

用于肿瘤治疗的免疫检查点抑制剂相关预测生物标志物的研究进展

郭蕊¹, 李小宁¹, 郝明炫¹, 梁有泮¹, 王磊¹, 杨昭^{1,2*}

1 北京化工大学 生命科学与技术学院 分子诊断技术创新研究中心, 北京 100029

2 塔里木大学 生命科学与技术学院 新疆生产建设兵团塔里木盆地生物资源保护利用重点实验室, 新疆 阿拉尔 843300

郭蕊, 李小宁, 郝明炫, 梁有泮, 王磊, 杨昭. 用于肿瘤治疗的免疫检查点抑制剂相关预测生物标志物的研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(4): 1403-1424.

GUO Rui, LI Xiaoning, HAO Mingxuan, LIANG Youfeng, WANG Lei, YANG Zhao. Advances in predictive biomarkers associated with immune checkpoint inhibitors for tumor therapy[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(4): 1403-1424.

摘 要: 恶性肿瘤是严重威胁人类健康和社会发展的疾病。传统的肿瘤治疗方法如手术、放疗、化疗和靶向治疗等不能完全满足临床治疗的需求, 新兴的免疫治疗成为了肿瘤治疗领域的研究热点。免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors, ICIs)作为一种肿瘤免疫治疗方法, 已获批用于治疗多种肿瘤, 如肺癌、肝癌、胃癌和结直肠癌等。然而, ICIs 在临床使用过程中, 只有少数患者会出现持久反应, 一些患者还会出现耐药和不良反应。因此, 预测生物标志物的鉴定和开发对提高 ICIs 的治疗效果至关重要。肿瘤 ICIs 预测生物标志物主要包括肿瘤生物标志物、肿瘤微环境生物标志物、循环相关生物标志物、宿主环境生物标志物以及组合生物标志物等, 对患者筛查、个体化治疗和预后评估具有重要意义。本文就肿瘤 ICIs 治疗预测生物标志物的前沿进展作一综述。

关键词: 肿瘤; 免疫治疗; 免疫检查点抑制剂; 预测标志物; 预后; 耐药

资助项目: 中央高校基本科研业务费(buctrc201910); 2021 年新疆科协青年人才托举工程项目; 京津冀基础研究合作专项[19JCZDJC65800(Z)]; 新疆生产建设兵团重点领域科技攻关计划(2022AB022)

This work was supported by the Fundamental Research Funds for the Central Universities, China (buctrc201910), the Young Elite Scientists Sponsorship Program by Xinjiang Association for Science and Technology (2021), Beijing-Tianjin-Hebei Basic Research Cooperation Special Project (19JCZDJC65800(Z)), and the Scientific and Technological Research Project of Xinjiang Production and Construction Corps, China (2022AB022).

*Corresponding author. Tel: +86-10-64421335, E-mail: yangzhao@mail.buct.edu.cn

Received: 2022-08-16; Accepted: 2022-10-25

Advances in predictive biomarkers associated with immune checkpoint inhibitors for tumor therapy

GUO Rui¹, LI Xiaoning¹, HAO Mingxuan¹, LIANG Youfeng¹, WANG Lei¹, YANG Zhao^{1,2*}

1 Innovation Center of Molecular Diagnostics, College of Life Science and Technology, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China

2 Key Laboratory of Protection and Utilization of Biological Resources in Tarim Basin of Xinjiang Production and Construction Corps, College of Life Science and Technology, Tarim University, Alar 843300, Xinjiang, China

Abstract: Malignant tumors are diseases that seriously threaten human health and social development. Traditional tumor therapies such as surgery, radiotherapy, chemotherapy and targeted therapy cannot fully meet the needs of clinical treatment, and emerging immunotherapy has become a research hotspot in the field of tumor treatment. Immune checkpoint inhibitors (ICIs) have been approved as a tumor immunotherapy method for the treatment of various tumors, such as lung cancer, liver cancer, stomach cancer and colorectal cancer, etc. However, during the clinical use of ICIs, only a small number of patients experienced durable responses, which also led to drug resistance and adverse reactions. Therefore, the identification and development of predictive biomarkers is crucial to improve the therapeutic efficacy of ICIs. The predictive biomarkers of tumor ICIs mainly include tumor biomarkers, tumor microenvironment biomarkers, circulation-related biomarkers, host environmental biomarkers and combinatorial biomarkers. They are of great significance for screening, individualized treatment and prognosis evaluation of tumor patients. This article reviews the advances of predictive markers for tumor ICIs therapy.

Keywords: tumor; immunotherapy; immune checkpoint inhibitors; predictive biomarkers; prognosis; drug resistance

肿瘤是机体细胞在致癌因素的长期作用下, 过度增生及异常分化而形成的一种赘生物, 在临床上常以肿块的形式出现。免疫监视、免疫平衡和免疫逃逸是肿瘤发生的 3 个主要过程, 细胞中的突变积累和宿主免疫能力降低是肿瘤发生的主要原因。免疫监视阶段指免疫系统识别、杀伤并清除体内突变肿瘤细胞。当肿瘤细胞在免疫监视的过程中存活下来, 但无法进展, 并与免疫细胞保持平衡时, 就会出现免疫平衡期。如果肿瘤细胞的持续变异能够打破这种平衡状态, 其将成功实现“逃逸”, 导致免疫系统丧失对肿瘤细胞生长的控制。

全球范围内, 恶性肿瘤是导致人类死亡的主要原因之一。世界卫生组织国际癌症研究机构

(WHO International Agency for Research on Cancer, IARC)全球肿瘤负担数据显示, 2020 年全球新发肿瘤病例 1 929 万例, 全球新增肿瘤死亡病例 996 万例^[1]。从早期的手术治疗到放化疗, 再到针对肿瘤分子遗传特性的靶向治疗, 多年来人类同肿瘤的斗争从未停止。而近些年逐渐兴起的肿瘤免疫治疗, 则是这场旷日持久战争中的重大突破。

肿瘤免疫治疗旨在激活人体免疫系统, 依靠自身免疫机能清除肿瘤细胞。1863 年, Rudolf Virchow 观察并描述了肿瘤组织中白细胞的浸润, 是第一个假设免疫系统与肿瘤之间存在联系的人^[2](图 1)。大约在同一时间, 另外 2 位德国医生 William Busch 和 Friedrich Fehleisen 注

意到, 在一些肿瘤患者中, 由于链球菌引起的丹毒感染, 使他们的肿瘤消退。1868年, Busch成为第一位通过用细菌感染患者来治疗肿瘤的医生。他用丹毒感染了一名无法手术的颈部软组织肉瘤患者, 并报告肿瘤明显缩小^[3]。1898年, 美国骨科医生 William B. Coley 意外地发现手术后感染酿脓链球菌病人的肿瘤出现了缓解, 并用类似的方法治好了 10 多名患者, 他也被称作“肿瘤免疫治疗之父”^[4]。1957年, 澳大利亚免疫学家 Burnet 提出的“免疫监视理论”, 也为免疫疗法治疗肿瘤提供了重要理论^[5]。

1992年, Tasuku Honjo 发现了免疫检查点共抑制程序性死亡受体 1 (programmed cell death protein 1, PD-1), 并揭示了 PD-1 是免疫反应的负调节因子。1994年, James P. Allison 发现, 通过阻断细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4

(cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4)信号转导通路, 可解除免疫系统中 T 细胞的抑制, 并大大增强 T 细胞的细胞毒性作用^[6]。该疗法由于并非针对某种特定细胞, 因此适用于各种肿瘤治疗, 这是免疫治疗发展历史中的又一个里程碑事件。Tasuku Honjo 和 James P. Allison 因此获得了 2018 年诺贝尔生理学奖。

1999年, 陈列平教授团队率先发现了 B7-H1 (后被称为 PD-L1)分子, 并证明它在肿瘤免疫逃逸过程中扮演了重要角色。2002年, 他们首次证明了通过阻断 PD-1 与程序性死亡配体 1 (programmed cell death ligand 1, PD-L1) 的结合, 能够增强免疫系统的抗肿瘤免疫反应^[7-8]。陈列平教授作为 PD-L1 的发现者, 开创了肿瘤免疫治疗的全新理念, 是肿瘤免疫治疗的先驱者。

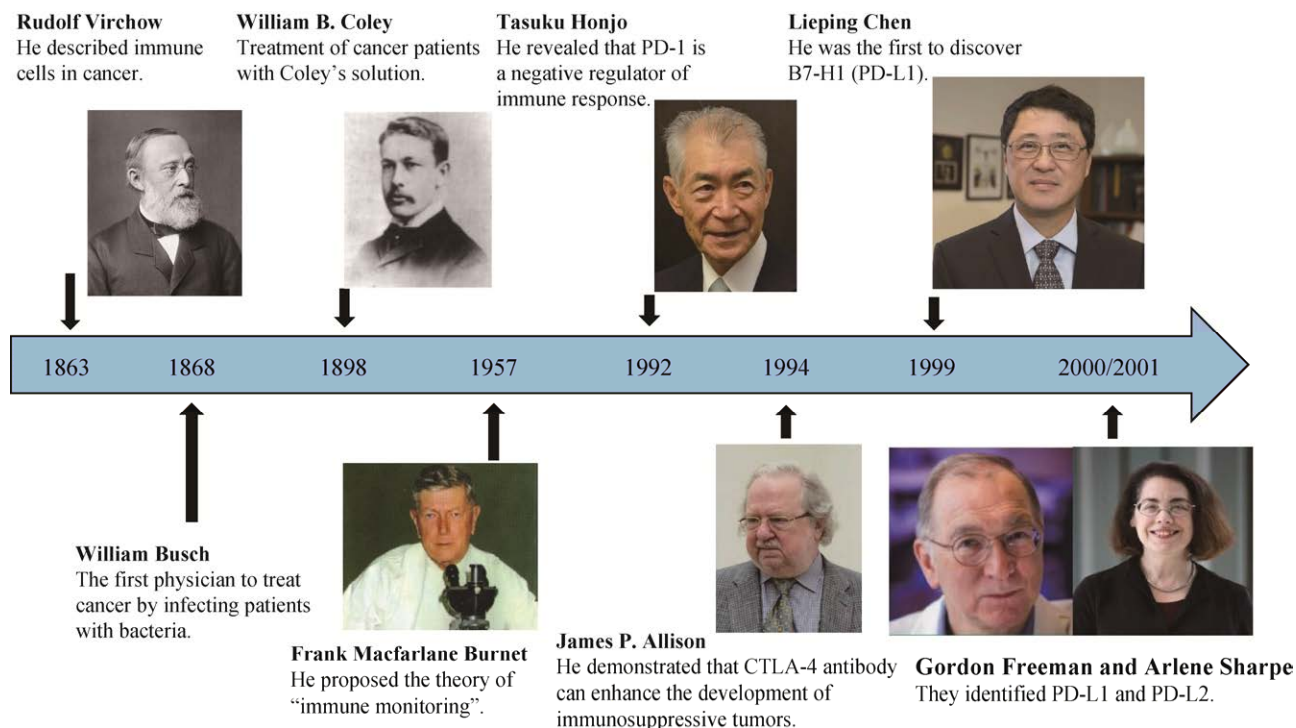


图 1 肿瘤免疫治疗发展的关键里程碑^[2-8]

Figure 1 Key milestones in tumor immunotherapy development^[2-8].

2000年和2001年, Arlene Sharpe和Gordon Freeman发现PD-1的天然配体(PD-L1和PD-L2)在一些肿瘤细胞中高表达, 这表明PD-1-PD-L1/PD-L2通路可能在肿瘤免疫逃逸系统中发挥作用^[8]。

自2011年美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准第一个靶向CTLA-4的单克隆抗体(即易普利姆玛)用于治疗转移性黑色素瘤以来^[9], 免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors, ICIs)的时代已经展开。紧随其后的是针对PD-1(帕博利珠和纳武利尤)和PD-L1(阿特珠、德瓦鲁和阿维鲁)的单克隆抗体的开发^[10]。ICIs的获批上市为越来越多的晚期恶性肿瘤患者带来了长期生存的希望, 但是ICIs的耐药仍然影响着患者的生存获益。ICIs的耐药机制可以是原发性的或先天性的, 也可以是继发性的或获得性的^[11]。引发耐药的原因包括新抗原丢失、替代免疫检查点的上调表达、干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)信号通路相关基因的缺失^[12]和肠道微生物组的失调等。

生物标志物是指可供客观测定和评价的一个普通生理或病理或治疗过程中的某种特征性的生化指标, 通过对它的测定可以获知机体当前所处的生物学过程。理论上应该具备高度的特异性、足够的灵敏度和稳定性、良好的重复性和便于取样等特点。预测生物标志物是用来识别肿瘤患者对特定免疫治疗方法产生反应或耐药性的生物标志物^[13-14]。近年来越来越多的人关注于肿瘤ICIs相关预测生物标志物的识别和开发, 本文总结了肿瘤ICIs多种预测标志物的最新进展, 主要包括肿瘤生物标志物、肿瘤微环境生物标志物、循环相关生物标志物、宿主环境生物标志物以及组合生物标志物等, 并且探讨了现有肿瘤ICIs预测标志物的局限性以及未来的发展趋势。

1 肿瘤生物标志物

1.1 蛋白生物标志物

PD-L1也称B7-H1或CD274, 是PD-1的第一个功能特征的配体, 由CD274基因编码。肿瘤细胞表面的PD-L1与T细胞上的受体PD-1相互作用, 抑制T细胞的激活, 引起T细胞的凋亡, 在免疫应答负性调控方面发挥重要作用。PD-L1有组成型表达和诱导型表达2种表达模式, 分别对应先天免疫反应和适应性免疫反应^[15]。在静息淋巴细胞、抗原呈递细胞、合胞滋养细胞和树状细胞中可以发现低水平的PD-L1组成型表达。在炎症或感染的情况下, PD-L1诱导型表达可作为造血细胞、内皮细胞和上皮细胞的抑制信号, 抑制T淋巴细胞的激活并发挥免疫抑制作用。组成型PD-L1的表达主要通过MAPK和PI3K/Akt途径调节, 诱导型PD-L1表达主要依赖于细胞外信号, 包括细胞因子、表皮生长因子和细胞外缺氧条件^[16]。

Park等^[17]在进行纳武利尤单抗或帕博利珠单抗治疗的70名非小细胞肺癌患者的临床试验中发现, PD-L1低表达组(SP263<30%, 22C3<80%)患者的疾病控制率(disease control rate, DCR)为24.1%, 中位无进展生存期(progression-free survival, PFS)为1.6个月; PD-L1高表达组患者(SP263 \geq 30%, 22C3 \geq 80%)的DCR为56.1%, 中位PFS为4.1个月。可见PD-L1高表达组患者的DCR ($P=0.028$)和PFS ($P=0.04$)显著高于PD-L1低表达组患者。此外, Herbst等^[18]研究探索了帕博利珠单抗后线治疗PD-L1 \geq 1%的晚期非小细胞肺癌患者的疗效, 结果显示, PD-L1 \geq 1%组3年PFS率为12.7%, 3年总生存(overall survival, OS)率为22.9%, 而PD-L1 \geq 50%组3年PFS率和OS率分别为21.9%和34.5%。

上述研究结果说明, PD-L1 的高表达能够较好地预测非小细胞肺癌患者接受 ICIs 治疗的效果, 即高表达 PD-L1 的非小细胞肺癌患者在 ICIs 治疗中会获得更大益处(表 1)。

1.2 核酸生物标志物

1.2.1 肿瘤突变负荷

肿瘤突变负荷(tumor mutational burden, TMB)指的是肿瘤基因组中体细胞突变的数量。TMB 是基于肿瘤突变特异性新抗原在肿瘤细胞表面主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)上呈现, 然后被肿瘤浸润 T 细胞识别^[19]。大量的体细胞突变会导致更多的新抗原出现在肿瘤细胞表面, 从而增加免疫原性, 免疫系统可以识别和攻击这些抗原^[20], 不同类型的肿瘤显示出不同的体细胞突变负荷^[21]。迄今为止, 非小细胞肺癌和黑色素瘤的突变频率最高^[22]。

在一项开放标签、随机、III 期试验中, 共招募了 1 739 名晚期非小细胞肺癌患者, 其中 139 名患者被分配到纳武利尤单抗加易普利姆玛单抗联合治疗组。结果显示, 低 TMB (<10 个突变/兆碱基)组中, 联合治疗组患者的中位 PFS 为 3.2 个月, 而在高 TMB (≥ 10 个突变/兆碱基)组中, 联合治疗组患者的中位 PFS 为 7.2 个月。可见高 TMB 的非小细胞肺癌患者接受 ICIs 治疗会有更长的 PFS^[23]。

另一项包括 1 662 名接受 ICIs 治疗的晚期黑色素瘤患者的临床和基因组数据分析显示, 在所有患者中, 较高的 TMB 与较好的 OS 相关 ($HR=0.52, P=1.6 \times 10^{-6}$)^[24]。

Wang 等^[25]招募了 54 名接受特瑞普利单抗治疗的晚期胃癌患者, 其中 TMB ≥ 12 个突变/兆碱基的患者定义为高 TMB, TMB<12 个突变/兆碱基的患者被定义为低 TMB。结果显示, 低 TMB 组的 PFS 为 1.9 个月, OS 为 1.0 个月。而

高 TMB 组的 PFS 为 2.5 个月, OS 为 14.6 个月。高 TMB 组的 PFS 在比低 TMB 组更长($HR=0.51, P=0.055$)。更重要的是, 与低 TMB 组相比, 高 TMB 组在 OS 方面表现出显著的生存优势 ($P=0.038$)。

综上所述, 在接受 ICIs 单药治疗非小细胞肺癌、黑色素瘤和胃癌的患者中, TMB 高的患者的疗效得到提高。另外, TMB 低的患者常被认为肿瘤新抗原产生较少, 不利于免疫细胞的激活和杀伤, 从而导致 ICIs 耐药的发生。因此, 高 TMB 可以作为非小细胞肺癌、黑色素瘤和胃癌患者接受 ICIs 治疗生存获益的预测标志物。

1.2.2 错配修复缺陷/高度微卫星不稳定

DNA 错配修复(DNA mismatch repair, MMR)系统广泛存在于从原核生物到真核生物的生物体中, 是细胞进化中高度保守的修复机制^[26]。在 DNA 复制过程中会出现碱基错配, 而 MMR 系统可以识别这些错配的碱基, 进行剪切, 合成新链进行修复。MMR 系统包括错配修复功能缺陷(mismatch repair-deficient, dMMR)和错配修复功能完整(mismatch repair-proficient, pMMR)。当 MMR 系统出现异常时, 就会引起 dMMR, 不能对微卫星复制错误进行识别和修复进而导致微卫星不稳定性(microsatellite instability, MSI)。如果 2 个或 2 个以上的重复被改变, 肿瘤被认为微卫星不稳定性高(microsatellite instability-high, MSI-H); 如果只发现一个突变序列, 肿瘤被认为是微卫星不稳定性低(microsatellite instability-low, MSI-L)。否则, 据说它具有微卫星稳定性(microsatellite stability, MSS)。在许多肿瘤中, dMMR 和 MSI-H 之间有很高的一致性(几乎为 90%–95%), 因此, 这 2 个术语几乎可以互换使用^[27]。

MSH2 缺失、MLH1 或 MSH2 突变、MLH1 甲基化失活和转录沉默会导致 Lynch 综合征

[28]。Lynch 综合征是一种常见的遗传性疾病，与多种肿瘤有关，尤其是结直肠癌和胃癌。此外，在多种肿瘤中发现 dMMR 和 MSI-H 增多导致肿瘤新抗原增多，可能对 ICIs 治疗有益[29]。

作为 KEYNOTE-016 试验的部分公布结果，41 名结直肠癌患者接受帕博利珠单抗治疗，其中包括 11 名 dMMR 的结直肠癌患者和 21 名 pMMR 的结直肠癌患者。结果显示，pMMR 的结直肠癌患者 PFS 率为 11%，中位 PFS 为 2.2 个月，中位 OS 为 5.0 个月，而 dMMR 的结直肠癌患者 PFS 率为 78%，未达到 PFS 和 OS[30]。

Janjigian 等[31]在 160 名接受 ICIs 治疗的晚期或转移性胃癌患者中发现，MSI-L 组或 MSS 组的客观缓解率(objective response rate, ORR)为 11%，而 MSI-H 组的 ORR 为 29%。

上述研究表明，dMMR 可以预测结直肠癌患者接受帕博利珠单抗治疗的敏感性，而 MSI-H 可以预测胃癌患者接受 ICIs 治疗敏感性。MSI-H/dMMR 比例低时，导致肿瘤相关抗原产生减少，可能会引起耐药。因此，MSI-H/dMMR 是结直肠癌和胃癌患者接受 ICIs 治疗的预测标志物。

1.2.3 表皮生长因子受体

表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)是一个酪氨酸激酶受体成员的 ERBB 家族[32]。EGFR 位于细胞表面，其与配体结合后，可激活 EGFR 细胞内区域的酪氨酸激酶。酪氨酸激酶通过催化细胞内底物蛋白的磷酸化，促进细胞生长、DNA 合成和肿瘤相关基因的表达[33]，诱导细胞分化和增殖。在许多肿瘤中，EGFR 会发生突变或过表达，在胶质细胞瘤的研究中发现 EGFR 的高表达主要与其基因扩增有关，但也与蛋白质翻译及翻译后修饰有关。

Haratani 等[34]评估了在 EGFR-TKI 治疗期

间疾病进展后接受了纳武利尤单抗治疗 25 名 EGFR 基因耐药突变(T790M)的非小细胞肺癌患者，结果显示，T790M 阴性和 T790M 阳性患者的中位 PFS 分别为 2.1 个月和 1.3 个月(HR=0.48, P=0.099)。Hastings 等[35]用 ICIs 治疗了 126 名最常见的 EGFR 基因突变(EGFR^{Δ19}和 EGFR^{L858R})患者，并将他们与 212 名 EGFR 野生型患者进行比较。研究人员发现，在 OS 获益方面，EGFR 野生型和 EGFR^{L858R}之间没有差异，而 EGFR^{Δ19}组的 OS 较短(分别为 P=0.069 和 P=0.03)。

这些数据表明，携带有 EGFR 突变的肿瘤患者，使用 ICIs 治疗的益处显著降低。因此，EGFR 突变是晚期非小细胞肺癌患者接受 ICIs 治疗不良预后的预测标志物。

1.2.4 KRAS

KRAS 是一种原癌基因，它是膜相关 G 蛋白 RAS 家族的成员，编码一种具有内在 GTPase 活性的蛋白质，参与多种细胞反应，包括增殖、细胞骨架重组和存活。KRAS 是酪氨酸激酶受体下游的信号转导因子，与 RAS/RAF/MAP 激酶信号通路、细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)和 RAS/MAPK 信号通路的激活有关。

KRAS 基因通常在非小细胞肺癌中发生突变。Dong 等[36]在 34 名晚期非小细胞肺癌患者接受了帕博利珠单抗治疗的试验中发现，KRAS 野生型组的 PFS 为 3.5 个月，而 KRAS 突变组的 PFS 为 14.7 个月，与接受帕博利珠治疗的野生型患者相比，KRAS 突变患者获得了显著延长的 PFS (P=0.012)。

综上所述，ICIs 作为一种挽救疗法在具有 KRAS 突变型的晚期非小细胞肺癌患者中显著延长了 OS，这表明 KRAS 突变状态是非小细胞肺癌患者接受 ICIs 治疗生存获益的预测标志物。

1.2.5 *STK11/KEAP1*

STK11 代表 AMP 活化蛋白激酶的关键上游激活剂,这是一种中央代谢传感器,参与不同细胞过程对细胞内能量变化的反应,包括调节葡萄糖、脂质代谢、细胞生长和稳态^[37]。*KEAP1* 是核因子红细胞 2 相关因子 2 的主要调节因子,在细胞对氧化应激的反应中起核心作用,调节大量基因的表达^[38]。

在大约 11%–27% 的非小细胞肺癌患者中发现 *KEAP1* 功能缺失突变。在大约 40%–47% 和 28% 的非小细胞肺癌患者中分别发现了 *KRAS* 或 *STK11* 的并发突变^[38–39]。Shang 等^[40] 招募了 598 名非鳞状非小细胞肺癌患者,其中有 304 名患者接受了阿特珠单抗治疗。结果显示,携带 *STK11/KEAP1* 突变的患者的 OS 均比野生型差($P < 0.05$)。

以上研究说明, *STK11/KEAP1* 突变是接受阿特珠单抗治疗的非鳞状非小细胞肺癌患者不良预后的预测标志物。

1.2.6 新抗原负荷

新抗原来源于体细胞突变,与 MHC-I 类结合,并在肿瘤细胞表面表达。新抗原赋予肿瘤高免疫原性并诱导抗肿瘤免疫反应。新抗原由肿瘤细胞释放并被专业的抗原呈递细胞捕获,然后靶向肿瘤特异性抗原的效应 T 细胞被激活。活化的 T 细胞迁移并渗入肿瘤,特异性识别肿瘤细胞上的抗原并杀死肿瘤细胞。免疫原性强的肿瘤细胞被清除,免疫原性弱的肿瘤细胞逃避免疫监视。

一项对 I 期/II 期和 III 期/IV 期肺癌样本的回顾性研究表明,高新抗原负荷(neoantigen load, NAL)与较长的 OS 相关($P = 0.025$)^[41]。Anagnostou 等^[42]在接受帕博利珠单抗治疗的非小细胞肺癌患者人群中发现,持续临床获益的患者 NAL 要明显高于非持续获益的患者。而对

治疗过程中出现耐药的患者研究发现,治疗前至耐药过程中将会丢失 7–18 个能产生有效应答的突变相关新抗原,取而代之的则是更复杂的新生突变,新生突变参与编码肿瘤抗原的比例下降(8% vs. 19%)且改变 T 细胞受体克隆性,从而导致 ICIs 耐药的产生。

另一项关于 201 名局部晚期或转移性尿路上皮癌患者接受了德瓦鲁单抗治疗的研究表明,具有较高 NAL 的患者表现出更好的 OS (HR=0.43)^[43]。

上述研究表明,高 NAL 与非小细胞肺癌和尿路上皮癌患者较长的 OS 和临床获益相关,对于非小细胞肺癌患者,低 NAL 会导致耐药的发生。因此,高 NAL 是非小细胞肺癌和尿路上皮癌患者接受 ICIs 治疗生存获益的预测标志物。

2 肿瘤微环境生物标志物

2.1 细胞生物标志物

肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocytes, TIL)是指从血液循环渗入肿瘤组织的淋巴细胞,主要由 T 细胞、B 细胞和自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)组成。肿瘤浸润 T 淋巴细胞是免疫治疗过程中最重要的效应细胞类型,其主要包括以下亚型: $CD8^+$ 细胞毒性 T 淋巴细胞、 $CD4^+$ T 辅助淋巴细胞(Th)、 $CD45RO^+$ 记忆 T 细胞(Tm)和 FOXP3⁺ 调节 T 细胞(Tregs)等。其中 $CD8^+$ T 淋巴细胞在抗肿瘤免疫中起到核心作用^[44]。不同时期激活的 TIL 具有不同的表型和异质性^[45]。当肿瘤组织中存在大量 TIL 时,表明机体启动了针对肿瘤的免疫反应。

一项临床试验关于接受纳武利尤治疗的 221 名非小细胞肺癌患者,其中高 TIL 计数的存在定义为 $\geq 10\%$ 密度,分析发现,在纳武利尤队列中,低 TIL 组中位 PFS 为 2.2 个月,中位 OS

为 8.4 个月, 而高 TIL 组中位 PFS 为 13.0 个月, 中位 OS 未达到^[46]。

Diem 等^[47]在接受易普利姆玛治疗的 9 名 III 期到 IV 期转移性黑色素瘤患者的临床试验中发现, 在淋巴结显示应答者和无应答者之间 TIL 的差异。所有应答者均显示淋巴结转移灶内有 CD3、CD4 和 CD8⁺ T 细胞浸润。无应答者的中位 PFS 为 3.3 个月, 中位 OS 为 8.2 个月, 而应答者中位 PFS 为 6.8 个月, 并且在最后一次随访仍然存活(中位随访时间为 41.8 个月)。淋巴结转移的 TIL 与较长的 PFS ($P=0.09$)和 OS ($P=0.08$)相关。Balatoni 等^[48]对来自 30 名接受易普利姆玛治疗的转移性黑色素瘤患者的手术组织样本进行分析。在单变量分析中, 发现 CD4⁺、CD8⁺、CD45RO⁺、FOXP3⁺和 CD16⁺细胞密度与 OS 显著相关($P=0.029\ 0$ 、 $P=0.009\ 3$ 、 $P=0.018\ 0$ 、 $P=0.008\ 3$ 和 $P=0.004\ 7$), 在多变量分析中, FOXP3⁺细胞的数量($P=0.016$)被证明是独立的预测因素。

因此, 具有较高 TIL 比例的非小细胞肺癌患者拥有较长的 PFS 和 OS, 即高比例 TIL 是非小细胞肺癌患者良好获益的预测标志物。而对于黑色素瘤患者, 数据表明 TIL 子集如 CD4⁺、CD8⁺、CD45RO⁺、FOXP3⁺和 CD16⁺细胞等可被视为接受易普利姆玛治疗的黑色素瘤患者的候选预测标志物。

2.2 蛋白生物标志物

2.2.1 淋巴细胞活化基因 3

淋巴细胞相关基因 3 (lymphocyte associated gene 3, LAG-3)是一种跨膜蛋白, 主要在活化的 T 细胞和 NK 细胞中表达。LAG-3 位于 T 细胞上。它与 CD4 具有结构同源性并结合其配体, 即具有更高亲和力的 MHC-II。此外, LAG-3 阻断导致 IFN- γ 、肿瘤坏死因子 α 和促炎白细胞介素的产生增加^[49]。

Gettinger 等^[50]通过分析对 PD-1 抑制剂获得性耐药的肺非小细胞肺癌患者的肿瘤标本, 发现了 8 名患者中有 5 名患者 LAG-3 的表达上调。因此, LAG-3 表达上调会影响非小细胞肺癌患者接受 ICIs 治疗的敏感性。

2.2.2 T 细胞免疫球蛋白和含有粘蛋白结构域 3

T 细胞免疫球蛋白和含有粘蛋白结构域 3 (T cells immunoglobulin domain and mucin domain protein-3, TIM-3)在多种免疫细胞上表达。TIM-3 最初被发现表达于 Th1 细胞表面, 作为负调节因子与配体半乳糖凝集素 9 (galectin-9, Gal-9)结合, 介导 Th1 细胞凋亡。TIM-3 与 PD-1/PD-L1 阻断、逆转 T 细胞耗竭和改善抗肿瘤免疫反应可能有协同作用^[51]。

有研究发现, TIM-3 在用抗 PD-1 治疗产生耐药性的 T 细胞中高表达, 证实了抗 PD-1 治疗发生耐药的主要机制是选择性激活新的免疫检查点 TIM-3 从而导致免疫逃逸^[52]。Limagne 等^[53]已经证明了 TIM-3/Gal-9 和其他免疫检查点蛋白的上调是非小细胞肺癌患者对抗 PD-1 治疗产生耐药性的潜在机制。

2.2.3 T 细胞免疫球蛋白和 ITIM 结构域

T 细胞免疫球蛋白和 ITIM (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif) 结构域蛋白 (T cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains, TIGIT) 能够通过和肿瘤细胞和抗原呈递细胞上的配体 CD155 结合来抑制 T 细胞和 NK 细胞, 同时 TIGIT 的表达与 PD-1 表达密切相关, 在临床中显示出了 TIGIT 阻断与 PD-L1 阻断的协同作用^[54]。

Zhang 等^[55]证明, 阻断 TIGIT 能改善接受抗 PD-1 治疗荷瘤小鼠的疗效, 这提示 TIGIT 表达的上调可能是对 ICIs 治疗产生耐药性的机制之一。Kawashima 等^[56]在接受 ICIs 治疗的黑色素瘤患者中发现, TIGIT/CD155 轴可介导对

ICIs 的耐药性。因此, TIGIT 阻断剂可能是黑色素瘤患者接受 ICIs 治疗耐药的潜在候选药物。

2.2.4 T 细胞活化的 V 域免疫球蛋白抑制因子

T 细胞活化的 V 域免疫球蛋白抑制因子(V-domain immunoglobulin inhibitor of T cell activation, VISTA)主要在髓源性抑制细胞和抗原呈递细胞上表达, 并下调 T 细胞活化^[57]。值得注意的是, VISTA 阻断剂似乎抑制了调节性 T 细胞免疫抑制功能^[58]。

有研究证实, VISTA 的高表达是胰腺癌对现有的 ICIs 不敏感的主要原因^[59]。Kakavand 等^[60]收集了 34 份转移性黑色素瘤活组织样本, 在获得性免疫检查点抑制剂治疗耐药患者中, 他们观察到肿瘤内 VISTA⁺淋巴细胞表达增加, 这表明 VISTA 表达上调可能是耐药形成的重要机制。

2.2.5 IFN- γ

IFN- γ 信号通路在免疫监视中是一把双刃剑。一方面, CD8⁺ T 细胞通过分泌 IFN- γ 抑制肿瘤细胞增殖并增强免疫活性。另一方面, T 细胞衍生的 IFN- γ 上调肿瘤细胞上的 PD-L1 表达, 作为保护肿瘤细胞免受免疫监视攻击的屏障^[61]。由 IFN- γ 驱动上调的 PD-L1 是潜在的肿瘤杀伤活化的标志, 通常认为 IFN- γ 表达预测抗 PD-1/PD-L1 疗法的有利免疫微环境^[62]。

在一项回顾性分析中, 评估了 17 名接受了纳武利尤单抗治疗的非小细胞肺癌患者和 21 名接受了帕博利珠单抗治疗的黑色素瘤患者。在非小细胞肺癌患者中, IFN- γ 低表达患者的 PFS 为 2.0 个月, IFN- γ 高表达患者的 PFS 为 5.1 个月 ($P=0.0124$)。同样地, 在黑色素瘤患者中, 与低表达 IFN- γ 的患者(1.9 个月)相比, 高表达 IFN- γ 的患者有较长的 PFS (5.1 个月, $P=0.0099$)^[63]。

IFN- γ 通路在原发、适应及获得性耐药中均起到作用, 且对抗肿瘤免疫应答有双向作用。

Gao 等^[64]评估了 16 名接受易普利姆玛单抗治疗的黑色素瘤患者的 IFN- γ 信号通路相关基因的突变情况, 其中 12 名患者对治疗无反应。结果显示, 对易普利姆玛无反应的转移性黑色素瘤患者携带 IFN- γ 信号通路相关基因(*IFNGR1*、*IFNGR2*、*JAK2* 和 *IRF-1*)的缺失。

上述研究表明, 在非小细胞肺癌和黑色素瘤患者中, IFN- γ 高表达的患者有较长的 PFS, 说明 IFN- γ 表达上调可以预测患者接受 ICIs 治疗的敏感性。而 IFN- γ 信号通路相关基因缺失是引发 ICIs 治疗的重要耐药机制。因此 IFN- γ 信号通路相关基因缺失也是预测患者 ICIs 治疗耐药的潜在生物标志物。

3 循环相关生物标志物

3.1 细胞生物标志物

3.1.1 中性粒细胞-淋巴细胞比值

中性粒细胞可作为促肿瘤白细胞, 能够刺激和抑制肿瘤发生抗肿瘤免疫反应, 参与转移级联, 是血管生成的效应物, 促进肿瘤细胞和内皮细胞渗漏到循环中, 因此有助于将炎症反应重新导向肿瘤促进方向^[65]。淋巴细胞对新生肿瘤细胞的免疫监视和破坏至关重要, 因此具有抗肿瘤作用。中性粒细胞-淋巴细胞比值(neutrophil-lymphocyte ratio, NLR)可以反映炎症通路激活与抗肿瘤免疫功能之间的平衡, 并且 NLR 的比例升高已被认为是各种肿瘤的不良预后指标^[66]。

Ferrucci 等^[67]招募了使用 3 mg/kg 易普利姆玛单抗治疗的 720 名晚期黑色素瘤患者, 结果显示, NLR ≥ 3 的患者的 1 年和 2 年 OS 率分别为 2%和 0%, 而 NLR 较低的患者的 1 年和 2 年 OS 率分别为 43%和 24%。另一项临床试验包括了 103 名晚期肝细胞癌患者。其中 66 名(64%)患者在一线接受了纳武利尤单抗治疗。结果显

示, NLR \geq 5 的患者 PFS 为 5 个月, 而 NLR $<$ 5 的患者 PFS 为 35 个月($P=0.001$)。与 NLR \geq 5 的患者相比, 纳武利尤单抗治疗后 NLR $<$ 5 的患者 OS 显著改善。高 NLR 的组合与死亡风险增加 8 倍相关($HR=8.3, P<0.001$)^[68]。Bilen 等^[69]在一项接受纳武利尤单抗治疗的 38 名转移性肾细胞癌患者的临床试验中发现, 低 NLR 与 PFS ($HR=0.20, P=0.006$)和 OS ($HR=0.06, P=0.012$) 延长显著相关。

上述研究表明, 在黑色素瘤、肝细胞癌和肾细胞癌患者中, NLR 升高是接受 ICIs 治疗的患者 OS 缩短的不良预后。因此, 高 NLR 是黑色素瘤、肝细胞癌和肾细胞癌患者在 ICIs 治疗中预后较差的预测标志物。

3.1.2 血小板-淋巴细胞比值

增加的血小板可以通过增加肿瘤的血管生成和产生粘附分子来进一步支持肿瘤进展^[70]。淋巴细胞也在抗肿瘤免疫中发挥作用, 并释放细胞因子, 赋予抗肿瘤免疫。血小板-淋巴细胞比值(platelet-lymphocyte ratio, PLR)升高与多种肿瘤患者的不良预后有关。

在一项包含有 187 名非小细胞肺癌患者接受纳武利尤单抗治疗的临床试验中, Russo 等^[71]发现, PLR \leq 200 与更长的 PFS ($P=0.0267$)和 OS ($P=0.05$)相关。即接受过治疗且治疗前 PLR 水平较高的非小细胞肺癌患者使用纳武利尤单抗可能会出现较差的结果。

因此, 较高水平的 PLR 是非小细胞肺癌患者接受纳武利尤单抗治疗不良预后的预测标志物。

3.1.3 循环肿瘤细胞

循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTC)是从原发性肿瘤脱落并在血液中循环的细胞, 它们的转移和继发性肿瘤的形成密切相关。因此, 通过 CTC 调节肿瘤转移可能是一种新的抗

肿瘤策略。

Khattak 等^[72]招募了 40 名接受帕博利珠单抗治疗的转移性黑色素瘤患者。在可检测到 CTC 的 25 名患者中, PD-L1 阴性 CTC 组与 PD-L1 阳性 CTC 组的 12 个月的 PFS 率分别为 22%和 76% ($P=0.012$)。PD-L1 阳性 CTC 的患者的 PFS 显著延长(26.6 个月对 5.5 个月, $P=0.018$)。

因此, PD-L1 阳性 CTC 可以预测黑色素瘤患者接受帕博利珠单抗治疗时的敏感性。

3.1.4 骨髓源性抑制细胞

骨髓源性抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)是一组高度异质性的细胞, 来源于未成熟骨髓祖细胞, 通常分为 2 个亚群: 多形核 MDSCs (polymorphous nucleus-MDSCs, PMN-MDSCs)和单核细胞 MDSCs (monocyte-MDSCs, M-MDSCs)^[73]。目前的研究表明, MDSCs 不仅参与控制抗肿瘤免疫反应, 还通过促进肿瘤血管生成、肿瘤细胞侵袭和转移前生态位形成参与肿瘤进展。

Kitano 等^[74]招募了接受易普利姆玛单抗治疗的 83 名黑色素瘤患者, 以 14.9%的 M-MDSCs 为临界值, 其中 68 名 M-MDSCs 频率 $<$ 14.9%的患者与较长的 OS 相关($HR=0.38, P=0.005$)。Passaro 等^[75]招募了 53 名接受纳武利尤单抗治疗的晚期非小细胞肺癌患者。结果显示, 与基线数据较低的患者相比, 基线 PMN-MDSCs (≥ 6 细胞/ μ L)值较高的患者的 OS 率显著提高。

综上所述, M-MDSCs 的数量会对黑色素瘤患者的反应发生率和存活率产生负面影响。而对于非小细胞肺癌患者, PMN-MDSCs 的高基线水平与更好的 OS 相关。因此, M-MDSCs 和 PMN-MDSCs 可以分别作为黑色素瘤患者和晚

期非小细胞肺癌患者的预测标志物。

3.2 蛋白生物标志物

3.2.1 乳酸脱氢酶

肿瘤细胞的代谢向高糖摄取和乳酸生成的方向转移。乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)由 LDH-A 和 LDH-B 两个主要亚基组成,对丙酮酸转化为乳酸或乳酸转化为丙酮酸进行可逆催化。LDH-A 对丙酮酸有较高的亲和力,是糖酵解途径中的关键酶。LDH 水平升高会促进肿瘤侵袭和转移。

Diem 等^[76]评估了 66 名接受纳武利尤单抗或帕博利珠单抗治疗的晚期或转移性黑色素瘤患者,结果显示,基线 LDH 升高的患者的 6 个月 OS 率为 60.8%, 12 个月 OS 率为 44.2%; 基线 LDH 正常的患者 6 个月 OS 率为 81.6%, 12 个月 OS 率为 71.5%, 基线 LDH 升高的患者的 OS 显著短于基线 LDH 正常的患者($P=0.0292$)。在对 1 136 名非小细胞肺癌患者接受 ICIs 治疗的荟萃分析中, Zhang 等^[77]研究表明,即治疗前 LDH 水平升高与较差的 PFS ($HR=1.62$, $P<0.001$)和 OS ($HR=2.38$, $P=0.002$)相关。

上述研究说明,基线 LDH 是 OS 的预测因素。总而言之,基线血清 LDH 升高通常是晚期黑色素瘤和非小细胞肺癌患者使用单抗治疗不良预后和缩短 OS 的独立因素。

3.2.2 白细胞介素-6

白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)是一种多效性促炎细胞因子,它的失调与慢性炎症和多因素自身免疫疾病有关。它与其受体 IL-6R 和糖蛋白 130(IL-6/IL-6R/gp130)组成六聚体复合物,该复合物通过激活 JAK/STAT3、Ras/MAPK 和 PI3K PKB/Akt 等信号通路,招募 CD4+ T 细胞并促进血管内皮生长因子的表达,从而导致肿瘤的发生^[78]。

Keegan 等^[79]在 47 名接受抗 PD-1 治疗的转

移性非小细胞肺癌患者的临床试验中发现,IL-6 水平增加的患者 PFS 为 4 个月,而 IL-6 水平降低的患者 PFS 为 11 个月,可见 IL-6 水平降低与较长的 PFS 相关($HR=0.45$, $P=0.04$)。另一项研究关于 125 名非小细胞肺癌患者接受 PD-1/PD-L1 抑制剂,结果显示,低 IL-6 组的中位 PFS 显著长于高 IL-6 组(6.3 个月对 1.9 个月, $P<0.001$),低 IL-6 组的中位 OS 显著长于高 IL-6 组(未达到对 4 个月)^[80]。

因此,升高的血清 IL-6 是非小细胞肺癌患者 OS 和 PFS 缩短的不良预后。IL-6 水平是预测 ICIs 在非小细胞肺癌患者中的疗效和生存获益的预测标志物。

3.2.3 白细胞介素-8

白细胞介素-8 (interleukin-8, IL-8)是 CXC 趋化因子家族的成员,对中性粒细胞趋化性很重要^[81-82]。IL-8 由多种肿瘤类型的肿瘤细胞和肿瘤基质细胞分泌,通过直接影响肿瘤干细胞和肿瘤内皮细胞,或间接招募和调节肿瘤相关的髓源性抑制细胞^[83-84],促进肿瘤发生。

Sanmamed 等^[85]招募了 15 名接受易普利姆玛加纳武利尤治疗的转移性黑色素瘤患者和 19 名接受纳武利尤或帕博利珠治疗的转移性非小细胞肺癌患者。结果显示,血清 IL-8 水平较低的黑色素瘤或非小细胞肺癌患者的 OS 明显长于血清 IL-8 水平较高的患者。此外, Yuen 等^[81]在 1 445 名接受阿特珠单抗治疗的尿路上皮癌和肾细胞癌患者的临床试验中发现,血浆 IL-8 的高基线水平与阿特珠单抗治疗尿路上皮癌和肾细胞癌的疗效降低和预后不良显著相关,治疗期间血浆 IL-8 水平的降低与尿路上皮癌患者的 OS 改善相关。

上述研究说明,血清 IL-8 水平的变化可用于预测黑色素瘤和非小细胞肺癌患者接受 ICIs 治疗的临床益处。另外,对于接受阿特珠单抗

治疗的尿路上皮癌和肾细胞癌患者, IL-8 水平升高的患者预后较差。

3.3 核酸生物标志物

3.3.1 循环肿瘤 DNA

循环肿瘤 DNA (circulating tumor DNA, ctDNA) 通常指患者血液中来自肿瘤细胞的无细胞 DNA 部分 (cell-free DNA, cfDNA), 是肿瘤细胞凋亡、坏死或分泌产生的 DNA 片段。ctDNA 通常在肿瘤患者中处于较高水平, 并且包含一些特定于肿瘤细胞的基因改变。与肿瘤组织难以获得且异质性相比, ctDNA 更容易从外周血中获得, 更均匀, 更能反映肿瘤的发生和发展。ctDNA 作为液体活检的一种, 可以克服组织活检中肿瘤异质性带来的缺陷, 使检测更加全面。因此, ctDNA 检测可用于肿瘤的早期诊断^[86]。

Ricciuti 等^[87]在接受一线帕博利珠单抗治疗的 62 名晚期非小细胞肺癌患者临床试验中发现, ctDNA 水平升高的患者中位 OS 为 14.8 个月, 而 ctDNA 水平减少的患者中位 OS 为 26.2 个月 ($P=0.048$)。Lee 等^[88]在招募了 86 名转移性黑色素瘤患者, 其中 50 名患者单独接受 PD-1 抑制剂治疗。结果显示, 在 PD-1 抑制剂治疗期间, ctDNA 持续升高的黑色素瘤患者表现出更差的反应和更短的 PFS 和 OS。

上述研究说明, 治疗中 ctDNA 持续升高的非小细胞肺癌患者和黑色素瘤患者预后较差, ctDNA 升高可以作为非小细胞肺癌和黑色素瘤患者接受 ICIs 治疗不良预后的预测标志物。

3.3.2 MicroRNA

MicroRNA (miRNA) 属于一类小的非编码 RNA, 在转录后水平调节基因表达。miRNA 与细胞信使 RNA 相互作用, 并且在几乎所有人类恶性肿瘤中都严重失调。大多数 miRNA 靶向信使 RNA 的 3' 非翻译区, 目标 RNA 的调节取决

于 miRNA 与其目标之间的碱基配对。完美结合会诱导靶 RNA 的切割, 而不完美的碱基配对则会引发多聚腺苷酸化或翻译抑制。根据肿瘤类型, miRNA 可以作为癌基因或肿瘤抑制因子发挥多种作用来调节肿瘤的发展和扩散^[89]。

鉴于 miRNA 已被广泛研究为包括黑色素瘤在内的多种肿瘤的生物标志物^[90], 一项临床试验表明, 血浆中 let-7e、miR-99b、miR-125a、miR-125b 和 miR-146b 等 5 种 miRNA 的检测水平可以作为黑色素瘤患者对易普利姆玛单抗和纳武利尤单抗反应的预测标志物^[91]。

值得注意的是, 在接受易普利姆玛单抗和纳武利尤单抗治疗的黑色素瘤患者中发现 miRNA 簇的更高表达与更短的 PFS 和 OS 有关。上述发现说明了高表达 miRNA 是黑色素瘤患者接受 ICIs 治疗预后较差的预测标志物。

4 宿主环境生物标志物

4.1 肠道微生物组

人类肠道微生物组是一个复杂的生态系统。肠道微生物组的组成和功能很容易受到外部因素的影响, 如压力、生活方式以及抗生素和非抗生素等药物。微生物组可通过释放可破坏宿主 DNA 的基因毒素来诱导致癌作用^[92]。肠道细菌的主要门是厚壁菌门和拟杆菌门^[93]。共生微生物群在免疫反应中起着关键作用, 肠道细菌与人类对 ICIs 治疗反应的改善显著相关^[94]。

Chaput 等^[95]招募了 26 名接受易普利姆玛治疗的黑色素瘤患者。与微生物群由拟杆菌属驱动的患者相比, 微生物群富含粪杆菌属和其他厚壁菌门的患者的 PFS ($P=0.003$) 和 OS ($P=0.051$) 更长。Sivan 等^[96]在关于恶性黑色素瘤小鼠口服长、短双歧杆菌混合物的研究发现, 肠道中双歧杆菌属有利于 PD-L1 抑制剂的抗肿瘤效果。Routy 等^[94]发现, 服用抗生素的肿瘤

患者的 OS 缩短,通过对非小细胞肺癌和肾细胞癌患者的肠道菌群进行取样分析,发现对抗 PD-1 疗法治疗不敏感患者的体内缺乏嗜黏蛋白阿克曼菌。

上述研究结果表明,肠道微生物组可以调节黑色素瘤患者接受免疫治疗的反应,而对 ICI 的原发性耐药可归于肠道微生物组的失调,抗生素抑制了 ICI 在晚期恶性肿瘤患者中的临床益处。因此,肠道微生物组可以作为黑色素瘤患者接受 ICI 治疗有益的预测标志物,而肠道微生物组的失调在预测 ICI 治疗的耐药性方面有一定潜在优势。

4.2 人类白细胞抗原-I

人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)在体细胞和免疫细胞上均有表达。与 ICI 治疗肿瘤相关的 HLA 类型主要是 HLA-I 类分子,包括 HLA-A、HLA-B 和 HLA-C 三类。HLA-I 在有核细胞上表达,包括体细胞、肿瘤细胞和免疫细胞,并呈递细胞肽以激活 CD8⁺ T 细胞。

Abed 等^[97]收集了 170 名接受 PD-1/PD-L1 抑制剂治疗的晚期非小细胞肺癌患者的血液。从白细胞中提取基因组 DNA 并用于 HLA-I 高分辨率分型。结果显示,与在所有 HLA-I 位点为杂合子的患者相比,接受 ICI 治疗且在一个或多个 HLA-I 位点为纯合子的非小细胞肺癌患者的 OS 降低(HR=1.96, P=0.04)。Wang 等^[98]招募了 69 名接受 ICI 治疗的晚期食管鳞状细胞癌患者。其中 11 名(15.9%)患者存在 HLA-I 纯合性,58 名(84.1%)患者存在 HLA-I 杂合性。结果显示,HLA-I 纯合子患者的 ORR 为 0,中位 PFS 为 1.8 个月,中位 OS 为 5.6 个月。而 HLA-I 杂合子患者的 ORR 为 27.6%,中位 PFS 为 2.4 个月,中位 OS 为 10.5 个月。可见 HLA-I 纯合子患者的 PFS (P=0.010)和 OS (P=0.004)显著缩短。

总之,HLA-I 纯合性与接受 ICI 治疗的晚期非小细胞肺癌和晚期食管鳞状细胞癌患者更差的临床结果相关。HLA-I 纯合性是非小细胞肺癌和食管鳞状细胞癌患者接受 ICI 治疗不良预后的预测标志物。

5 组合生物标志物

人体免疫系统的复杂性和动态变化给 ICI 治疗相关生物标志物的发展带来巨大的挑战,单一的标志物可能不足以预测所有患者接受 ICI 治疗的整体反应,结合 2 种或多种生物标志物的策略可以优化预测 ICI 治疗疗效。

一项关于 163 名非小细胞肺癌患者接受 PD-L1 抑制剂治疗的研究显示,同时具有高 TIL 密度和高 PD-L1 表达的患者 ORR 阳性预测值最高,PFS 最长^[99]。Cristescu 等^[100]在一项肿瘤患者接受帕博利珠单抗治疗的研究中发现,高 PD-L1 表达和高 TMB 的患者中具有更高的 ORR 以及更长的 PFS。Yu 等^[101]在接受 ICI 治疗的非小细胞肺癌患者中进一步证明,与单一生物标志物或 2 种生物标志物相比,3 种预测标志物 CD8⁺ TIL、PD-L1 表达和 TMB 的综合变量与改善 OS 和 PFS 相关。

上述研究表明,与单一生物标志物相比,现有生物标志物的组合对肿瘤患者接受 ICI 治疗有更好的预测能力。

6 总结与展望

近 30 年,肿瘤免疫治疗取得了显著进展,多种单一治疗和联合治疗方案在许多实体和血液系统恶性肿瘤中显示出令人印象深刻的临床效益。本文就生物标志物应用于不同肿瘤患者接受 ICI 治疗的预测结果进行了深入分析(表 1)。PD-L1、TMB 和 MSI/dMMR 是目前广泛用于 ICI 治疗的预测生物标志物,且已获

表 1 免疫检查点抑制剂预测生物标志物

Table 1 Predictive biomarkers associated with immune checkpoint inhibitors

Type of marker	Marker	Target	Association with clinical outcome	Cancer type	Tissue type for marker assessment	References	
Tumor biomarkers	PD-L1 (high)	PD-1	Positive	NSCLC	Tumor cells	[17-18]	
	TMB (high)	PD-1, CTLA-4	Positive	NSCLC, melanoma, GC		[23-25]	
	MSI-H/dMMR	PD-1, CTLA-4	Positive	CRC, GC		[30-31]	
	<i>EGFR</i> (mutation)	PD-1, PD-L1	Negative	NSCLC		[34-35]	
	<i>KARS</i> (mutation)	PD-1	Positive	NSCLC		[36]	
	<i>STK11/KEAP1</i> (mutation)	PD-L1	Negative	NSCLC		[40]	
	NAL (high)	PD-1, PD-L1	Positive	NSCLC, UC		[41-43]	
Tumor microenvironment biomarkers	TIL (CD4 ⁺ , CD8 ⁺ , CD45RO ⁺ , FOXP3 ⁺ , CD16 ⁺)	PD-1, CTLA-4	Positive	NSCLC, melanoma	Tumor or immune cells	[46-48]	
	LAG-3 (high)	PD-1	Negative	NSCLC		[50]	
	TIM-3 (high)	PD-1	Negative	NSCLC		[52-53]	
	TIGIT (high)	PD-L1, PD-1, CTLA-4	Negative	Melanoma		[55-56]	
	VISTA (high)	PD-1	Negative	PC, melanoma		[59-60]	
	IFN- γ	PD-1, PD-L1	Positive	NSCLC, melanoma		[63-64]	
	Circulation-related biomarkers	NLR (high)	PD-1, CTLA-4	Negative		Melanoma, HCC, RCC	Blood
PLR (high)		PD-1	Negative	NSCLC	[71]		
PD-L1 ⁺ CTC		PD-1	Positive	Melanoma	[72]		
M-MDSC (high)		CTLA-4	Negative	Melanoma	[74]		
PMN-MDSC (high)		PD-1	Positive	NSCLC	[75]		
LDH (high)		PD-1, PD-L1, CTLA-4,	Negative	Melanoma, NSCLC	[76-77]		
IL-6 (high)		PD-1, PD-L1	Negative	NSCLC	[79-80]		
IL-8 (high)		PD-1, PD-L1, CTLA-4	Negative	Melanoma, NSCLC, UC, RCC	[81,85]		
ctDNA (high)		PD-1	Negative	Melanoma, NSCLC	[87,88]		
miRNA (high)		CTLA-4, PD-1	Negative	Melanoma	[91]		
Host environmental biomarkers	<i>Faecalibacterium</i> , Firmicutes	CTLA-4	Positive	Melanoma	Gut	[94-96]	
	HLA-I homozygote	PD-1	Negative	NSCLC, ESCC		Blood	[97]
	HLA-I heterozygotes		Positive			[98]	

NSCLC: Non-small cell lung cancer; HCC: Hepatocellular carcinoma; CRC: Colorectal cancer; GC: Gastric cancer; UC: Urothelial carcinoma; PC: Pancreatic cancer; RCC: Renal cell carcinoma; ESCC: Esophageal squamous cell carcinoma.

FDA 批准为肿瘤免疫治疗的靶点。基因突变在 ICI 治疗全过程的评估和监测中显示出巨大的

潜力，还需要不断探索；关于肿瘤微环境和宿主环境相关生物标志物的探索仍有许多未知，

需要从更深层的分子角度来理解。另外,在临床实践中人们希望探索更简单可行的预测手段。例如,在 ICIs 治疗的疗效评估和监测的整个过程中,充分发挥 ctDNA 等液体活检的潜力。因此基于外周血生物标志物预测 ICIs 治疗效果是一个潜在的发展方向。

对于 2 种或多种生物标志物的组合,较单一生物标志物而言,可以更有效地预测 ICIs 治疗效果。然而,虽然 ICIs 治疗具有独特的优势,但是单药治疗耐药已成为不可回避的问题。TMB、MSI-H/dMMR 和 NAL 表达的下降,替代免疫检查点(LAG-3、TIM-3、TIGIT、VISTA)表达的上调,IFN- γ 信号通路相关基因的缺失以及肠道微生物组的失调都会引发 ICIs 治疗的耐药性。解决 ICIs 治疗耐药问题仍是研究热点,未来需要将 ICIs 耐药治疗管理体系系统化,实施合理的耐药监测方案。

综上所述,为了进一步提高肿瘤 ICIs 治疗的效果,亟需开发新型有效的预测标志物。理想的预测标志物应具有高特异性、高灵敏度、良好的稳定性和重复性以及便于取样等特点,这需要开展更多关于 ICIs 治疗预测生物标志物的临床试验去发现和验证。

REFERENCES

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL RL, LAVERSANNE M, SOERJOMATARAM I, JEMAL A, BRAY F. Global cancer statistics 2020: globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA: a Cancer Journal for Clinicians*, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] HAJDU SI. A note from history: Rudolph Virchow, pathologist, armed revolutionist, politician, and anthropologist[J]. *Annals of Clinical and Laboratory Science*, 2005, 35(2): 203-205.
- [3] KOO SL, WANG WW, TOH HC. Cancer immunotherapy-the target is precisely on the cancer and also not[J]. *Annals Academy of Medicine Singapore*, 2018, 47(9): 381-387.
- [4] PARISH CR. Cancer immunotherapy: the past, the present and the future[J]. *Immunology and Cell Biology*, 2003, 81(2): 106-113.
- [5] DOBOSZ P, DZIECIATKOWSKI T. The intriguing history of cancer immunotherapy[J]. *Frontiers in Immunology*, 2019, 10: 2965.
- [6] SMYTH MJ, TENG MW. 2018 Nobel Prize in physiology or medicine[J]. *Clinical & Translational Immunology*, 2018, 7(10): e1041.
- [7] 曾武威. 2018 年诺贝尔生理学或医学奖简介[J]. *解剖学报*, 2019, 50(1): 1-2.
ZENG WW. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2018[J]. *Acta Anatomica Sinica*, 2019, 50(1): 1-2 (in Chinese).
- [8] 钟晓琳, 王跃春. 也谈诺贝尔奖的得与失——从陈列平教授无缘 2018 年“诺贝尔生理学或医学奖”谈起[J]. *医学与哲学*, 2020, 41(18): 63-67.
ZHONG XL, WANG YC. The Gain and the Loss of Nobel Prize: Talking from Professor Chen Lieping Who Missed 2018 Nobel Prize in Physiology or Medicine[J]. *Medicine and Philosophy*, 2020, 41(18): 63-67 (in Chinese).
- [9] CAMERON F, WHITESIDE G, PERRY C. Ipilimumab: first global approval[J]. *Drugs*, 2011, 71(8): 1093-1104.
- [10] GONG J, CHEHRAZI-RAFFLE A, REDDI S, SALGIA R. Development of PD-1 and PD-L1 inhibitors as a form of cancer immunotherapy: a comprehensive review of registration trials and future considerations[J]. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 2018, 6(1): 8.
- [11] SHARMA P, HU-LIESKOVAN S, WARGO JA, RIBAS A. Primary, adaptive, and acquired resistance to cancer immunotherapy[J]. *Cell*, 2017, 168(4): 707-723.
- [12] SCHOENFELD AJ, HELLMANN MD. ACQUIRED resistance to immune checkpoint inhibitors[J]. *Cancer Cell*, 2020, 37(4): 443-455.
- [13] PÉREZ-RUIZ E, MELERO I, KOPECKA J, SARMENTO-RIBEIRO AB, GARCÍA-ARANDA M, de LAS RIVAS J. Cancer immunotherapy resistance based on immune checkpoints inhibitors: targets,

- biomarkers, and remedies[J]. *Drug Resistance Updates*, 2020, 53: 100718.
- [14] CALIFF RM. Biomarker definitions and their applications[J]. *Experimental Biology and Medicine*: Maywood, N J, 2018, 243(3): 213-221.
- [15] PARDOLL DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2012, 12(4): 252-264.
- [16] WU YL, CHEN WY, XU ZP, GU WY. PD-L1 distribution and perspective for cancer immunotherapy-blockade, knockdown, or inhibition[J]. *Frontiers in Immunology*, 2019, 10: 2022.
- [17] PARK S, CHOI YD, KIM J, KHO BG, PARK CK, OH IJ, KIM YC. Efficacy of immune checkpoint inhibitors according to PD-L1 tumor proportion scores in non-small cell lung cancer[J]. *Thoracic Cancer*, 2020, 11(2): 408-414.
- [18] HERBST RS, GARON EB, KIM DW, CHO BC, PEREZ-GRACIA JL, HAN JY, ARVIS CD, MAJEM M, FORSTER MD, MONNET I, NOVELLO S, SZALAI Z, GUBENS MA, SU WC, CERESOLI GL, SAMKARI A, JENSEN EH, LUBINIECKI GM, BAAS P. Long-term outcomes and retreatment among patients with previously treated, programmed death-ligand 1-positive, advanced non-small-cell lung cancer in the KEYNOTE-010 study[J]. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 2020, 38(14): 1580-1590.
- [19] SHA D, JIN ZH, BUDCZIES J, KLUCK K, STENZINGER A, SINICROPE FA. Tumor mutational burden as a predictive biomarker in solid tumors[J]. *Cancer Discovery*, 2020, 10(12): 1808-1825.
- [20] YI M, QIN S, ZHAO WH, YU SN, CHU Q, WU KM. The role of neoantigen in immune checkpoint blockade therapy[J]. *Experimental Hematology & Oncology*, 2018, 7: 28.
- [21] CHAN TA, YARCHOAN M, JAFFEE E, SWANTON C, QUEZADA SA, STENZINGER A, PETERS S. Development of tumor mutation burden as an immunotherapy biomarker: utility for the oncology clinic[J]. *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology*, 2019, 30(1): 44-56.
- [22] STENZINGER A, ALLEN JD, MAAS J, STEWART MD, MERINO DM, WEMPE MM, DIETEL M. Tumor mutational burden standardization initiatives: recommendations for consistent tumor mutational burden assessment in clinical samples to guide immunotherapy treatment decisions[J]. *Genes, Chromosomes & Cancer*, 2019, 58(8): 578-588.
- [23] HELLMANN MD, CIULEANU TE, PLUZANSKI A, LEE JS, OTTERSON GA, AUDIGIER-VALETTE C, MINENZA E, LINARDOU H, BURGERS S, SALMAN P, BORGHAEI H, RAMALINGAM SS, BRAHMER J, RECK M, O'BYRNE KJ, GEESE WJ, GREEN G, CHANG H, SZUSTAKOWSKI J, BHAGAVATHEESWARAN P, et al. Nivolumab plus ipilimumab in lung cancer with a high tumor mutational burden[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2018, 378(22): 2093-2104.
- [24] RIZK EM, SEFFENS AM, TRAGER MH, MOORE MR, GESKIN LJ, GARTRELL-CORRADO RD, WONG W, SAENGER YM. Biomarkers predictive of survival and response to immune checkpoint inhibitors in melanoma[J]. *American Journal of Clinical Dermatology*, 2020, 21(1): 1-11.
- [25] WANG F, WEI XL, WANG FH, XU N, SHEN L, DAI GH, YUAN XL, CHEN Y, YANG SJ, SHI JH, HU XC, LIN XY, ZHANG QY, FENG JF, BA Y, LIU YP, LI W, SHU YQ, JIANG Y, LI Q, et al. Safety, efficacy and tumor mutational burden as a biomarker of overall survival benefit in chemo-refractory gastric cancer treated with toripalimab, a PD-1 antibody in phase Ib/II clinical trial NCT02915432[J]. *Annals of Oncology*, 2019, 30(9): 1479-1486.
- [26] ZHAO PF, LI L, JIANG XY, LI Q. Mismatch repair deficiency/microsatellite instability-high as a predictor for anti-PD-1/PD-L1 immunotherapy efficacy[J]. *Journal of Hematology & Oncology*, 2019, 12(1): 54.
- [27] CICEK MS, LINDOR NM, GALLINGER S, BAPAT B, HOPPER JL, JENKINS MA, YOUNG J, BUCHANAN D, WALSH MD, le MARCHAND L, BURNETT T, NEWCOMB PA, GRADY WM, HAILE RW, CASEY G, PLUMMER SJ, KRUMROY LA, BARON JA, THIBODEAU SN. Quality assessment and correlation of microsatellite instability and immunohistochemical markers among population- and clinic-based colorectal tumors[J]. *The Journal of*

- Molecular Diagnostics, 2011, 13(3): 271-281.
- [28] HITCHINS MP, WARD RL. Constitutional (germline) MLH1 epimutation as an aetiological mechanism for hereditary non-polyposis colorectal cancer[J]. Journal of Medical Genetics, 2009, 46(12): 793-802.
- [29] COLLE R, COHEN R, COCHEREAU D, DUVAL A, LASCOLS O, LOPEZ-TRABADA D, AFCHAIN P, TROUILLOUD I, PARC Y, LEFEVRE JH, FLÉJOU JF, SVRCEK M, ANDRÉ T. Immunotherapy and patients treated for cancer with microsatellite instability[J]. Bulletin Du Cancer, 2017, 104(1): 42-51.
- [30] LE DT, URAM JN, WANG H, BARTLETT BR, KEMBERLING H, EYRING AD, SKORA AD, LUBER BS, AZAD NS, LAHERU D, BIEDRZYCKI B, DONEHOWER RC, ZAHEER A, FISHER GA, CROCENZI TS, LEE JJ, DUFFY SM, GOLDBERG RM, de la CHAPELLE A, KOSHIJI M, et al. PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency [J]. The New England Journal of Medicine, 2015, 372(26): 2509-2520.
- [31] JANJIGIAN YY, BENDELL J, CALVO E, KIM JW, ASCIERTO PA, SHARMA P, OTT PA, PELTOLA K, JAEGER D, EVANS J, de BRAUD F, CHAU I, HARBISON CT, DORANGE C, TSCHAIKA M, LE DT. CheckMate-032 study: efficacy and safety of nivolumab and nivolumab plus ipilimumab in patients with metastatic esophagogastric cancer[J]. Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology, 2018, 36(28): 2836-2844.
- [32] VILLALOBOS P, WISTUBA II. Lung cancer biomarkers[J]. Hematology/Oncology Clinics of North America, 2017, 31(1): 13-29.
- [33] RUDE VOLDBORG B, DAMSTRUP L, SPANGTHOMSEN M, SKOVGAARD POULSEN H. Epidermal growth factor receptor (EGFR) and EGFR mutations, function and possible role in clinical trials[J]. Annals of Oncology, 1997, 8(12): 1197-1206.
- [34] HARATANI K, HAYASHI H, TANAKA T, KANEDA H, TOGASHI Y, SAKAI K, HAYASHI K, TOMIDA S, CHIBA Y, YONESAKA K, NONAGASE Y, TAKAHAMA T, TANIZAKI J, TANAKA K, YOSHIDA T, TANIMURA K, TAKEDA M, YOSHIOKA H, ISHIDA T, MITSUDOMI T, et al. Tumor immune microenvironment and nivolumab efficacy in *EGFR* mutation-positive non-small-cell lung cancer based on T790M status after disease progression during EGFR-TKI treatment[J]. Annals of Oncology, 2017, 28(7): 1532-1539.
- [35] HASTINGS K, YU HA, WEI W, SANCHEZ-VEGA F, DEVEAUX M, CHOI J, RIZVI H, LISBERG A, TRUINI A, LYDON CA, LIU Z, HENICK BS, WURTZ A, CAI G, PLODKOWSKI AJ, LONG NM, HALPENNY DF, KILLAM J, OLIVA I, SCHULTZ N, et al. *EGFR* mutation subtypes and response to immune checkpoint blockade treatment in non-small-cell lung cancer[J]. Annals of Oncology, 2019, 30(8): 1311-1320.
- [36] DONG ZY, ZHONG WZ, ZHANG XC, SU J, XIE Z, LIU SY, TU HY, CHEN HJ, SUN YL, ZHOU Q, YANG JJ, YANG XN, LIN JX, YAN HH, ZHAI HR, YAN LX, LIAO RQ, WU SP, WU YL. Potential predictive value of *TP53* and *KRAS* mutation status for response to PD-1 blockade immunotherapy in lung adenocarcinoma[J]. Clinical Cancer Research: an Official Journal of the American Association for Cancer Research, 2017, 23(12): 3012-3024.
- [37] SHACKELFORD DB, SHAW RJ. The LKB1-AMPK pathway: metabolism and growth control in tumour suppression[J]. Nature Reviews Cancer, 2009, 9(8): 563-575.
- [38] ARBOUR KC, JORDAN E, KIM HR, DIENSTAG J, YU HA, SANCHEZ-VEGA F, LITO P, BERGER M, SOLIT DB, HELLMANN M, KRIS MG, RUDIN CM, NI A, ARCILA M, LADANYI M, RIELY GJ. Effects of co-occurring genomic alterations on outcomes in patients with *KRAS*-mutant non-small cell lung cancer[J]. Clinical Cancer Research: an Official Journal of the American Association for Cancer Research, 2018, 24(2): 334-340.
- [39] FRANK R, SCHEFFLER M, MERKELBACH-BRUSE S, IHLE MA, KRON A, RAUER M, UECKEROTH F, KÖNIG K, MICHELS S, FISCHER R, EISERT A, FASSUNKE J, HEYDT C, SERKE M, KO YD, GERIGK U, GEIST T, KAMINSKY B, HEUKAMP LC, CLEMENT-ZIZA M, et al. Clinical and pathological characteristics of *KEAP1*- and *NFE2L2*-mutated non-small cell lung carcinoma (NSCLC)[J].

Clinical Cancer Research: an Official Journal of the American Association for Cancer Research, 2018, 24(13): 3087-3096.

- [40] SHANG XL, LI ZX, SUN J, ZHAO CL, LIN JM, WANG HY. Survival analysis for non-squamous NSCLC patients harbored *STK11* or *KEAP1* mutation receiving atezolizumab[J]. Lung Cancer, 2021, 154: 105-112.
- [41] MCGRANAHAN N, FURNESS AJS, ROSENTHAL R, RAMSKOV S, LYGAA R, SAINI SK, JAMAL-HANJANI M, WILSON GA, BIRKBAK NJ, HILEY CT, WATKINS TBK, SHAFI S, MURUGAESU N, MITTER R, AKARCA AU, LINARES J, MARAFIOTI T, HENRY JY, van ALLEN EM, MIAO DA, et al. Clonal neoantigens elicit T cell immunoreactivity and sensitivity to immune checkpoint blockade[J]. Science, 2016, 351(6280): 1463-1469.
- [42] ANAGNOSTOU V, SMITH KN, FORDE PM, NIKNAFS N, BHATTACHARYA R, WHITE J, ZHANG T, ADLEFF V, PHALLEN J, WALI N, HRUBAN C, GUTHRIE VB, RODGERS K, NAIDOO J, KANG H, SHARFMAN W, GEORGIADES C, VERDE F, ILLEI P, LI QK, et al. Evolution of neoantigen landscape during immune checkpoint blockade in non-small cell lung cancer[J]. Cancer Discovery, 2017, 7(3): 264-276.
- [43] LAZDUN Y, SI H, CREAMY T, RANADE K, HIGGS BW, STREICHER K, DURHAM NM. A new pipeline to predict and confirm tumor neoantigens predict better response to immune checkpoint blockade[J]. Molecular Cancer Research: MCR, 2021, 19(3): 498-506.
- [44] CHIOU SH, SHEU BC, CHANG WC, HUANG SC, HONG-NERNG H. Current concepts of tumor-infiltrating lymphocytes in human malignancies[J]. Journal of Reproductive Immunology, 2005, 67(1/2): 35-50.
- [45] STANTON SE, ADAMS S, DISIS ML. Variation in the incidence and magnitude of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer subtypes: a systematic review[J]. JAMA Oncology, 2016, 2(10): 1354-1360.
- [46] GATAA I, MEZQUITA L, ROSSONI C, AUCLIN E, KOSSAI M, ABOUBAKAR F, LE MOULEC S, MASSÉ J, MASSON M, RADOSEVIC-ROBIN N, ALEMANY P, ROUANNE M, BLUTHGEN V, HENDRIKS L, CARAMELLA C, GAZZAH A, PLANCHARD D, PIGNON JP, BESSE B, ADAM J. Tumour-infiltrating lymphocyte density is associated with favourable outcome in patients with advanced non-small cell lung cancer treated with immunotherapy[J]. European Journal of Cancer, 2021, 145: 221-229.
- [47] DIEM S, ALI OH, ACKERMANN CJ, BOMZE D, KOELZER VH, JOCHUM W, SPEISER DE, MERTZ KD, FLATZ L. Tumor infiltrating lymphocytes in lymph node metastases of stage III melanoma correspond to response and survival in nine patients treated with ipilimumab at the time of stage IV disease[J]. Cancer Immunology, Immunotherapy, 2018, 67(1): 39-45.
- [48] BALATONI T, MOHOS A, PAPP E, SEBESTYÉN T, LISZKAY G, OLÁH J, VARGA A, LENGYEL Z, EMRI G, GAUDI I, LADÁNYI A. Tumor-infiltrating immune cells as potential biomarkers predicting response to treatment and survival in patients with metastatic melanoma receiving ipilimumab therapy[J]. Cancer Immunology, Immunotherapy, 2018, 67(1): 141-151.
- [49] BENCI JL, XU BH, QIU Y, WU TJ, DADA H, TWYMAN-SAINT VICTOR C, CUCOLO L, LEE DSM, PAUKEN KE, HUANG AC, GANGADHAR TC, AMARAVADI RK, SCHUCHTER LM, FELDMAN MD, ISHWARAN H, VONDERHEIDE RH, MAITY A, WHERRY EJ, MINN AJ. Tumor interferon signaling regulates a multigenic resistance program to immune checkpoint blockade[J]. Cell, 2016, 167(6): 1540-1554.e12.
- [50] GETTINGER S, CHOI J, HASTINGS K, TRUINI A, DATAR I, SOWELL R, WURTZ A, DONG WL, CAI GP, MELNICK MA, DU VY, SCHLESSINGER J, GOLDBERG SB, CHIANG A, SANMAMED MF, MELERO I, AGORRETA J, MONTUENGA LM, LIFTON R, FERRONE S, et al. Impaired HLA class I antigen processing and presentation as a mechanism of acquired resistance to immune checkpoint inhibitors in lung cancer[J]. Cancer Discovery, 2017, 7(12): 1420-1435.
- [51] SAKUISHI K, APETOH L, SULLIVAN JM, BLAZAR

- BR, KUCHROO VK, ANDERSON AC. Targeting Tim-3 and PD-1 pathways to reverse T cell exhaustion and restore anti-tumor immunity[J]. *Journal of Experimental Medicine*, 2010, 207(10): 2187-2194.
- [52] KOYAMA S, AKBAY EA, LI YY, HERTER-SPRIE GS, BUCZKOWSKI KA, RICHARDS WG, GANDHI L, REDIG AJ, RODIG SJ, ASAHINA H, JONES RE, KULKARNI MM, KURAGUCHI M, PALAKURTHI S, FECCI PE, JOHNSON BE, JANNE PA, ENGELMAN JA, GANGADHARAN SP, COSTA DB, et al. Adaptive resistance to therapeutic PD-1 blockade is associated with upregulation of alternative immune checkpoints[J]. *Nature Communications*, 2016, 7: 10501.
- [53] LIMAGNE E, RICHARD C, THIBAUDIN M, FUMET JD, TRUNTZER C, LAGRANGE A, FAVIER L, COUDERT B, GHIRINGHELLI F. Tim-3/galectin-9 pathway and mMDSC control primary and secondary resistances to PD-1 blockade in lung cancer patients[J]. *OncoImmunology*, 2019, 8(4): e1564505.
- [54] WANG G, TAI RS, WU YS, YANG SR, WANG JJ, YU XL, LEI L, SHAN ZY, LI N. The expression and immunoregulation of immune checkpoint molecule VISTA in autoimmune diseases and cancers[J]. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 2020, 52: 1-14.
- [55] ZHANG Q, BI JC, ZHENG XD, CHEN YY, WANG H, WU WY, WANG ZG, WU Q, PENG H, WEI HM, SUN R, TIAN ZG. Blockade of the checkpoint receptor TIGIT prevents NK cell exhaustion and elicits potent anti-tumor immunity[J]. *Nature Immunology*, 2018, 19(7): 723-732.
- [56] KAWASHIMA S, INOZUME T, KAWAZU M, UENO T, NAGASAKI J, TANJI E, HONOBE A, OHNUMA T, KAWAMURA T, UMEDA Y, NAKAMURA Y, KAWASAKI T, KINIWA Y, YAMASAKI O, FUKUSHIMA S, IKEHARA Y, MANO H, SUZUKI Y, NISHIKAWA H, MATSUE H, et al. TIGIT/CD155 axis mediates resistance to immunotherapy in patients with melanoma with the inflamed tumor microenvironment[J]. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 2021, 9(11): e003134.
- [57] WANG L, RUBINSTEIN R, LINES JL, WASIUK A, AHONEN C, GUO YX, LU LF, GONDEK D, WANG Y, FAVA RA, FISER A, ALMO S, NOELLE RJ. VISTA, a novel mouse Ig superfamily ligand that negatively regulates T cell responses[J]. *The Journal of Experimental Medicine*, 2011, 208(3): 577-592.
- [58] le MERCIER I, CHEN WN, LINES JL, DAY M, LI JN, SERGENT P, NOELLE RJ, WANG L. VISTA regulates the development of protective antitumor immunity[J]. *Cancer Research*, 2014, 74(7): 1933-1944.
- [59] BLANDO J, SHARMA A, HIGA MG, ZHAO H, VENCE L, YADAV SS, KIM J, SEPULVEDA AM, SHARP M, MAITRA A, WARGO J, TETZLAFF M, BROADDUS R, KATZ MHG, VARADHACHARY GR, OVERMAN M, WANG HM, YEE C, BERNATCHEZ C, IACOBUZIO-DONAHUE C, et al. Comparison of immune infiltrates in melanoma and pancreatic cancer highlights VISTA as a potential target in pancreatic cancer[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, 116(5): 1692-1697.
- [60] KAKAVAND H, JACKETT LA, MENZIES AM, GIDE TN, CARLINO MS, SAW RPM, THOMPSON JF, WILMOTT JS, LONG GV, SCOLYER RA. Negative immune checkpoint regulation by VISTA: a mechanism of acquired resistance to anti-PD-1 therapy in metastatic melanoma patients[J]. *Modern Pathology*, 2017, 30(12): 1666-1676.
- [61] TREMBLAY-LEMAY R, RASTGOO N, CHANG H. Modulating PD-L1 expression in multiple myeloma: an alternative strategy to target the PD-1/PD-L1 pathway[J]. *Journal of Hematology & Oncology*, 2018, 11(1): 46.
- [62] TENG FF, MENG XJ, KONG L, YU JM. Progress and challenges of predictive biomarkers of anti PD-1/PD-L1 immunotherapy: a systematic review[J]. *Cancer Letters*, 2018, 414: 166-173.
- [63] KARACHALIOU N, GONZALEZ-CAO M, CRESPO G, DROZDOWSKYJ A, ALDEGUER E, GIMENEZ-CAPITAN A, TEIXIDO C, MOLINA-VILA MA, VITERI S, de los LLANOS GIL M, ALGARRA SM, PEREZ-RUIZ E, MARQUEZ-RODAS I, RODRIGUEZ-ABREU D, BLANCO R, PUERTOLAS T, ROYO MA, ROSELL R. Interferon gamma, an important marker of response to immune checkpoint blockade in non-small cell lung cancer and melanoma patients[J]. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*, 2018, 10:

- 1758834017749748.
- [64] GAO JJ, SHI LZ, ZHAO H, CHEN JF, XIONG LW, HE QM, CHEN TH, ROSZIK J, BERNATCHEZ C, WOODMAN SE, CHEN PL, HWU P, ALLISON JP, FUTREAL A, WARGO JA, SHARMA P. Loss of IFN- γ pathway genes in tumor cells as a mechanism of resistance to anti-CTLA-4 therapy[J]. *Cell*, 2016, 167(2): 397-404.e9.
- [65] GALDIERO MR, BONAVIDA E, BARAJON I, GARLANDA C, MANTOVANI A, JAILLON S. Tumor associated macrophages and neutrophils in cancer[J]. *Immunobiology*, 2013, 218(11): 1402-1410.
- [66] GUTHRIE GJK, CHARLES KA, ROXBURGH CSD, HORGAN PG, MCMILLAN DC, CLARKE SJ. The systemic inflammation-based neutrophil-lymphocyte ratio: experience in patients with cancer[J]. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 2013, 88(1): 218-230.
- [67] FERRUCCI PF, ASCIERTO PA, PIGOZZO J, del VECCHIO M, MAIO M, ANTONINI CAPPELLINI GC, GUIDOBONI M, QUEIROLO P, SAVOIA P, MANDALÀ M, SIMEONE E, VALPIONE S, ALTOMONTE M, SPAGNOLO F, COCOROCCHIO E, GANDINI S, GIANNARELLI D, MARTINOLI C. Baseline neutrophils and derived neutrophil-to-lymphocyte ratio: prognostic relevance in metastatic melanoma patients receiving ipilimumab[J]. *Annals of Oncology*, 2016, 27(4): 732-738.
- [68] DHARMAPURI S, ÖZBEK U, LIN JY, SUNG M, SCHWARTZ M, BRANCH AD, ANG C. Predictive value of neutrophil to lymphocyte ratio and platelet to lymphocyte ratio in advanced hepatocellular carcinoma patients treated with anti-PD-1 therapy[J]. *Cancer Medicine*, 2020, 9(14): 4962-4970.
- [69] BILEN MA, DUTCHER GMA, LIU Y, RAVINDRANATHAN D, KISSICK HT, CARTHON BC, KUCUK O, HARRIS WB, MASTER VA. Association between pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio and outcome of patients with metastatic renal-cell carcinoma treated with nivolumab[J]. *Clinical Genitourinary Cancer*, 2018, 16(3): e563-e575.
- [70] MENTER DG, KOPETZ S, HAWK E, SOOD AK, LOREE JM, GRESELE P, HONN KV. Platelet “first responders” in wound response, cancer, and metastasis[J]. *Cancer and Metastasis Reviews*, 2017, 36(2): 199-213.
- [71] RUSSO A, RUSSANO M, FRANCHINA T, MIGLIORINO MR, APRILE G, MANSUETO G, BERRUTI A, FALCONE A, AIETA M, GELIBTER A, RUSSO A, BARNI S, MAIO M, MARTELLI O, PANTANO F, IACONO D, CALVETTI L, QUADRINI S, ROCA E, VASILE E, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR), platelet-to-lymphocyte ratio (PLR), and outcomes with nivolumab in pretreated non-small cell lung cancer (NSCLC): a large retrospective multicenter study[J]. *Advances in Therapy*, 2020, 37(3): 1145-1155.
- [72] KHATTAK MA, REID A, FREEMAN J, PEREIRA M, MCEVOY A, LO J, FRANK MH, MENIAWY T, DIDAN AL, SPENCER I, AMANUEL B, MILLWARD M, ZIMAN M, GRAY E. PD-L1 expression on circulating tumor cells may be predictive of response to pembrolizumab in advanced melanoma: results from a pilot study[J]. *The Oncologist*, 2020, 25(3): e520-e527.
- [73] ROSALES C. Neutrophil: a cell with many roles in inflammation or several cell types?[J]. *Frontiers in Physiology*, 2018, 9: 113.
- [74] KITANO S, POSTOW MA, ZIEGLER CGK, KUK D, PANAGEAS KS, CORTEZ C, RASALAN T, ADAMOW M, YUAN JD, WONG P, ALTAN-BONNET G, WOLCHOK JD, LESOKHIN AM. Computational algorithm-driven evaluation of monocytic myeloid-derived suppressor cell frequency for prediction of clinical outcomes[J]. *Cancer Immunology Research*, 2014, 2(8): 812-821.
- [75] PASSARO A, MANCUSO P, GANDINI S, SPITALERI G, LABANCA V, GUERINI-ROCCO E, BARBERIS M, CATANIA C, DEL SIGNORE E, de MARINIS F, BERTOLINI F. Gr-MDSC-linked asset as a potential immune biomarker in pretreated NSCLC receiving nivolumab as second-line therapy[J]. *Clinical and Translational Oncology*, 2020, 22(4): 603-611.
- [76] DIEM S, KASENDA B, SPAIN L, MARTIN-LIBERAL J, MARCONCINI R, GORE M, LARKIN J. Serum lactate dehydrogenase as an early marker for outcome in patients treated with anti-PD-1 therapy in

- metastatic melanoma[J]. *British Journal of Cancer*, 2016, 114(3): 256-261.
- [77] ZHANG ZB, LI Y, YAN X, SONG Q, WANG GQ, HU Y, JIAO SC, WANG JL. Pretreatment lactate dehydrogenase may predict outcome of advanced non small-cell lung cancer patients treated with immune checkpoint inhibitors: a meta-analysis[J]. *Cancer Medicine*, 2019, 8(4): 1467-1473.
- [78] KAUR S, BANSAL Y, KUMAR R, BANSAL G. A panoramic review of IL-6: structure, pathophysiological roles and inhibitors[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2020, 28(5): 115327.
- [79] KEEGAN A, RICCIUTI B, GARDEN P, COHEN L, NISHIHARA R, ADENI A, PAWELETZ C, SUPPLEE J, JÄNNE PA, SEVERGNINI M, AWAD MM, WALT DR. Plasma IL-6 changes correlate to PD-1 inhibitor responses in NSCLC[J]. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 2020, 8(2): e000678.
- [80] KANG DH, PARK CK, CHUNG C, OH IJ, KIM YC, PARK D, KIM J, KWON GC, KWON I, SUN P, SHIN EC, LEE JE. Baseline serum interleukin-6 levels predict the response of patients with advanced non-small cell lung cancer to PD-1/PD-L1 inhibitors[J]. *Immune Network*, 2020, 20(3): e27.
- [81] YUEN KC, LIU LF, GUPTA V, MADIREDDI S, KEERTHIVASAN S, LI CF, RISHIPATHAK D, WILLIAMS P, KADEL EE, KOEPPEN H, CHEN YJ, MODRUSAN Z, GROGAN JL, BANCHEREAU R, LENG N, THASTROM A, SHEN XD, HASHIMOTO K, TAYAMA D, van der HEIJDEN MS, et al. High systemic and tumor-associated IL-8 correlates with reduced clinical benefit of PD-L1 blockade[J]. *Nature Medicine*, 2020, 26(5): 693-698.
- [82] BAKOUNY Z, CHOUEIRI TK. IL-8 and cancer prognosis on immunotherapy[J]. *Nature Medicine*, 2020, 26(5): 650-651.
- [83] INFANGER DW, CHO Y, LOPEZ BS, MOHANAN S, LIU SC, GURSEL D, BOOCKVAR JA, FISCHBACH C. Glioblastoma stem cells are regulated by interleukin-8 signaling in a tumoral perivascular niche[J]. *Cancer Research*, 2013, 73(23): 7079-7089.
- [84] BELLMUNT J, GONZÁLEZ-LARRIBA JL, PRIOR C, MAROTO P, CARLES J, CASTELLANO D, MELLADO B, GALLARDO E, PEREZ-GRACIA JL, AGUILAR G, VILLANUEVA X, ALBANELL J, CALVO A. Phase II study of sunitinib as first-line treatment of urothelial cancer patients ineligible to receive cisplatin-based chemotherapy: baseline interleukin-8 and tumor contrast enhancement as potential predictive factors of activity[J]. *Annals of Oncology*, 2011, 22(12): 2646-2653.
- [85] SANMAMED MF, PEREZ-GRACIA JL, SCHALPER KA, FUSCO JP, GONZALEZ A, RODRIGUEZ-RUIZ ME, OÑATE C, PEREZ G, ALFARO C, MARTÍN-ALGARRA S, ANDUEZA MP, GURPIDE A, MORGADO M, WANG J, BACCHIOCCHI A, HALABAN R, KLUGER H, CHEN L, SZNOL M, MELERO I. Changes in serum interleukin-8 (IL-8) levels reflect and predict response to anti-PD-1 treatment in melanoma and non-small-cell lung cancer patients[J]. *Annals of Oncology*, 2017, 28(8): 1988-1995.
- [86] ABBOSH C, BIRKBAK NJ, WILSON GA, JAMAL-HANJANI M, CONSTANTIN T, SALARI R, le QUESNE J, MOORE DA, VEERIAH S, ROSENTHAL R, MARAFIOTI T, KIRKIZLAR E, WATKINS TBK, MCGRANAHAN N, WARD S, MARTINSON L, RILEY J, FRAIOLI F, al BAKIR M, GRÖNROOS E, et al. Phylogenetic ctDNA analysis depicts early-stage lung cancer evolution[J]. *Nature*, 2017, 545(7655): 446-451.
- [87] RICCIUTI B, JONES G, SEVERGNINI M, ALESSI JV, RECONDO G, LAWRENCE M, FORSHEW T, LYDON C, NISHINO M, CHENG M, AWAD M. Early plasma circulating tumor DNA (ctDNA) changes predict response to first-line pembrolizumab-based therapy in non-small cell lung cancer (NSCLC)[J]. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 2021, 9(3): e001504.
- [88] LEE JH, LONG GV, BOYD S, LO S, MENZIES AM, TEMBE V, GUMINSKI A, JAKROT V, SCOLYER RA, MANN GJ, KEFFORD RF, CARLINO MS, RIZOS H. Circulating tumour DNA predicts response to anti-PD1 antibodies in metastatic melanoma[J]. *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology*, 2017, 28(5): 1130-1136.
- [89] ESQUELA-KERSCHER A, SLACK FJ. Oncomirs—microRNAs with a role in cancer[J]. *Nature Reviews*

- Cancer, 2006, 6(4): 259-269.
- [90] NGUYEN MH T, LUO YH, LI AL, TSAI JC, WU KL, CHUNG PJ, MA NH. miRNA as a modulator of immunotherapy and immune response in melanoma[J]. *Biomolecules*, 2021, 11(11): 1648.
- [91] HUBER V, VALLACCHI V, FLEMING V, HU XY, COVA A, DUGO M, SHAHAJ E, SULSENTI R, VERGANI E, FILIPAZZI P, de LAURENTIIS A, LALLI L, GUARDO LD, PATUZZO R, VERGANI B, CASIRAGHI E, COSSA M, GUALENI A, BOLLATI V, ARIENTI F, et al. Tumor-derived microRNAs induce myeloid suppressor cells and predict immunotherapy resistance in melanoma[J]. *The Journal of Clinical Investigation*, 2018, 128(12): 5505-5516.
- [92] RAJAGOPALA SV, VASHEE S, OLDFIELD LM, SUZUKI Y, VENTER JC, TELENTI A, NELSON KE. The human microbiome and cancer[J]. *Cancer Prevention Research: Philadelphia, Pa*, 2017, 10(4): 226-234.
- [93] ECKBURG PB, BIK EM, BERNSTEIN CN, PURDOM E, DETHLEFSEN L, SARGENT M, GILL SR, NELSON KE, RELMAN DA. Diversity of the human intestinal microbial flora[J]. *Science*, 2005, 308(5728): 1635-1638.
- [94] ROUTY B, le CHATELIER E, DEROSA L, DUONG CPM, ALOU MT, DAILLÈRE R, FLUCKIGER A, MESSAOUDENE M, RAUBER C, ROBERTI MP, FIDELLE M, FLAMENT C, POIRIER-COLAME V, OPOLON P, KLEIN C, IRIBARREN K, MONDRAGÓN L, JACQUELOT N, QU B, FERRERE G, et al. Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors[J]. *Science*, 2018, 359(6371): 91-97.
- [95] CHAPUT N, LEPAGE P, COUTZAC C, SOULARUE E, le ROUX K, MONOT C, BOSELLI L, ROUTIER E, CASSARD L, COLLINS M, VAYSSE T, MARTHEY L, EGGERMONT A, ASVATOURIAN V, LANOY E, MATEUS C, ROBERT C, CARBONNEL F. Baseline gut microbiota predicts clinical response and colitis in metastatic melanoma patients treated with ipilimumab[J]. *Annals of Oncology*, 2017, 28(6): 1368-1379.
- [96] SIVAN A, CORRALES L, HUBERT N, WILLIAMS JB, AQUINO-MICHAELS K, EARLEY ZM, BENYAMIN FW, LEI YM, JABRI B, ALEGRE ML, CHANG EB, GAJEWSKI TF. Commensal *Bifidobacterium* promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD-L1 efficacy[J]. *Science*, 2015, 350(6264): 1084-1089.
- [97] ABED A, CALAPRE L, LO J, CORREIA S, BOWYER S, CHOPRA A, WATSON M, KHATTAK MA, MILLWARD M, GRAY ES. Prognostic value of HLA-I homozygosity in patients with non-small cell lung cancer treated with single agent immunotherapy[J]. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 2020, 8(2): e001620.
- [98] WANG L, ZHU YR, ZHANG B, WANG X, MO HN, JIAO YC, XU JC, HUANG J. Prognostic and predictive impact of neutrophil-to-lymphocyte ratio and HLA-I genotyping in advanced esophageal squamous cell carcinoma patients receiving immune checkpoint inhibitor monotherapy[J]. *Thoracic Cancer*, 2022, 13(11): 1631-1641.
- [99] ALTHAMMER S, TAN TH, SPITZMÜLLER A, ROGNONI L, WIESTLER T, HERZ T, WIDMAIER M, REBELATTO MC, KAPLON H, DAMOTTE D, ALIFANO M, HAMMOND SA, DIEU-NOSJEAN MC, RANADE K, SCHMIDT G, HIGGS BW, STEELE KE. Automated image analysis of NSCLC biopsies to predict response to anti-PD-L1 therapy[J]. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 2019, 7(1): 121.
- [100] CRISTESCU R, MOGG R, AYERS M, ALBRIGHT A, MURPHY E, YEARLEY J, SHER X, LIU XQ, LU HC, NEBOZHYN M, ZHANG CS, LUNCEFORD JK, JOE A, CHENG J, WEBBER AL, IBRAHIM N, PLIMACK ER, OTT PA, SEIWERT TY, RIBAS A, et al. Pan-tumor genomic biomarkers for PD-1 checkpoint blockade-based immunotherapy[J]. *Science*, 2018, 362(6411): eaar3593.
- [101] YU YF, ZENG DQ, OU QY, LIU SB, LI AL, CHEN YJ, LIN DG, GAO QL, ZHOU HY, LIAO WJ, YAO HR. Association of survival and immune-related biomarkers with immunotherapy in patients with non-small cell lung cancer: a meta-analysis and individual patient-level analysis[J]. *JAMA Network Open*, 2019, 2(7): e196879.

(本文责编 郝丽芳)