

非小细胞肺癌免疫治疗疗效预测标志物研究进展

张科宇¹, 李索妮², 郑琪², 孙尚莹¹, 高芝兰¹, 赵征^{2*}

¹西安医学院, 陕西 西安

²西安交通大学医学院附属陕西省肿瘤医院, 陕西 西安

收稿日期: 2022年12月12日; 录用日期: 2023年1月5日; 发布日期: 2023年1月12日

摘要

近年来免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitor, ICIs)在非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)的治疗中取得了巨大的进展, NSCLC的免疫治疗已成为继手术、化疗、放疗后的标准治疗方法之一, 但只有部分NSCLC患者能从ICIs治疗中获益, 因此, 迫切需要探索出能够预测ICIs疗效的生物标志物, 为临床优势人群的筛选提供依据。肿瘤程序性死亡配体-1 (programmed cell death ligand 1, PD-L1)是免疫治疗中最早进行探索的指标, 对于免疫治疗的疗效展现出一定的预测作用, 但具有一定的局限性, 其他生物标志物也展现出一定的预测作用, 例如肿瘤突变负荷(tumor mutation burden, TMB)、肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)、微卫星不稳定/错配基因修复(microsatellite instability/mismatch repair, MSI/MMR)、肠道微生物群等。本文就不同指标在NSCLC免疫治疗的疗效预测价值展开探讨。

关键词

非小细胞肺癌, 免疫治疗, 预测标志物

Research Progress in Prognostic Markers of Immunotherapy for Non-Small Cell Lung Cancer

Keyu Zhang¹, Suoni Li², Qi Zheng², Shangying Sun¹, Zhilan Gao¹, Zheng Zhao^{2*}

¹Xi'an Medical University, Xi'an Shaanxi

²Shaanxi Provincial Cancer Hospital, Affiliated to Xi'an Jiaotong University Medical College, Xi'an Shaanxi

Received: Dec. 12th, 2022; accepted: Jan. 5th, 2023; published: Jan. 12th, 2023

*通讯作者。

文章引用: 张科宇, 李索妮, 郑琪, 孙尚莹, 高芝兰, 赵征. 非小细胞肺癌免疫治疗疗效预测标志物研究进展[J]. 临床医学进展, 2023, 13(1): 264-271. DOI: 10.12677/acm.2023.131041

Abstract

In recent years, immune checkpoint inhibitors have made great progress in the treatment of non-small cell lung cancer. Immunotherapy of NSCLC has become one of the standard treatment methods following surgery, chemotherapy and radiotherapy. However, only some NSCLC patients benefit from ICIs treatment. Therefore, it is urgent to explore biomarkers that can predict the efficacy of ICIs and provide a basis for screening the population with clinical advantage. Programmed cell death ligand 1 (PD-L1) is the first explored indicator in immunotherapy, showing a certain predictive role for the efficacy of immunotherapy, but with certain limitations. Other biomarkers have also been shown to be predictive, such as tumor mutation burden (TMB), tumor microenvironment (TME), microsatellite instability/mismatch repair (MSI/MMR), intestinal microflora, etc. In this study, we explored efficacy prediction value of different indicators in NSCLC immunotherapy.

Keywords

Non-Small Cell Lung Cancer, Immunotherapy, Predictors

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

肺癌在全球所有肿瘤中发病率位居第二，死亡率位居第一[1]，非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)占所有肺癌病理类型的 85% [2]。近年来肿瘤的免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitor, ICIs)治疗逐渐兴起，但只有约 20%的 NSCLC 患者能从 ICIs 治疗中获益[3]，所以如何筛选出优势人群从而达到精准治疗目标成为临床中面临的一个问题。一些生物标志物被发现对 NSCLC 患者免疫治疗的疗效显示出一定的预测作用，例如肿瘤程序性死亡配体-1 (programmed cell death ligand 1, PD-L1)、肿瘤突变负荷(tumor mutation burden, TMB)、肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)、微卫星不稳定/错配基因修复(microsatellite instability/mismatch repair, MSI/MMR)、肠道微生物群等。这些生物标志物为临床医生及患者选择治疗方案提供了一定的指导作用，但是不同指标预测效能不尽相同。有研究表明，随着患者肿瘤微环境中 PD-L1 表达、肿瘤组织 TMB 水平、肿瘤微环境组成、基因测序微卫星是否稳定、肠道微生物菌群稳定等状态不同时，使用 ICIs 治疗疗效也随之变化。但是不同指标预测效能不尽相同，且都不够完美，本文就 NSCLC 免疫治疗相关的生物标志物的研究现状和进展进行综述，以便全面了解不同标志物特点，以期临床优势人群的筛选提供参考。

2. PD-L1 (程序性死亡配体-1)

PD-1 (programmed cell death 1, 程序性死亡受体-1)/PD-L1 是介导肿瘤细胞免疫逃逸的重要通路，PD-L1 在肿瘤表面和肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)中表达，与效应 T 细胞上的 PD-1 受体结合，使 PD-1 发生磷酸化和 SHP2 磷酸酶水平升高[4]。PD-1 在活化的 T 细胞、B 细胞、单核细胞、树突状细胞(Dendritic Cells, DC)、调节 T 细胞(Regulatory cells, Tregs)和自然杀伤 T 细胞(Natural killer T cell, NKT)等细胞上表达，可能通过耗竭 T 细胞、增强肿瘤微环境的免疫抑制状态，降低肿瘤相关巨噬细胞

(tumor-associated macrophage, TAM)的吞噬能力等途径,诱导肿瘤的免疫耐受,使肿瘤细胞形成适合生长的微环境,造成肿瘤细胞的免疫逃逸,促进肿瘤细胞的生长[5]。而免疫检查点抑制剂治疗,就是通过阻断 PD-1/PD-L1 通路,使免疫系统活性增强,恢复免疫系统对肿瘤细胞的杀伤能力[6]。所以肿瘤细胞和组织表达 PD-L1 水平高低成为预测 ICIs 疗效的重要因素之一。

KEYNOTE024 研究表明,对于 PD-L1 肿瘤细胞阳性比例分数(tumor proportion score, TPS) $\geq 50\%$ 的 NSCLC 患者, pembrolizumab 单药治疗组 5 年生存率(survival rate)高于化疗组(31.9% vs 16.3%) [7], KEYNOTE042 研究在 PD-L1 表达 $\geq 1\%$ 的 NSCLC 患者中也得到类似结果[8]。KEY-NOTE189 研究显示,随着 PD-L1 表达增加,使用 pembrolizumab 联合化疗组的患者其无进展生存期(progression-free survival, PFS)逐渐提高[9]。

但并非 NSCLC 患者使用 ICIs 的疗效都与 PD-L1 表达水平有关。IMpower150 研究表明,在 bevacizumab 联合化疗的基础上加用 atezolizumab 可提高 NSCLC 患者的 PFS 和总生存期(Overall Survival, OS),但与患者 PD-L1 表达水平无关[10]。KEYNOTE-407 研究显示,某些 PD-L1 表达 $< 1\%$ 的患者能观察到 ICIs 的获益,但一些 PD-L1 高表达的患者对 ICIs 无明显的反应[11]。因为部分 PD-L1 阴性患者也可以从 ICIs 中获益,而 PD-L1 表达 $\geq 50\%$ 的患者,客观缓解率仅有 40%~50%,并不是所有的患者都能从 ICIs 治疗中获益,因此 PD-L1 表达水平对患者使用 ICIs 疗效的预测效能有待进一步证实。

早期的 NSCLC 患者可以选择新辅助免疫治疗的方法。NeoSTAR 研究使用 nivolumab + ipilimumab 新辅助治疗可手术的 NSCLC,观察到主要病理学缓解(major pathologic response, mPR)的患者治疗前肿瘤样本中的肿瘤细胞 PD-L1 表达总体较高($p = 0.017$) [12]。Shu 等人的一项 II 期临床研究表明,早期 NSCLC 患者使用 atezolizumab 新辅助治疗的 mPR 和病理学完全缓解(complete pathological response, pCR)与 PD-L1 表达水平有关($p < 0.05$) [13]。

从以上临床研究可以看出,使用 PD-L1 作为生物标志物来预测 NSCLC 患者免疫治疗疗效可能有一定的价值,但 PD-L1 的表达与临床疗效之间并不是正相关关系。其可能与肿瘤的异质性、PD-L1 表达的不稳定性、检测和评分方法的不同、病理医生评估 TPS 的主观性等因素有关,所以需要我们进一步地探索。超稳定纳米气泡(NB)可以作为细胞表面分子成像的造影剂,增强 PD-L1 的显示对比度信号,可以提高对 PD-L1 的检测能力[14]。而近期也有去糖基化 PD-L1 在 PD-L1 检测中的应用,能够提高 PD-L1 的检出几率[15],可能成为未来疗效预测新的指标。

3. 肿瘤突变负荷(TMB)

组织 TMB (tissue TMB, t-TMB)是指在所检测的肿瘤组织中,每兆碱基区域内发生非同义突变的个数。其计算方法为:突变数目/所检测外显子 Mb 长度,目前最常用的 TMB 测定方法是全外显子组测序(WES)。一般来说,研究对象的 TMB 突变水平在 NSCLC 数据库中排序为前 25% 的患者定义为高 TMB (TMB-H)组,排名数值在 25% 之后的为低 TMB (TMB-L)组。

Checkmate227 临床研究基于 TMB 分层后发现, TMB-H (TMB ≥ 10 muts/Mb) 的患者使用 ICIs 治疗的 PFS 及 ORR 均较常规化疗更高[16]。Checkmate026 临床研究基于 PD-L1 分层并没有发现使用 ICIs 治疗和化疗之间 PFS 和 OS 之间的差异,但基于 TMB 分层后发现, TMB-H 的患者使用 ICIs 治疗的 PFS 及 ORR 均较常规化疗有更高,但 OS 数据却没有差别[17]。而 KEYNOTE201 研究没有发现 TMB 表达与 ICIs 疗效的相关性[8]。这些结果提示 TMB 对于 NSCLC 患者使用免疫治疗的预后临床价值有限。由此来看, TMB 作为预测指标也同样不够完美。

血液 TMB (blood-TMB, b-TMB)指在血液组织中检测计算得到的肿瘤突变负荷。一项前瞻性的 2 期临床试验显示, b-TMB ≥ 16 muts/Mb 组的 OS 和 ORR 更高,且 ORR 随着 b-TMB 的增高而增加[18]。

TMB 虽然可以作为 ICI 治疗效果的预测标志物,但也有其局限性,包括检测方法的不一致,不同肿瘤的异质性,以及对 TMB 高低水平定义的阈值不同等,均可能对预测效能产生影响。

4. 肿瘤微环境(TME)

肿瘤微环境指肿瘤所生存的环境,主要包含肿瘤细胞、周围的血管、细胞外基质、免疫细胞、肿瘤相关成纤维细胞和各种细胞因子、趋化因子等所构成,是影响肿瘤生长和转移的关键因素。

4.1. 肿瘤浸润淋巴细胞(TILs)

TILs 是指肿瘤微环境中的异质性淋巴细胞,主要包括 T 细胞、B 细胞、NK 细胞等。高水平的 TIL 与多种肿瘤(包括 NSCLC)更好的预后相关,这可能与免疫系统的激活有关,使机体对肿瘤细胞有更强的杀伤能力[19]。TIL 主要包括 CD3+TILs、CD4+TILs、CD8+TILs 和 CD20+TILs 等,CD3+TILs 在 NSCLC 患者中的作用目前尚不清楚,有研究表明,低 CD3+TILs 可能是结肠癌患者的一个额外危险因素[20]。CD8+T 细胞与细胞免疫有关,而 CD4+T 细胞与体液免疫有关,不同肿瘤组织所含的 CD8+T 细胞和 CD4+T 细胞比例可能不相同,对肿瘤细胞的杀伤主要依赖 CD8+T 细胞,可能因为其直接对肿瘤的杀伤作用[21]。

有研究将 NSCLC 患者基于免疫组化或 mRNA 测序分组,其中高表达 CD8+TILs 患者有更长的 OS (9.4 个月 vs 5.6 个月; $p = 0.05$),而与 PD-L1 表达情况无关,另外,高 PD-L1 水平同时低 CD8+TIL 水平的患者预后可能最差[22]。抗 PD-1 治疗可诱导肿瘤浸润耗竭样 CD8+T 细胞的增殖,从而产生抗肿瘤作用。在一项对 100 例早期和 26 例晚期 NSCLC 患者接受新辅助治疗的回顾性研究中发现,患者接受 nivolumab 治疗时,PD-1/CD8 比值越低,其 OS 和无病生存期(Disease-free survival, DFS)越长。在 PD-L1 表达不同的情况下,PD-1 阴性为 T 淋巴细胞提供了免疫豁免的微环境,为晚期 NSCLC 患者提供了手术机会和免疫治疗良好预后的可能[23]。

CD39+CD8+T 细胞为同时可以检测出 CD39+CD8+分型的 T 细, Yeong 等人根据肿瘤微环境中 CD39+CD8+T 细胞比例将 NSCLC 患者分为对 ICIs 有反应者和无反应者,可以用来预测 ICIs 治疗的效果,且这种预测作用独立于 CD8+T 细胞比例、PD-L1 表达等因素[24]。

CD8+T 细胞可分为效应细胞(effector cell)和效应记忆细胞(memory cell), Sanmamed 等人发现,在 NSCLC 患者的肿瘤组织中,除了常规的效应细胞之外,还存在着表达 CD45RO、EOMES、FAS、Ki67、LAG-3、PD-1、TIM-3 等具有“耗竭作用”的细胞(Ebo),而在外周血中并不存在 Ebo,提示肿瘤患者的 Ebo 过度增殖,并且在肿瘤微环境中选择性表达,与免疫治疗的耐药性相关,可以作为潜在的生物标志物[25]。

根据肿瘤的 PD-L1 表达状态和是否存在 TILs 可以将肿瘤微环境分为 4 组,包括 I 型(适应性免疫抵抗型): PD-L1⁺/TILs⁺、II 型(免疫忽视型): PD-L1⁻/TILs⁻、III 型(免疫内在感应型): PD-L1⁺/TILs⁻和 IV 型(免疫耐受型): PD-L1⁻/TILs⁺ [26]。其中 I 型表示 TILs 具有活性和处于增殖状态,而 PD-L1⁺提示肿瘤细胞可能通过 PD-L1 表达来逃避 TILs 的攻击,因此在 I 型肿瘤微环境中,使用抗 PD-1/PD-L1 治疗可能克服肿瘤的免疫逃避,患者更容易从 ICIs 治疗中获益;在 II 型肿瘤微环境中,由于缺乏预先存在的 T 细胞浸润,且无 PD-L1 表达,此类患者使用 ICIs 治疗可能预后较差;而 III 型也因为肿瘤微环境中没有 TILs,阻断 PD-1/PD-L1 可能不会导致 TIL 对肿瘤细胞的反应;在 IV 型肿瘤微环境中 TILs 存在的条件下,PD-L1 呈阴性状态表明免疫反应尚未发生,可能因为 TILs 的功能受到阻碍,且肿瘤细胞没有受到 TILs 的攻击,肿瘤细胞没有诱导 PD-L1 表达,因此 ICIs 药物可能在这种微环境中作用受限[27]。

CD8+PD-L1+TILs 的水平在 NSCLC 肿瘤组织中有所不同,具有高 CD8+PD-L1+TILs 的肿瘤样本具有更高水平的 CD8+TILs、CD68+巨噬细胞、PD-L1+肿瘤细胞、PD-1+ TILs 和 CD163+ M2 型巨噬细胞,并且 TMB 也更高[28]。一项回顾性研究表明,在非免疫治疗组中,肿瘤组织中 CD8+PD-L1+ TILs 水平

越高, 预后越差($p = 0.005$), 而在免疫治疗组中, 由于免疫抑制被 ICIs 阻断, CD8+PD-L1+ TILs 水平越高, 使用抗 PD-1 治疗的疗效越好($p = 0.0337$), 且 PD-L1⁺/CD8⁺含量高组较低组的完全/部分缓解率高(75% vs 31%) [29]。Mazzaschi 等人发现, 使用 nivolumab 治疗 NSCLC 患者时, 表达高水平 TILs 和低水平 PD-L1 的患者有更长的 OS ($p = 0.03$), PD-1/CD8 比值可作为预后的独立因素, 且 CD8+T 细胞低表达 PD-1 时其 PFS 更长($p = 0.004$) [23]。

目前对 TILs 与免疫治疗之间的关系还不是十分清楚, 但目前对肿瘤微环境和 TILs 的研究越来越多, 值得我们持续关注。

4.2. 肿瘤相关巨噬细胞(Tumor-Associated Macrophage, TAM)

TAM 是指肿瘤组织中浸润的巨噬细胞, 是肿瘤微环境中的重要组成部分, 可导致肿瘤免疫耐受, 刺激肿瘤血管生成和肿瘤的转移, 促进肿瘤的发生、进展[30]。TAM 可被不同微环境刺激激活为不同的表型, 通常分为经典激活的 M1 型和替代激活的 M2 型巨噬细胞。M1 型巨噬细胞受集落刺激因子-2 (colony stimulating factor 2, CSF-2)、肿瘤坏死因- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、 γ 干扰素(interferon γ , IFN- γ) 等细胞因子激活, 可分泌 IL-6、TNF- α 、IL-12 和活性氧, 起到促进炎症反应、抑制肿瘤细胞生长等作用, 与良好的预后相关; 而 M2 型巨噬细胞由集落刺激因子-1 (colony stimulating factor 1, CSF-1)、IL-4、IL-13 和 IL-10 等细胞因子激活, 分泌多种抗炎细胞因子, 如转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、IL-10 和精氨酸酶等, 这些因子可通过多种机制促进肿瘤的生存、发展和转移[31]。Romano 等人使用 ipilimumab 治疗黑色素瘤患者, 根据对治疗应答情况将患者分为有反应组和无反应组, 有反应组肿瘤微环境中的 TAM 密度高于无反应组, 且有反应组 TAM 中 M1 型/M2 型比率明显升高, 而 M2 型 TAM 在无反应组中密度更高[32]。这预示着 M1、M2 型巨噬细胞在肿瘤微环境中的分布可能与 NSCLC 患者使用 ICIs 的疗效有关。一项使用 ICIs 治疗 NSCLC 的回顾性研究表明, 与其他免疫细胞相比, PD-L1 在肿瘤细胞和微环境中的巨噬细胞中明显升高, 巨噬细胞中升高的 PD-L1 与肿瘤中的高 PD-L1、CD8 和 CD68 水平相关($p < 0.0001$), 巨噬细胞中高 PD-L1 表达与更好的 OS 相关, 而肿瘤细胞中的高 PD-L1 表达则与 OS 没有明显相关性, 这可能预示着巨噬细胞中高 PD-L1 水平可在预测 ICIs 疗效方面起到一定作用[33]。

4.3. 自然杀伤细胞(Natural Killer Cell, NK)

NK 细胞是具有细胞毒性的先天性淋巴细胞, 可通过分泌溶细胞颗粒靶向和消除癌细胞, 并通过分泌免疫调节细胞因子触发免疫反应, 通常被定义为 CD3-CD56⁺淋巴细胞[34]。肿瘤浸润 NK 细胞可能与免疫治疗预后相关, Riaz 等人发现, 使用 nivolumab 治疗黑色素瘤患者时, 肿瘤微环境中 NK 细胞和 CD8+T 细胞数量高的患者其疗效更好[35], 这对于在 NSCLC 患者中探讨肿瘤浸润 NK 细胞与 ICIs 治疗疗效关系具有一定的指导意义。

5. MSI/MMR (微卫星不稳定/错配基因修复)

MS (微卫星)是基因组中以少数核苷酸为单位多次串联重复的序列, MSI 是指 MMR 缺陷(dMMR)从而导致 DNA 复制时插入或缺失突变所引起 MS 长度的改变, MSI 可分为高度微卫星不稳定(MSI-H)、低度微卫星不稳定(MSI-L)和微卫星稳定(MSS) [36]。MSI-H/dMMR 肿瘤细胞具有更高的突变率, 可能对免疫治疗更较强的反应, 或许能作为免疫治疗疗效预测的又一生物标志物。MSI 肿瘤通常具有高 TMB, 虽然 TMB 可能与患者使用 ICIs 治疗的疗效有关, 但与 MSI-H 高相关性的高 TMB 是实体肿瘤患者评估 ICIs 疗效的另一个关键因素[37]。

包括 CheckMate 142、KEYNOTE177 等多项研究均提示免疫检查点抑制剂治疗能够为 MSI-H 的患者带来更佳的生存获益[38] [39]。在结直肠癌患者的新辅助免疫治疗中，MSI-H 结直肠癌患者的 pCR 率也更高[40]。但关于 MSI 的研究目前主要集中于消化道肿瘤，肺癌中尚无相关报道，MSI/MMR 是否能作为 NSCLC 患者使用 ICI 治疗的疗效预测标志物值得我们进一步地探讨。

6. 肠道微生物群

肠道微生物群与肿瘤有着密切的关系，肠道微生物群可以通过调节宿主免疫系统功能和提高抗肿瘤药物疗效起到抗肿瘤的作用，肠道微生物群失调则可通过诱导基因突变、影响机体免疫系统促进肿瘤的发生发展[41]。肠道微生物群可产生细胞因子激活效应 T 细胞，效应 T 细胞与肿瘤抗原结合可对肿瘤细胞产生杀伤作用。使用抗生素和质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPI)可能使肠道微生物群失调，从而降低 ICI 疗效降低[42]。嗜黏蛋白阿克曼菌(*Akkermansia muciniphila*, Akk)是人肠道的一种正常细菌，Lisa Derosa 等人发现 Akk+ (Akk 丰度 $\geq 4.799\%$)患者使用 ICI 有更高的 ORR，且与患者性别、年龄、机体状态、抗生素的使用、PD-L1 的表达无关[43]。一种称为 KCTC3357 的双歧杆菌和抗 PD-1 联合使用可以使小鼠肠道中 CD4+T 细胞、CD8+T 细胞、效应 CD8+T 细胞和 NK 细胞的数量明显增加[44]。Tomita 等人使用 ICI 治疗 NSCLC 患者时，治疗中添加了益生菌丁酸梭菌(CBT)的患者 PFS 和 OS 更长[45]。

以上研究说明肠道微生物群对肿瘤免疫疗法的疗效有着一定的预测价值，但我们需要进一步了解微生物和肿瘤之间复杂的双重作用，以及衡量抗生素的使用对肿瘤的治疗带来的影响，从而更加合理地使用抗生素和抗肿瘤药物。

7. 结语

随着我们对人体免疫系统的认识的越来越深刻，免疫治疗急速发展，肿瘤生物标志物也被发现，肿瘤的治疗已经进入了新的时代，但是到目前为止，我们尚未发现免疫检查点抑制剂治疗良好的预测生物标志物，未来，多种预测标志物的联合也许是探索方向。越来越多的免疫治疗疗效预测我们需要更加准确或联合多种标志物来判断免疫治疗的预后，筛选出适合免疫治疗的患者，才能达到肿瘤精准治疗的目标。对于肿瘤的免疫治疗，我们仍然任重道远。

基金项目

陕西省重点研发计划资助项目(项目编号: 2022SF-282)。

参考文献

- [1] Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., et al. (2021) Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **71**, 209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- [2] Mirhadi, S., Tam, S., Li, Q., et al. (2022) Integrative Analysis of Non-Small Cell Lung Cancer Patient-Derived Xenografts Identifies Distinct Proteotypes Associated with Patient Outcomes. *Nature Communications*, **13**, 1811-1827. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-29444-9>
- [3] Bie, F., Tian, H., Sun, N., et al. (2022) Research Progress of Anti-PD-1/PD-L1 Immunotherapy Related Mechanisms and Predictive Biomarkers in NSCLC. *Frontiers in Oncology*, **12**, 769124-132. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.769124>
- [4] Hui, E. (2019) Immune checkpoint inhibitors. *Journal of Cell Biology*, **218**, 740-741. <https://doi.org/10.1083/jcb.201810035>
- [5] Jiang, Y., Chen, M., Nie, H., et al. (2019) PD-1 and PD-L1 in Cancer Immunotherapy: Clinical Implications and Future Considerations. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, **15**, 1111-1122. <https://doi.org/10.1080/21645515.2019.1571892>

- [6] Yi, M., Zheng, X., Niu, M., *et al.* (2022) Combination Strategies with PD-1/PD-L1 Blockade: Current Advances and Future Directions. *Molecular Cancer*, **21**, 28-55. <https://doi.org/10.1186/s12943-021-01489-2>
- [7] Reck, M., Rodríguez-Abreu, D., Robinson, A.G., *et al.* (2021) Five-Year Outcomes with Pembrolizumab versus Chemotherapy for Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer with PD-L1 Tumor Proportion Score ≥ 50 . *Journal of Clinical Oncology*, **39**, 2339-2349. <https://doi.org/10.1200/JCO.21.00174>
- [8] Mok, T., Wu, Y.L., Kudaba, I., *et al.* (2019) Pembrolizumab versus Chemotherapy for Previously Untreated, PD-L1-Expressing, Locally Advanced or Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer (KEYNOTE-042): A Randomised, Open-Label, Controlled, Phase 3 Trial. *The Lancet*, **393**, 1819-1830. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)32409-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32409-7)
- [9] Gandhi, L., Rodríguez-Abreu, D., Gadgeel, S., *et al.* (2018) Pembrolizumab plus Chemotherapy in Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer. *The New England Journal of Medicine*, **378**, 2078-2092. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1801005>
- [10] Socinski, M.A., Jotte, R.M., Cappuzzo, F., *et al.* (2018) Atezolizumab for First-Line Treatment of Metastatic Non-squamous NSCLC. *The New England Journal of Medicine*, **378**, 2288-2301. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1716948>
- [11] Paz-Ares, L., Luft, A., Vicente, D., *et al.* (2018) Pembrolizumab plus Chemotherapy for Squamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *The New England Journal of Medicine*, **379**, 2040-2051. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1810865>
- [12] Cascone, T., William, W.J., Weissferdt, A., *et al.* (2021) Neoadjuvant Nivolumab or Nivolumab plus Ipilimumab in Operable Non-Small Cell Lung Cancer: The Phase 2 Randomized NEOSTAR Trial. *Nature Medicine*, **27**, 504-514. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-01224-2>
- [13] Shu, C.A., Gainor, J.F., Awad, M.M., *et al.* (2020) Neoadjuvant Atezolizumab and Chemotherapy in Patients with Resectable Non-Small-Cell Lung Cancer: An Open-Label, Multicentre, Single-Arm, Phase 2 Trial. *The Lancet Oncology*, **21**, 786-795. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(20\)30140-6](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(20)30140-6)
- [14] Kumar, U.S., Natarajan, A., Massoud, T.F., *et al.* (2022) FN3 Linked Nanobubbles as a Targeted Contrast Agent for US Imaging of Cancer-Associated Human PD-L1. *Journal of Controlled Release*, **346**, 317-327. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2022.04.030>
- [15] Mei, J., Xu, J., Yang, X., *et al.* (2021) A Comparability Study of Natural and Deglycosylated PD-L1 Levels in Lung Cancer: Evidence from Immunohistochemical Analysis. *Molecular Cancer*, **20**, 11-18. <https://doi.org/10.1186/s12943-020-01304-4>
- [16] Hellmann, M.D., Ciuleanu, T.E., Pluzanski, A., *et al.* (2018) Nivolumab plus Ipilimumab in Lung Cancer with a High Tumor Mutational Burden. *The New England Journal of Medicine*, **378**, 2093-2104. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1801946>
- [17] Carbone, D.P., Reck, M., Paz-Ares, L., *et al.* (2017) First-Line Nivolumab in Stage IV or Recurrent Non-Small-Cell Lung Cancer. *The New England Journal of Medicine*, **376**, 2415-2426. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1613493>
- [18] Kim, E.S., Velcheti, V., Mekhail, T., *et al.* (2022) Blood-Based Tumor Mutational Burden as a Biomarker for Atezolizumab in Non-Small Cell Lung Cancer: The Phase 2 B-FIRST Trial. *Nature Medicine*, **28**, 939-945. <https://doi.org/10.1038/s41591-022-01754-x>
- [19] Brambilla, E., Le Teuff, G., Marguet, S., *et al.* (2016) Prognostic Effect of Tumor Lymphocytic Infiltration in Resectable Non-Small-Cell Lung Cancer. *Journal of Clinical Oncology*, **34**, 1223-1230. <https://doi.org/10.1200/JCO.2015.63.0970>
- [20] Francini, E., Ou, F.S., Lazzi, S., *et al.* (2021) The Prognostic Value of CD3+ Tumor-Infiltrating Lymphocytes for Stage II Colon Cancer According to Use of Adjuvant Chemotherapy: A Large Single-Institution Cohort Study. *Translational Oncology*, **14**, Article ID: 100973. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2020.100973>
- [21] Chen, B., Li, H., Liu, C., *et al.* (2020) Prognostic Value of the Common Tumour-Infiltrating Lymphocyte Subtypes for Patients with Non-Small Cell Lung Cancer: A Meta-Analysis. *PLOS ONE*, **15**, e0242173. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242173>
- [22] Fumet, J.D., Richard, C., Ledys, F., *et al.* (2018) Prognostic and Predictive Role of CD8 and PD-L1 Determination in Lung Tumor Tissue of Patients under Anti-PD-1 Therapy. *British Journal of Cancer*, **119**, 950-960. <https://doi.org/10.1038/s41416-018-0220-9>
- [23] Mazzaschi, G., Madeddu, D., Falco, A., *et al.* (2018) Low PD-1 Expression in Cytotoxic CD8⁺ Tumor-Infiltrating Lymphocytes Confers an Immune-Privileged Tissue Microenvironment in NSCLC with a Prognostic and Predictive Value. *Clinical Cancer Research*, **24**, 407-419. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-2156>
- [24] Yeong, J., Suteja, L., Simoni, Y., *et al.* (2021) Intratumoral CD39⁺CD8⁺ T Cells Predict Response to Programmed Cell Death Protein-1 or Programmed Death Ligand-1 Blockade in Patients with NSCLC. *Journal of Thoracic Oncology*, **16**, 1349-1358. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2021.04.016>
- [25] Sanmamed, M.F., Nie, X., Desai, S.S., *et al.* (2021) A Burned-Out CD8⁺ T-Cell Subset Expands in the Tumor Microenvironment and Curbs Cancer Immunotherapy. *Cancer Discovery*, **11**, 1700-1715.

- <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-20-0962>
- [26] Teng, M.W., Ngiow, S.F., Ribas, A., *et al.* (2015) Classifying Cancers Based on T-Cell Infiltration and PD-L1. *Cancer Research*, **75**, 2139-2145. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-15-0255>
- [27] Kudo, M. (2020) A New Era in Systemic Therapy for Hepatocellular Carcinoma: Atezolizumab plus Bevacizumab Combination Therapy. *Liver Cancer*, **9**, 119-137. <https://doi.org/10.1159/000505189>
- [28] Manabe, K., Yamasaki, O., Nakagawa, Y., *et al.* (2021) Multifunctionality of CD8⁺ T Cells and PD-L1 Expression as a Biomarker of Anti-PD-1 Antibody Efficacy in Advanced Melanoma. *The Journal of Dermatology*, **48**, 1186-1192. <https://doi.org/10.1111/1346-8138.15904>
- [29] Zhang, L., Chen, Y., Wang, H., *et al.* (2021) Massive PD-L1 and CD8 Double Positive TILs Characterize an Immunosuppressive Microenvironment with High Mutational Burden in Lung Cancer. *The Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, **9**, e002356. <https://doi.org/10.1136/jitc-2021-002356>
- [30] Xiang, X., Wang, J., Lu, D., *et al.* (2021) Targeting Tumor-Associated Macrophages to Synergize Tumor Immunotherapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, **6**, 75-86. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00484-9>
- [31] 乔艳艳, 傅恩清. 肿瘤相关巨噬细胞在肺癌中的研究进展[J]. 中国肺癌杂志, 2022, 25(1): 34-39.
- [32] Romano, E., Kusio-Kobialka, M., Foukas, P.G., *et al.* (2015) Ipilimumab-Dependent Cell-Mediated Cytotoxicity of Regulatory T Cells *ex Vivo* by Nonclassical Monocytes in Melanoma Patients. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **112**, 6140-6145. <https://doi.org/10.1073/pnas.1417320112>
- [33] Liu, Y., Zugazagoitia, J., Ahmed, F.S., *et al.* (2020) Immune Cell PD-L1 Colocalizes with Macrophages and Is Associated with Outcome in PD-1 Pathway Blockade Therapy. *Clinical Cancer Research*, **26**, 970-977. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-19-1040>
- [34] Ben-Shmuel, A., Biber, G. and Barda-Saad, M. (2020) Unleashing Natural Killer Cells in the Tumor Microenvironment—The Next Generation of Immunotherapy? *Frontiers in Immunology*, **11**, 275-297. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00275>
- [35] Riaz, N., Havel, J.J., Makarov, V., *et al.* (2017) Tumor and Microenvironment Evolution during Immunotherapy with Nivolumab. *Cell*, **171**, 934-949. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.09.028>
- [36] Le, D.T., Uram, J.N., Wang, H., *et al.* (2015) PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency. *The New England Journal of Medicine*, **372**, 2509-2520. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1500596>
- [37] Fanale, D., Corsini, L.R., Scalia, R., *et al.* (2022) Can the Tumor-Agnostic Evaluation of MSI/MMR Status Be the Common Denominator for the Immunotherapy Treatment of Patients with Several Solid Tumors? *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, **170**, Article ID: 103597. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2022.103597>
- [38] Lenz, H.J., Van Cutsem, E., Luisa, L.M., *et al.* (2022) First-Line Nivolumab Plus Low-Dose Ipilimumab for Microsatellite Instability-High/Mismatch Repair-Deficient Metastatic Colorectal Cancer: The Phase II CheckMate 142 Study. *Journal of Clinical Oncology*, **40**, 161-170. <https://doi.org/10.1200/JCO.21.01015>
- [39] Diaz, L.J., Shiu, K.K., Kim, T.W., *et al.* (2022) Pembrolizumab versus Chemotherapy for Microsatellite Instability-High or Mismatch Repair-Deficient Metastatic Colorectal Cancer (KEYNOTE-177): Final Analysis of a Randomised, Open-Label, Phase 3 Study. *The Lancet Oncology*, **23**, 659-670. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(22\)00197-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(22)00197-8)
- [40] 丁培荣. 微卫星高度不稳定结直肠癌的免疫治疗[J]. 中华胃肠外科杂志, 2022, 25(3): 199-204.
- [41] Sepich-Poore G D, Zitvogel L, Straussman R, *et al.* (2021) The Microbiome and Human Cancer. *Science*, **371**, 4552-4586. <https://doi.org/10.1126/science.abc4552>
- [42] Hopkins, A.M., Badaoui, S., Kichenadasse, G., *et al.* (2022) Efficacy of Atezolizumab in Patients with Advanced NSCLC Receiving Concomitant Antibiotic or Proton Pump Inhibitor Treatment: Pooled Analysis of Five Randomized Control Trials. *Journal of Thoracic Oncology*, **17**, 758-767. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2022.02.003>
- [43] Derosa, L., Routy, B., Thomas, A.M., *et al.* (2022) Intestinal *Akkermansia muciniphila* Predicts Clinical Response to PD-1 Blockade in Patients with Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *Nature Medicine*, **28**, 315-324. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01655-5>
- [44] Lee, S.H., Cho, S.Y., Yoon, Y., *et al.* (2021) *Bifidobacterium bifidum* Strains Synergize with Immune Checkpoint Inhibitors to Reduce Tumour Burden in Mice. *Nature Microbiology*, **6**, 277-288. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-00831-6>
- [45] Hakozaki, T., Richard, C., Elkrif, A., *et al.* (2020) The Gut Microbiome Associates with Immune Checkpoint Inhibition Outcomes in Patients with Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *Cancer Immunology Research*, **8**, 1243-1250. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-20-0196>