

免疫检查点抑制剂治疗晚期非小细胞肺癌的 预后标志物动态监测研究进展

代丽源¹, 石远凯^{2,3}, 韩晓红^{4,5}

国家癌症中心 国家肿瘤临床医学研究中心 中国医学科学院肿瘤医院¹ 检验科² 内科

³ 抗肿瘤分子靶向药物临床研究北京市重点实验室, 北京 100021

中国医学科学院北京协和医院⁴ 临床药理研究中心 国家药品监督管理局 药物临床研究与评价重点实验室

创新药物临床药代药效研究北京市重点实验室⁵ 疑难重症及罕见病国家重点实验室, 北京 100730

通信作者: 韩晓红, E-mail: hanxiaohong@pumch.cn

【摘要】 免疫检查点抑制剂在晚期非小细胞肺癌中的应用显著提高了患者的生存获益, 但存在治疗反应率低等临床问题。免疫检查点抑制剂治疗是肿瘤-免疫系统交互对话、动态变化的过程, 纵向监测生物标志物变化, 有助于消除个体间的差异, 提供肿瘤时空异质性信息。本文将从肿瘤细胞源性、免疫微环境源性及多指标联合三方面对免疫检查点抑制剂治疗晚期非小细胞肺癌预后标志物动态监测的相关研究进展进行综述。

【关键词】 免疫治疗; 非小细胞肺癌; 动态监测; 预后标志物; 免疫检查点抑制剂

【中图分类号】 R734.2; R730.3 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1674-9081(2022)02-0287-09

DOI: 10.12290/xhyxzz.2021-0608

Advances in Dynamic Monitoring of Immune Checkpoint Inhibitors as the Prognostic Markers for Advanced Non-small Cell Lung Cancer

DAI Liyuan¹, SHI Yuankai^{2,3}, HAN Xiaohong^{4,5}

¹ Department of Clinical Laboratory, ² Department of Medical Oncology, ³ Beijing Key Laboratory of

Clinical Study on Anticancer Molecular Targeted Drugs, Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, National Cancer Center, National Clinical Research Center for Cancer, Beijing 100021, China

⁴ Clinical Pharmacology Research Center, NMPA Key Laboratory for Clinical Research and Evaluation of Drug,

Beijing Key Laboratory of Clinical PK & PD Investigation for Innovative Drugs,

⁵ State Key Laboratory of Complex Severe and Rare Diseases, Peking Union Medical College Hospital,

Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100730, China

Corresponding author: HAN Xiaohong, E-mail: hanxiaohong@pumch.cn

【Abstract】 The use of immune checkpoint inhibitors (ICIs) in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) significantly improves survival, but it has clinical problems such as low response rate. Treatment of tumor with ICIs is a dynamic change that involves the process of tumor-immune system interaction. Vertical monitoring of dynamic changes of biomarkers is helpful to eliminate individual differences and to provide infor-

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项 (2019ZX09201-002, 2017ZX09304015); 2022首都卫生发展科研专项 (2022-2z-4016)

引用本文: 代丽源, 石远凯, 韩晓红. 免疫检查点抑制剂治疗晚期非小细胞肺癌的预后标志物动态监测研究进展 [J]. 协和医学杂志, 2022, 13 (2): 287-295. doi: 10.12290/xhyxzz.2021-0608.

mation on spatiotemporal heterogeneity of tumors. This paper reviews the biomarkers of advanced NSCLC, covering the aspects of treatment with ICIs from tumor cell origin, immune microenvironmental source and joint indicators.

【Key words】 immunotherapy; non-small cell lung cancer; dynamic monitoring; prognostic marker; immune checkpoint inhibitors

Funding: Chinese National Major Project for New Drug Innovation (2019ZX09201-002, 2017ZX09304015); 2022 Capital Health Development Scientific Research Project (2022-2z-4016)

Med J PUMCH, 2022, 13(2):287-295

2020 年 GLOBOCAN 发布数据显示，肺癌为全球新发病率（11.4%）第二、死亡率（18%）第一的癌症^[1]，其中非小细胞肺癌（non-small cell lung cancer, NSCLC）占比最高（85%）。NSCLC 包括腺癌、鳞状细胞癌、大细胞癌等病理组织亚型。由于缺乏有效的筛查手段及早期临床症状不典型，大部分 NSCLC 患者就诊时已为晚期，预后不佳^[2]。随着针对表皮生长因子受体（epithelial growth factor receptor, EGFR）、间变性淋巴瘤激酶（anaplastic lymphoma kinase, ALK）等靶向药物及抗程序性死亡 [蛋白] -1 及其配体-1（programmed death-1/ligand-1, PD-1/L1）、细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 4（cytotoxic T-lym-phocyte associated antigen-4, CTLA-4）等免疫检查点抑制剂（immune checkpoint inhibitors, ICIs）的相继应用，晚期 NSCLC 的治疗方案从传统的手术、放疗、化疗逐渐过渡至靶向及免疫治疗^[3]。

ICIs 已成为无敏感基因突变的晚期 NSCLC 患者的标准治疗，被美国食品药品监督管理局批准用于治疗晚期 NSCLC 的抗 PD-1/L1 免疫检查点抑制剂包括 PD-1 单抗如 pembrolizumab、nivolumab，以及 PD-L1 单抗如 atezolizumab 等^[4-5]。ICIs 治疗存在完全缓解、部分缓解、病情稳定、假性进展^[6]、超进展（hyperprogressive disease, HPD）^[7-8] 等一系列临床效应，并有可能发生免疫相关不良反应（immune related adverse events, irAEs）^[9-10]。其中晚期 NSCLC 患者的假性进展发生率可达 2%~19%^[11-15]，HPD 发生率较泛癌种高（13.8% 比 9%），且 HPD 患者的生存获益更差^[15-16]。一项针对晚期 NSCLC 患者开展的 nivolumab 二线治疗多中心研究显示，irAEs 发生率为 51%，发生 irAEs 的患者相较于无 irAEs 的患者中位无进展生存期（progression-free survival, PFS）更长（9.2 个月比 4.8 个月）^[17]。

ICIs 治疗是一个肿瘤-免疫系统交互对话的动态过程，目前研究大多基于治疗前或治疗过程中某一时间点的标志物水平进行疗效预测，如组织标本肿瘤细

胞表面 PD-L1 表达水平、肿瘤突变负荷（tumor mutational burden, TMB）、微卫星高度不稳定/错配修复缺陷（microsatellite instability-high/deficient mismatch repair, MSI-H/dMMR）及肿瘤免疫微环境中的 CD4⁺、CD8⁺ T 细胞等。单点监测存在忽略肿瘤-免疫系统变化的时间异质性、非连续观测、不能结合前后变化准确实时反映治疗效果等问题，促使反映肿瘤-免疫系统交互对话特性的动态监测研究的兴起。动态监测可提供肿瘤时空异质性信息，有助于进行个体化监测，减少肿瘤间的异质性，从而更好地寻找合适的干预时间点，动态指导临床实践。由于连续获取检测标本存在难度大、时间长、成本高等问题，使得从分子水平对肿瘤细胞进行动态监测较为困难^[18]。近年来，随着技术手段的进步以及 ICIs 的广泛应用，基于组织标本、液体活检方面动态监测 ICIs 预后生物标志物的研究逐渐增多，故本文对监测基线（行 ICIs 治疗前）及 ICIs 治疗后多个时间点的晚期 NSCLC 患者血液/组织标本中的预后标志物相关研究进行综述，以期为该领域相关研究的开展提供思路及方向。

1 ICIs 治疗晚期 NSCLC 预后标志物动态监测的意义

ICIs 治疗晚期 NSCLC 的患者反应率低（10%~30%）^[19]，分析原因可能与肿瘤异质性及肿瘤微环境的动态变化有关。肿瘤异质性分为空间和时间异质性，可导致肿瘤进展及治疗过程中耐药的发生^[20-21]。在肿瘤进展过程中，肿瘤细胞-免疫微环境状态不断变化，如存在 T 细胞耗竭、T 细胞表面标志物表达以及肿瘤免疫微环境组成成分变化等^[22]。

在 ICIs 治疗过程中，即使是同一起点的患者，最终临床结局也可能大相径庭。Lesterhuis 等^[23] 提出 ICIs 治疗肿瘤的过程是动态变化的，单纯静态分析将忽略条件变化对整个肿瘤细胞进化造成的影响。动态监测预后生物标志物，可找到接近临界点

的信号，预测可能的治疗反应，实现疗效动态追踪、实时对照、及时捕获。预后生物标志物应具有捕获肿瘤-免疫系统交互动态对话的特性，可准确捕

捉肿瘤克隆进化期间发生的变化，在多个时间点对肿瘤进行序列描述^[24]。目前，关于 ICI 治疗晚期 NSCLC 预后标志物动态监测的相关研究见表 1。

表 1 ICI 治疗晚期 NSCLC 预后标志物动态监测相关研究

标志物	治疗方式	样本量 (n)	检测内容	监测方法	临床效应	参考文献
ctDNA	nivolumab	14	基因等位频率 AF	靶向测序 (53 个基因)	PD	[25]
	抗 PD-1 单药/联合 ICI 治疗	28	突变体等位基因分数 MAF	高通量基因测序	PR、PFS、OS	[26]
	pembrolizumab	12	btMB、最大体细胞等位基因频率 MSAF、肿瘤克隆结构	靶向测序 (329 个基因)	PFS、肿瘤进展	[27]
	nivolumab/pembrolizumab/atezolizumab	34	KRAS 突变	微滴式数字 PCR	PFS、OS、肿瘤进展	[28]
CTC	nivolumab	24	PD-L1 ⁺ CTCs	循环肿瘤细胞检测体系 (Cell Search System)	PD、CB	[29]
CD4 ⁺ T 细胞亚群	atezolizumab/nivolumab/pembrolizumab	70	CD28 ⁻ CD4 ⁺ T 细胞	流式细胞术	HPD	[30]
CD8 ⁺ T 细胞亚群	pembrolizumab/nivolumab	36	表达 CX3CR1 的 CD8 ⁺ T 细胞	流式细胞术	ORR、PFS、OS	[31]
TCR	nivolumab	4	TCR 克隆性	单细胞 RNA 测序	肿瘤进展	[32]
	nivolumab	21	TCR 克隆性	TCR 测序	MPR	[33]
	nivolumab	40	PD-1 ⁺ CD8 ⁺ T 细胞	流式细胞术 TCR 测序	PFS	[34]
NLR	nivolumab	101	NLR	全自动血液分析仪	PFS	[35]
	nivolumab/pembrolizumab	19	NLR	全自动血液分析仪	TTF	[36]
LMR	nivolumab	162	LMR	全自动血液分析仪	ORR、PFS、OS	[37]
IL-8	nivolumab/pembrolizumab	19	IL-8	酶联免疫吸附试验	假性进展	[38]
IL-6	nivolumab/pembrolizumab/atezolizumab/durvalumab	47	IL-6	酶联免疫吸附试验	PFS	[39]
ctDNA、TCR	nivolumab/pembrolizumab/联合 ICI 治疗	38	ctDNA、TCR 克隆性	靶向错误矫正测序	PFS、OS	[40]
bTMB、CD8 ⁺ T 细胞亚群、ctDNA	抗 PD-1 单药/联合 ICI 治疗	99	ctDNA、CD8 ⁺ T 细胞	高通量测序 流式细胞术	PFS	[41]

NSCLC：非小细胞肺癌；ctDNA：循环肿瘤 DNA；PD-1：程序性死亡蛋白-1；ICI：免疫检查点抑制剂；CTC：循环肿瘤细胞；PD-L1：程序性死亡蛋白-1；NLR：中性粒细胞/淋巴细胞比值；LMR：淋巴细胞/单核细胞比值；IL-8：白细胞介素-8；TCR：T 细胞受体；bTMB：血液肿瘤突变负荷；DCB：持久临床获益；PR：部分缓解；PFS：无进展生存期；OS：总生存期；PD：疾病进展；CB：临床获益；HPD：超进展；ORR：客观缓解率；MPR：病理部分缓解；TTF：达到治疗失败时间

2 ICIs 治疗晚期 NSCLC 的预后标志物

2.1 肿瘤细胞源性预后标志物

肿瘤液体活检具有微创性、样本易获得性、重复采样实用性等优势，可更好地帮助临床医生了解肿瘤随时间推移在分子水平上的变化^[42]。现有肿瘤细胞源性预后标志物集中于监测循环肿瘤 DNA (circulating tumor DNA, ctDNA) 及循环肿瘤细胞 (circulating tumor cell, CTC)。

2.1.1 ctDNA

Iijima 等^[25]研究发现，基线及动态 ctDNA 的等位基因频率 (allelic frequency, AF) 下降与 ICIs 治疗的持久临床获益 (durable clinical benefit, DCB) 效应呈正相关，疗效好的患者 AF 大多在 2 周内迅速下降，疗效差的患者 AF 则持续升高。Goldberg 等^[26]将血浆 ctDNA 突变体等位基因分数 (mutant allele fraction, MAF) 下降>50% 定义为 ctDNA 反应。ctDNA 反应与 PFS ($HR=0.29, P=0.03$) 和总生存期 (overall survival, OS) ($HR=0.17, P=0.007$) 相关，且可预测影像学部分缓解 (partial remission, PR) 患者，ctDNA 初始反应平均时间为 24.5 d，而影像学出现 PR 的时间为 72.5 d，ctDNA 反应者具有更好的临床获益。

目前，已有研究通过动态监测 ctDNA 基因突变及基因突变负荷，实现对 ICIs 的疗效监测。Li 等^[27]研究表明，高基线血液肿瘤突变负荷 (blood tumor mutational burden, bTMB) 患者的 PFS 更长；克隆分析可早于 CT 扫描 24 个月检测到肿瘤进展。此外，通过对时序性血浆提取的 ctDNA 进行微滴式数字聚合酶链式反应分析显示，治疗后 3 或 4 周时的 Kirsten 大鼠肉瘤病毒癌基因 (Kirsten rat sarcoma viral oncogene, KRAS) 突变与肿瘤进展呈正相关。治疗后 3 或 4 周突变等位基因丰度的半定量指数 (mutated allele fractional abundance, MAFA) 增加与较高的进展性疾病发生率 ($aOR=7.3, P=0.0016$)、较短的 PFS ($aHR=2.1, P=0.0142$) 和 OS ($aHR=3.2, P=0.0168$) 相关^[28]。以上研究结果提示 ICIs 治疗过程中，ctDNA 的 AF 或 KRAS 突变的 MAFA 水平下降与更好的临床获益相关，且可在影像学反应之前及时地预测治疗获益或肿瘤进展。

2.1.2 CTC

血液中的 CTC 水平在免疫治疗前后将发生变化，研究证实免疫治疗后 CTC 水平增加与免疫治疗效果

不佳呈正相关^[43-44]，但尚缺乏连续多个时间点的动态研究证实。此外，研究表明部分 PD-L1 阴性 (11% ~ 20%) 的患者仍可通过 ICIs 治疗获得临床获益^[45-47]。提示 PD-L1 免疫组化预测 ICIs 疗效的准确性有待提高，尚不能很好地区分获益人群。通过检测治疗前 CTC 表面 PD-L1 表达水平预测 ICIs 获益人群已有相关报道^[48-49]。Guibert 等^[50]研究发现 CTC 表面 PD-L1 表达阳性的患者更易成为治疗无效者 (PFS<6 个月)，疾病进展的患者均为 CTC 表面 PD-L1 表达阳性。同样，Nicolazzo 等^[29]动态监测患者 CTC 的 PD-L1 表达水平，结果显示在治疗前和治疗后 3 个月时，CTC 表面 PD-L1 表达阳性与患者较差的预后呈正相关；在治疗后 6 个月发现 CTC 的患者中，CTC 表面 PD-L1 表达阴性的患者均获得了临床获益，而 PD-L1 表达阳性的患者肿瘤均存在不同程度的进展。提示通过治疗和早期动态监测 CTC 的 PD-L1 表达水平，可尽早区分治疗获益人群，预测肿瘤进展。

2.2 免疫微环境源性预后标志物

ICIs 治疗的关键在于免疫系统与肿瘤细胞相互作用、交叉对话，通过监测免疫微环境的生物标志物，如 CD4⁺ 及 CD8⁺ T 细胞亚群、中性粒细胞/淋巴细胞比值、细胞因子等可反映免疫系统与肿瘤细胞的博弈状态。

2.2.1 CD4⁺ 及 CD8⁺ T 细胞亚群

研究发现，对 ICIs 治疗反应者治疗前血液中具有更高比例的 CD62 Llow CD4⁺ T (活化的 CD4⁺ T) 细胞，对 ICIs 治疗无反应者具有更高比例的调节性 T 细胞 (regulatory T cell, Treg) (即：CD25⁺ FOXP3⁺ CD4⁺ T 细胞)；更高比例的 CD62 Llow CD4⁺ T 细胞与生存获益呈正相关。基于两种 CD4⁺ T 细胞亚群建立模型预测反应者与无反应者，灵敏度达 85.7%，特异度达 100%^[51]。除此之外，CD4⁺ T 细胞亚群在早期预测 HPD 发生方面亦有相关研究，低分化及中分化的 T 细胞表达 CD28，而高分化的 T 细胞则不表达。Arasanz 等^[30]通过检测 70 例 ICIs 单药治疗患者的外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cell, PBMC)，发现 HPD 患者在 ICIs 治疗第 1、2 周期出现 CD28⁻ CD4⁺ T 细胞的强烈扩增，相较于未发生 HPD 的患者，CD28⁻ CD4⁺ T 细胞的治疗后/治疗前比值增高 (1.525 比 0.990, $P=0.0007$)；根据 CD28⁻ CD4⁺ T 细胞治疗后/治疗前比值对患者进行风险分层，其灵敏度为 70%，特异度为 82%，提示 HPD 的发生可能与免疫微环境中淋巴细胞亚群的改变相关。

Kim 等^[31]研究发现，治疗前外周血中 CD8⁺ T 细胞的 PD-1 表达阳性与治疗反应无关，治疗 1 个周期后 CD8⁺ T 细胞 PD-1 表达降低>2% 与患者发生 DCB，以及较长的 PFS (HR=0.323)、OS (HR=0.378) 相关。此外，有研究发现，ICIs 治疗后 12 周，CD8⁺ T 细胞表面的 CX3CR1 表达增加>20% 与患者更好的客观缓解率 (objective response rate, ORR)、PFS、OS 相关，以此区分治疗有反应者与无反应者，灵敏度可达 92.3%，特异度达 87%^[52]。上述研究结果提示，通过动态监测治疗前、治疗过程中外周血 CD4⁺ 及 CD8⁺ T 细胞亚群的变化可及时区分获益人群，监测肿瘤进展、HPD 的发生。

2.2.2 T 细胞克隆性

由于肿瘤细胞的异质性，可激活不同的 T 细胞产生不同的 T 细胞受体 (T cell receptor, TCR) 以识别肿瘤抗原；T 细胞扩增也可形成具有相同 TCR 序列的多个细胞，即 TCR 克隆性扩增。通过 TCR 测序，有助于深入了解肿瘤免疫微环境的克隆多样性，认识肿瘤免疫应答过程^[53-54]。研究发现，肿瘤进展后肿瘤相关 CD4⁺ T 细胞的 TCR 克隆丰度显著下降^[32]。瘤内 TCR 克隆性更高，其术后肿瘤残留更低^[33]。联合 CD8⁺ T 细胞与 TCR 表位复杂度及克隆度，Han 等^[34]通过动态监测 ICIs 治疗前及治疗过程中（治疗后约 4~6 周）的 T 细胞发现，ICIs 治疗前 PD-1⁺ CD8⁺ T 细胞 TCRβ-CDR3 高复杂度患者相较于低复杂度患者具有更长的中位 PFS (6.4 个月比 2.5 个月, $P=0.021$)，ICIs 治疗后 TCR 复杂度上升患者相较于下降患者具有更长的 PFS (7.3 个月比 2.6 个月, $P=0.002$)。由此可知，CD4⁺ 或 CD8⁺ T 细胞 TCR 表位的高复杂度与患者更好的 PFS 呈正相关，动态监测治疗前后 TCR 表位的复杂度可预测 ICIs 疗效及肿瘤进展情况。

2.2.3 中性粒细胞/淋巴细胞比值及淋巴细胞/单核细胞比值

中性粒细胞/淋巴细胞比值 (neutrophil to lymphocyte ratio, NLR) 反映了肿瘤炎症状态与抗肿瘤免疫反应的平衡。已有研究联合治疗前的 NLR 与乳酸脱氢酶建立肺癌免疫治疗预后指数 (lung immune prognostic index, LIPI)，预测免疫治疗获益情况^[35,55]。Nakaya 等^[35]对 101 例接受 nivolumab 单药治疗的患者进行研究发现，基线 NLR 水平与患者的 PFS 无关，而治疗后 2 周、4 周 NLR<3 的患者相较于 NLR≥3 的患者中位 PFS 更长 (5.3 个月比 2.1 个月, $P=0.0052$ ；5.3 个月比 2.0 个月, $P=0.0051$)。此外，

Kiriу 等^[36]回顾性分析患者治疗前的 NLR 水平发现，治疗后 NLR 水平增加>30% 的患者达到治疗失败的时间 (time to treatment failure, TTF) 明显短于 NLR 稳定或减少的患者。随后的研究相继证实，nivolumab 治疗后 6 周，NLR 相较于治疗前基线增加，与更短的 PFS、OS 呈正相关^[56-57]。为进一步验证 NLR 预测 ICIs 治疗疗效的能力，Valero 等^[58]在泛肿瘤（包括 NSCLC、黑色素瘤、肾癌、结直肠癌、乳腺癌等）共 16 种癌症类型、1714 例患者的大样本量回顾性研究中发现，更高水平的 NLR 与更差的生存率及治疗反应率相关；将 NLR 与 TMB 结合，相较于 NLR 高/TMB 低组，NLR 低/TMB 高组具有更高的治疗反应率及生存获益 ($OR = 3.22$, 95% CI: 2.26~4.58, $P < 0.001$)。Sekine 等^[37]动态监测 162 例接受 nivolumab 治疗患者的淋巴细胞/单核细胞比值 (lymphocyte-to-monocyte ratio, LMR)，发现治疗后 4 周 LMR 水平升高≥10% (相对于基线) 的患者相较于 LMR 水平稳定或升高<10% 的患者，具有更高的 ORR (39.4% 比 11.8%, $P=0.0065$)、更长的中位 PFS (7.3 个月比 2.5 个月, $P=0.0049$) 及中位 OS (15.6 个月比 8.9 个月, $P=0.014$)。上述研究提示外周血 NLR 或 LMR 作为经济有效且易获得的生物标志物，具有一定应用前景。

2.2.4 细胞因子

细胞因子水平与机体免疫状态及免疫治疗疗效密切相关。其中，白细胞介素 (interleukin, IL)-8 可通过结合趋化因子受体 CXCR1/CXCR2 发挥调节炎症反应、刺激血管生成及促进肿瘤细胞增殖的作用。目前，已有多项治疗晚期 NSCLC 的在研药物靶向 IL-8/IL-8R^[59-60]。研究显示，血清 IL-8 水平在 ICIs 治疗前后的变化可预测和监测晚期 NSCLC 患者的治疗疗效，高水平的 IL-8 与更差的预后呈正相关^[60-62]。此外，血清 IL-8 水平早期下降不仅与 NSCLC 患者的 OS 延长相关，动态监测血清 IL-8 水平还可反映假性进展的发生。动态监测 3 例 NSCLC 患者的影像学及血清 IL-8 变化发现，假性进展患者影像评估显示肿瘤增大时，血清 IL-8 水平较低并保持低于基线；在随后影像评估总体肿瘤质量降低时，血清 IL-8 水平显著降低；而后直至肿瘤进展时，IL-8 较基线大幅增高^[38]。此外，Keegan 等^[39]通过动态监测 NSCLC 患者 IL-6 水平变化发现，IL-6 下降与更长的中位 PFS (11 个月比 4 个月, $P=0.04$) 及 ORR 呈正相关。提示血清 IL-8、IL-6 水平可预测免疫治疗疗效，IL-8 水平可作为诊断追踪假性进展的标志物，但上述研究纳入的病

例数均较少，未来仍需扩大样本量进一步验证。

2.3 多指标联合预后标志物

单个标志物对于预后预测的有效性及准确性受限，多个指标联合可全面、充分地反映肿瘤-机体免疫系统间的动态变化。Anagnostou 等^[40]通过联合监测患者的 ctDNA 及 TCR 扩增，发现治疗未获益的患者相较于获益患者具有更短的中位 PFS（5.2 个月比 14.5 个月， $P=0.007$ ）和中位 OS（8.4 个月比 18.7 个月， $P=0.02$ ）；治疗获益的患者在治疗开始后 ctDNA 水平降低、TCR 扩增，而未获益患者的 ctDNA 水平无显著变化或增加、TCR 无显著扩增；最初有临床反应而后产生耐药的患者，其 ctDNA 水平从治疗开始时下降转为上升。ctDNA 可早于 CT 成像 8.7 周区分出临床获益人群。此外，Nabet 等^[41]结合组织样本、外周血、白细胞、CD8⁺ T 细胞及 ctDNA 等指标对 99 例接受单药或联合免疫治疗的患者进行动态监测，根据患者的临床获益将其分为 DCB 和非持久临床获益（non-durable clinical benefit, NDB）两组，建立了一种无创的多参数分析 DIREct-On 模型。DIREct-On 模型在队列（ $n=34$ ）中区分 DCB 及 NDB 患者的分类准确率为 92%，曲线下面积为 0.93，评分高的患者中位 PFS 明显长于评分低的患者（8.1 个月比 2.1 个月， $P<0.0001$ ）。

3 小结与展望

随着 ICIs 在晚期 NSCLC 治疗中的广泛应用，寻找预测、监测 ICIs 治疗疗效有效且实用的生物标志物日益受到重视，单纯检测治疗前或治疗过程中单个时间点的生物标志物水平，易遗漏肿瘤治疗过程中很多变化的关键信息，而个体化动态监测有助于消除个体间的差异，监测肿瘤时空异质性，尽早区分免疫治疗获益人群，早期辨别假性进展及预测 HPD。由于 ctDNA、CTC 液体活检存在检测平台及方法流程未标准化、CTC 难以大量富集、纳入样本例数少、高通量测序价格相对较高等问题，目前尚未推广应用。其他具有应用潜力的生物标志物包括 CD4⁺ 及 CD8⁺ T 细胞亚群、NLR、LMR 及细胞因子等，在晚期 NSCLC 患者 ICIs 治疗疗效（PFS、OS、DCB、NDB）预测方面均显现出一定作用，随着更多研究证据的产生，有望促进此类生物标志物在临床的应用。

目前，上述生物标志物尚未在临床推广应用，分析可能原因为：（1）治疗方式未限定。目前的研究未统一治疗方式（单药/联合、一线/后线），多个研

究^[26,40-41]同时纳入了单药及联合治疗方式，应分别进行分析比较。现有研究多集中于临床试验及单药治疗，而联合治疗的临床获益优于单药治疗。目前晚期 NSCLC 患者的临床治疗多采用联合治疗，提示未来应增加对联合治疗预后生物标志物的研究。（2）临床因素未校正。已有研究证实，PD-L1 表达水平 $>50\%$ （一线免疫治疗）、吸烟、无 EGFR 突变的患者更易从 ICIs 治疗中获益^[63-64]，因此应对研究中的混杂因素进行校正。（3）样本量小、缺乏新队列验证。由于动态跟踪随访样本具有难度，现有研究样本总数多集中于 20~50 例，且多为单个队列研究，缺乏大样本队列验证，研究结论可靠性差。（4）生物标志物的阈值未确定。各研究的采样间隔不同，但多集中于治疗前及治疗后 2 周、4 周、6 周、8 周，能够较好地反映肿瘤细胞的变化情况。但这些研究界定的生物标志物阈值（如 ctDNA、CTC、NLR）存在较大差异，如 NLR 相对于基线水平增加 $>30\%$ 、比值 ≥ 3 或 5 均有报道，提示应开展更大的前瞻性队列研究以确定统一的阈值。（5）预测 ICIs 治疗获益的特异性与准确性低。以 NLR 为例，NLR 水平与许多良性疾病（如肝炎）相关，考虑到晚期 NSCLC 患者多合并其他疾病，提示在进行标志物动态监测时，应辨别生物标志物水平变化是否为并发症所致。此外，化疗等治疗方式也可影响 NLR 水平，提示 NLR 预测 ICIs 治疗疗效易受外界因素的影响，特异性及可重复性低。（6）缺乏多指标联合应用模型。相对于肿瘤细胞源性预后标志物，免疫微环境源性预后标志物更易监测，现有研究多集中于后者，但其存在易受多种因素影响、稳定性及可重复性差等问题。此外，鲜有文献报道关于蛋白质组、基因组及代谢组学的动态监测。单一肿瘤细胞源性或免疫源性预后标志物不能充分反映肿瘤-免疫系统的动态变化过程，未来应联合多指标、多组学（转录组、蛋白质组、代谢组等）构建预测模型探索 ICIs 的预后标志物。

综上，动态监测相对于单个时间点检测有着独特的优势，但由于上述原因的存在，尚无成功转化至临床应用的先例。除限定治疗方式、纳入更多动态样本、进行队列验证及前瞻性探索、发现特异性反映免疫治疗疗效及多指标多组学构建预测模型外，还应注重 ICIs 临床效应（假性进展、HPD、irAEs）的个体化预测与动态监测，以促进临床及时调整治疗策略，使患者临床获益最大化。

作者贡献：代丽源负责文献检索、论文撰写及修订；

韩晓红、石远凯负责论文选题和审校。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries [J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71: 209-249.
- [2] Gridelli C, Rossi A, Carbone DP, et al. Non-small-cell lung cancer [J]. Nat Rev Dis Primers, 2015, 1: 15009.
- [3] Herbst RS, Morgensztern D, Boshoff C. The biology and management of non-small cell lung cancer [J]. Nature, 2018, 553: 446-454.
- [4] 周彩存, 王洁, 王宝成, 等. 中国非小细胞肺癌免疫检查点抑制剂治疗专家共识(2020年版) [J]. 中国肺癌杂志, 2021, 24: 217-235.
Zhou CC, Wang J, Wang BC, et al. Chinese Experts Consensus on Immune Checkpoint Inhibitors for Non-small Cell Lung Cancer (2020 Version) [J]. Zhongguo Feimai Zazhi, 2021, 24: 217-235.
- [5] 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: 633-641.
- [6] Wolchok JD, Hoos A, O'Day S, et al. Guidelines for the evaluation of immune therapy activity in solid tumors: immune-related response criteria [J]. Clin Cancer Res, 2009, 15: 7412-7420.
- [7] 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: 1920-1928.
- [8] Kas B, Talbot H, Ferrara R, et al. Clarification of Definitions of Hyperprogressive Disease During Immunotherapy for Non-Small Cell Lung Cancer [J]. JAMA Oncol, 2020, 6: 1039-1046.
- [9] Shankar B, Zhang J, Naqash AR, et al. Multisystem Immune-Related Adverse Events Associated With Immune Checkpoint Inhibitors for Treatment of Non-Small Cell Lung Cancer [J]. JAMA Oncol, 2020, 6: 1952-1956.
- [10] Postow MA, Sidlow R, Hellmann MD. Immune-Related Adverse Events Associated with Immune Checkpoint Blockade [J]. N Engl J Med, 2018, 378: 158-168.
- [11] Gettinger SN, Horn L, Gandhi L, et al. Overall Survival and Long-Term Safety of Nivolumab (Anti-Programmed Death 1 Antibody, BMS-936558, ONO-4538) in Patients With Previously Treated Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer [J]. J Clin Oncol, 2015, 33: 2004-2012.
- [12] Nishino M, Ramaiya NH, Chambers ES, et al. Immune-related response assessment during PD-1 inhibitor therapy in advanced non-small-cell lung cancer patients [J]. J Immunother Cancer, 2016, 4: 84.
- [13] Katz SI, Hammer M, Bagley SJ, et al. Radiologic Pseudo-progression during Anti-PD-1 Therapy for Advanced Non-Small Cell Lung Cancer [J]. J Thorac Oncol, 2018, 13: 978-986.
- [14] Seymour L, Bogaerts J, Perrone A, et al. iRECIST: guidelines for response criteria for use in trials testing immunotherapeutics [J]. Lancet Oncol, 2017, 18: e143-e152.
- [15] 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: 1543-1552.
- [16] 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: 1920-1928.
- [17] Haratani K, Hayashi H, Chiba Y, et al. Association of Immune-Related Adverse Events With Nivolumab Efficacy in Non-Small-Cell Lung Cancer [J]. JAMA Oncol, 2018, 4: 374-378.
- [18] Michaelidou K, Agelaki S, Mavridis K. Molecular markers related to immuno-surveillance as predictive and monitoring tools in non-small cell lung cancer: recent accomplishments and future promises [J]. Expert Rev Mol Diagn, 2020, 20: 335-344.
- [19] Zou W, Wolchok JD, Chen L. PD-L1 (B7-H1) and PD-1 pathway blockade for cancer therapy: Mechanisms, response biomarkers, and combinations [J]. Sci Transl Med, 2016, 8: 328rv4.
- [20] Ren X, Kang B, Zhang Z. Understanding tumor ecosystems by single-cell sequencing: promises and limitations [J]. Genome Biol, 2018, 19: 211.
- [21] Andor N, Graham TA, Jansen M, et al. Pan-cancer analysis of the extent and consequences of intratumor heterogeneity [J]. Nat Med, 2016, 22: 105-113.
- [22] Binnewies M, Roberts EW, Kersten K, et al. Understanding the tumor immune microenvironment (TIME) for effective therapy [J]. Nat Med, 2018, 24: 541-550.
- [23] Lesterhuis WJ, Bosco A, Millward MJ, et al. Dynamic versus static biomarkers in cancer immune checkpoint blockade: unravelling complexity [J]. Nat Rev Drug Discov, 2017, 16: 264-272.

- [24] Dagogo-Jack I, Shaw AT. Tumour heterogeneity and resistance to cancer therapies [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15: 81-94.
- [25] Iijima Y, Hirotsu Y, Amemiya K, et al. Very early response of circulating tumour-derived DNA in plasma predicts efficacy of nivolumab treatment in patients with non-small cell lung cancer [J]. *Eur J Cancer*, 2017, 86: 349-357.
- [26] Goldberg SB, Narayan A, Kole AJ, et al. Early Assessment of Lung Cancer Immunotherapy Response via Circulating Tumor DNA [J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24: 1872-1880.
- [27] Li L, Wang Y, Shi W, et al. Serial ultra-deep sequencing of circulating tumor DNA reveals the clonal evolution in non-small cell lung cancer patients treated with anti-PD1 immunotherapy [J]. *Cancer Med*, 2019, 8: 7669-7678.
- [28] Zulato E, Attili I, Pavan A, et al. Early assessment of KRAS mutation in cfDNA correlates with risk of progression and death in advanced non-small-cell lung cancer [J]. *Br J Cancer*, 2020, 123: 81-91.
- [29] Nicolazzo C, Raimondi C, Mancini M, et al. Monitoring PD-L1 positive circulating tumor cells in non-small cell lung cancer patients treated with the PD-1 inhibitor Nivolumab [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 31726.
- [30] Arasanz H, Zuazo M, Bocanegra A, et al. Early Detection of Hyperprogressive Disease in Non-Small Cell Lung Cancer by Monitoring of Systemic T Cell Dynamics [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12: 344.
- [31] Kim CG, Hong MH, Kim KH, et al. Dynamic changes in circulating PD-1 (+) CD8 (+) T lymphocytes for predicting treatment response to PD-1 blockade in patients with non-small-cell lung cancer [J]. *Eur J Cancer*, 2021, 143: 113-126.
- [32] Zhang F, Bai H, Gao R, et al. Dynamics of peripheral T cell clones during PD-1 blockade in non-small cell lung cancer [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2020, 69: 2599-2611.
- [33] Zhang J, Ji Z, Caushi JX, et al. Compartmental Analysis of T-cell Clonal Dynamics as a Function of Pathologic Response to Neoadjuvant PD-1 Blockade in Resectable Non-Small Cell Lung Cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26: 1327-1337.
- [34] Han J, Duan J, Bai H, et al. TCR Repertoire Diversity of Peripheral PD-1 (+) CD8 (+) T Cells Predicts Clinical Outcomes after Immunotherapy in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer [J]. *Cancer Immunol Res*, 2020, 8: 146-154.
- [35] Nakaya A, Kurata T, Yoshioka H, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio as an early marker of outcomes in patients with advanced non-small-cell lung cancer treated with nivolumab [J]. *Int J Clin Oncol*, 2018, 23: 634-640.
- [36] Kiriu T, Yamamoto M, Nagano T, et al. The time-series behavior of neutrophil-to-lymphocyte ratio is useful as a predictive marker in non-small cell lung cancer [J]. *PLoS One*, 2018, 13: e0193018.
- [37] Sekine K, Kanda S, Goto Y, et al. Change in the lymphocyte-to-monocyte ratio is an early surrogate marker of the efficacy of nivolumab monotherapy in advanced non-small-cell lung cancer [J]. *Lung Cancer*, 2018, 124: 179-188.
- [38] Sanmamed MF, Perez-Gracia JL, Schalper KA, et al. 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]. *Ann Oncol*, 2017, 28: 1988-1995.
- [39] Keegan A, Ricciuti B, Garden P, et al. Plasma IL-6 changes correlate to PD-1 inhibitor responses in NSCLC [J]. *J Immunother Cancer*, 2020, 8: e000678.
- [40] Anagnostou V, Forde PM, White JR, et al. Dynamics of Tumor and Immune Responses during Immune Checkpoint Blockade in Non-Small Cell Lung Cancer [J]. *Cancer Res*, 2019, 79: 1214-1225.
- [41] Nabet BY, Esfahani MS, Moding EJ, et al. Noninvasive Early Identification of Therapeutic Benefit from Immune Checkpoint Inhibition [J]. *Cell*, 2020, 183: 363-376. e313.
- [42] Heitzer E, Haque IS, Roberts CES, et al. Current and future perspectives of liquid biopsies in genomics-driven oncology [J]. *Nat Rev Genet*, 2019, 20: 71-88.
- [43] Guibert N, Delaunay M, Lusque A, et al. PD-L1 expression in circulating tumor cells of advanced non-small cell lung cancer patients treated with nivolumab [J]. *Lung Cancer*, 2018, 120: 108-112.
- [44] Tamminga M, de Wit S, Hiltermann TJN, et al. Circulating tumor cells in advanced non-small cell lung cancer patients are associated with worse tumor response to checkpoint inhibitors [J]. *J Immunother Cancer*, 2019, 7: 173.
- [45] Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer [J]. *N Engl J Med*, 2012, 366: 2443-2454.
- [46] Tumeh PC, Harview CL, Yearley JH, et al. PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance [J]. *Nature*, 2014, 515: 568-571.
- [47] Gibney GT, Weiner LM, Atkins MB. Predictive biomarkers for checkpoint inhibitor-based immunotherapy [J]. *Lancet Oncol*, 2016, 17: e542-e551.
- [48] Janning M, Kobus F, Babayan A, et al. Determination of

- PD-L1 Expression in Circulating Tumor Cells of NSCLC Patients and Correlation with Response to PD-1/PD-L1 Inhibitors [J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11: 835.
- [49] Papadaki MA, Sotiriou AI, Vasilopoulou C, et al. Optimization of the Enrichment of Circulating Tumor Cells for Downstream Phenotypic Analysis in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer Treated with Anti-PD-1 Immunotherapy [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12: 1556.
- [50] Guibert N, Delaunay M, Lusque A, et al. PD-L1 expression in circulating tumor cells of advanced non-small cell lung cancer patients treated with nivolumab [J]. *Lung Cancer*, 2018, 120: 108-112.
- [51] Kagamu H, Kitano S, Yamaguchi O, et al. CD4 (+) T-cell Immunity in the Peripheral Blood Correlates with Response to Anti-PD-1 Therapy [J]. *Cancer Immunol Res*, 2020, 8: 334-344.
- [52] Yamauchi T, Hoki T, Oba T, et al. T-cell CX3CR1 expression as a dynamic blood-based biomarker of response to immune checkpoint inhibitors [J]. *Nat Commun*, 2021, 12: 1402.
- [53] Kidman J, Principe N, Watson M, et al. Characteristics of TCR Repertoire Associated With Successful Immune Checkpoint Therapy Responses [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 587014. 2
- [54] Chiffelle J, Genolet R, Perez MA, et al. T-cell repertoire analysis and metrics of diversity and clonality [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2020, 65: 284-295.
- [55] Mezquita L, Auclin E, Ferrara R, et al. Association of the Lung Immune Prognostic Index With Immune Checkpoint Inhibitor Outcomes in Patients With Advanced Non-Small Cell Lung Cancer [J]. *JAMA Oncol*, 2018, 4: 351-357.
- [56] Passiglia F, Galvano A, Castiglia M, et al. Monitoring blood biomarkers to predict nivolumab effectiveness in NSCLC patients [J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2019, 11: 1758835919839928.
- [57] Simonaggio A, Elaidi R, Fournier L, et al. Variation in neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) as predictor of outcomes in metastatic renal cell carcinoma (mRCC) and non-small cell lung cancer (mNSCLC) patients treated with nivolumab [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2020, 69: 2513-2522.
- [58] Valero C, Lee M, Hoen D, et al. Pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio and mutational burden as biomarkers of tumor response to immune checkpoint inhibitors [J]. *Nat Commun*, 2021, 12: 729.
- [59] Liu Q, Li A, Tian Y, et al. The CXCL8-CXCR1/2 pathways in cancer [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2016, 31: 61-71.
- [60] Schalper KA, Carleton M, Zhou M, et al. Elevated serum interleukin-8 is associated with enhanced intratumor neutrophils and reduced clinical benefit of immune-checkpoint inhibitors [J]. *Nat Med*, 2020, 26: 688-692.
- [61] Yuen KC, Liu LF, Gupta V, et al. High systemic and tumor-associated IL-8 correlates with reduced clinical benefit of PD-L1 blockade [J]. *Nat Med*, 2020, 26: 693-698.
- [62] Bakouny Z, Choueiri TK. IL-8 and cancer prognosis on immunotherapy [J]. *Nat Med*, 2020, 26: 650-651.
- [63] Li JJN, Karim K, Sung M, et al. Tobacco exposure and immunotherapy response in PD-L1 positive lung cancer patients [J]. *Lung Cancer*, 2020, 150: 159-163.
- [64] Lee CK, Man J, Lord S, et al. Checkpoint Inhibitors in Metastatic EGFR-Mutated Non-Small Cell Lung Cancer-A Meta-Analysis [J]. *J Thorac Oncol*, 2017, 12: 403-407.

(收稿: 2021-08-22 录用: 2021-10-13 在线: 2022-03-14)

(本文编辑: 李玉乐)