

# 非小细胞肺癌免疫治疗疗效相关生物标志物研究进展

郑健宏<sup>1,2</sup>, 田琳<sup>2,3</sup>, 赵沛妍<sup>2,3</sup>, 李慧<sup>2,3</sup>, 程颖<sup>2,3,4</sup>

## Research Progress on Efficacy-related Biomarkers of Immunotherapy in Non-small Cell Lung Cancer

ZHENG Jianhong<sup>1,2</sup>, TIAN Lin<sup>2,3</sup>, ZHAO Peiyan<sup>2,3</sup>, LI Hui<sup>2,3</sup>, CHENG Ying<sup>2,3,4</sup>

1. Clinical Medical College of Changchun University of Traditional Chinese Medicine, Changchun 130117, China; 2. Medical Oncology Translational Research Lab, Jilin Cancer Hospital, Changchun 130012, China; 3. Jilin Provincial Key Laboratory of Molecular Diagnostics for Lung Cancer, Changchun 130012, China; 4. Department of Thoracic Oncology, Jilin Cancer Hospital, Changchun 130012, China

Corresponding Author: CHENG Ying, E-mail: chengying@cscsco.org.cn

**Abstract:** Lung cancer is one of the most common cancers worldwide, and its mortality rate remains high. In addition to conventional surgery, radiotherapy, and chemotherapy, immunotherapy methods have been developed and used in recent years for the treatment of non-small cell lung cancer (NSCLC). However, only a small number of patients with NSCLC can benefit from immunotherapy strategies, and some patients even have hyperprogression after receiving immunotherapy. Therefore, precision immunotherapy requires effective biomarkers to guide it. In this paper, tissue samples, blood samples, intestinal microbiota, and other biomarkers are reviewed according to different sample sources. Blood samples, including TCR immune repertoire, Tregs cells, cytokines, lactate dehydrogenase, and other markers, are summarized and analyzed to provide reference for clinicians' diagnosis and treatment decisions.

**Key words:** Non-small cell lung cancer; Immunotherapy; Therapeutic effects; Biomarker

**Funding:** Capital Construction Funds (Industrial Technology Research and Development) Project Within the Budget of Jilin Province (No. 2021C042-7); Health Science and Technology Capacity Improvement Project of Jilin Province (No. 2021JC096)

**Competing interests:** The authors declare that they have no competing interests.

**摘要:** 肺癌是全世界最常见的癌症之一,其死亡率一直居高不下。近年来,治疗方法除常规的手术、放疗、化疗外,免疫治疗异军突起,改变了非小细胞肺癌(NSCLC)的治疗模式。然而,在免疫治疗策略下仍只有少部分NSCLC患者能从中持久获益,部分患者接受免疫治疗后甚至出现了病情超进展。因此,精准的免疫治疗需要有效的生物标志物进行指导。本文根据样本来源不同对组织样本、血液样本、肠道微生物菌群等生物标志物进行综述,其中重点对血液样本,包括TCR免疫组库、Tregs细胞、细胞因子、乳酸脱氢酶等标志物进行总结及分析,以期为临床医生诊疗决策提供参考。

**关键词:** 非小细胞肺癌; 免疫治疗; 治疗效果; 生物标志物

中图分类号: R734.2

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



收稿日期: 2023-08-10; 修回日期: 2023-10-30

基金项目: 吉林省预算内基本建设资金(产业技术研究与开发)项目(2021C042-7); 吉林省卫生健康科技能力提升项目(2021JC096)

作者单位: 1. 130117 长春, 长春中医药大学临床医学院; 2. 130012 长春, 吉林省肿瘤医院肿瘤转化医学实验室; 3. 130012 长春, 肺癌分子诊疗吉林省重点实验室; 4. 130012 长春, 吉林省肿瘤医院胸部肿瘤内科

通信作者: 程颖(1962-), 女, 本科, 主任医师, 主要从事肺癌的内科治疗, E-mail: chengying@cscsco.org.cn; ORCID: 0000-0001-9908-597X

作者简介: 郑健宏(1994-), 男, 硕士在读, 主要从事肺癌的内科治疗, ORCID: 0009-0003-8216-6361

## 0 引言

非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)患者约占肺癌患者的87%,但其中仅有16%的患者诊断时分期为I期<sup>[1]</sup>,约80%的NSCLC患者确诊时已处于中晚期,远处转移患者的5年生存率不到5%<sup>[2-3]</sup>。以免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors, ICIs)为代表的免疫治疗深刻改变了晚期NSCLC临床治疗策略,相较于传统的组织活检,近年来血液检查技术突飞猛进,并在疗效预测中展示出相当的潜力。在免疫治疗大

背景下，寻找有效的疗效预测生物标志物实现精准、个性化治疗已迫在眉睫。

## 1 组织样本

### 1.1 PD-1/PD-L1

目前多个程序性死亡受体1/配体1 (PD-1/PD-L1) 抑制剂单药研究如: Checkmate-017/057、Checkmate-078、KEYNOTE-024、EMPOWER-Lung I 及 II 期、POPLAR 和 III 期 OAK<sup>[4]</sup> 都表明: PD-L1 肿瘤细胞阳性比例分数  $\geq 50\%$  的 NSCLC 患者更能从免疫治疗中获益, PD-1/PD-L1 可以作为免疫治疗疗效预测生物标志物。然而 PD-1/PD-L1 水平与免疫治疗效果并非一定具有相关性, 如 Troiano 等<sup>[5]</sup> 研究发现 PD-L1 表达水平在口腔鳞癌中与 ICIs 反应及总生存期 (OS) 并不具备相关性。不平行的原因可能与抗体检测标准不统一、PD-1/PD-L1 表达具有动态性、不同部位样本 PD-L1 表达存在异质性有关<sup>[6]</sup>。针对 PD-L1 表达的异质性及动态变化, 液体活检技术或许可以提供助力。Janning 等<sup>[7]</sup> 在一项 NSCLC 患者循环肿瘤细胞 (circulating tumor cell, CTCs) 中 PD-L1 表达与免疫治疗疗效关系的研究中发现, 随着 PD-1/PD-L1 抑制剂的治疗, 肿瘤细胞中 PD-L1 表达发生动态变化, 与单次活检结果具有显著差异, CTCs 可以较好地反映肿瘤的异质性。Spiliotaki 团队<sup>[8]</sup> 则充分利用液体活检技术的便捷性, 灵活监测 NSCLC 患者免疫治疗过程中 PD-L1、Ki67 水平, 及时调整临床治疗方案。伴随液体活检技术的不断进步, 未来 PD-1/PD-L1 将成为更“完美”的生物标志物。

### 1.2 肿瘤突变负荷

肿瘤突变负荷 (tumor mutation burden, TMB) 是指在一个特定肿瘤组织中相对的基因突变数量, 理论上突变数量越多, 越易激发机体免疫。多项研究提示高 TMB 与较长的无进展生存期 (PFS) 有关<sup>[9-10]</sup>。基于这些研究成果, 2019 年第 1 版美国国立综合癌症网络指南将 TMB 列为纳武利尤单抗单药或双药联合免疫治疗 NSCLC 疗效预测生物标志物。与此同时, POPLAR 和 OAK 研究<sup>[4]</sup> 回顾性分析发现血液 TMB 和组织 TMB 水平具有相关性, 超过 1 000 例接受阿替利珠单抗治疗的患者中, 血液 TMB  $\geq 16$  mut/Mb 的患者具有更长的 PFS, 血液检测方法极大地拓展了 TMB 在临床实践中的应用。然而自“出道”以来, TMB 却饱受质疑, Reck 等<sup>[11]</sup> 在以 OS 作为主要终点的前瞻性研究中, TMB 的疗效预测作用未能得到充分证实。未

来 TMB 若想成为可靠的疗效预测生物标志物并广泛使用, 仍需克服包括截止值设定、统一分析方法在内的多个障碍。

### 1.3 DNA 错配修复及微卫星不稳定性

DNA 错配修复 (mismatch repair, MMR) 系统可识别并修复核苷酸碱基错配, 是基因组完整性的关键守护者。该系统是由多种 MMR 蛋白 (MSH2、MSH3、MSH6、MLH1、PMS1、PMS2) 构建而成, 若其中一种或多种 MMR 蛋白表达缺失 (deficient mismatch repair, dMMR), 可以引起微卫星不稳定 (microsatellite instability, MSI), 若错配修复系统中不显示突变则被称为错配修复完整 (proficient mismatch repair, pMMR), 主要见于微卫星稳定 (microsatellite stable, MSS)。文献报道, MMR 表达水平与预后密切相关, dMMR 患者具有比 pMMR 患者更良好的预后<sup>[12]</sup>。临床实践中, 可通过免疫组织化学检测 MMR 蛋白表达情况来反映 MSI 状态<sup>[13]</sup>。Le 等<sup>[14]</sup> 研究发现, 无论肿瘤类型如何, MSI 都与免疫治疗的反应密切相关。2017 年 FDA 首次基于生物标志物数据批准帕博利珠单抗用于 MSI-H、dMMR 晚期实体瘤治疗。尽管 MSI 是一种较为广泛的癌症表型<sup>[15]</sup>, 但在肺癌中的发生率较低, 一项纳入 480 例肺腺癌患者的研究发现, 仅有 0.8% (4/480) 的患者表现出 MSI-H, 主要见于有吸烟史的 I 期患者<sup>[16]</sup>。另一项研究结果表明, 存在 dMMR 的 NSCLC 组织内有大量的免疫细胞浸润, 且 T 淋巴细胞表面的免疫检查点分子 PD-1/PD-L1 高表达。因此, 针对此类 NSCLC 患者采用免疫检查点抑制剂治疗, 尤其是抗 PD-1/PD-L1 治疗获益的可能性更大<sup>[17]</sup>。即使目前 dMMR 及 MSI-H 在 NSCLC 免疫治疗中的研究有限, 但是二者作为免疫治疗的生物预测标志物仍然值得关注。

### 1.4 肿瘤新抗原

肿瘤新抗原 (tumor-specific antigens, TSA) 是肿瘤细胞因基因组突变而产生的肿瘤特异性抗原, TSA 产生与 DNA 损伤修复基因及抗原呈递基因的突变受损有关<sup>[18]</sup>。与一般抗原相比, TSA 更具肿瘤特异性, 是个性化及精准治疗的理想靶点, 且针对 TSA 的治疗, 后续发生结肠炎、肾功能损害等自身免疫毒性的比例更低<sup>[19]</sup>。Rizvi 等<sup>[20]</sup> 在使用 PD-1 抗体治疗 NSCLC 患者研究中发现了与 TSA 的三个相关: 一是获得持久性临床受益的患者与 TSA 高负荷相关; 二是 PFS 的改善与 TSA 高负荷相关; 三是肿瘤耐药性与 TSA 突变丢失相关。基于

TSA特异性、少毒性等突出优势，TSA可作为免疫治疗疗效预测的有效指标之一，围绕TSA的免疫治疗策略研究也已成为临床热点。

### 1.5 肿瘤浸润淋巴细胞

肿瘤浸润淋巴细胞 (tumor infiltrating lymphocyte, TIL) 是肿瘤间质中的异质性淋巴细胞，包括T细胞、B细胞及NK细胞等，是机体淋巴细胞侵入到肿瘤组织中，并对肿瘤起识别、抵抗和攻击作用的细胞群体<sup>[21]</sup>。一篇综述中提到两项关于TIL的研究<sup>[22]</sup>，一项对410例肺癌患者进行的回顾性研究发现，肿瘤浸润T淋巴细胞丰度高的患者经免疫治疗后具有较长的无疾病进展期和总生存期。在另一项研究中，研究者根据淋巴细胞浸润程度，将肿瘤分为炎症型（高淋巴细胞浸润型）、沙漠型（低免疫细胞浸润型）、排除型（免疫豁免型）和抑制型4种免疫类型，其中免疫炎症型患者免疫治疗临床获益更大，而免疫沙漠型则无明显治疗效果。这些研究结果证明高TIL可能是NSCLC疗效预测及预后的有效生物标志物。与此同时，NSCLC免疫微环境中的浸润型淋巴细胞亚群可能会随着肿瘤的发生、发展而改变，且目前TIL没有统一的检测方法，针对这些局限性还需要深入研究。

## 2 液体样本

与组织样本活检相比较，血液等液体样本具有易获取、创伤小、可多次取样等特点，可以连续评估患者病情变化。鉴于组织样本在预测ICIs反应方面存在的局限性，增加循环生物标志物作为联合证据或将进一步提高免疫治疗疗效的预测作用，对患者病情判断也更为精准。

### 2.1 循环免疫细胞

#### 2.1.1 TCR免疫重排 T细胞抗原受体 (T cell receptor, TCR) 是T细胞识别外来抗原并与之结合引起机体免疫应答的特异性受体，可表达于成熟的T细胞表面。健康人群未受到疾病或抗原压力的作用，TCR呈现多克隆状态，疾病状态下，TCR可选择性重排列，呈现单克隆或寡克隆状态，引起重排的原因可能与疾病或抗原增加导致某种T细胞亚群选择性扩增有关。在一项探讨初治NSCLC患者治疗前后免疫功能变化的研究中发现，相较健康人群，NSCLC患者的TCR免疫组库多样性较低，且肿瘤直径大（3 cm为截断值）的患者免疫组库多样性更低。经治疗后，NSCLC患者外周血TCR免疫组库发生重建，治疗前TCR多样性高和

治疗后TCR多样性增加的患者具有更长的PFS<sup>[23]</sup>。该研究提示我们可以通过分析肿瘤患者的TCR库判断免疫系统对肿瘤的杀伤情况，TCR免疫组库对肿瘤的免疫治疗疗效预测及预后判断具有一定价值。Han等<sup>[24]</sup>通过对外周血PD-1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T细胞中TCR多样性和克隆性的研究也证实了TCR免疫组库多样性可作为预测临床疗效的指标之一。其机制可能是具有更高多样性的TCR库为机体提供了更多识别TSA的机会，体内更高比例的T细胞被激活，参与免疫系统对肿瘤的杀伤，从而提高免疫反应，获得更好预后。He等<sup>[25]</sup>针对TSA开展了个性化免疫治疗研究：利用患者体内天然存在的Tas细胞的TCR改造T细胞，改造后的T细胞精准靶向其肿瘤中的TSA，可以有效的治疗自体肿瘤。这种用Tas-TCR改造的TCR-T细胞是个性化免疫治疗极具前途的药物，同时也再次证明TSA可作为免疫治疗疗效预测的有效指标。

#### 2.1.2 Tregs细胞 调节性T细胞 (regulatory T cells, Tregs) 具有免疫抑制作用，与恶性肿瘤患者的低免疫水平相关，其可以在肿瘤微环境中通过细胞之间的直接接触和旁分泌释放抑制性的细胞因子，负性调节机体免疫反应，从而避免自身免疫疾病的发生，维持免疫稳态。De Simone等研究发现，肿瘤相关Tregs细胞表面表达特异性分子，如白介素1受体2 (interleukin-1 receptor type 2, IL1R2)、PD-L1/PD-L2和趋化因子受体8 (chemokine receptor 8, CCR8)，发挥免疫抑制作用，与患者的预后呈负相关<sup>[26]</sup>。然而也有研究表明，Tregs高水平与患者更长的生存期有关。Koh等<sup>[27]</sup>研究发现，在晚期NSCLC患者中，Tregs细胞频率较高患者的PFS和OS较长，特别是抗PD-1治疗后，Tregs细胞高频率患者与低频率患者相比，PFS和OS存在较明显的差异。抗PD-1治疗后Tregs水平升高的原因可能与防止机体免疫系统被激活而造成长期过度免疫有关。此外，Tregs可通过释放转化生长因子-β (TGF-β) 发挥免疫调节作用，de Miguel-Perez等<sup>[28]</sup>研究发现TGF-β与ICIs无反应及较短的PFS和OS有关，且TGF-β可通过提高PD-L1表达从而促进肿瘤的免疫逃逸。以上证据表明Tregs和TGF-β联合可能作为NSCLC免疫治疗疗效预测生物标志物。

### 2.2 细胞因子与可溶性蛋白

#### 2.2.1 IL-6及IL-8细胞因子 IL-6及IL-8细胞因子是一种半衰期较短的可溶性小分子信号蛋白，参与机体免疫增殖、分化、效应功能调节等几乎所

有类型的细胞反应，对于免疫系统抗肿瘤作用至关重要。IL-6由T、B淋巴细胞及单核细胞产生，是一种同时具有促炎性和抗炎性的细胞因子，不仅介导机体炎性反应和抗感染，还与部分恶性肿瘤的发展转移相关。在一项入组125名患者的临床研究中<sup>[29]</sup>，首次证明外周血IL-6水平可以预测晚期NSCLC患者ICIs治疗反应。IL-6低水平（<13.1 pg/ml）患者客观缓解率和疾病控制率明显高于IL-6高水平的患者，且PFS和OS也显著延长。Keegan等<sup>[30]</sup>则利用单分子阵列技术，精确定量47名NSCLC患者抗PD-1治疗过程中血清和血浆细胞因子水平，发现IL-6水平的降低与PFS的改善有关，IL-6的变化程度在最佳总体反应类别之间不同（ $P=0.01$ ），并与C反应蛋白（CRP）水平的变化相关。该研究再次证实血浆IL-6的降低与抗PD-1治疗改善NSCLC的预后相关，同时也证明血浆IL-6水平和CRP水平变化具有相关性。

除IL-6外，IL-8表达水平也与患者免疫治疗疗效相关。Kauffmann-Guerrero等<sup>[31]</sup>在一项纳入29例晚期NSCLC患者的前瞻性研究中发现，与IL-8低水平组（截断值为19.6 pg/ml）相比，IL-8高水平组PFS不佳（mPFS为4.0个月 vs. 19.7个月， $P=0.03$ ），提示IL-8高水平可能是晚期NSCLC患者免疫疗效的负性标志物。另外一项纳入38例晚期NSCLC患者的研究获得了同样的结论，IL-8低水平组与持久的临床获益（PFS $\geq$ 6个月）相关<sup>[32]</sup>。此外，鉴于IL-8水平与肿瘤负荷具有一致性，且变化发生在患者影像学改变前，因此通过监测液体样本IL-8水平能早期监测肿瘤负荷变化，可识别出患者肿瘤是否发生假性进展。综上，外周血IL-6、IL-8基线及治疗过程中的动态变化水平可作为预测NSCLC患者免疫治疗疗效的潜在标志物。目前，相关研究存在样本量少、检测方法缺乏统一标准等问题，因此基于细胞因子作为免疫治疗预测标志物的研究仍需进一步验证。

**2.2.2 干扰素- $\gamma$ 与IL-10比率** 干扰素- $\gamma$ （IFN- $\gamma$ ）和IL-10是参与调节T细胞活性的两种关键细胞因子。IFN- $\gamma$ 参与调节肿瘤微环境中多种免疫细胞功能，如促进辅助性T细胞1（Th1）、细胞毒性T淋巴细胞（CTL）、自然杀伤细胞（NK）、树突状细胞（DC）和巨噬细胞活性，促进抗原呈递，促进CD4<sup>+</sup>T细胞的特异性活化，抑制CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T细胞的免疫调节活性<sup>[33]</sup>。IL-10则一方面激活NK细胞，增强细胞毒作用，另一方面又促进肿瘤细胞免疫逃逸。Giunta等<sup>[34]</sup>收集了18例连续接受PD-1治

疗的晚期黑色素瘤患者的外周血样本，发现IFN- $\gamma$ /IL-10比值在有响应患者中更高，无响应患者与有响应患者相比存在显著差异，IFN- $\gamma$ /IL-10比值较单独检测IFN- $\gamma$ 核酸水平更能预测抗PD-1疗效。研究证明IFN- $\gamma$ /IL-10比值与晚期黑色素瘤患者免疫治疗反应之间存在相关性，究其原因，可能是这对具有相反作用的细胞因子之间相互平衡，显示出了比单一细胞因子更真实的免疫调节特征。此外，有研究发现IFN- $\gamma$ /IL-10比值可以作为区分肾移植排斥患者和非排斥患者的体外评判标准，排斥反应患者IFN- $\gamma$ /IL-10比值升高，移植功能稳定的患者IFN- $\gamma$ /IL-10比值降低，间接反映出IFN- $\gamma$ /IL-10比值高与免疫功能增强有关。在肺癌领域，Limagne等<sup>[35]</sup>开展了一项前瞻性研究，使用纳武利尤单抗治疗转移性NSCLC患者（ $n=61$ ），并分别在治疗前、治疗15天和30天后分析髓系和淋巴系标志物，数据表明，CD8<sup>+</sup>T细胞产生IFN- $\gamma$ 的能力降低与骨髓来源的抑制性细胞（myeloid-derived suppressor cells, MDSC）浸润数目增多及T细胞免疫球蛋白黏蛋白-3（TIM-3）表达升高有关。这一结果为PD-1联合抗TIM-3或耗竭MDSC细胞治疗以提高肺癌免疫治疗应答率提供了参考价值。目前，将细胞因子比率作为潜在标志物的研究较少，研究的样本量也较小，未来需要在更大的患者群体中加以验证。

**2.2.3 乳酸脱氢酶 沃伯格效应（Warberg effect）** 是肿瘤细胞特殊的代谢方式。即使在氧气充足的环境中，肿瘤细胞仍会优先通过糖酵解途径产生能量，使乳酸和丙酮酸二者浓度高于正常组织<sup>[36]</sup>。乳酸脱氢酶（lactate dehydrogenase, LDH）作为机体葡萄糖代谢通路的重要辅酶，肿瘤患者体内水平要显著高于健康人群，LDH表达与肿瘤血管生成、免疫逃逸、细胞代谢息息相关。Van Wilpe等<sup>[37]</sup>研究提示糖酵解增强和低氧的微环境对抗肿瘤免疫治疗具有负面影响，广泛的文献数据也证实了这一观点，LDH抑制状态下多种肿瘤细胞呈现出增殖减弱，如胰腺癌、宫颈癌、头颈癌等。Kazandjian等<sup>[38]</sup>对4 914名转移性非小细胞肺癌（mNSCLC）患者的临床数据进行了汇总分析，结果表明无论mNSCLC患者采用何种治疗方式，基线LDH水平都是重要的预后生物标志物。Amin等<sup>[39]</sup>在晚期黑色素瘤患者中进行了一项为期6周的诱导治疗，联合使用BRAF和MEK抑制药物，结果显示大多数患者的LDH可下降至正常水平。综上，LDH水平可以作为疗效预测生物标志物，在

治疗策略上, 针对LDH水平升高的患者, 同时抑制免疫检查点及血管内皮生长因子, 或许为可行之路<sup>[40]</sup>。由于LDH是一种胞浆酶, 只有在细胞膜受损时才进入血液, 因此血清LDH水平能否真实反映肿瘤LDH表达情况还需要进一步探索。

### 2.3 循环肿瘤DNA

外周血循环肿瘤DNA (ctDNA) 是由肿瘤细胞凋亡、坏死或主动分泌至循环系统所致, 与肿瘤组织DNA具有高度一致性。在NSCLC发生发展多个阶段, ctDNA展现出包括疗效评估、预后判断、复发监测等多种价值<sup>[41]</sup>。在早期筛查阶段, 由于NSCLC的ctDNA半衰期通常为35分钟<sup>[42]</sup>, 因此ctDNA检测可以实时反馈当前体内肿瘤负荷情况, 实现肿瘤早诊目标。在疾病进展期, 相较于肿瘤组织样本, ctDNA可以较易获得, 可用于检测肿瘤分子特点, 发现肿瘤分子异质性<sup>[43]</sup>。根治术后, 如尚有微小病灶残留, ctDNA作为分子表现形式可被检测到, 可作为监测疾病复发的指标, 也可用于筛选术后辅助治疗最佳获益人群, 对患者进行预后分层。在靶向治疗、免疫治疗过程中, ctDNA可作为生物标志物预测并评估疗效, 筛选可以长期获益的患者群体<sup>[44]</sup>。相较于影像学变化, ctDNA应答时间更早 (24.5 d vs. 72.5 d)<sup>[45]</sup>, 检测外周血ctDNA情况可以对肿瘤治疗疗效尽早判断, 利于临床医生决策。此外, 血浆ctDNA水平存在瘤种差别, 在中枢神经系统原发恶性肿瘤及转移瘤患者中, 血浆ctDNA水平通常比非中枢神经系统实体瘤患者低, 可能是由于血脑屏障限制了ctDNA和CTCs在血液中的循环<sup>[46]</sup>。此种情况下, 非血液途径ctDNA展示出了独特优势, 如脑脊液ctDNA可用于诊断软脑膜疾病, ctDNA与细胞游离DNA的比率要高于血浆等等。但同时也存在着难以获得大量样本或重复样本、样本收集处理缺乏统一标准等问题。

### 3 肠道微生物菌群

肠道微生物菌群因其编码基因总量巨大而备受关注。2020年, 肿瘤学年鉴杂志公布的一项研究数据表明<sup>[47]</sup>, NSCLC患者接受免疫治疗期间同时使用抗生素 (antibiotics, ATB) 治疗与未使用ATB治疗的患者相比, OS显著缩短 (8.5 vs. 14.1个月, HR: 1.32, 95%CI: 1.06~1.63, P=0.01), 同样在阿替利珠单抗组中使用质子泵抑制剂 (proton pump inhibitors, PPI) 治疗的患者与未使用PPI的患者相比, OS也显著缩短 (9.6 vs. 14.5个月, HR:

1.45, 95%CI: 1.20~1.75, P=0.0001), 产生明显差异的原因可能与使用抗生素杀灭肠道菌群有关。Jin等<sup>[48]</sup>纳入37名使用纳武利尤单抗治疗的晚期NSCLC患者, 发现对治疗有反应者的肠道菌群多样性明显高于无反应者, 且成分稳定, 与多样性较低的患者相比, 肠道菌群多样性较高的患者PFS明显延长。综上, 肠道微生物菌群可作为NSCLC免疫治疗疗效潜在生物标志物进行探索。由于现有的检测手段无法深入到肠道菌群“属”以下, 因此, 肠道菌群与免疫治疗疗效相互影响的机制还需要更深入的研究。

### 4 小结与展望

NSCLC免疫治疗疗效预测生物标志物主要包括组织样本和液体样本两大来源, 二者各有其优势与不足。其中组织样本作为传统检测来源, 证据多、应用广, 目前仍是临床检验的“金标准”, 不足之处一是样本来源受限, 部分患者无法取得足够的组织样本进行检测; 二是肿瘤组织异质性强, 存在明显的动态表达差异, 影响后续的疗效预测及临床用药; 三是除经典试验外, 目前组织标本缺乏更新颖、更深层次的研究。与组织样本相比, 液体样本的优势在于微创、便捷、易于动态监测, 未来具有广阔的研究前景和探索空间, 不足之处一是液体检测的标准操作程序还需进一步统一与规范; 二是当前涉及液体标本的研究大多为回顾性或小样本研究, 存在一定的局限性。

在单个指标预测准确性不高的情况下, 多项生物标志物联合作为综合证据或将提高预测效能与准确性, 更好地筛选出对免疫治疗有反应的患者。鉴于患者的个性化差异, 合理的选择生物标志物或者标志物组合进行疗效预测, 将帮助更多的NSCLC患者从免疫治疗中获益。

#### 利益冲突声明:

所有作者均声明不存在利益冲突。

#### 参考文献:

- [1] Tandberg DJ, Tong BC, Ackerson BG, *et al.* Surgery versus stereotactic body radiation therapy for stage I non-small cell lung cancer: A comprehensive review[J]. *Cancer*, 2018, 124(4): 667-678.
- [2] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 原发性肺癌诊疗指南(2022年版)[J]. *中国合理用药探索*, 2022, 19(9): 1-28. [National Health Commission of the People's Republic of China. Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Primary Lung Cancer(2022 edition)[J]. *Zhongguo He Li Yong Yao Tan Suo*, 2022, 19(9): 1-28.]

- [3] Bar J, Urban D, Amit U, *et al.* Long-Term Survival of Patients with Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer over Five Decades[J]. *J Oncol*, 2021, 2021: 7836264.
- [4] Mazieres J, Rittmeyer A, Gadgeel S, *et al.* Atezolizumab Versus Docetaxel in Pretreated Patients With NSCLC: Final Results From the Randomized Phase 2 POPLAR and Phase 3 OAK Clinical Trials[J]. *J Thorac Oncol*, 2021, 16(1): 140-150.
- [5] Troiano G, Caponio V CA, Zhurakivska K, *et al.* High PD-L1 expression in the tumour cells did not correlate with poor prognosis of patients suffering for oral squamous cells carcinoma: A meta-analysis of the literature[J]. *Cell Prolif*, 2019, 52(2): e12537.
- [6] 刘磊, 李福霞, 嵇孝丽, 等. 免疫检查点抑制剂疗效预测生物标志物在非小细胞肺癌中的研究进展[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2022, 29(22): 1628-1635. [Liu L, Li FX, Zhuo XL, *et al.* Progress of biomarkers for predicting the efficacy of immune checkpoint inhibitors in non-small cell lung cancer[J]. *Zhonghua Zhong Liu Fang Zhi Za Zhi*, 2022, 29(22): 1628-1635.]
- [7] 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(6): 835.
- [8] Spiliotaki M, Neophytou CM, Vogazianos P, *et al.* Dynamic monitoring of PD-L1 and Ki67 in circulating tumor cells of metastatic non-small cell lung cancer patients treated with pembrolizumab[J]. *Mol Oncol*, 2023, 17(5): 792-809.
- [9] Hellmann MD, Ciuleanu TE, 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.
- [10] Carbone DP, 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.
- [11] Reck M, Schenker M, Lee KH, *et al.* Nivolumab plus ipilimumab versus chemotherapy as first-line treatment in advanced non-small-cell lung cancer with high tumour mutational burden: patient-reported outcomes results from the randomised, open-label, phase III CheckMate 227 trial[J]. *Eur J Cancer*, 2019, 116: 137-147.
- [12] 吴晶晶. MMR/pMMR结直肠癌肠道菌群及与肿瘤微环境特征的相关性研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2023. [Wu JJ. Study of Association between Intestinal Microbiota and Tumor Microenvironment in dMMR/pMMR Colorectal Cancer[D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2023.]
- [13] Zeinalian M, Hashemzadeh-Chaleshtori M, Salehi R, *et al.* Clinical Aspects of Microsatellite Instability Testing in Colorectal Cancer[J]. *Adv Biomed Res*, 2018, 7: 28.
- [14] Le DT, Uram JN, Wang H, *et al.* PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(26): 2509-2520.
- [15] Hause RJ, Pritchard CC, Shendure J, *et al.* Corrigendum: Classification and characterization of microsatellite instability across 18 cancer types[J]. *Nat Med*, 2017, 23(10): 1241.
- [16] Warth A, Körner S, Penzel R, *et al.* Microsatellite instability in pulmonary adenocarcinomas: a comprehensive study of 480 cases[J]. *Virchows Arch*, 2016, 468(3): 313-319.
- [17] 桑友洲. 错配修复缺陷与NSCLC免疫微环境的相关性研究[D]. 天津: 天津医科大学, 2017. [Sang YZ. The Relationship between Mismatch Repair Deficiency and Tumor immune microenvironment in NSCLC[D]. Tianjin: Tianjin Medical University, 2017.]
- [18] Temko D, Van Gool IC, Rayner E, *et al.* Somatic POLE exonuclease domain mutations are early events in sporadic endometrial and colorectal carcinogenesis, determining driver mutational landscape, clonal neoantigen burden and immune response[J]. *J Pathol*, 2018, 245(3): 283-296.
- [19] Xie N, Shen G, Gao W, *et al.* Neoantigens: promising targets for cancer therapy[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 9.
- [20] Rizvi NA, Hellmann MD, 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.
- [21] 王蓓, 宋子正. 非小细胞肺癌免疫相关生物标志物的研究进展[J]. *实用药物与临床*, 2023, 26(3): 269-275. [Wang B, Song ZZ. Research progress on immune-related biomarkers in non-small-cell lung cancer[J]. *Shi Yong Yao Wu Yu Lin Chuang*, 2023, 26(3): 269-275.]
- [22] 赵雪强. 肿瘤浸润T淋巴细胞在非小细胞肺癌中的作用研究进展[J]. *现代医药卫生*, 2022, 38(11): 1892-1896. [Zhao XQ. Research progress on the role of tumor-infiltrating T lymphocytes in non-small cell lung cancer[J]. *Xian Dai Yi Yao Wei Sheng*, 2022, 38(11): 1892-1896.]
- [23] 潘健兵. 晚期非小细胞肺癌患者治疗前后TCR免疫组库分析[D]. 广州: 南方医科大学, 2023. [Pan JB. Analysis of the TCR repertoire in patients with advanced non-small cell lung cancer before and after anticancer Treatment[D]. Guangzhou: Southern University of Science and Technology, 2023.]
- [24] 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(1): 146-154.
- [25] He J, Xiong X, Yang H, *et al.* Defined tumor antigen-specific T cells potentiate personalized TCR-T cell therapy and prediction of immunotherapy response[J]. *Cell Res*, 2022, 32(6): 530-542.
- [26] De Simone M, Arrigoni A, Rossetti G, *et al.* Transcriptional Landscape of Human Tissue Lymphocytes Unveils Uniqueness of Tumor-Infiltrating T Regulatory Cells[J]. *Immunity*, 2016, 45(5): 1135-1147.
- [27] Koh J, Hur JY, Lee KY, *et al.* Regulatory (FoxP3(+)) T cells and TGF-beta predict the response to anti-PD-1 immunotherapy in patients with non-small cell lung cancer[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 18994.
- [28] de Miguel-Perez D, Russo A, Gunasekaran M, *et al.* Baseline extracellular vesicle TGF-beta is a predictive biomarker for

- response to immune checkpoint inhibitors and survival in non-small cell lung cancer[J]. *Cancer*, 2023, 129(4): 521-530.
- [29] Kang DH, Park CK, Chung C, *et al.* 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 Netw*, 2020, 20(3): e27.
- [30] 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(2): e000678.
- [31] Kauffmann-Guerrero D, Kahnert K, Kiefl R, *et al.* Systemic inflammation and pro-inflammatory cytokine profile predict response to checkpoint inhibitor treatment in NSCLC: a prospective study[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 10919.
- [32] Oyanagi J, Koh Y, Sato K, *et al.* Predictive value of serum protein levels in patients with advanced non-small cell lung cancer treated with nivolumab[J]. *Lung Cancer*, 2019, 132: 107-113.
- [33] Gocher AM, Workman CJ, Vignali DAA. Interferon- $\gamma$ : teammate or opponent in the tumour microenvironment?[J]. *Nat Rev Immunol*, 2022, 22(3): 158-172.
- [34] Giunta EF, Barra G, De Falco V, *et al.* Baseline IFN-gamma and IL-10 expression in PBMCs could predict response to PD-1 checkpoint inhibitors in advanced melanoma patients[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 17626.
- [35] Limagne E, Richard C, Thibaudin M, *et al.* 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.
- [36] Martínez-Reyes I, Chandel NS. Cancer metabolism: looking forward[J]. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21(10): 669-680.
- [37] Van Wilpe S, Koornstra R, Den Brok M, *et al.* Lactate dehydrogenase: a marker of diminished antitumor immunity[J]. *Oncoimmunology*, 2020, 9(1): 1731942.
- [38] Kazandjian D, Gong Y, Keegan P, *et al.* Prognostic Value of the Lung Immune Prognostic Index for Patients Treated for Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer[J]. *JAMA Oncol*, 2019, 5(10): 1481-1485.
- [39] Amin A, Lawson DH, Salama AK, *et al.* Phase II study of vemurafenib followed by ipilimumab in patients with previously untreated BRAF-mutated metastatic melanoma[J]. *J Immunother Cancer*, 2016, 4: 44.
- [40] Sharma D, Singh M, Rani R. Role of LDH in tumor glycolysis: Regulation of LDHA by small molecules for cancer therapeutics[J]. *Semin Cancer Biol*, 2022, 87: 184-195.
- [41] 雷思雨, 王燕. 循环肿瘤DNA在非小细胞肺癌诊疗中的研究进展[J]. *中国肺癌杂志*, 2022, 25(9): 665-670. [Lei S, Wang Y. Research Progress of Circulating Tumor DNA in Non-small Cell Lung Cancer[J]. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi*, 2022, 25(9): 665-670.]
- [42] Chen K, Zhao H, Shi Y, *et al.* Perioperative Dynamic Changes in Circulating Tumor DNA in Patients with Lung Cancer (DYNAMIC)[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(23): 7058-7067.
- [43] Palmero R, Taus A, Viteri S, *et al.* Biomarker Discovery and Outcomes for Comprehensive Cell-Free Circulating Tumor DNA Versus Standard-of-Care Tissue Testing in Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer[J]. *JCO Precis Oncol*, 2021, 5: 93-102.
- [44] Stadler JC, Belloum Y, Deitert B, *et al.* Current and Future Clinical Applications of ctDNA in Immuno-Oncology[J]. *Cancer Res*, 2022, 82(3): 349-358.
- [45] 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(8): 1872-1880.
- [46] Tivey A, Church M, Rothwell D, *et al.* Circulating tumour DNA-looking beyond the blood[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2022, 19(9): 600-612.
- [47] Chalabi M, Cardona A, Nagarkar D R, *et al.* Efficacy of chemotherapy and atezolizumab in patients with non-small-cell lung cancer receiving antibiotics and proton pump inhibitors: pooled post hoc analyses of the OAK and POPLAR trials[J]. *Ann Oncol*, 2020, 31(4): 525-531.
- [48] Jin Y, Dong H, Xia L, *et al.* The Diversity of Gut Microbiome is Associated With Favorable Responses to Anti-Programmed Death 1 Immunotherapy in Chinese Patients With NSCLC[J]. *J Thorac Oncol*, 2019, 14(8): 1378-1389.

[编辑: 刘红武; 校对: 尤婷婷]

作者贡献:

郑健宏: 文献收集及论文构思、撰写与修改

田琳、赵沛妍、李慧: 论文修改

程颖: 论文撰写指导及审阅