常组织中表达高于肿瘤组织。FGFR3 在 BRCA、CESC、CHOL、ESCA、LIHC、LUSC、SKCM、STAD、THCA 肿瘤组织中表达高于正常组织。FGFR4 在 KICH、LUAD、LUSC、PCPG、THCA 的正常组织中表达高于肿瘤组织。FGFR4 在 BRCA、CHOL、COAD、ESCA、HNSC、KIRP、LIHC、READ、STAD、UCEC 肿瘤组织中表达高于正常组织。



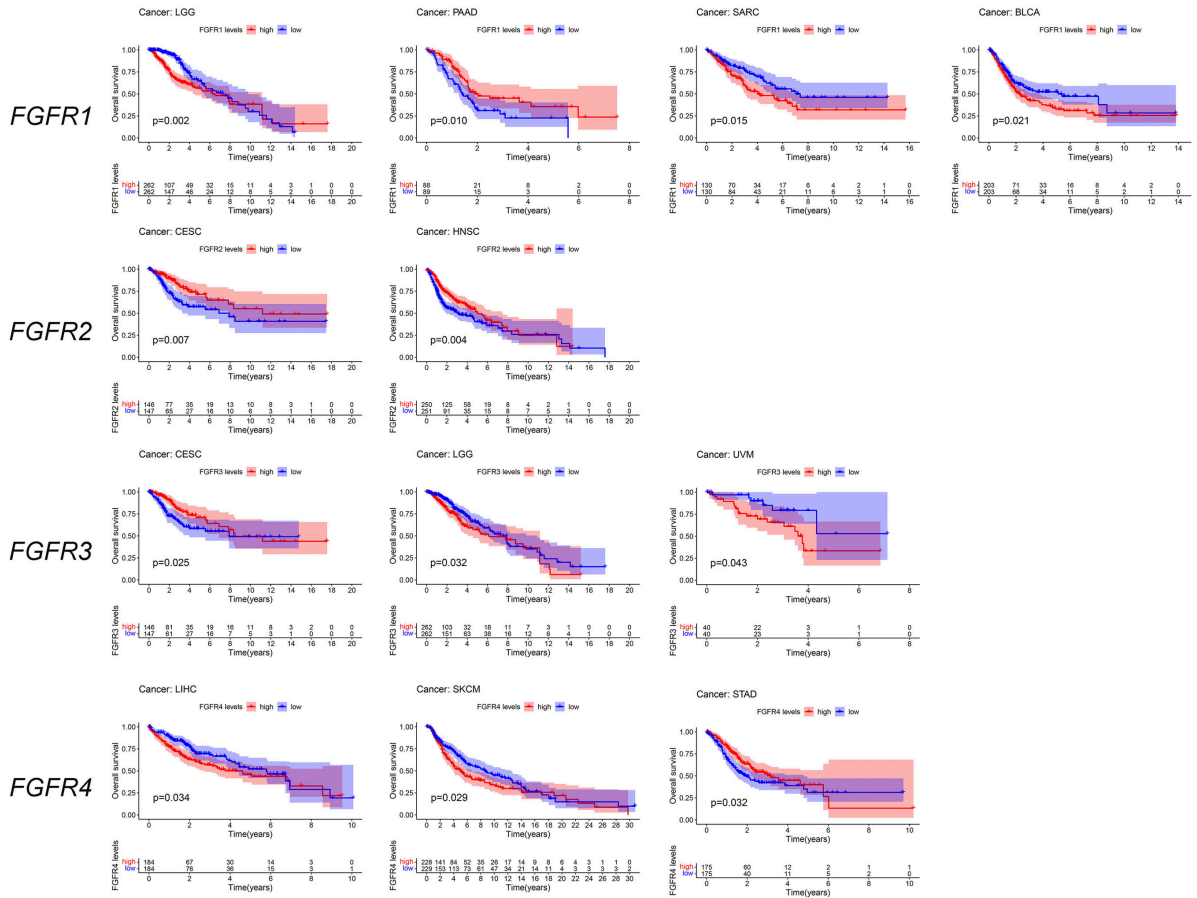
B



C



D



E

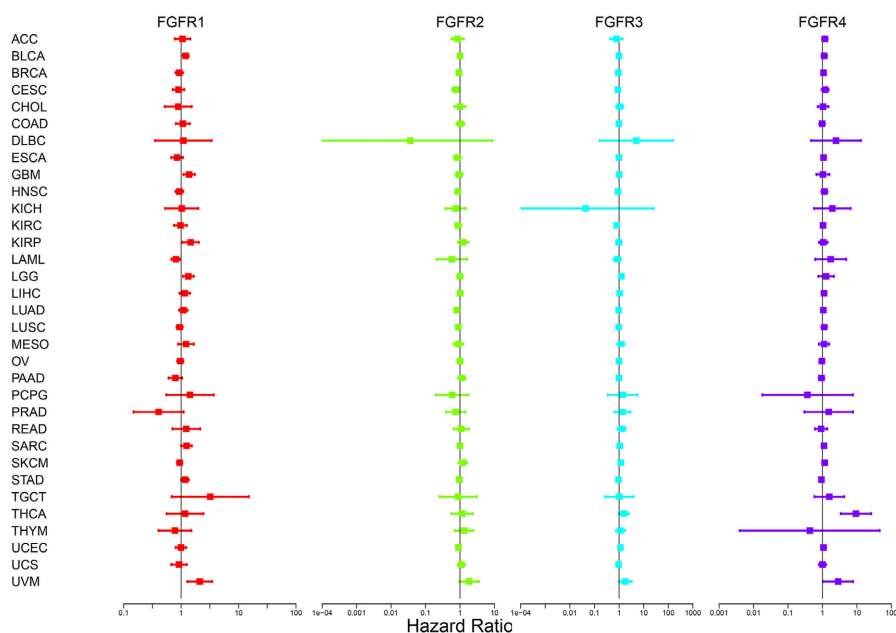


Figure 1. The expression and prognosis value of FGFRs in pan-cancer
图 1. 泛癌中 FGFRs 的表达和预后关系

所有 FGFRs 在不同癌症中均有显著差异表达(图 1(B))。FGFR1、FGFR2 在肿瘤中主要下调, FGFR3、FGFR4 除少数例外主要上调。此外, 基于 Spearman 相关性检验, FGFR2 和 FGFR3 ($r = 0.33, P < 0.005$)、FGFR1 和 FGFR3 ($r = -0.22, P < 0.005$) 的相关性最高, 表明它们可能共享一些共同的通路或功能(图 1(C))。

为了预测哪些 FGFRs 促进或抑制肿瘤发生, 我们利用 33 种癌症类型的原发肿瘤样本探讨了 FGFRs 表达与预后之间的关系(图 1(D))。FGFR1 高表达与 LGG ($P = 0.002$)、SARC ($P = 0.015$) 和 BLCA ($P = 0.021$) 的不良预后相关。FGFR1 低表达与 SARC 的不良预后相关($P = 0.015$)。此外, FGFR2 低表达与 CESC ($P = 0.007$) 和 HNSC ($P = 0.004$) 的不良预后相关。FGFR3 低表达与 CESC 的不良预后相关($P = 0.025$)。FGFR3 高表达与 LGG ($P = 0.032$) 和 UVM ($P = 0.043$) 的不良预后相关。FGFR4 高表达与 LIHC ($P = 0.034$) 和 SKCM ($P = 0.029$) 的不良预后相关。FGFR4 低表达与 STAD 患者不良预后相关($P = 0.032$)。一般而言, FGFRs 表达的改变主要与预后相关, 但关联的方向因 FGFRs 成员和癌症类型而异(图 1(E))。

3.2. FGFRs 的表达与肿瘤微环境和免疫应答相关

ESTIMATE 算法, 可以根据基因表达信息估计样本的基质分数(stromal score)和免疫分数(immune score), 用于代表基质和免疫细胞的存在。在这项工作中, 我们使用 ESTIMATE 算法分析了 FGFRs 的表达与肿瘤微环境中组织浸润的免疫细胞群和基质细胞群的群体丰度之间的相关性。在 BRCA、LUSC、CESC 和 SKCM 中, FGFR1 与间质评分呈显著正相关($P < 0.0001$)。FGFR1 与 UVM 和 THYM 的间质评分呈显著负相关($P < 0.0001$)。此外, FGFR2 与 SARC、PRAD、THCA、LUSC、LUAD 和 SKCM 的间质评分显著正相关($P < 0.0001$)。FGFR2 与间质评分在 LGG 和 LIHC 中呈显著负相关。此外, FGFR3 与 PCPG 和 BRCA 的间质评分显著正相关($P < 0.0001$)。FGFR3 与间质评分在 COAD、HNSC、STAD、PRAD、KIRP、LUSC 和 KIRC 中呈显著负相关($P < 0.0001$)。在 KIRC、COAD、LIHC、STAD、THCA、SKCM、

LAML、PAAD 中，FGFR4 与基质评分呈显著负相关($P < 0.0001$) (图 2(A))。此外，我们在免疫评分中观察到与基质评分测试相似的结果(图 2(B))。

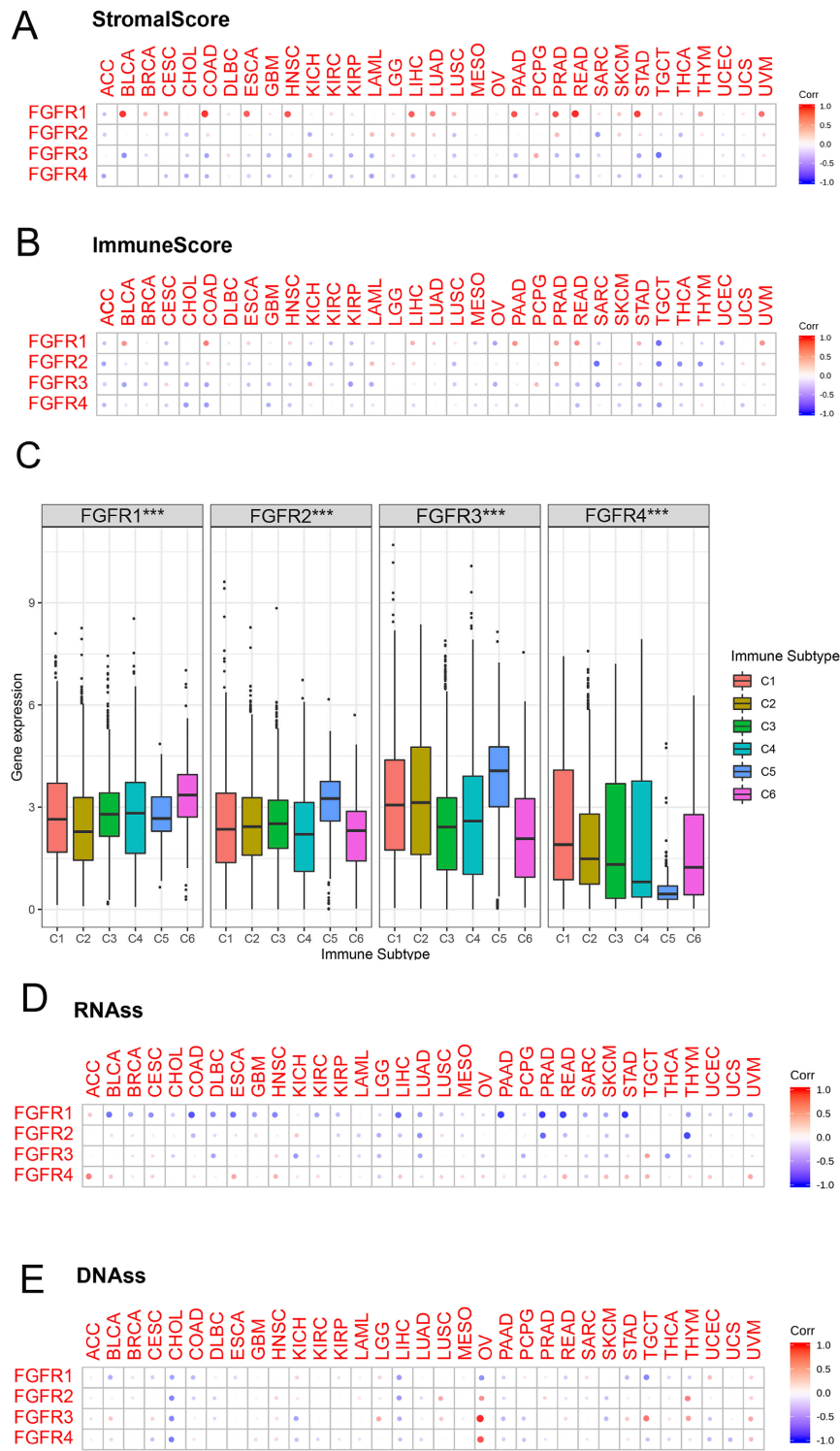


Figure 2. The role of FGFRs in tumor microenvironment and tumor stemness
图 2. FGFRs 的表达与肿瘤微环境和肿瘤干性关系

接下来, 我们分析了 FGFRs 和肿瘤免疫浸润的相关性。在肿瘤中发现了六种类型的免疫浸润, 包括 C1 (伤口愈合), C2 (IFN- γ 优势), C3 (炎症), C4 (淋巴细胞耗尽), C5 (免疫安静) 和 C6 (TGF- β 优势), 分别对应肿瘤促进和肿瘤抑制作用。既往研究表明, C3 和 C5 免疫亚型患者的生存期明显优于其他免疫亚型, C4 和 C6 型患者的生存期最差。FGFR1 在 C6 免疫亚型中表达较高。FGFR1 可能发挥促癌作用, 因此这些类型的患者预后较差。FGFR2 和 FGFR3 的高表达与 C5 免疫亚型相关。这表明 FGFR2 和 FGFR3 可能在肿瘤抑制中发挥主要作用。此外, FGFR4 在 C1 免疫亚型中也有较高的表达(图 2(C))。

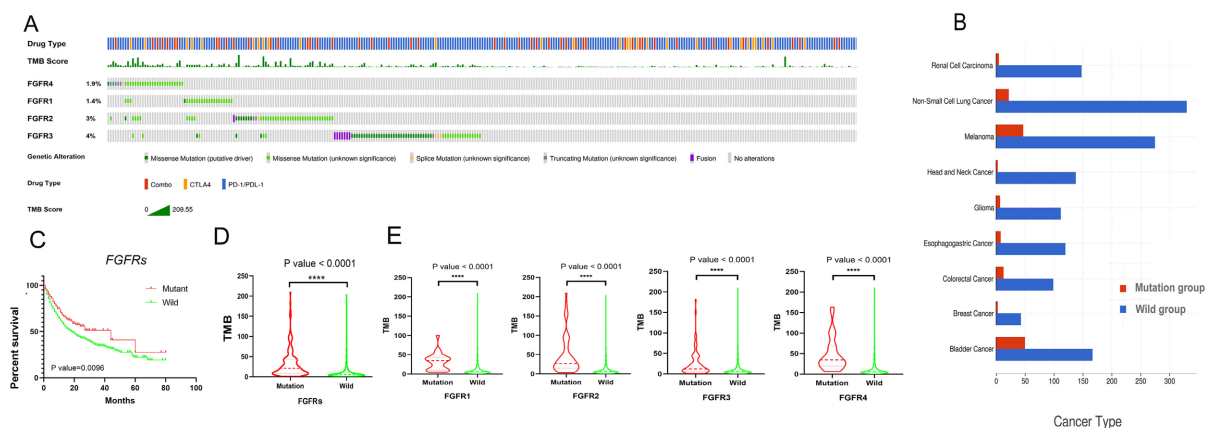
在肿瘤发展过程中, 肿瘤细胞可能逐渐失去其分化表型而获得干细胞样特征。目前测量肿瘤干性的方法主要有基于 mRNA 表达的 RNA 干性评分(RNAs)和基于 DNA 甲基化模式的 DNA 干性评分(DNAss)两种。在不同的癌症中, FGFRs 与 RNAs 和 DNAss 显示出不同程度的相关性(图 2(D)和图 2(E))。不同类型的 FGFRs 在不同的 RNAs 和 DNAss 中显示出不同的相关性。例如, 我们发现 FGFR1 主要与 RNAs 和 DNAss 负相关。FGFR4 主要与 RNAs 呈正相关。这些结果表明, RNAs 和 DNAss 可以识别不同肿瘤中具有不同特征或干性程度的不同细胞群。

3.3. cBioPortal 癌症基因组学的 FGFRs 分析

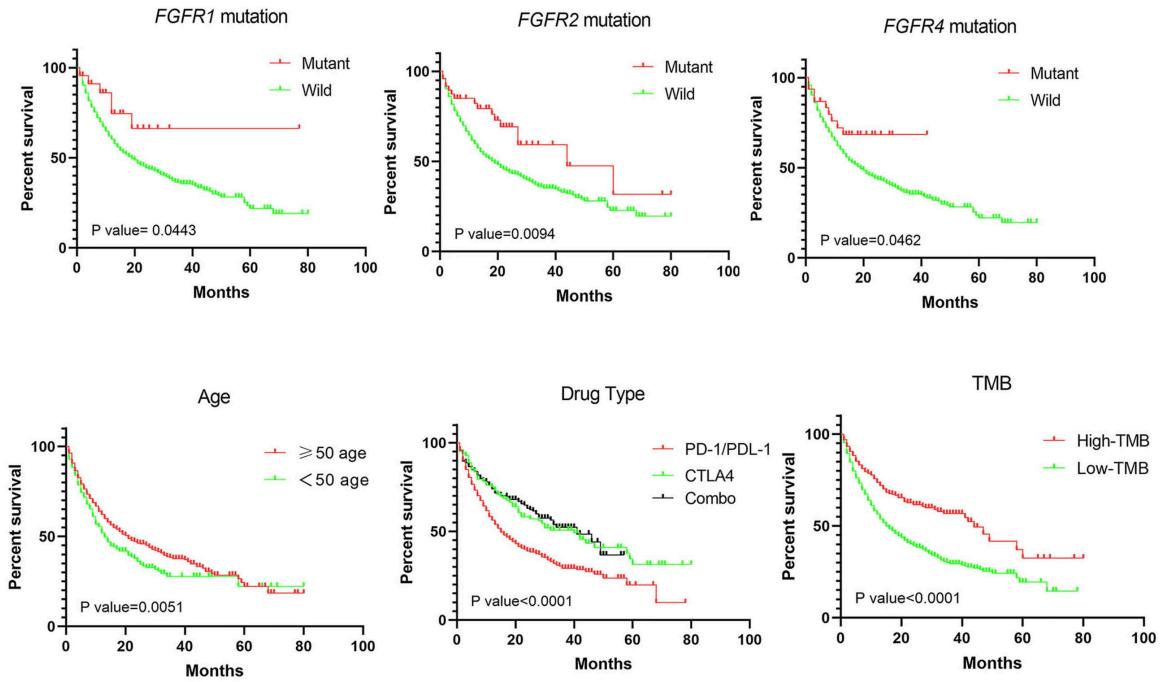
FGFR1、FGFR2、FGFR3 和 FGFR4 的突变频率分别为 1.4%、3%、4% 和 1.9% (图 3(A))。接下来, 我们在癌症基因组学 cBioPortal 队列的不同肿瘤样本中观察了 FGFRs 的遗传改变状态(图 3(B))。FGFRs 的表达与接受 ICIs 治疗的癌症患者的预后密切相关($P = 0.0096$) (图 3(C))。此外, FGFRs 的突变状态与高 TMB 值相关(图 3(D))。在 cBioPortal 队列中, FGFR1-4 突变与较高的 TMB 值相关($P < 0.0001$) (图 3(E))。

3.4. 列线图的构建

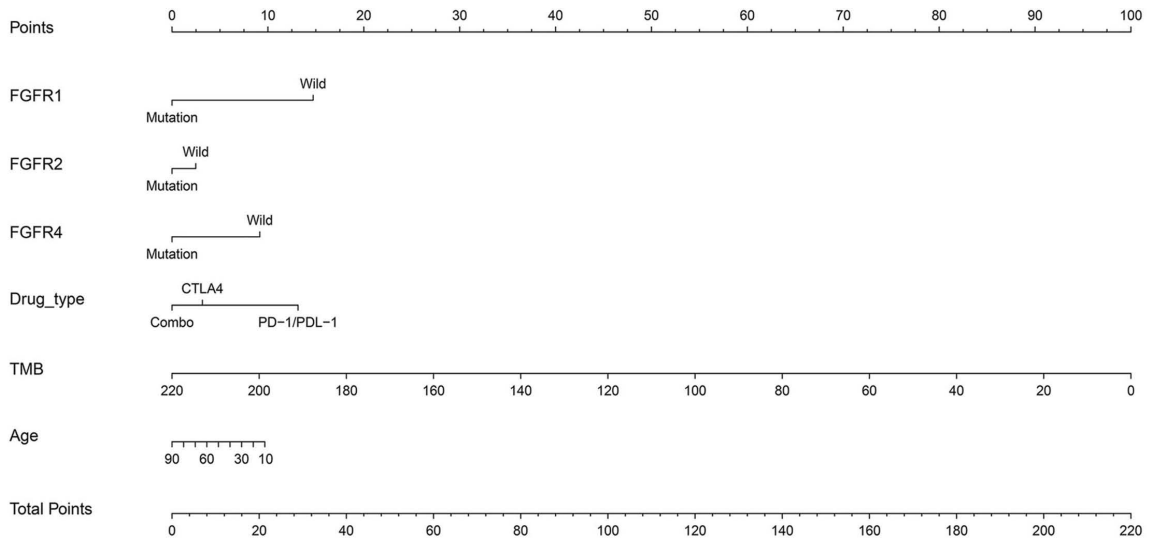
共整合了 1571 例癌症患者的基因突变信息和临床数据构建列线图。有许多临床病理变量被证实与 ICIs 治疗的癌症预后显著相关, 包括 FGFR1 突变($P = 0.0443$)、FGFR2 突变($P = 0.0094$)、FGFR4 突变($P = 0.0462$)、年龄($P = 0.0051$)、药物类型($P < 0.0001$) 和 TMB ($P < 0.0001$) (图 3(F))。然而, FGFR3 与患者预后无关。因此, FGFR1 突变、FGFR2 突变、FGFR4 突变、年龄 ≥ 50 岁、联合治疗、高 TMB 的癌症患者可能从 ICIs 治疗中获益。最后, 我们基于这些变量建立了系统的列线图(图 3(G))。该列线图的 C-index 为 0.722 (95% CI 0.686~0.773)。这表明列线图在预测接受 ics 的晚期癌症患者预后方面具有潜在的临床价值。校准曲线显示我们的列线图具有良好的预测能力。校准曲线中的虚线对应的误差范围为 10% (图 3(H))。基于以上研究, 我们合理地得出结论, FGFRs 突变可能作为一种新的 ICIs 生物标志物。



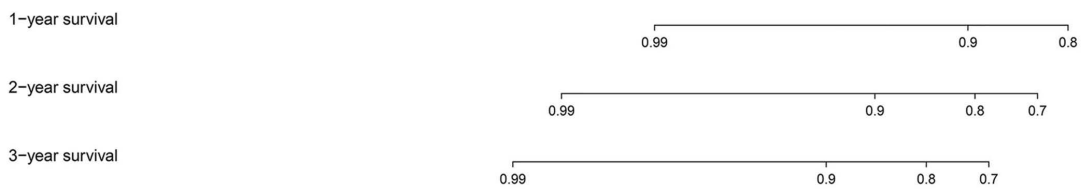
F



G



Prognosis of ICIs treatment



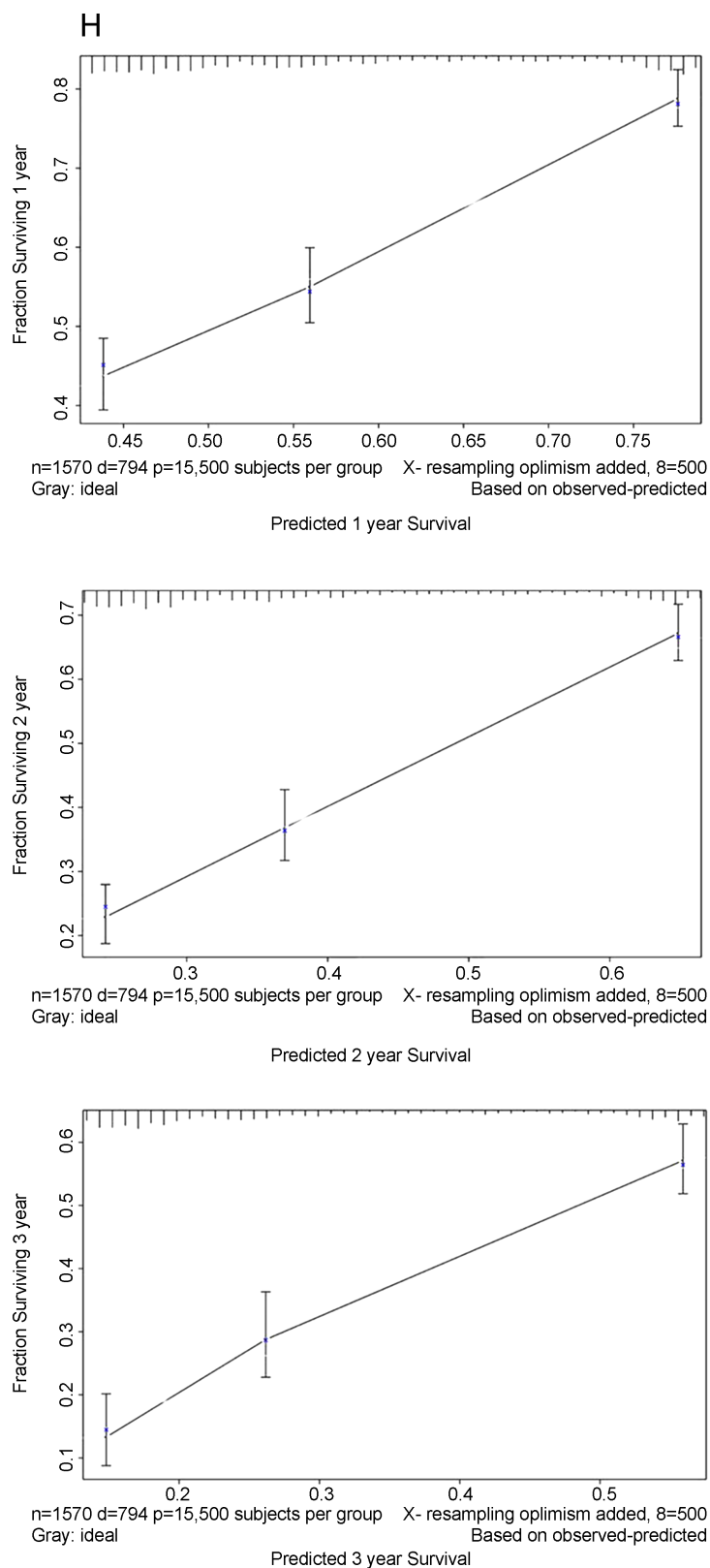


Figure 3. Analysis of FGFRs by cBioPortal Cancer Genomics

图 3. cBioPortal 癌症基因组学的 FGFRs 分析

4. 讨论

目前, 免疫治疗最大的挑战是确定生物标志物, 筛选最有可能从免疫治疗中获益的患者, 从而开发新的有效治疗策略来提高疗效, 以及克服治疗相关的毒性。随着深度测序技术的发展, FGFR 信号通路在实体瘤中频繁发生分子改变[15]。既往研究表明, FGFR4 可作为对 ICIs 敏感的晚期非小细胞肺癌患者的一种新型生物标志物[16]。

根据现有的报道, FGFRs 在接受 ICIs 治疗的晚期患者中的作用机制尚不明确。目前尚缺乏研究证实 FGFRs 是否可作为免疫治疗的生物标志物。本研究首次利用大数据建立了晚期肿瘤患者 ICIs 治疗预后的列线图预测模型, 无疑为晚期肿瘤患者 ICIs 治疗提供了新的临床策略。此外, 我们首次对 FGFRs 进行了系统的泛癌分析, 并首次阐明了 FGFRs 在免疫治疗晚期癌症预后中的作用。明确了 FGFRs 在晚期肿瘤预后中的价值。FGFRs 突变及其功能缺陷与肿瘤免疫治疗的敏感表型密切相关。基于我们的工作, 我们认为 FGFRs 可能是晚期癌症免疫治疗和预后的重要生物标志物。

5. 总结

综上所述, 我们提供了泛癌研究中所有 FGFRs 的全面和系统的特征, 并研究了它们在癌症类型、免疫亚型和 ICIs 生物标志物中的作用。我们的工作将有助于揭示它们在肿瘤发生中的作用, 特别是在免疫反应、肿瘤微环境和免疫治疗中的作用。FGFRs 可作为接受免疫检查点抑制剂治疗的晚期癌症患者的潜在生物标志物。此外, 我们的系统列线图为晚期癌症患者使用免疫检查点抑制剂提供了新的临床治疗策略。

基金项目

江西省卫生健康委科技计划(SKJP22020992)。

参考文献

- [1] Hegde, P.S. and Chen, D.S. (2020) Top 10 Challenges in Cancer Immunotherapy. *Immunity*, **52**, 17-35. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.12.011>
- [2] Brahmer, J.R., et al. (2012) Safety and Activity of Anti-PD-L1 Antibody in Patients with Advanced Cancer. *The New England Journal of Medicine*, **366**, 2455-2465. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1200694>
- [3] Peravali, M., et al. (2021) Safety and Efficacy of First-Line Pembrolizumab in Black Patients with Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer. *Oncologist*, **26**, 694-700. <https://doi.org/10.1002/onco.13787>
- [4] Walk, E.E., et al. (2020) The Cancer Immunotherapy Biomarker Testing Landscape. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, **144**, 706-724. <https://doi.org/10.5858/arpa.2018-0584-CP>
- [5] Eswarakumar, V.P., Lax, I. and Schlessinger, J. (2005) Cellular Signaling by Fibroblast Growth Factor Receptors. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, **16**, 139-149. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2005.01.001>
- [6] Katoh, M. and Nakagama, H. (2014) FGF Receptors: Cancer Biology and Therapeutics. *Medicinal Research Reviews*, **34**, 280-300. <https://doi.org/10.1002/med.21288>
- [7] Coleman, S.J., et al. (2014) The Ins and Outs of Fibroblast Growth Factor Receptor Signalling. *Clinical Science (London)*, **127**, 217-231. <https://doi.org/10.1042/CS20140100>
- [8] Ornitz, D.M. and Itoh, N. (2015) The Fibroblast Growth Factor Signaling Pathway. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology*, **4**, 215-266. <https://doi.org/10.1002/wdev.176>
- [9] Katoh, M. (2016) Therapeutics Targeting FGF Signaling Network in Human Diseases. *Trends in Pharmacological Sciences*, **37**, 1081-1096. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2016.10.003>
- [10] Turner, N. and Grose, R. (2010) Fibroblast Growth Factor Signalling: From Development to Cancer. *Nature Reviews Cancer*, **10**, 116-129. <https://doi.org/10.1038/nrc2780>
- [11] Kelleher, F.C., et al. (2013) Fibroblast Growth Factor Receptors, Developmental Corruption and Malignant Disease. *Carcinogenesis*, **34**, 2198-2205. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgt254>

-
- [12] Helsten, T., Schwaederle, M. and Kurzrock, R. (2015) Fibroblast Growth Factor Receptor Signaling in Hereditary and Neoplastic Disease: Biologic and Clinical Implications. *Cancer and Metastasis Reviews*, **34**, 479-496. <https://doi.org/10.1007/s10555-015-9579-8>
- [13] Jin, M., Du, X. and Chen, L. (2012) Cross-Talk between FGF and Other Cytokine Signalling Pathways during Endochondral Bone Development. *Cell Biology International*, **36**, 691-696. <https://doi.org/10.1042/CBI20110352>
- [14] Samstein, R.M., *et al.* (2019) Tumor Mutational Load Predicts Survival after Immunotherapy across Multiple Cancer Types. *Nature Genetics*, **51**, 202-206. <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0312-8>
- [15] Touat, M., *et al.* (2015) Targeting FGFR Signaling in Cancer. *Clinical Cancer Research*, **21**, 2684-2694. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-2329>
- [16] Wang, L., *et al.* (2021) Development of Nomogram Based on Immune-Related Gene FGFR4 for Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Patients with Sensitivity to Immune Checkpoint Inhibitors. *Journal of Translational Medicine*, **19**, Article No. 22. <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02679-0>