

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.05.016

· 综述 ·

## PD-1/PD-L1 抑制剂的疗效标志物

### Therapeutical biomarkers for PD-1/PD-L1 inhibitors

沈兴利<sup>a</sup>, 陈绍丰<sup>a</sup> 综述; 虞淦军<sup>b</sup>, 吴艳峰<sup>b</sup> 审阅(海军军医大学 基础医学院 a. 临床医学专业, b. 免疫学研究所, 上海 200433)

**[摘要]** 以PD-1/PD-L1抑制剂为代表的免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors, ICIs)疗法改变了以往手术、放疗或化疗的常规癌症治疗方法,甚至已成为部分癌症的一线治疗方式。然而,PD-1/PD-L1抑制剂并不能使大部分肿瘤患者获益,甚至部分患者接受治疗后出现了肿瘤暴发性进展现象。在PD-1/PD-L1抑制剂治疗前,对相关疗效标志物进行检测,可以筛选出可能获益的人群,从而有效避免延误治疗无效患者的病情及不必要的经济损失。为进一步指导临床,本文就PD-1/PD-L1抑制剂的疗效标志物作一系统综述。

**[关键词]** PD-1; PD-L1; 抑制剂; 疗效标志物; 免疫治疗

**[中图分类号]** R730.51 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)05-0583-08

近年来,以PD-1/PD-L1抑制剂为代表的免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors, ICIs)在癌症治疗领域取得了令人瞩目的成就。因此,2018年的诺贝尔生理学或医学奖授予了James Allison教授和Tasuku Honjo教授,以表彰他们在发现癌症负性免疫调节疗法方面作出的突出贡献,这也再次将以PD-1/PD-L1抑制剂为代表的ICIs疗法推到了新的高度。然而,目前PD-1/PD-L1抑制剂对于实体瘤的总体有效率仅为10%~40%<sup>[1]</sup>,甚至部分患者治疗后出现了肿瘤暴发性进展现象。疗效的难以预测性及高昂的治疗费用成为了PD-1/PD-L1抑制剂疗法推广的瓶颈。因此,寻找高效而精准的生物标志物,以预测和筛选出对PD-1/PD-L1抑制剂疗法具有良好获益的癌症患者,成为了临床重要的研究热点和迫切需求<sup>[2]</sup>。目前已发现或证实了多种针对PD-1/PD-L1抑制剂的相关疗效标志物,甚至探索了组合标志物的预测作用。这些生物标志物均具有一定的疗效预测作用,但也存在着或多或少的不足。本文将根据生物标志物与患者的治疗反应和获益的正、负相关性,对生物标志物进行分类,并分别详细阐述当前研究进展。

#### 1 治疗机理

PD-1是CD28/CTLA-4受体家族中重要的免疫抑制分子,是一种含有268个氨基酸残基的膜蛋白,广泛表达于T细胞、巨噬细胞、B细胞等多种免疫细胞表面,其配体是PD-L1和PD-L2。PD-L1是由CD274基因编码并主要表达于肿瘤细胞、树突状细胞和巨噬细胞表面的蛋白。PD-1和PD-L1结合后,PD-1/PD-L1信号通路被激活,进而抑制T细胞的活

化,造成T细胞失能,有助于肿瘤细胞的免疫逃逸。PD-1的另一个配体PD-L2主要表达于树突状细胞、巨噬细胞和B细胞表面,与炎症及自身免疫性疾病相关<sup>[3]</sup>。基于以上机制,研究者开发了靶向PD-1和PD-L1的抑制剂。PD-1抑制剂可以和免疫细胞表面的PD-1结合,从而阻断PD-1与PD-L1和PD-L2的结合,恢复T细胞的抗肿瘤活性。而PD-L1抑制剂则只能特异性地与配体PD-L1结合,阻断PD-1/PD-L1通路,恢复T细胞活性的同时保留了PD-1/PD-L2通路的免疫自稳作用。目前FDA批准的PD-1抑制剂有帕博利珠单抗(pembrolizumab)和纳武利尤单抗(nivolumab),批准的PD-L1抑制剂有阿特珠单抗(atezolizumab)、德瓦鲁单抗(durvalumab)和avelumb(暂无中文名)。

#### 2 正性生物标志物

与患者的治疗反应性和获益正性相关的生物标志物定义为正性生物标志物。与负性生物标志物相比,目前大多数研究者更倾向于对正性标志物的研究。在治疗前对患者进行相关生物标志物的检测,可以评估患者治疗获益的可能性,进而有助于指导临床治疗方案的选择和帮助学生避免一定的经济

**[基金项目]** 国家自然科学基金面上项目资助(No. 81671644)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81671644)

**[作者简介]** 沈兴利(1996-),本科生,临床医学专业, E-mail: 2220212897@qq.com

**[通信作者]** 吴艳峰(WU Yanfeng, corresponding author), 博士, 副教授, 硕士生导师, 主要从事肿瘤免疫治疗的研究, E-mail: wuyf@immunol.org

损失。

### 2.1 单一生物标志物

2.1.1 PD-L1 肿瘤细胞PD-L1是目前研究最广泛的生物标志物,在临床治疗中得到认可和广泛应用,但同时也存在着一定的不准确性。2016年FDA批准了pembrolizumab用于对肿瘤细胞PD-L1高表达( $\geq 50\%$ )的晚期非小细胞肺癌(non-small-cell lung carcinoma, NSCLC)的一线治疗。此外,2018年ASCO大会上公布的KEYNOTE-042研究结果显示,接受pembrolizumab一线治疗的PD-L1 $\geq 1\%$ 且EGFR或ALK

突变阴性的晚期/转移性NSCLC患者,其总生存期(overall survival, OS)优于化疗。这也就表明了pembrolizumab可以使更多初治NSCLC患者(PD-L1 $\geq 1\%$ )受益<sup>[4]</sup>。

然而,通过免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)检测发现PD-L1表达阴性,并不意味着患者对PD-1/PD-L1抑制剂治疗毫无反应。在最近开展的几项大型临床研究中,PD-L1阴性表达的患者也可获益于PD-1/PD-L1抑制剂疗法(表1)。

表1 PD-L1作为疗效标志物的临床研究结果

临床研究	治疗方案	分组参考标准	疗效	评价	
CheckMate 017 和 CheckMate 057 <sup>[5]</sup>	Nivolumab对比多西他赛治疗晚期鳞状和非鳞状NSCLC的结果汇总分析(2年随访)	PD-L1<1%	Nivolumab组 多西他赛组	中位OS:9.6个月 中位OS:7.8个月	即使PD-L1<1%,nivolumab较多西他赛仍可使患者获得更长的中位OS(HR:0.78)
		PD-L1 $\geq 1\%$	Nivolumab组 多西他赛组	中位OS:13.4个月 中位OS:8.5个月	
		PD-L1 $\geq 5\%$	Nivolumab组 多西他赛组	中位OS:17.2个月 中位OS:7.7个月	
		PD-L1 $\geq 10\%$	Nivolumab组 多西他赛组	中位OS:17.5个月 中位OS:7.7个月	
		PD-L1 $\geq 50\%$	Nivolumab组 多西他赛组	中位OS:20.6个月 中位OS:8.0个月	
CheckMate 227 <sup>[6]</sup>	Nivolumab联合Ipilimumab(CTLA-4抑制剂)治疗高肿瘤突变负荷(TMB $\geq 10$ mut/Mb)的IV期或复发性NSCLC患者	PD-L1<1%		1年PFS率:45%; 中位PFS:7.7个月 HR(相对化疗组):0.48	PD-L1<1的患者1年PFS率和中位PFS反而优于PD-L1 $\geq 1\%$ 的患者
		PD-L1 $\geq 1\%$		1年PFS率:42%; 中位PFS:7.1个月 HR(相对化疗组):0.62	

HR:风险比(hazard ratio);PFS:无进展生存期(progression-free survival)

因此,肿瘤细胞PD-L1表达水平作为PD-1/PD-L1抑制剂的生物标志物尚存不准确性,其原因可能包括:(1)PD-L1的表达具有异质性和动态性,不同肿瘤部位PD-L1表达多存在差异;PD-L1表达在疾病的不同阶段也会发生动态变化;不同的治疗方式也会影响PD-L1的表达;(2)由于PD-L1可同时表达于肿瘤细胞和免疫细胞,因此通过IHC检测PD-L1水平时,也应纳入免疫细胞表达的PD-L1;(3)不同的检测平台、抗体及设定的阳性阈值也会影响检测结果。为解决以上缺陷,迫切需要对PD-L1检测进一步细化,同时也需要检测方式和数据处理的统一。

### 2.1.2 肿瘤突变负荷(tumor mutation burden, TMB) 随

着相关临床试验的开展,TMB也表现出良好的疗效预测作用,正被不少研究者所关注。TMB指肿瘤基因组中除去胚系突变后的体细胞突变数量,一般以非同义突变(导致氨基酸改变的核苷酸变异)总数或每1Mb基因的突变数量表示。TMB越高,则肿瘤细胞表达的新抗原也会相对更多,也就更可能被T细胞识别,引起机体的抗肿瘤免疫应答<sup>[7]</sup>。2018年,TMB作为生物标志物第一次被写进了美国国家综合癌症网络(NCCN)指南2019年第一版,用来筛选可能对nivolumab联合ipilimumab或nivolumab单药治疗有效的NSCLC患者。不少研究证实了肿瘤组织TMB对PD-1/PD-L1抑制剂疗效具有良好的预测作用(表2)。

表2 TMB作为疗效标志物的临床研究结果

临床研究	治疗方案	分组参考标准	疗效		评价
GOODMAN等 <sup>[8]</sup>	回顾性分析TMB对PD-1/PD-L1抑制剂治疗多同肿瘤疗效的预测作用	低TMB:1~5 mut/Mb	RR:4%	PFS:低至中TMB患者为2.2个月	高TMB患者具有更长的PFS,提示更好的临床获益
		中TMB:6~19 mut/Mb	RR:26%		
		高TMB:≥20 mut/Mb	RR:45%		
CheckMate 227 <sup>[6]</sup>	Nivolumab联合Ipilimumab治疗IV期或复发性NSCLC患者	低TMB:<10 mut/Mb	中位PFS:3.2个月;		高TMB患者较低
		高TMB:≥10mut/Mb	中位PFS:7.2个月;		TMB患者可获得更长的中位PFS
POPLAR研究 <sup>[9]</sup>	评估血浆TMB(bTMB)对atezolizumab治疗二线或以上晚期NSCLC患者的疗效预测作用	bTMB≥10	PFS HR:0.68;		bTMB≥16和更好的
		bTMB≥16	OS HR:0.59		治疗趋势相关( $P=0.055$ )
		bTMB≥16	PFS HR:0.57;		
		bTMB≥20	OS HR:0.56		
		PFS HR:0.58;			
			OS HR:0.51		

RR:反应率(response rate)

在POPLAR研究<sup>[9]</sup>中,研究者还发现从血液样本和肿瘤组织样本检测所得TMB的一致性并不高(Spearman等级相关性为0.64;95%CI:0.56~0.71),而且两者的样本获取时间也存在差异,加之肿瘤的异质性和不同的计算方法,这就难以评估哪种检测方法更加精确。其次,TMB也存在着检测平台不同、判读标准和截断值设定不统一等一系列问题。由于TMB的检测依赖于基因测序,其成本也要高于PD-L1检测。尽管TMB已经被写入NCCN指南,但是对于如何衡量TMB,目前尚没有达成共识。因此,TMB是一种尚需深入研究和优化的生物标志物,将来可能会使更多患者获益。

**2.1.3 微卫星高不稳定性(MSI-H)或错配修复缺陷(dMMR)** 微卫星高不稳定性(microsatellite instability-high, MSI-H)和错配修复缺陷(deficient mismatch repair, dMMR)作为一对发生机理紧密联系的疗效预测标志物,具有对多种肿瘤的广泛疗效预测作用。dMMR是指因错配修复基因发生启动子超甲基化、移码突变等改变,而使错配修复蛋白表达缺失。由于dMMR的存在,使得细胞丧失DNA复制过程中的碱基错配修复功能,造成突变积累,进而导致MSI-H的发生<sup>[10]</sup>。2017年FDA批准了PD-1抑制剂keytruda用于治疗伴有MSI-H或dMMR变异的任何实体瘤患者,这也是首款不依照肿瘤来源,而是根据肿瘤标志物进行区分的免疫疗法<sup>[11]</sup>。

LE等<sup>[12]</sup>探究了pembrolizumab治疗12种具有dMMR的晚期肿瘤患者的疗效。结果表明,dMMR状态对接受pembrolizumab治疗的所有瘤种患者均有预测意义。HAUSE等<sup>[13]</sup>通过基因组全外显子测序

分析了18种癌症的5930个基因组,在其中14种肿瘤中发现了MSI-H,并且子宫内膜癌、结肠癌和胃癌的MSI频率显著高于其他癌种,但也仅为30%、19%和19%,只占肿瘤人群的一小部分。目前MSI的状态可以通过PCR或NGS方法直接测得,也可以通过dMMR的编码蛋白进行免疫组化而间接测得。但是,不同检测方法所得的结果可能存在一定误差,同样需要对检测标准进行统一。

**2.1.4 肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)丰度** PD-L1的发现者陈列平教授曾提出<sup>[14]</sup>,PD-1/PD-L1抑制剂的疗效发挥需要满足3个条件:(1)可恢复的免疫系统;(2)肿瘤微环境中存在被抑制的T淋巴细胞,即TIL;(3)可重建的免疫反应。因此,TIL丰度也会影响PD-1/PD-L1抑制剂的疗效。

在不少临床研究中,TIL丰度表现出良好的疗效预测作用,但针对不同癌种,其最佳疗效预测作用的截断值存在差异。URYVAEV等<sup>[15]</sup>详细研究了TIL作为PD-1抑制剂治疗黑色素瘤和NSCLC的生物标志物的可能性,发现黑色素瘤中CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>TIL密度与PD-1抑制剂治疗后的反应率均显著相关。当CD8<sup>+</sup>TIL计数≥1900/mm<sup>2</sup>时,反应率(RR)竟高达90%( $P=0.0001$ )。CD8<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>TIL≥2.7时,RR也可高达81.3%( $P=0.0001$ );而当该比率<2时,RR=0,展现出高效筛选阴性获益者的能力。在NSCLC中,CD8<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup>TIL比率依旧表现出相似的疗效预测作用。但CD8<sup>+</sup>TIL≥1900/mm<sup>2</sup>时的RR却远不及886-1899/mm<sup>2</sup>组的RR,分别为22.2%和60.0%( $P=0.017$ )。因此,对于不同的肿瘤组织,具有最佳疗效预测作用的CD8<sup>+</sup>TIL丰度的截断值可能存在差异。此外,TIL的

检测需要获得肿瘤组织,因此不适用于失去手术机会的晚期肿瘤患者。

## 2.2 组合生物标志物

随着越来越多相关临床试验的开展,研究者已逐渐意识到,单一生物标志物难以独立准确地预测PD-1/PD-L1抑制剂疗效。因此,不少研究者探索了组合生物标志物的协同预测能力。

### 2.2.1 PD-L1联合TMB

PD-L1和TMB作为两个在临床中较为公认和普遍应用的疗效标志物,二者联合应表现出更加高效的疗效预测作用,然而在临床研究中,二者的协同预测作用却存在争议。在CheckMate 026试验<sup>[16]</sup>中,研究者通过PD-L1联合TMB对nivolumab一线治疗IV期或复发性NSCLC患者的疗效进行了预测。根据TMB和PD-L1水平,患者被分为4组:高TMB( $\geq 243$  mut/Mb)且PD-L1 $\geq 50\%$ ;高TMB且PD-L1表达1~49%;低/中TMB且PD-L1 $\geq 50\%$ ;低/中TMB且PD-L1表达1~49%。研究发现,各组ORR分别为:75%、32%、34%和16%,同时发现高TMB且PD-L1 $\geq 50\%$ 组的PFS对比化疗获益最大。与上述研究相似,RIZVI等<sup>[17]</sup>也发现,TMB联合PD-L1与持续临床获益(durable clinical benefits, DCB)相关,高TMB(高于组中位数)且PD-L1阳性( $\geq 1\%$ )组表现出最好的DCB(50.0%)。

然而,在CheckMate 227试验<sup>[8]</sup>中,对于高TMB( $\geq 10$  mut/Mb)且PD-L1阳性的患者,虽然nivolumab联合ipilimumab治疗NSCLC与化疗相比明显改善了患者的1年PFS率(42% vs 16%),但是与高TMB且PD-L1阴性亚组相比,其1年PFS率却并无改善(42% vs 45%)。此外,2018年AACR年会上公布的CheckMate 568试验<sup>[18]</sup>也表现出相似结果,高TMB( $\geq 10$  mut/Mb)且PD-L1阳性组与高TMB且PD-L1阴性组相比不仅没有获得更高的ORR,反而更低(42% vs 47%),而仅高TMB患者的ORR为40%。因此PD-L1联合TMB作为生物标志物仍存在一定争议,尚需更加细化、科学的大样本临床研究的开展,并期待对二者联合应用的作用机理进行深入的基础研究。

### 2.2.2 PD-L1联合TIL

PD-L1联合TIL也表现出高效的疗效预测作用。EI-GUINDY等<sup>[19]</sup>根据PD-L1表达水平和CD8<sup>+</sup>TIL浸润状态,将纳入研究的55名NSCLC患者分为4组:PD-L1<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>TIL<sup>high</sup>、PD-L1<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>TIL<sup>low</sup>、PD-L1<sup>-</sup>/CD8<sup>+</sup>TIL<sup>high</sup>和PD-L1<sup>-</sup>/CD8<sup>+</sup>TIL<sup>low</sup>。研究发现,各组间2年OS率( $P=0.032$ )和PFS率( $P=0.001$ )存在显著差异。PD-L1<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>TIL<sup>high</sup>组具有最佳的OS(2年OS率为86%)和PFS(2年PFS率为64%)。而PD-L1<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>TIL<sup>low</sup>组表现最差,2年OS率和PFS率分别为33%和8%。同样,YANG等<sup>[20]</sup>和FU-

MET等<sup>[21]</sup>等的研究也获得类似结果。因此,PD-L1联合CD8<sup>+</sup>TIL可作为PD-1/PD-L1抑制剂治疗NSCLC的疗效标志物,甚至可能优于单独PD-L1或CD8<sup>+</sup>TIL的预测作用。

### 2.2.3 TMB联合T细胞炎性基因表达谱(gene expression profile, GEP)

与前两种组合生物标志物相似,TMB联合T细胞炎性GEP也具有有良好的疗效预测作用。CRISTESCU等<sup>[22]</sup>通过分析来自KEYNOTE的4项临床试验中的300多名患有22个瘤种的晚期实体瘤和黑色素瘤患者样本,评估了TMB联合T细胞GEP作为预测pembrolizumab疗效的生物标志物的潜力。研究者根据TMB和GEP水平对患者进行了分组:GEP<sup>low</sup>TMB<sup>low</sup>、GEP<sup>low</sup>TMB<sup>high</sup>、GEP<sup>high</sup>TMB<sup>low</sup>和GEP<sup>high</sup>TMB<sup>high</sup>组。研究发现,GEP<sup>high</sup>TMB<sup>high</sup>组患者具有最高的ORR(37%~57%),GEP<sup>high</sup>TMB<sup>low</sup>(12%~35%)和GEP<sup>low</sup>TMB<sup>high</sup>(11%~42%)组次之,而GEP<sup>low</sup>TMB<sup>low</sup>组最低(0~9%)。同时GEP<sup>high</sup>TMB<sup>high</sup>组也与更长的PFS相关。因此,TMB联合T细胞炎性GEP也可以作为PD-1/PD-L1抑制剂的疗效标志物,以筛选治疗获益人群。但该组合标志物与前两种组合标志物相比,针对不同瘤种其疗效预测作用是否更优,尚需临床试验的进一步验证。

### 2.2.4 基于外显子测序的数学模型

最近也有研究根据DNA修复途径状态、TCR克隆数量、新抗原数量等9个外显子参数建立了一个能够预测nivolumab或pembrolizumab治疗NSCLC疗效的外显子组模型。该模型可以精确地区分出患者的PFS( $P<0.0001$ )和OS( $P=0.002$ )。同时,在该研究中,外显子组模型较PD-L1和TMB表现出更强的疗效预测功能<sup>[23]</sup>。然而,其检测费用相对昂贵,而且相似研究开展较少,其预测能力尚需更多临床试验加以验证。

## 2.3 其他潜在生物标志物(表3)

## 3 负性生物标志物

在PD-1/PD-L1抑制剂治疗前,通过检测肿瘤患者体内的负性生物标志物水平,可以有效筛选出对PD-1/PD-L1抑制剂治疗获益较差,甚至可能出现肿瘤暴发性进展的患者。因此,相较于PD-1/PD-L1抑制剂的阳性生物标志物,笔者认为治疗前对负性标志物的检测同样必不可少。

### 3.1 Treg细胞

作为PD-1/PD-L1抑制剂的负性标志物之一,Treg细胞可以促进肿瘤细胞的免疫逃逸并降低免疫治疗效果,甚至凋亡的Treg仍可发挥T细胞抑制作用。NI等<sup>[36]</sup>研究发现,高度表达于Treg细胞中的YAP蛋白(Yes-associated Protein)在抑制Treg细胞的

抗肿瘤活性方面发挥了作用,而靶向 YAP 的药物则具有增强免疫疗法的潜力。此外,最近 TOMASZ 等<sup>[37]</sup>发现凋亡的 Treg 细胞会释放大量的 ATP,而后再在 CD39 和 CD73 两种酶的作用下降解为腺苷,而腺苷

则通过与 T 细胞上的 A2A 受体结合,进而发挥强大的免疫抑制功能,也在一定程度上降低了 PD-1/PD-L1 抑制剂的疗效。

表3 潜在生物标志物

标志物名称	原理	可能获益	优势	不足
外周血中 kyn/trp 比值 <sup>[24-25]</sup>	IDO 通过依赖于 Treg 的相关机制,募集和激活 MDSCs,发挥协调局部和全身免疫抑制作用	kyn/trp < 0.06 μg/ml	检测相对简易,且成本较低	有待大样本临床试验验证
肠道微生物 <sup>[26-28]</sup>	具体机制尚未明确	肠道中含有某些特殊菌种	检测相对简单易行,对患者不会造成检测伤害	有待进一步明确其作用机制
血液外泌体 PD-L1 水平 <sup>[29]</sup>	肿瘤产生携带有 PD-L1 的外泌体,通过血液循环对人体免疫系统产生全面抑制作用,进而降低 PD-1/PD-L1 抑制剂疗效	治疗前血液外泌体 PD-L1 水平低	样本易于获得,检测创伤性小	有待大样本临床试验验证
PD-L1 <sup>high</sup> ratio <sup>[30-31]</sup>	PD-L1 可表达于 CTCs 上,进而抑制免疫系统	治疗前 PD-L1 <sup>high</sup> ratio 高	样本易于获得,检测创伤性小	有待大样本临床试验验证
CT 值和 RNA-seq 基因组数据 <sup>[32]</sup>	通过结合对比增强 CT 图像和来自肿瘤活检组织的 RNA-seq 基因组数据来开发和验证反应 CD8 TIL 丰度的放射学特征	具有高基线放射学评分 (相对于中位数)	检测简单易行,创伤性小	有待大样本临床试验验证
肿瘤组织中 NK 细胞和 SDCs 水平 <sup>[33]</sup>	NK 细胞除具有直接杀伤肿瘤细胞的作用外,还可通过表达 FLT3LG 特异性免疫信号蛋白来调节 SDCs 数量。而 SDCs 可刺激、增强 T 细胞的抗肿瘤作用	肿瘤组织中 NK 细胞和 SDCs 的数量多	可探索增加肿瘤组织中 NK 细胞数量的方法	检测手段复杂、有创
血液中 CD14 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>hi</sup> 单核细胞数量 <sup>[34]</sup>	具体机制未明	治疗前 CD14 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>hi</sup> 单核细胞多	检测方式简单易行,创伤性小	有待大样本临床试验验证
CD39 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> TIL 在 CD8 <sup>+</sup> TIL 中的比例 <sup>[35]</sup>	CD39 <sup>+</sup> 的 CD8 <sup>+</sup> TIL 具有对肿瘤抗原的敏感性	CD39 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> TIL 比例高	更准确地评估敏感 T 细胞的数量	有创,检测难度大

kyn/trp 比值: 犬尿氨酸/色氨酸比值; Treg: 调节性 T 细胞; MDSCs: 骨髓源性抑制细胞; CTCs: 循环肿瘤细胞; PD-L1<sup>high</sup> ratio: PD-L1<sup>high</sup> 的 CTCs 占总 CTCs 的比例; NK 细胞: 自然杀伤细胞; SDCs: 刺激性树突状细胞

### 3.2 EGFR 突变阳性

EGFR 突变阳性也可影响 PD-1/PD-L1 抑制剂的疗效。在 KEYNOTE-001 研究<sup>[38]</sup>中,研究者对 PD-L1 ≥ 50% 的 NSCLC 患者采取了 pembrolizumab 治疗。结果显示,EGFR 突变阳性患者的中位 OS 显著短于 EGFR 野生型患者 (6.5 vs 15.7 个月)。GAINOR 等<sup>[39]</sup>通过回顾性研究发现,与 EGFR 野生型相比,EGFR 突变阳性 NSCLC 患者 ORR 非常低 (23.3% vs 3.6%,  $P =$

0.053), 而且 PD-L1 表达水平和 CD8<sup>+</sup>TILs 浸润数量均明显少于野生型患者。因此,EGFR 突变阳性也可能影响了 PD-L1 表达和 CD8<sup>+</sup>TILs 浸润,进而降低了 PD-1/PD-L1 抑制剂疗效。

### 3.3 JAK1/2 功能缺失突变

多项基础研究表明,JAK1/2 功能缺失突变与较低的 ICIs 治疗获益相关。ZARETSKY 等<sup>[40]</sup>研究发现,编码  $\gamma$ -干扰素 (IFN- $\gamma$ ) 受体的 JAK1/2 功能缺失突

变与 pembrolizumab 治疗转移性黑色素瘤的获得性耐药性有关。此外, DANIEL 等<sup>[41]</sup>也提出 JAK1/2 的功能缺失突变可以导致肿瘤细胞反应性 PD-L1 表达缺失和对 IFN- $\gamma$  的无反应状态。而由活化 T 细胞和 NK 细胞产生的 IFN- $\gamma$  能够直接作用于癌细胞, 从而抑制癌细胞生长<sup>[42]</sup>, 此外也有研究<sup>[43]</sup>证实 IFN- $\gamma$  还可以促进肿瘤血管衰退从而引发肿瘤消退。综上所述, JAK1/2 功能缺失突变会造成较低的 ICI 治疗获益。

### 3.4 鼠双微粒体 2/4 基因扩增

鼠双微粒体 2/4 (murine double minute 2/4, MDM2/4) 基因扩增与肿瘤暴发性进展相关。部分肿瘤患者接受 ICI 治疗后反而会加速肿瘤生长或转移扩散, 称为“肿瘤暴发性进展”, 其发生可能与某些基因扩增有关。MDM2/4 基因是抑癌基因 p53 的关键负调控因子, 与肿瘤转移密切相关。MDM2 扩增在肿瘤患者中的发生率约为 3.5%<sup>[44]</sup>。KATO 等<sup>[45]</sup>研究发现伴有 MDM2 扩增或 EGFR 突变的肿瘤患者接受 PD-1/PD-L1 抑制剂治疗后更易发生暴发性进展状态。因此, 对于具有 MDM2/4 扩增的肿瘤患者应慎重选用 ICI。同时, 为进一步解释 MDM2 扩增和 EGFR 突变会导致 ICI 治疗后的暴发性进展状态, 则有待于更多临床或基础研究的投入。

### 3.5 IL-8

作为一种新兴的负性标志物, IL-8 也表现出良好的疗效预测作用。IL-8 是由巨噬细胞、上皮细胞等分泌的一种细胞因子, 具有促进血管生成和对中性粒细胞的趋化作用。SUN 等<sup>[46]</sup>研究发现, 来自胃癌间充质干细胞的 IL-8 可以通过 STAT3 和 mTOR 信号通路调控胃癌细胞 myc 基因的表达, 而后者可进一步诱导胃癌细胞 PD-L1 的表达。因此, 通过检测胃癌中 IL-8 水平, 可以间接了解到胃癌细胞 PD-L1 的表达水平, 进而预测 PD-L1 抑制剂的疗效。此外, 也可以通过靶向抑制 IL-8, 来增强 PD-L1 抑制剂的疗效。然而, 将 IL-8 水平作为 PD-L1 抑制剂的疗效标志物尚处于理论阶段, 有待进一步临床验证。

## 4 结 语

PD-1/PD-L1 抑制剂在癌症治疗领域广泛应用的同时, 对其相关生物标志物的研究也在不断深入。然而, 目前大多数研究者更倾向于对正性生物标志物的研究, 但负性生物标志物可有效筛选出对 PD-1/PD-L1 抑制剂无法获益甚至暴发性进展的患者, 其作用同样不容忽视。此外, 为进一步提高生物标志物的预测作用, 有必要在单一生物标志物的基础上, 积极探索联合生物标志物的预测潜力。期待能在这些

研究的基础上找到更加高效精准的生物标志物或组合, 以使更多的癌症患者从 PD-1/PD-L1 抑制剂疗法中获益。

## [参 考 文 献]

- [1] CHEN D S, MELLMAN I. Elements of cancer immunity and the cancer-immune set point[J]. *Nature*, 2017, 541(7637): 321-330. DOI: 10.1038/nature21349.
- [2] 张盼, 张俊萍. 晚期非小细胞肺癌 PD-1/PD-L1 单抗治疗临床转化现状[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(4): 426-430. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.
- [3] CHEMNITZ J M, PARRY R V, NICHOLS K E, et al. SHP-1 and SHP-2 associate with immunoreceptor tyrosine-based switch motif of programmed death 1 upon primary human T cell stimulation, but only receptor ligation prevents T cell activation[J]. *J Immunol*, 2004, 173(2): 945-954. DOI:10.4049/jimmunol.173.2.945.
- [4] GILBERTO L, WU Y L, LVETA K, et al. Pembrolizumab vs platinum-based chemotherapy as first-line therapy for advanced/metastatic NSCLC with a PD-L1 TPS  $\geq 1\%$ : open-label, phase 3 KEYNOTE-042 study. [J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36: 18. DOI: 10.1200/JCO.2018.36.18\_suppl.LBA4.
- [5] HORN L, SPIGEL D R, VOKES E E, et al. Nivolumab versus docetaxel in previously treated patients with advanced non-small-cell lung cancer: two-year outcomes from two randomized, open-label, phase III trials (CheckMate 017 and CheckMate 057)[J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35(35): 3924-3933. DOI: 10.1200/JCO.2017.74.3062.
- [6] HELLMANN M D, CIULEANU T E, PLUZANSKI A, et al. Nivolumab plus ipilimumab in lung cancer with a high tumor mutational burden[J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(22): 2093-2104. DOI: 10.1016/j.ccell.2018.04.001.
- [7] YARCHOAN M, HOPKINS A, JAFFEE E M. Tumor mutational burden and response rate to PD-1 inhibition[J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(25): 2500-2501. DOI:10.1056/NEJMc1713444.
- [8] GOODMAN A M, KATO S, BAZHENOVA L, et al. Tumor mutational burden as an independent predictor of response to immunotherapy in diverse cancers[J]. *Mol Cancer Ther*, 2017, 16(11): 2598-2608. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-17-0386.
- [9] GANDARA D R, PAUL S M, KOWANETZ M, et al. Blood-based tumor mutational burden as a predictor of clinical benefit in non-small-cell lung cancer patients treated with atezolizumab[J]. *Nat Med*, 2018, 24(9): 1441-1448. DOI: 10.1038/s41591-018-0134-3.
- [10] BARETTI M, LE DT. DNA mismatch repair in cancer[J]. *Pharmacol Ther*, 2018, 189: 45-62. DOI:10.1016/j.pharmthera.2018.04.004.
- [11] LEMERY S, KEEGAN P, PAZDUR R. First FDA approval agnostic of cancer site-when a biomarker defines the indication[J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(15): 1409-1412. DOI: 10.1056/NEJMp1709968.
- [12] LE D T, DURHAM J N, SMITH K N, et al. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade[J]. *Science*, 2017, 357(6349): 409-413. DOI: 10.1126/science.aan6733.
- [13] HAUSE R J, PRITCHARD C C, SHENDURE J, et al. Classification and characterization of microsatellite instability across 18 cancer types[J]. *Nat Med*, 2016, 22(11): 1342-1350. DOI: 10.1038/nm.4191.
- [14] CHEN L, HAN X. Anti-PD-1/PD-L1 therapy of human cancer: past,

- present, and future[J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(9):3384-3391. DOI: 10.1172/JCI80011.
- [15] URYVAEV A, PASSHAK M, HERSHKOVITS D, et al. The role of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) as a predictive biomarker of response to anti-PD1 therapy in patients with metastatic non-small cell lung cancer or metastatic melanoma[J]. *Med Oncol*, 2018, 35(3): 25. DOI: 10.1007/s12032-018-1080-0.
- [16] CARBONE D P, 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. DOI: 10.1056/NEJMoa1613493.
- [17] RIZVI H, SANCHEZ-VEGA F, LA K, et al. Molecular determinants of response to anti-programmed cell death (PD)-1 and anti-programmed death-ligand 1 (PD-L1) blockade in patients with non-small-cell lung cancer profiled with targeted next-generation sequencing[J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(7): 633-641. DOI: 10.1200/JCO.2017.75.3384.
- [18] RAMALINGAM S S, HELLMANN M D, AWAD M M, et al. Tumor mutational burden (TMB) as a biomarker for clinical benefit from dual immune checkpoint blockade with nivolumab (nivo) + ipilimumab (ipi) in first-line (1L) non-small cell lung cancer (NSCLC): identification of TMB cutoff from CheckMate 568; Pre AACRm 2018 [C]. Philadelphia, AACR.
- [19] EI-GUINDY D M, HELAL D S, SABRY N M, et al. Programmed cell death ligand-1 (PD-L1) expression combined with CD8 tumor infiltrating lymphocytes density in non-small cell lung cancer patients[J]. *J Egypt Natl Canc Inst*, 2018, 30(4): 125-131. DOI: 10.1016/j.jnci.2018.08.003.
- [20] YANG H, SHI J, LIN D, et al. Prognostic value of PD-L1 expression in combination with CD8<sup>+</sup> TILs density in patients with surgically resected non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Med*, 2018, 7(1): 32-45. DOI: 10.1002/cam4.1243.
- [21] FUMET J D, RICHARD C, LEDYS F, et al. Prognostic and predictive role of CD8 and PD-L1 determination in lung tumor tissue of patients under anti-PD-1 therapy[J]. *Br J Cancer*, 2018, 119(8): 950-960. DOI: 10.1038/s41416-018-0220-9.
- [22] CRISTESCU R, MOGG R, AYERS M, et al. Pan-tumor genomic biomarkers for PD-1 checkpoint blockade-based immunotherapy[J]. *Science*, 2018, 362(6411): eaar3593. DOI: 10.1126/science.aar3593.
- [23] RICHARD C, FUMET J D, CHEVRIER S, et al. Exome analysis reveals genomic markers associated with better efficacy of nivolumab in lung cancer patients[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(3): 1940. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-1940.
- [24] BADAWY A A. Kynurenine pathway of tryptophan metabolism: regulatory and functional aspects[J]. *Int J Tryptophan Res*, 2017, 10: 1-20. DOI: 10.1177/1178646917691938.
- [25] HOLMGAARD R B, ZAMARIN D, LI Y, et al. Tumor-expressed IDO recruits and activates MDSCs in a Treg-dependent manner[J]. *Cell Rep*, 2015, 13(2): 412-424. DOI: 10.1016/j.celrep.2015.08.077.
- [26] ROUTY B, LE CHATELIER E, DEROSA L, et al. Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors[J]. *Science*, 2018, 359(6371): 91-97. DOI: 10.1126/science.aan3706.
- [27] GOPALAKRISHNAN V, SPENCER CN, NEZI L, et al. Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients[J]. *Science*, 2018, 359(6371): 97-103. DOI: 10.1126/science.aan4236.
- [28] MATSON V, FESSLER J, BAO R, et al. The commensal microbiome is associated with anti-PD-1 efficacy in metastatic melanoma patients[J]. *Science*, 2018, 359(6371): 104-108. DOI: 10.1126/science.aao3290.
- [29] CHEN G, HUANG AC, ZHANG W, et al. Exosomal PD-L1 contributes to immunosuppression and is associated with anti-PD-1 response[J]. *Nature*, 2018, 560(7718): 382-386. DOI: 10.1038/s41586-018-0392-8.
- [30] MAZEL M, JACOT W, PANTEL K, et al. Frequent expression of PD-L1 on circulating breast cancer cells[J]. *Mol Oncol*, 2015, 9(9): 1773-1782. DOI: 10.1016/j.molonc.2015.05.009.
- [31] YUE C, JIANG Y, LI P, et al. Dynamic change of PD-L1 expression on circulating tumor cells in advanced solid tumor patients undergoing PD-1 blockade therapy[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2018, 7(7): e1438111[2018-12-27]. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2018.1438111>. DOI: 10.1080/2162402X.2018.1438111.
- [32] SUN R, LIMKIN E J, VAKALOPOULOU M, et al. A radiomics approach to assess tumour-infiltrating CD8 cells and response to anti-PD-1 or anti-PD-L1 immunotherapy: an imaging biomarker, retrospective multicohort study[J]. *Lancet Oncol*, 2018, 19(9): 1180-1191. DOI: 10.1016/S1470-2045(18)30413-3.
- [33] BARRY K C, HSU J, BROZ M L, et al. A natural killer-dendritic cell axis defines checkpoint therapy-responsive tumor microenvironments[J]. *Nat Med*, 2018, 24(8): 1178-1191. DOI: 10.1038/s41591-018-0085-8.
- [34] KRIEG C, NOWICKA M, GUGLIETTA S, et al. High-dimensional single-cell analysis predicts response to anti-PD-1 immunotherapy [J]. *Nat Med*, 2018, 24(2): 144-153. DOI: 10.1038/nm.4466.
- [35] SIMONI Y, BECHT E, FEHLINGSE M, et al. Bystander CD8<sup>+</sup> T cells are abundant and phenotypically distinct in human tumour infiltrates[J]. *Nature*, 2018, 557(7706): 575-579. DOI: 10.1038/s41586-018-0130-2.
- [36] NI X, TAO J, BARBI J, et al. YAP Is Essential for Treg-mediated suppression of antitumor immunity[J]. *Cancer Discov*, 2018, 8(8): 1026-1043. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-17-1124.
- [37] CHEN G, HUANG A C, ZHANG W, et al. Exosomal PD-L1 contributes to immunosuppression and is associated with anti-PD-1 response[J]. *Nature*, 2018, 560(7718): 382-386. DOI: 10.1038/s41586-018-0392-8.
- [38] RAMALINGAM S, HUI R, GANDHI L, et al. P2.39: Long-term os for patients with advanced nscle enrolled in the keynote-001 study of pembrolizumab: track: immunotherapy[J]. *J Thorac Oncol*, 2016, 11(10S): S241-S242. DOI: 10.1016/j.jtho.2016.08.110.
- [39] GAINOR J F, SHAW A T, SEQUIST L V, et al. EGFR mutations and alk rearrangements are associated with low response rates to PD-1 pathway blockade in non-small cell lung cancer: a retrospective analysis[J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(18): 4585-4593. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-3101.
- [40] ZARETSKY J M, GARCIA-DIAZ A, SHIN D S, et al. Mutations associated with acquired resistance to PD-1 blockade in melanoma[J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(9): 819-829. DOI: 10.1056/NEJMoa1604958.
- [41] SHIN D S, ZARETSKY J M, ESCUIN-ORDINAS H, et al. Primary resistance to PD-1 blockade mediated by JAK1/2 mutations[J]. *Can-*

- cer Discov, 2017, 7(2): 188-201. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-16-1223.
- [42] LISTOPAD J J, KAMMERTOENS T, ANDERS K, et al. Fas expression by tumor stroma is required for cancer eradication[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110(6): 2276-81. DOI: 10.1073/pnas.1218295110.
- [43] KAMMERTOENS T, FRIESE C, ARINA A, et al. Tumour ischaemia by interferon- $\gamma$  resembles physiological blood vessel regression[J]. Nature, 2017, 545(7652): 98-102. DOI: 10.1038/nature22311.
- [44] KATO S, ROSS J S, GAY L, et al. Analysis of MDM2 amplification: next-generation sequencing of patients with diverse malignancies [J/OL]. JCO Precis Oncol, 2018, 2018: 00235[2018-12-27]. <https://ascopubs.org/doi/abs/10.1200/PO.17.00235>. DOI: 10.1200/PO.17.00235.
- [45] KATO S, GOODMAN A, WALAVALKAR V, et al. Hyperprogressors after immunotherapy: analysis of genomic alterations associated with accelerated growth rate[J]. Clin Cancer Res, 2017, 23(15): 4242-4250. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-3133.
- [46] SUN L, WANG Q, CHEN B, et al. Gastric cancer mesenchymal stem cells derived IL-8 induces PD-L1 expression in gastric cancer cells via STAT3/mTOR-c-Myc signal axis[J]. Cell Death Dis, 2018, 9(9):928. DOI: 10.1038/s41419-018-0988-9.

[收稿日期] 2019-01-05

[修回日期] 2019-03-23

[本文编辑] 黄静怡