



· 专家述评与论著 ·



周彩存，教授，主任医师，博士研究生导师。现任同济大学肿瘤学系主任、肿瘤研究所所长、同济大学附属上海市肺科医院肿瘤科主任。是国务院特殊津贴获得者，上海市“重中之重”临床重点学科带头人、领军人才、“五一劳动奖章”获得者。兼任国际肺癌研究协会（IASLC）教育委员会委员，中国临床肿瘤协会（CSCO）非小细胞肺癌专委会主任委员，中国东西部肺癌研究协作组（E-WEST）组长，上海市抗癌协会分子靶向与免疫治疗委员会主任委员，中国医疗保健国际交流促进会胸部肿瘤分会主任委员。

肺癌免疫治疗的前景与挑战

潘莹莹，周 斐，周彩存

同济大学附属上海市肺科医院肿瘤科，上海 200433

[摘要] 近年来，肺癌的治疗发生了翻天覆地的变化，针对免疫检查点的免疫治疗显著改善了晚期肺癌患者的生存。多项随机对照研究证实，在二线治疗中，与标准化疗相比免疫治疗可显著延长患者的总生存期，因此免疫治疗目前已成为晚期非小细胞肺癌（non-small cell lung cancer, NSCLC）的标准二线治疗。近期一些研究还奠定了免疫治疗联合化疗在一线治疗中的地位。然而，免疫治疗总有效率方法不高，目前尚缺乏精准的疗效预测分子标志物，本文对目前肺癌免疫治疗的进展以及未来的发展方向进行了综述。

[关键词] 肺癌；免疫治疗；进展与挑战

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2019.04.001

中图分类号：R734.2 文献标志码：A 文章编号：1007-3639(2019)04-0241-09

The perspectives and challenges of immunotherapy for lung cancer PAN Yingying, ZHOU Fei, ZHOU Caicun (Department of Medical Oncology, Shanghai Pulmonary Hospital, Tongji University, Shanghai 200433, China)

Correspondence to: ZHOU Caicun E-mail: caicunzhour@163.com

[Abstract] In recent years, the treatment of lung cancer has undergone earth-shaking changes. The application for immunotherapy targeting immune checkpoint has significantly improved the survival outcomes of advanced lung cancer patients. Several randomized-controlled trials have shown that immunotherapy significantly improves the overall survival of advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) patients when compared with standard chemotherapy in second-line setting. Therefore, immunotherapy is the standard second-line therapy currently. Several clinical trials have also demonstrated the role of immunotherapy in combination with chemotherapy in first-line setting. However, it should be noted that the overall response rate of immunotherapy is not high enough, and it currently lacks of accurately predictive biomarkers for immunotherapy. This article summarizes the current progress of immunotherapy for lung cancer and also provides insights into future directions.

[Key words] Lung cancer; Immunotherapy; Progress and challenge

随着靶向治疗、免疫治疗等在肺癌中的应用，晚期肺癌的治疗发生了日新月异的变化。靶向治疗在非鳞状非小细胞肺癌（non-

small cell lung cancer, NSCLC）中取得了突破进展，治疗前需对肿瘤进行驱动基因突变和重排的检测，其中至少应包括表皮生长因子受体

(epidermal growth factor receptor, EGFR) 基因、间变性淋巴瘤激酶 (anaplastic lymphoma kinase, ALK) 基因、*ROS1*、*RET*、*MET Exon14* 和 *BRAF V600E* 等。针对驱动基因阴性的患者以及靶向治疗失败的患者可选择免疫检查点抑制剂 (immune checkpoint inhibitor, ICI) 和标准的含铂双药治疗^[1]。因此, 笔者对近年来NSCLC免疫治疗的进展, 特别是程序性死亡 [蛋白] -1 (programmed death-1, PD-1) /程序性死亡 [蛋白] 配体-1 (programmed death ligand-1, PD-L1) 的研究进展进行梳理, 并对未来的展望进行综述。

1 免疫治疗晚期NSCLC的困局

免疫治疗的缓解率 (overall response rate, ORR) 较低是其短板。一线单药治疗选择人群的ORR为45% (PD-L1 $\geq 50\%$, 约为20%), 二线治疗ORR仅为20%, 即使是联合治疗也只达到了47.6%。不仅如此, 免疫治疗同时也存在着疾病超进展 (6%~29%) 和假性进展 (4.5%) 的风险^[2]。因此, 临床肿瘤学家一直期望将常规治疗手段与免疫治疗结合, 以期提高疗效。2018年是免疫联合治疗数据大爆发的一年。在前期Keynote-021G和IMpower150研究的基础上, 针对非鳞状细胞NSCLC的Keynote189、IMpower130和IMpower132以及针对肺鳞癌的Keynote407和IM power131等多项III期临床研究均不同程度地提示化疗与免疫联合能提高NSCLC患者的ORR, 显著降低疾病进展和死亡风险, 且耐受性良好。目前, 化疗+免疫治疗作为驱动基因阴性的晚期NSCLC的一线治疗选择已被写入美国国立综合癌症网络 (National Comprehensive Cancer Network, NCCN) 指南。但是, 化疗+免疫治疗是否需要进行人群选择? 化疗作为免疫的助攻是否需要调整剂量? 两者是同时联合抑或序贯治疗? 联合时化疗药物及免疫药物该如何选择? 这些问题都值得关注和进一步研究。

2 单药治疗及疗效预测标志物

目前已发现多种疗效预测标志物可预测PD-1/PD-L1抑制剂的疗效, 如PD-L1的表达水平、错配修复 (mismatch repair, MMR) 基因

表达状态、肿瘤突变负荷 (tumor mutational burden, TMB) 等。

2.1 PD-L1表达

PD-L1是目前NCCN指南推荐的免疫治疗相关肿瘤学标志物。Keynote-024研究结果表明, 在PD-L1 TPS大于50%的患者中, pembrolizumab一线单药应用对比化疗可显著改善患者无进展生存期 (progression-free survival, PFS), 降低了50%的疾病进展风险 (10.3个月 vs 6.0个月, HR=0.50, $P<0.001$), 且显著提高了ORR (44.8% vs 27.8%)。基于Keynote-024研究结果, 美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 批准对于PD-L1表达率 $\geq 50\%$, 且无明确驱动基因突变的初诊晚期NSCLC患者可以一线选择pembrolizumab。而Keynote-042研究对比了pembrolizumab与含铂双药治疗晚期NSCLC [PD-L1阳性肿瘤细胞阳性比例分数 (tumor proportion score, TPS) $\geq 1\%$] 的疗效, 发现在PD-L1阳性 (TPS $\geq 1\%$) 的患者中, pembrolizumab显著延长了总生存期 (overall survival, OS) (16.7个月 vs 12.1个月, HR=0.81, $P=0.002$), 但是PD-L1高表达的亚组获益更明显 (HR=0.69, $P=0.000$)。

但是, 值得注意的是, 即使是PD-L1表达阴性的患者仍然对PD-1/PD-L1抑制剂有反应^[3], 因此, PD-L1表达并不是最佳的疗效预测标志物^[4]。这可能是因为PD-L1的表达具有瘤内异质性。既往研究表明, PD-L1在同一组织的切片中表达可不一致^[5-7], 而且PD-L1在相同组织的不同区域的表达变化多达4倍^[8]。与此同时, 研究^[9]还发现使用PD-L1 IHC 28-8 pharmDx, 在每例30个多样本中观察到6%的不一致, 进一步验证了PD-L1表达的异质性。不仅如此, PD-L1的表达还会随着治疗而发生动态变化^[10], 因此, 单点单次采样可能并不能全面评估肿瘤的PD-L1表达。

另外, PD-L1作为免疫治疗的标志物既有益处也面临着挑战。在临床应用中既要考虑治疗前后对PD-L1表达的影响, 也要考虑到PD-L1表达阴性的人群。中国的临床医师和病理医师同样面临PD-L1常规检测的挑战。首先, 临床医师必

须理解PD-L1检测在NSCLC治疗中的指导意义，并且熟悉伴随诊断和补充诊断的区别，同时能够熟练解读PD-L1检测报告。而对于病理科医师来说，在进行PD-L1检测时必须严格要求PD-L1检测组织标本的质量和来源，但是目前尚无抗体获得中国国家药品监督管理局（National Medical Products Administration, NMPA）批准用于临床检测，也无标准的免疫组织化学诊断结果的判读标准及PD-L1报告规范，所以亟待建立一套更加合适的诊断与报告流程，用于更广泛的PD-L1检测。

2.2 TMB和新抗原

TMB是肿瘤携带的突变量的量度，具有大量突变的肿瘤更可能产生异常蛋白质或新抗原，而新抗原与T细胞活化的增加有关。理论上，患者TMB越高，肿瘤免疫原性越强，从免疫治疗中获益可能越多^[11-14]。研究发现，黑色素瘤、肺癌、膀胱癌和胃肠道肿瘤TMB较高^[15]。

2017年发表于《新英格兰医学杂志》（*New England Journal of Medicine, NEJM*）的一项回顾性研究发现，在接受PD-1或PD-L1抑制剂治疗的27个瘤种患者中，ORR与TMB水平呈正相关^[16]。2018年，前瞻性设计的Checkmate-227研究^[17]结果表明，相对传统化疗，高TMB患者（ ≥ 10 mut/Mb）使用nivolumab联合ipilimumab的ORR明显增加（42.6% vs 26.9%），中位PFS显著延长（7.2个月 vs 5.5个月，HR=0.58， $P < 0.001$ ）。同时，2018年美国癌症研究协会年会（American Association for Cancer Research, AACR）年会Hellmann等^[17]报道的Checkmate-568研究和Checkmate-227研究的TMB亚组分析表明，TMB ≥ 10 mut/Mb的患者具有更好的中位PFS，Checkmate-568研究的中位PFS为7.1和2.6个月，而Checkmate-227为7.2和3.2个月。也有研究表明，基于血液检测的血液TMB（blood TMB, bTMB）可作为atezolizumab临床获益的预测分子标志物^[18]。Gandara等^[18]对基于组织学和血液中的TMB进行了比较，结果表明，血液和组织检测的阳性一致率为64%（95% CI: 54%~74%），而阴性一致率达到了88%（95% CI: 83%~92%）。研究者认为肿瘤异

质性和计算机方法学的差异以及标本获取时间的差异可能导致了这一结果。因为组织学标本来源于单点活检，而血液标本含有较多循环DNA。而bTMB $>0.5\%$ 仅有单核苷酸多态性（single nucleotide polymorphism, SNP），但是组织TMB（tissue TMB, tTMB） $>0.5\%$ 还包含单核苷酸融合、插入、删失等变化。有关TMB的检测方法、cut-off值等问题的答案尚待进一步探索。

理论上，只有少数突变会产生新抗原从而被抗原递呈细胞识别，且目前新抗原主要基于生物信息学预测。Luksza等^[19]最近发现新抗原的Fitness模型（同时包含MHC分子和T细胞识别信号信息）可以很好地预测免疫治疗的效果。

2.3 肿瘤浸润淋巴细胞（tumor-infiltrating lymphocyte, TIL）

TIL是进入肿瘤微环境介导抗肿瘤免疫反应的免疫细胞，如细胞毒性T淋巴细胞和自然杀伤细胞^[20-24]。根据免疫细胞浸润情况，肿瘤可分为不同的类型，TIL的水平与免疫微环境的炎症程度密切相关^[20-23]。TIL可通过免疫组织化学、流式细胞术、微滴式数字PCR等手段进行检测^[22, 25]。目前，关于TIL作为免疫治疗预测性生物标志物的研究正在开展中。在黑色素瘤中回顾性研究PD-1抑制剂疗效和TIL的相关性^[26]，通过免疫组织化学方法检测患者肿瘤组织中TIL水平，发现CD8⁺ TIL数量与PD-1抑制剂的疗效具有相关性，但CD4⁺ TIL数量与PD-1抑制剂的疗效未见相关性。Teng等^[27]的研究根据TIL和PD-L1表达情况将肿瘤分为4类：Type I为TIL⁺ PD-L1⁺，Type II为TIL⁺ PD-L1⁻，Type III为TIL⁻ PD-L1⁺，Type IV为TIL⁻ PD-L1⁻。基于初步研究发现Type I型更易于从PD-1/PD-L1抑制剂治疗中获益，但需更多研究数据支持。

2.4 肠道菌群的差异

Sivan等^[28]的研究发现，PD-1/PD-L1疗效与肠道内双歧杆菌显著相关，可能是定植在肠道内特定区域内的双歧杆菌调节了树突状细胞的功能或释放可溶性因子，从而系统地发挥作用并导致树突状细胞（dendritic cell, DC）功能的改善。2018年，美国MD Anderson癌症中心的研究者在黑色素瘤

患者中发现, 免疫疗法有反应的患者肠道中细菌类型更加多样化, 而响应和不响应免疫疗法的患者体内肠道细菌类型也存在显著差异^[29], 但具体的作用机制及这种机制是否符合其他瘤种的特点尚待进一步探索和验证。

2.5 STK11/LKB1突变

KRAS是肺腺癌中最常见的致癌驱动因子。Skoulidis等^[30]报道, STK11/LKB1 (KL) 或TP53 (KP) 计算定义了KRAS突变腺癌的不同亚组 [KL组、KP组、K-only组 (仅KRAS突变)]。进一步分析发现, 亚组之间使用PD-1抑制剂的ORR具有显著差异, 在Checkmate-057 III期研究中应用nivolumab的患者为0.0%、57.1%和18.2% ($P=0.047$), 抵抗癌症 (Stand Up To Cancer, SU2C) 队列中有效率分别为KL (7.4%)、KP (35.7%) 和K-only (28.6%) ($P<0.001$), 且KL组具有较短的PFS ($P<0.001$) 和OS ($P=0.002$), 研究结果提示STK11/LKB1突变是KRAS突变肺腺癌PD-1抑制剂原发耐药的主要驱动因素, 提示免疫治疗效果不佳。

2.6 T细胞炎症基因表达谱 (gene expression profile, GEP)

最近的研究表明, 干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ) 是癌症和宿主细胞中PD-L1表达的关键驱动因素。Ayers等^[31]使用来自pembrolizumab治疗患者的基线肿瘤样本的RNA分析基因表达谱, 发现T细胞炎症GEP含有与抗原呈递、趋化因子表达、细胞毒活性和适应性免疫抗性相关的IFN- γ 应答基因, 并且这些对临床获益是非常重要的。与此同时, Cristescu等^[32]的研究发现在多种瘤种中, TMB和GEP双高表达的患者应用pembrolizumab后PFS优于TMB或GEP表达低, 亦或双低的患者队列, 提示T细胞GEP可能是免疫治疗效果的预测因子。

2.7 DNA甲基化特征

近期, 1项多中心研究^[33]提示使用抗PD-1药物治疗的IV期NSCLC患者的EPIMMUNE特征 (基于微阵列DNA甲基化标签的表观组学谱) 与PFS ($HR=0.01$, $P=0.007$) 和OS ($HR=0.08$, $P=0.001$) 的改善相关。EPIMMUNE阳性特征

与PD-L1表达、CD8⁺细胞的存在或突变负荷无关, 而EPIMMUNE阴性肿瘤富含肿瘤相关巨噬细胞和中性粒细胞、癌症相关成纤维细胞和衰老内皮细胞。在FOXP1验证队列中, FOXP1的未甲基化状态与PFS ($HR=0.415$, $P=0.006$) 和OS ($HR=0.409$, $P=0.009$) 改善相关, 基于微阵列DNA甲基化程度与NSCLC患者免疫治疗OS和PFS呈正相关, 提示FOXP1基因去甲基化程度可用于预测免疫治疗效果。

2.8 影像组学

一项回顾性多队列研究^[34]中, 使用4个独立的晚期实体肿瘤患者队列, 通过结合对比增强CT图像和来自肿瘤活检组织的RNA-seq基因组数据来验证和预测免疫治疗反应的放射学特征, 以评估CD8⁺肿瘤细胞浸润。结果显示, 在接受PD-1/PD-L1抑制剂治疗的患者中, 高基线放射学评分的患者达到3个月缓解的比例较高 (与疾病进展或稳定相比, $P=0.025$) 或更高比例的疾病稳定在6个月 (与疾病进展相比, $P=0.049$)。高基线放射学评分与OS率的改善也相关, 单因素分析 (高放射学评分组中位OS为24.3个月, 95% CI: 18.63~42.10; 低放射学评分组为11.5个月, $HR=0.58$, 95% CI: 0.39~0.87; $P=0.008$) 和多因素分析 ($HR=0.52$, 95% CI: 0.35~0.79, $P=0.002$) 提示, 影像组学方法评估TIL及对免疫治疗的效果可以起到预测作用。除此之外, 来自血浆的循环肿瘤DNA (circulating tumor DNA, ctDNA) 中检测到的体细胞突变可以是疾病进展、对治疗的反应以及原发性和转移性病变的克隆性的指标。因此, ctDNA分析可以为肿瘤负荷的纵向监测提供有价值的非侵入性和肿瘤特异性标志物。有研究^[35]探讨了使用ctDNA预测durvalumab (一种抗PD-L1疗法) 的生存率, 使用靶向测序对队列患者在ctDNA中评估了73种基因中体细胞突变的变体等位基因频率 (variant allele frequency, VAF), 结果在96%的患者检测到体细胞变异。而VAF的变化先于影像学反应, 6周时VAF降低的患者肿瘤体积减少更多, PFS和OS更长, 但循环ctDNA与影像组学对疗效的预测需要更多数据来

验证。

目前有多种有关免疫治疗效果的预测分子，但到底哪种才是最佳的肿瘤学标志物还需要更多的临床数据去探索和验证，未来需要对肿瘤微环境和免疫基因进行综合评估，以做出精确的选择并确立联合治疗策略。

3 免疫治疗的联合治疗策略

免疫治疗研究在过去的几年中取得了长足的进展，免疫治疗的策略也逐渐从二线单药治疗转为一线治疗、联合治疗的方向^[36]。

3.1 非鳞状细胞NSCLC的免疫治疗联合化疗

Keynote-189研究是一项多中心、双盲、安慰剂对照研究，旨在评估含铂双药联合或不联合pembrolizumab治疗任意PD-L1表达水平的非鳞状细胞NSCLC患者的疗效和安全性。结果显示，pembrolizumab组与安慰剂组患者预计12个月的生存率分别为69.2%和49.4%，pembrolizumab组与安慰剂组患者中位PFS分别为8.8和4.9个月，差异有统计学意义（HR=0.52，95% CI：0.43~0.64； $P<0.001$ ）。Pembrolizumab组与安慰剂组患者预计12个月的PFS分别为34.1%和17.3%。亚组分析结果显示，无论PD-L1 TPS评分 $<1\%$ 、 $>50\%$ 还是 $1\%~49\%$ 亚组，pembrolizumab组中患者均有显著的生存获益。

而2018年世界肺癌大会（World Conference on Lung Cancer, WCLC）大会上报道的IMpower132研究也达到主要研究终点，在意向性治疗（intent to treat, ITT）人群中，化疗联合atezolizumab组的PFS、ORR和缓解持续时间（duration of response, DOR）都优于化疗组，PFS分别为7.6和5.2个月（HR=0.60，95% CI：0.49~0.72， $P<0.001$ ）。PFS亚组分析结果显示，联合组大部分亚组人群都显示出生存获益，尤其亚裔人群的PFS获益更明显（HR=0.42）。

3.2 鳞状细胞NSCLC的免疫治疗联合化疗

Keynote-407研究是针对肺鳞癌的随机、双盲、安慰剂对照研究，探索pembrolizumab/安慰剂联合化疗在肺鳞癌患者中的疗效。结果显示，pembrolizumab联合治疗组的中位OS为15.9个月，安慰剂对照组OS为11.3个月（HR=0.64，

95% CI：0.49~0.85， $P<0.001$ ）。无论PD-L1表达水平如何，总体生存获益是一致的。而IMpower131研究发现，白蛋白紫杉醇+卡铂化疗联合atezolizumab的中位PFS达到6.3个月，显著优于化疗组（5.6个月， $P=0.000$ ）。大体上看，PD-L1阳性的患者人群PFS优于PD-L1表达阴性患者，而在前者之中进一步分析PD-L1高表达与低表达之间的差异，发现PD-L1高表达患者的中位PFS可长达10.1个月，而低表达组仅有6.0个月，表达阴性组仅为5.7个月。且PD-L1表达阴性、低表达、高表达组，应用化疗联合atezolizumab的ORR数值逐渐升高，分别为44%、52%和60%，尤其是在PD-L1高表达组应用化疗联合免疫治疗，其中位的DOR长达18.7个月，并且其中有超过一半的患者还在持续缓解，意味着PD-L1高表达的患者，不仅一线治疗的有效率最高，而且一旦获得有效，其肿瘤可持续缓解较长时间。

3.3 免疫治疗联合化疗以及抗血管治疗

免疫治疗联合化疗以及抗血管治疗也取得了不俗的成绩。IMpower150研究在2018年美国临床肿瘤协会（American Society of Clinical Oncology, ASCO）上更新了OS数据，增加atezolizumab的使用可明显延长OS，四药联合组和化疗组的中位OS分别为19.2和14.7个月（ $P=0.016$ ），虽然atezolizumab联合化疗组较化疗组的中位OS有所延长，分别为19.4和14.7个月，但两组差异无统计学意义（ $P=0.204$ ）。基于研究的结果，目前对于晚期NSCLC的一线治疗，无论鳞癌或者非鳞癌，联合治疗已成为具有明确优势的治疗方案。

3.4 免疫治疗联合免疫治疗

Checkmate-227^[17]研究将未经治疗的晚期或复发NSCLC随机分为4组：nivolumab、nivolumab+ipilimumab、nivolumab+含铂双药化疗、含铂双药化疗组，最近更新的PFS数据已经达到研究终点。研究结果显示，对于TMB高的NSCLC患者（ >10 mut/Mb），nivolumab联合ipilimumab治疗相比于化疗有更多的PFS获益（7.2个月vs 5.4个月，HR=0.58，95% CI：0.41~0.81， $P=0.000$ ）。该项研究同时也证实

TMB是一个重要且可靠的生物标志物, 在初治的晚期NSCLC患者应进行检测。

3.5 免疫治疗联合组蛋白去乙酰化酶抑制剂 (histone deacetylase inhibitor, HDACI)

HDACI即组蛋白去乙酰化酶抑制剂, 通过增加细胞内组蛋白的乙酰化程度, 提高p21等基因的表达水平等途径, 抑制肿瘤细胞的增殖、诱导细胞分化和(或)凋亡。2018年WCLC上报道的免疫治疗联合HDACI研究显示, ORR为10% (95% CI: 4%~19%), 中位持续缓解时间5.3个月, 展现出良好的应用前景。

3.6 免疫治疗联合IDO1抑制剂

吲哚胺2,3-双加氧酶1抑制剂(indoleamine 2,3-dioxygenase 1 inhibitors, IDO1)^[37]是一类能降解色氨酸的酶, 色氨酸对于CTL来说是关键的“燃料”。然而, 一些肿瘤会分泌IDO1, 清除微环境中的色氨酸, 让CTL“挨饿”, 阻止免疫系统对癌细胞进行有效的攻击。Epcadostat是一个高效、高选择性的IDO1抑制剂。ECHO-202/KEYNOTE-037研究^[38]是开放的1/2期研究, 评估epcadostat联合pembrolizumab治疗晚期NSCLC的疗效和安全性(NCT02178722)。总体而言, ORR和疾病控制率(disease control rate, DCR)分别为29%和50%。在TPS \geq 50%且既往接受过0~1线治疗的患者中, ORR为22% (2/9); 在TPS<50%且既往接受过0~1线治疗的患者中, ORR为22% (5/23)。IDO1阳性和IDO1阴性的肿瘤患者, ORR分别为24% (6/25)和19% (3/16)。患者的中位PFS为4.0个月(90% CI: 2.1~6.2个月); 6、12和18个月的PFS率分别为43% (33%~53%)、31% (22%~40%)和17% (10%~26%)。≥3度的治疗相关不良事件(treatment-related adverse effect, TRAE)发生率为27%; 3例患者因为TRAEs中止治疗; 无患者因为TRAE终致死亡。结果提示联合方案的耐受性好, 在NSCLC患者中显示出有前景的疗效。

4 免疫治疗的耐药机制及对策

随着PD-1/PD-L1抑制剂越来越多地被批准用于临床, 随之而来的就是耐药问题, 这包括原发耐药和获得性耐药。肿瘤免疫治疗耐药与靶向

治疗/化疗耐药相比有其独有的特征, 最直接的原因是T细胞缺乏识别。Sharma等^[39]总结了导致原发性或适应性耐药的内在因素, 包括缺乏抗原突变、肿瘤抗原表达缺失、HLA表达缺失、抗原加工机制改变、信号通路的改变(MAPK、PI3K、WNT和IFN)和组成性PD-L1表达改变; 与获得性耐药相关的内在因素包括靶抗原的丧失、HLA、干扰素信号转导的改变以及T细胞功能的丧失, 而肿瘤微环境的改变包括CTLA-4、PD1和其他免疫检查点, T细胞衰竭和表型改变, 免疫抑制细胞群(Treg、MDSC和2型巨噬细胞), 以及肿瘤微环境中的细胞因子和代谢物释放[CSF-1、色氨酸代谢物、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF β)和腺苷]。

4.1 原发性耐药: PTEN表达缺失

PTEN可抑制PI3K通路, 后者在肿瘤增殖和存活等一些关键细胞加工处理过程中起到调节作用, PTEN基因的缺失可以增加多种肿瘤PI3K-AKT通路的活性。有研究发现, 在30%的黑色素瘤患者中, PTEN基因的缺失和免疫检查点抑制剂的耐药有关^[39-40]。癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)的黑色素瘤数据库中, PTEN基因缺失和IFN- γ 基因表达的下降、颗粒酶B和CD8⁺T淋巴细胞浸润的减少显著相关。与有T细胞炎性浸润的肿瘤相比, PTEN基因删除和突变在没有T细胞炎性浸润的肿瘤中发生频率更高。

4.2 原发/获得性耐药: JAK1或JAK2基因突变

有研究^[41-42]发现, 导致原发性耐药的遗传变异与两个信号通路有关。第一个通路的改变导致肿瘤细胞缺乏对干扰素- γ 的响应, 涉及JAK1和JAK2编码基因的突变缺失。第二个通路的改变与CTL相关, 具体涉及到的是 β -2-微球蛋白(beta-2-microglobulin, B2M)编码基因的突变。

4.3 获得性耐药

4.3.1 B2M基因突变

Gettinger等^[43]利用14个ICI耐药肺癌样本的队列来研究编码HLA I类抗原加工和表达机制(antigen processing machinery, APM)组分或干扰素信号转导的基因改变是否介导免疫治疗获得

性耐药, 在队列中未检测到复发性突变或拷贝数变化。但在一个病例中发现, *B2M* 纯合性缺失可导致肿瘤中缺乏细胞表面HLAI类表达。在从ICI耐药肿瘤建立的另外两个PDX中也发现了*B2M*的下调。在肺癌小鼠模型中CRISPR介导的敲除*B2M*可导致对PD-1抑制剂耐药, 证明了其在ICI耐药中的作用。这些结果表明, HLAI类APM破坏可介导肺癌中ICI耐药。

4.3.2 新抗原的丢失

Anagnostou等^[44]探索了NSCLC患者获得性耐药期间肿瘤新抗原的演变过程。在对匹配的耐药肿瘤的基因组变化进行分析后发现, 导致耐药克隆中7~18个假定的突变相关新抗原发生了丢失。由消除的新抗原产生的肽在自体T细胞培养物中引发克隆T细胞扩增, 表明它们产生功能性免疫应答。通过消除肿瘤亚克隆或通过缺失改变的染色体区域发生新抗原丢失, 并且与T细胞受体克隆性的变化相关。这些分析有助于对免疫检查点阻断期间突变图谱动态的深入了解, 并且对靶向肿瘤新抗原的免疫疗法的发展具有意义。这项工作首次表明, ICI获得性耐药可能与突变的动态演变相关联, 其中一些突变可编码T细胞可识别的肿瘤新抗原。

4.3.3 获得性耐药的临床特征

Gettinger等^[45]评估了26例PD-1抑制剂获得性耐药 (acquired resistance, AR) 患者。AR的中位发生时间为313 d; 2年OS率为70% (95% CI: 0.53~0.92)。20例 (77%) 患者发生淋巴结进展, 包括11例仅淋巴结进展的患者。23例 (88%) 患者的复发仅限于1个 (54%) 或2个 (35%) 部位。14例 (54%) 患者继续进行PD-1抑制剂治疗。在疾病进展后, 3例患者使用相同的PD-1抑制剂再次治疗, 2例患者再次起效。15例 (58%) 患者在发生AR后接受局部治疗, 11例患者在局部治疗后继续使用PD-1抑制剂, 这15例患者的2年OS率为92%。以上结果提示患者在接受PD-1抑制剂治疗后发生耐药通常为局部进展, 局部治疗可能在AR发生后发挥作用。

5 肿瘤超进展和肿瘤假性进展

在免疫治疗的过程中, 除了各种原因造成的

疾病进展以外, 还存在着超进展和假性进展现象。肿瘤超进展是免疫治疗过程中一种新发现的进展模式。Champiat等^[46]对131例接受PD-1/PD-L1抑制剂治疗的患者进行分析, 其中12例 (9.1%) 患者发生超进展, 超进展与年龄显著相关, 超进展在大于65岁的患者中发生率为19%, 超进展与肿瘤负荷、治疗线数无相关性, 而且PD-1抑制剂和PD-L1抑制剂在超进展的发生率上差异无统计学意义。而最近*JAMA Oncol*上报道的另一更大样本的研究则提示, 超进展发生率高达13.8% (56/406), 超进展的发生与治疗前超过2个转移部位相关, 发生超进展的队列OS更差^[2]。有研究^[47-48]表明, 小鼠双微体同源基因 (murine double minute homolog, *MDM*) *2/MDM4* 扩增以及表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, *EGFR*) 基因突变可能是超进展发生的独立预测因子。研究者对4例有足够的组织标本进行基因分析的超进展患者分析发现, *MDM2/MDM4* 基因扩增、*EGFR* 基因扩增以及11号染色体13区带相关基因 (*CCND1*、*FGF3*、*FGF4*和*FGF19*) 扩增, 是尤为常见的基因变异。此后作者对做过基因分析的696例患者的资料进行了分析, 有26例 (4%) 患者携带*MDM2/MDM4* 扩增, 26例 (4%) 患者携带*EGFR* 基因扩增, 25例 (4%) 携带11号染色体13区扩增, 其中有10例患者接受过PD-1抗体治疗。3例*MDM2/MDM4* 扩增患者接受了PD-1抑制剂治疗, 2例出现疾病爆发进展。2例*EGFR* 扩增患者接受了PD-1抑制剂治疗, 1例出现疾病爆发进展。7例11号染色体13区扩增的患者接受了PD-1抑制剂治疗, 3例出现疾病爆发进展。

假性进展同样是免疫治疗过程中较为独特的缓解模式。Tanizaki等^[49]报道了2例nivolumab治疗后出现假性进展的病例, CT显示肝转移病变最初进展但随后在连续nivolumab给药期间后缩小, 同时血清癌胚抗原水平也下降。1例肝转移灶的组织学评估显示, 纤维化组织含有CD3、CD4或CD8阳性的TIL, 但没有活肿瘤细胞。目前尚无有效分子标志物可识别假性进展, 但Lee等^[50]最近的研究显示, 在黑色素瘤中,

ctDNA可预测假性进展, 灵敏度达90% (95% CI: 68%~99%)、特异度达100% (95% CI: 60%~100%)。

6 结语

PD-L1作为肿瘤学标志物仍存在诸多不足, TMB、MSI已经或正在获批, 但需要前瞻性大样本研究确认, 其他肿瘤学标志物, 如TIL以及微生物组等, 需要更多临床数据支持。未来免疫治疗的疗效预测肿瘤学标志物更加需要整合肿瘤、肿瘤微环境、外周血、宿主特征、表观遗传学、影像组学等多参数指标。而关于免疫治疗的耐药、超进展、假性进展的机制及肿瘤学标志物仍处于继续探索中, 对未来精准免疫治疗具有重要意义。目前免疫单药治疗和联合治疗的相关研究都取得了不斐的进展, 尤其是联合治疗在提高免疫治疗效果、扩大获益人群、克服耐药方面将发挥重要作用, 但联合治疗方案的选择、联合作用的机制及肿瘤学标志物的选择仍需进一步探索。

[参 考 文 献]

- [1] DOROSHOW D B, HERBST R S. Treatment of advanced non-small cell lung cancer in 2018 [J] . JAMA Oncol, 2018, 4(4): 569-570.
- [2] FERRARA R, MEZQUITA L, TEXIER M, et al. Hyperprogressive disease in patients with advanced non-small cell lung cancer treated with PD-1/PD-L1 inhibitors or with single-agent chemotherapy [J] . JAMA Oncol, 2018, 4(11): 1543-1552.
- [3] CARBOGNIN L, PILOTTO S, MILELLA M, et al. Differential activity of nivolumab, pembrolizumab and MPDL3280A according to the tumor expression of programmed death-ligand-1 (PD-L1): sensitivity analysis of trials in melanoma, lung and genitourinary cancers [J] . PLoS One, 2015, 10(6): e0130142.
- [4] MENG X, HUANG Z, TENG F, et al. Predictive biomarkers in PD-1/PD-L1 checkpoint blockade immunotherapy [J] . Cancer Treat Rev, 2015, 41(10): 868-876.
- [5] MCLAUGHLIN J, HAN G, SCHALPER K A, et al. Quantitative assessment of the heterogeneity of PD-L1 expression in non-small cell lung cancer [J] . JAMA Oncol, 2016, 2(1): 46-54.
- [6] RIMM D, SCHALPER K, PUSZTAI L. Unvalidated antibodies and misleading results [J] . Breast Cancer Res Treat, 2014, 147(2): 457-458.
- [7] VELCHETI V, SCHALPER K A, CARVAJAL D E, et al. Programmed death ligand-1 expression in non-small cell lung cancer [J] . Lab Invest, 2014, 94(1): 107-116.
- [8] WIMBERLY H, BROWN J R, SCHALPER K, et al. PD-L1 expression correlates with tumor-infiltrating lymphocytes and response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer [J] . Cancer Immunol Res, 2015, 3(4): 326-332.
- [9] PHILLIPS T, SIMMONS P, INZUNZA H D, et al. Development of an automated PD-L1 immunohistochemistry (IHC) assay for non-small cell lung cancer [J] . Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2015, 23(8): 541-549.
- [10] SHARMA P, ALLISON J P. The future of immune checkpoint therapy [J] . Science, 2015, 348(6230): 56-61.
- [11] MCGRANAHAN N, FURNESS A J, ROSENTHAL R, et al. Clonal neoantigens elicit T cell immunoreactivity and sensitivity to immune checkpoint blockade [J] . Science, 2016, 351(6280): 1463-1469.
- [12] JOHNSON D B, FRAMPTON G M, RIOOTH M J, et al. Targeted next generation sequencing identifies markers of response to PD-1 blockade [J] . Cancer Immunol Res, 2016, 4(11): 959-967.
- [13] RIZVI N A, HELLMANN M D, 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] 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.
- [15] ALEXANDROV L B, NIK-ZAINAL S, WEDGE D C, et al. Signatures of mutational processes in human cancer [J] . Nature, 2013, 500(7463): 415-421.
- [16] 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.
- [17] 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.
- [18] 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.
- [19] LUKSZA M, RIAZ N, MAKAROV V, et al. A neoantigen fitness model predicts tumour response to checkpoint blockade immunotherapy [J] . Nature, 2017, 551(7681): 517-520.
- [20] MASUCCI G V, CESANO A, HAWTIN R, et al. Validation of biomarkers to predict response to immunotherapy in cancer: volume I - pre-analytical and analytical validation [J] . J Immunother Cancer, 2016, 4: 76.
- [21] MA W, GILLIGAN B M, YUAN J, et al. Current status and perspectives in translational biomarker research for PD-1/PD-L1 immune checkpoint blockade therapy [J] . J Hematol Oncol, 2016, 9(1): 47.
- [22] HEGDE P S, KARANIKAS V, EVERS S. The where, the when, and the how of immune monitoring for cancer immunotherapies in the era of checkpoint inhibition [J] . Clin Cancer Res, 2016, 22(8): 1865-1874.

- [23] YUAN J, HEGDE P S, CLYNES R, et al. Novel technologies and emerging biomarkers for personalized cancer immunotherapy [J] . *J Immunother Cancer*, 2016, 4: 3.
- [24] WEIN L, SAVAS P, LUEN S J, et al. Clinical validity and utility of tumor-infiltrating lymphocytes in routine clinical practice for breast cancer patients: current and future directions [J] . *Front Oncol*, 2017, 7: 156.
- [25] ROBINS H S, ERICSON N G, GUENTHOER J, et al. Digital genomic quantification of tumor-infiltrating lymphocytes [J] . *Sci Transl Med*, 2013, 5(214): 214ra169.
- [26] TUMEH P C, HARVIEW C L, YEARLEY J H, et al. PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance [J] . *Nature*, 2014, 515(7528): 568-571.
- [27] TENG M W, NGIOW S F, RIBAS A, et al. Classifying cancers based on T-cell infiltration and PD-L1 [J] . *Cancer Res*, 2015, 75(11): 2139-2145.
- [28] SIVAN A, CORRALES L, HUBERT N, et al. Commensal bifidobacterium promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD-L1 efficacy [J] . *Science*, 2015, 350(6264): 1084-1089.
- [29] GOPALAKRISHNAN V, SPENCER C N, NEZI L, et al. Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients [J] . *Science*, 2018, 359(6371): 97-103.
- [30] SKOULIDIS F, GOLDBERG M E, GREENAWALT D M, et al. STK11/LKB1 mutations and PD-1 inhibitor resistance in KRAS-mutant lung adenocarcinoma [J] . *Cancer Discov*, 2018, 8(7): 822-835.
- [31] AYERS M, LUNCEFORD J, NEBOZHYN M, et al. IFN-gamma-related mRNA profile predicts clinical response to PD-1 blockade [J] . *J Clin Invest*, 2017, 127(8): 2930-2940.
- [32] 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.
- [33] DURUISSEAU M, MARTINEZ-CARDUS A, CALLEJA-CERVANTES M E, et al. Epigenetic prediction of response to anti-PD-1 treatment in non-small-cell lung cancer: a multicentre, retrospective analysis [J] . *Lancet Respir Med*, 2018, 6(10): 771-781.
- [34] 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.
- [35] RAJA R, KUZIORA M, BROHAWN P Z, et al. Early reduction in ctDNA predicts survival in patients with lung and bladder cancer treated with durvalumab [J] . *Clin Cancer Res*, 2018, 24(24): 6212-6222.
- [36] MELERO I, BERMAN D M, AZNAR M A, et al. Evolving synergistic combinations of targeted immunotherapies to combat cancer [J] . *Nat Rev Cancer*, 2015, 15(8): 457-472.
- [37] KOMIYA T, HUANG C H. Updates in the clinical development of epacadostat and other indoleamine 2,3-dioxygenase 1 inhibitors (IDO1) for human cancers [J] . *Front Oncol*, 2018, 8: 423.
- [38] MITCHELL T C, HAMID O, SMITH D C, et al. Epacadostat plus pembrolizumab in patients with advanced solid tumors: phase I results from a multicenter, open-label phase I/II trial (ECHO-202/KEYNOTE-037) [J] . *J Clin Oncol*, 2018: JCO2018789602.
- [39] SHARMA P, HU-LIESKOVAN S, WARGO J A, et al. Primary, adaptive, and acquired resistance to cancer immunotherapy [J] . *Cell*, 2017, 168(4): 707-723.
- [40] PENG W, CHEN J Q, LIU C, et al. Loss of PTEN promotes resistance to T cell-mediated immunotherapy [J] . *Cancer Discov*, 2016, 6(2): 202-216.
- [41] 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.
- [42] SHIN D S, ZARETSKY J M, ESCUIN-ORDINAS H, et al. Primary resistance to PD-1 blockade mediated by JAK1/2 mutations [J] . *Cancer Discov*, 2017, 7(2): 188-201.
- [43] GETTINGER S, CHOI J, HASTINGS K, 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 Discov*, 2017, 7(12): 1420-1435.
- [44] ANAGNOSTOU V, SMITH K N, FORDE P M, et al. Evolution of neoantigen landscape during immune checkpoint blockade in non-small cell lung cancer [J] . *Cancer Discov*, 2017, 7(3): 264-276.
- [45] GETTINGER S N, WURTZ A, GOLDBERG S B, et al. Clinical features and management of acquired resistance to PD-1 axis inhibitors in 26 patients with advanced non-small cell lung cancer [J] . *J Thorac Oncol*, 2018, 13(6): 831-839.
- [46] CHAMPIAT S, DERCLE L, AMMARI S, et al. Hyperprogressive disease is a new pattern of progression in cancer patients treated by anti-PD-1/PD-L1 [J] . *Clin Cancer Res*, 2017, 23(8): 1920-1928.
- [47] FUENTES-ANTRAS J, PROVENCIO M, DIAZ-RUBIO E. Hyperprogression as a distinct outcome after immunotherapy [J] . *Cancer Treat Rev*, 2018, 70: 16-21.
- [48] 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.
- [49] TANIZAKI J, HAYASHI H, KIMURA M, et al. Report of two cases of pseudoprogression in patients with non-small cell lung cancer treated with nivolumab-including histological analysis of one case after tumor regression [J] . *Lung Cancer*, 2016, 102: 44-48.
- [50] LEE J H, LONG G V, MENZIES A M, et al. Association between circulating tumor DNA and pseudoprogression in patients with metastatic melanoma treated with anti-programmed cell death 1 antibodies [J] . *JAMA Oncol*, 2018, 4(5): 717-721.

(收稿日期: 2019-01-18 修回日期: 2019-02-28)