

# PD-L1检测方法及研究进展

王 皓<sup>1</sup>, 陈宗友<sup>1</sup>, 刘一雄<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>空军军医大学基础医学院学员队四大队, 陕西 西安

<sup>2</sup>空军军医大学基础医学院病理学教研室, 陕西 西安

收稿日期: 2022年4月19日; 录用日期: 2022年4月29日; 发布日期: 2022年9月29日

## 摘 要

近年来, 肿瘤免疫疗法取得巨大进展, 相比其他类型的治疗方法, 免疫疗法能够提供持久的疗效, 引起更少的副作用。鉴于针对PD-1/PD-L1通路的免疫治疗在不同类型肿瘤以及不同个体间的疗效存在差异, 寻找能够预测PD-L1的检验方法成为研究热点。本文回顾分析了不同平台PD-L1的检测特点和临床应用, 并总结了PD-L1在不同肿瘤的应答率。

## 关键词

PD-L1, 免疫组织化学技术, 生物标志物, 免疫治疗

# PD-L1 Detection Methods and Research Progress

Hao Wang<sup>1</sup>, Zongyou Chen<sup>1</sup>, Yixiong Liu<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Cadet Corps Four Brigade, Basic Medical College, Air Force Military Medical University, Xi'an Shaanxi

<sup>2</sup>Department of Pathology, School of Basic Medical Sciences, Air Force Military Medical University, Xi'an Shaanxi

Received: Apr. 19<sup>th</sup>, 2022; accepted: Apr. 29<sup>th</sup>, 2022; published: Sep. 29<sup>th</sup>, 2022

## Abstract

In recent years, tumor immunotherapy has made great progress, compared with other types of treatments, immunotherapy can provide long-lasting efficacy, causing fewer side effects. In view of the difference in the efficacy of immunotherapy for the PD-1/PD-L1 pathway in different types of tumors and between different individuals, finding a test method that can predict PD-L1 has become a research hotspot. In this paper, the detection characteristics and clinical application of PD-L1 on different platforms are reviewed and analyzed, and the response rate of PD-L1 in different tumors is summarized.

\*通讯作者。

文章引用: 王皓, 陈宗友, 刘一雄. PD-L1 检测方法及研究进展[J]. 医学诊断, 2022, 12(3): 265-270.

DOI: 10.12677/md.2022.123043

## Keywords

PD-L1, IHC, Biomarker, Immunotherapy

Copyright © 2022 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

肿瘤细胞产生免疫逃逸的主要机制之一是免疫 T 细胞表达的程式化细胞死亡受体-1 (PD-1)与肿瘤细胞表面高表达的程式化死亡配体-1 (PD-L1)之间的相互作用。PD-L1 与 PD-1 结合后,免疫 T 细胞的激活通路被中止, T 细胞功能被抑制,无法对肿瘤细胞产生免疫应答。有研究表明,PD-L1 的表达水平与肿瘤的生长状态、分化程度、Masaoka 分期相关,可以预测免疫治疗效果和预后[1]。针对 PD-1/PD-L1 通路的抑制剂已经在美国食品和药物管理局获批多个适应症,在多种肿瘤治疗中均表现出了良好的疗效。但是,此类抑制剂价格昂贵并且可能引起免疫相关副反应,因此确定适合使用此类抑制剂的患病人群是治疗的关键[2]。目前,PD-L1 的检测方法有免疫组织化学检测、RNAscope 技术、核医学显像探针技术、血浆 PD-L1 检测等,而且还有一些检测 PD-L1 的生物标志物,如微卫星不稳定、肿瘤突变负荷、错配修复缺陷、肿瘤浸润的淋巴细胞等。

## 2. 免疫组织化学检测

免疫组化是目前 PD-L1 检测的主要方法,免疫组化简单方便,而且可以直接测定 PD-L1 的表达水平,从而反映患者对 PD-L1 抑制剂的应答率[3]。

目前此方法的不足在于,PD-L1 在肿瘤细胞和正常上皮细胞、淋巴细胞中均有部分表达,常规的免疫组化染色结果存在非肿瘤细胞的干扰,为了提高染色结果的准确性和分辨率,可以使用免疫组化双重染色技术[1]。免疫组化双重染色技术是指同时使用标记肿瘤细胞的抗体和标记 PD-L1 的抗体进行染色。免疫组化双重染色技术在胸腺肿瘤[4]和非小细胞肺癌[5] PD-L1 检测的应用已经证明,这种技术能够更加清楚的判断肿瘤细胞 PD-L1 的阳性率,避免了其他细胞的干扰,提高判读者判读的一致性,为筛选适用于免疫治疗的患者及预后评价提供重要参考。此方法的另一个优点在于,染色结果也可以分析非肿瘤细胞 PD-L1 的表达水平,从而进一步分析非肿瘤细胞 PD-L1 的表达水平是否可以反映肿瘤生长特点和免疫治疗效果。

免疫组化方法的局限是,目前虽然已有多种应用于临床的 PD-L1 免疫组化抗体,但是不同抗体使用的检测平台、判读标准及相应的阳性阈值均不同,这对病人的治疗选择产生了干扰[6]。然而,目前尚缺少检测 PD-L1 在肿瘤及肿瘤微环境中的表达水平的金标准,这有待于免疫组化的改进和其他 PD-L1 检测技术的发展。

## 3. RNAscope 技术

RNAscope 技术的原理是根据碱基互补配对进行特定基因的 mRNA 检测,因其不依赖抗体,探针可重复生产等优势而受到重视[6]。RNAscope 技术有独特的双“Z”探针设计和信号放大系统,使 RNA 原位杂交具有高度特异性、单分子检测的敏感性,可代替传统的 ISH/FISH/RNA 原位检测。在一致性方面,

RNAscope 技术检测与其他方法一致性好, 检测结果与临床治疗响应率的相关性好。RNAscope 技术在肿瘤鉴别诊断、治疗及预后评估中显示出良好的前景[7]。

RNAscope 技术在乳腺癌[7]、胃肠道间质瘤[8]等肿瘤中的研究表明, PD-L1mRNA 的表达水平与肿瘤的生长状态、分化程度有关。特别是在乳腺癌的研究中, RNAscope 技术检测 PD-L1mRNA 的表达水平与免疫组化检测 PD-L1 的表达水平的结果具有良好的一致性, RNAscope 技术可以作为 PD-L1 检测的生物标志物, 提示 RNAscope 技术筛查 PD-L1mRNA 的良好应用前景。然而, 在胃肠道间质瘤和胃癌组织 PD-L1 表达的检测中, RNAscope 技术和免疫组化检测结果的一致性一般[6], RNAscope 技术检测 PD-L1mRNA 是否比免疫组化检测 PD-L1 蛋白更精准, 有待于进一步的实验研究和数据分析。

#### 4. 核医学显像探针技术[9]

核医学显像探针技术可以非侵入式的检测 PD-L1 在活体中的表达水平, 有望成为检测 PD-L1 表达水平的金标准。目前已有多种 PD-L1 显像探针成功应用于早期临床研究, 在肿瘤的鉴别诊断、治疗及预后评估等方面存在着巨大的应用价值。近年来关于靶向肿瘤 PD-L1 显像探针的研究有以下几类。

##### 4.1. 基于单克隆抗体的肿瘤免疫显像探针

Heskamp 等最早将  $^{111}\text{In}$  标记的高亲和力的鼠源单克隆抗体 PD-L1.1.3 应用于肿瘤 PD-L1 显像, 发现  $^{111}\text{In}$ -PD-L1.1.3 可以区分 PD-L1 阳性和阴性表达的肿瘤, 首次证明了基于单克隆抗体的显像探针对于肿瘤 PD-L1 进行非侵入式体内显像的可行性。Truillet 等利用  $^{89}\text{Zr}$  标记了一种于人源和鼠源 PD-L1 的胞外段都具有高亲和力的 IgG1 抗体( $^{89}\text{Zr}$ -C4), 发现  $^{89}\text{Zr}$ -C4 可以对肿瘤组织和肿瘤微环境的 PD-L1 表达水平进行显像和动态监测。相比于  $^{111}\text{In}$ -PD-L1.1.3,  $^{89}\text{Zr}$ -C4 是一种人源化抗体, 因此具有一定的临床转化应用前景。Christensen 等利用定点标记技术构建了一种高亲和力的 PD-L1 靶向探针  $^{89}\text{Zr}$ -DFO-6E11, 此探针可以对肿瘤组织和肿瘤微环境的 PD-L1 表达水平进行监测。FDA 批准的 PD-L1 免疫治疗药物 atezolizumab 和 avelumab 也已经应用于核素标记来进行 PD-L1 显像。一系列研究表明, 探针摄取与 PD-L1 表达、免疫治疗的临床响应具有强相关性。此外, 患者肿瘤探针摄取  $\text{SUV}_{\text{max}}$  与无进展生存期和总生存期具有强相关性。基于单克隆抗体的肿瘤免疫显像探针具有巨大的临床应用价值。

然而此类方法尚存一些不足之处。单克隆抗体通常具有较大的分子量, 其血液清除较慢且肿瘤渗透能力偏弱, 并且单克隆抗体显像时间长, 通常使用长半衰期核素进行标记, 这增加了患者受到的辐射剂量。因此, 开发分子量更小、亲和力更强、清除更快、组织穿透能力更强的 PD-L1 显像探针将具有十分重要的意义。

##### 4.2. 非单克隆抗体类肿瘤免疫显像探针

近年来, 科学家还利用放射性核素标记分子量更小的抗体片段、蛋白药物以及多肽分子等进行 PD-L1 显像研究。Maute 等利用  $^{64}\text{Cu}$  标记一种微体, 进行了 PD-L1 显像研究; Chatterjee 等利用  $^{64}\text{Cu}$  标记 WL12 多肽, 并应用于 PD-L1 转染的 CHO 肿瘤显像研究; Donnelly 等利用  $^{18}\text{F}$  标记抗 PD-L1 的新型类抗体药物 Adnectin, 评价了其在 PD-L1 不同表达程度的肿瘤模型及健康猕猴显像中的应用价值; Lv 等通过 NOTA 螯合剂将  $^{68}\text{Ga}$  标记在分子量更小的单域抗体 Nb109 上, 评估了在 PD-L1 检测方面的应用价值。一系列研究表明, 基于非单克隆抗体的 PD-L1 探针, 显像时间短, 体内代谢清除率较快, 能够获得具有更高对比度的图像。此外, 此类探针通常能够采用  $^{68}\text{Ga}$ 、 $^{18}\text{F}$ 、 $^{64}\text{Cu}$  等半衰期更短的正电子核素进行标记, 降低了患者受到的辐射剂量。与单克隆抗体类肿瘤免疫显像探针相比, 非单克隆抗体类肿瘤免疫显像探针更具优势, 但是非单克隆抗体类肿瘤免疫显像探针在临床上的应用有待于进一步研究。

### 4.3. 潜在的 PD-L1 靶向性的有机小分子探针

有机小分子探针分子量小,体内分布和清除速率快,便于利用短半衰期核素进行标记,显像速度快,降低患者承受的辐射剂量。较低的 KD 值或者 IC<sub>50</sub> 保证了探针的特异性,有利于观察。有机小分子探针应用于显像时注射的药物通常在微克甚至更低的水平,保证了显像的安全性。潜在的 PD-L1 靶向性的有机小分子探针为 PD-L1 显像探针的开发提供了另一种可能。

来自百时美施贵宝的科学家研究发现,一系列联苯衍生物类探针具有较低的 IC<sub>50</sub> 值,使得它们有望被开发为高亲和力的 PD-L1 靶向性有机小分子探针; Kawashita 等研究发现,结构对称性能够有效提高 PD-1/PD-L1 的抑制剂的抑制活性,这对于 PD-L1 抑制剂的研发具有重要的提示意义。Basu 等以 BMS-202 为先导化合物研究发现,结构对称性设计可以显著降低探针的 IC<sub>50</sub> 值,该类探针经适合的结构改造,有望成为 PD-L1 高亲和力的有机小分子探针。PD-L1 靶向性的有机小分子探针的临床应用潜力有待于进一步的实验研究。

## 5. 血浆 PD-L1mRNA 检测[10]

免疫组化法检测 PD-L1 等有创操作受限于病灶生长部位、不宜频繁穿刺、避免医源性转移等一系列原因,不适合用于临床治疗的动态检测。并且,由于肿瘤和肿瘤间组织的异质性,组织活检可能无法揭示整体肿瘤组织和微环境的特征。血浆 PD-L1mRNA 检测技术只需要采取病人的血液,采集简单、无创,病人更易于接受,在肿瘤治疗过程中可便捷的获得多个血液样本,从而进行 PD-L1 表达的动态检测。

有研究表明,血浆 PD-L1mRNA 检测结果与免疫组化 PD-L1 蛋白表达水平的一致性良好,并且,血浆中 PD-L1mRNA 表达水平的动态变化与肿瘤疗效、生存期具有相关性。基于血浆 PD-L1mRNA 检测的种种优点和 qRT-PCR 法可以弥补标本采集不足的缺点,血浆 PD-L1mRNA 具有作为生物标志物的独特优势,在指导免疫治疗、预测疗效等方面有巨大的潜力。不过,血浆 PD-L1mRNA 的变化与传统的放疗、免疫治疗、靶向治疗、综合治疗的关联性,以及这种检测方法是否对不同瘤种均适用,需要更多的实验研究和数据分析。

## 6. 其他生物标志物

### 6.1. 微卫星不稳定

微卫星不稳定(MSI)是指,与正常组织相比,某个微卫星位点由于重复单元的插入或缺失而发生原有微卫星的丢失或者新微卫星等位基因的产生。MSI 的发生是由于 DNA 错配修复系统缺陷。微卫星不稳定已经成为了肿瘤治疗方面的生物标志物。

在结直肠癌[11]和子宫内膜癌[12]中的研究表明,MSI-H 型基因检测位点中 BAT-26, NR21, NR27 等位点突变率高,可为免疫治疗提供依据。MSI-H 型 PD-L1 的基因表达水平和肿瘤组织中 PD-L1 的阳性率均显著高于 MSS/MSI-L 组,MSI-H 可以作为 PD-L1 检测的生物标志物。并且,MSI 状态与肿瘤的生长部位、生长特点、分化特点和个体的生存期有关,提示 MSI 状态可以预测治疗效果、判断预后。另有研究表明,PD-1/PD-L1 通路抑制剂并不是对所有 MSI-H 型肿瘤都有效,由此可见,免疫微环境是一个复杂的系统,MSI 状态与免疫微环境的关系是复杂的,二者关系的阐明需要更多的实验研究[13]。

### 6.2. 肿瘤突变负荷[14]

肿瘤突变负荷(TMB)是指目标基因的外显子编码区每兆碱基中发生置换和插入/缺失突变的总数。肿瘤突变负荷与肿瘤发生具有强相关性,其一,原癌基因和抑癌基因突变可能引起癌变;其二,大量的基因突变会产生新抗原。当新抗原的数量随突变基因的累积而增多时,肿瘤细胞与免疫细胞识别的可能性



增加。当 PD-1/PD-L1 通路被识别，免疫 T 细胞的激活通路被中止，T 细胞功能被抑制，无法对肿瘤细胞产生免疫应答。因此，TMB 可能成为预测 PD-1/PD-L1 抑制剂临床疗效的生物抑制剂。

在非小细胞肺癌的研究表明，高 TMB 与使用 PD-L1 抑制剂患者的 PFS 的提高有关，但与 OS、ORR 及长期生存期的相关性不强。TMB 的预测价值有待进一步实验研究。

### 6.3. 错配修复缺陷[15]

DNA 修复系统的功能是确保 DNA 准确复制、纠正错配的碱基等。错配修复(MMR)基因是高度保守的管家基因，错配修复基因的突变会导致 DNA 修复系统的功能性缺陷，基因组中相对不稳定的序列，如微卫星重复序列，更加不稳定，错配的碱基得不到修复而不断积累，最终机体产生癌变。

在胃癌的研究表明，错配修复缺陷型癌组织中 PD-L1 阳性率显著高于错配修复完整型，提示错配修复缺陷可以作为 PD-L1 检测的生物标志物。错配修复缺陷与肿瘤生长状态、肿瘤分期、肿瘤浸润深度、淋巴结转移具有相关性，提示错配修复缺陷在指导肿瘤治疗方面的应用前景。

目前，有多种 PD-L1 检测的生物标志物被发现，对多种生物标志物的研究不断深入，多种生物标志物与 PD-L1 表达水平的关系越来越清晰。单个生物标志物的应用可能无法准确判读肿瘤组织 PD-L1 的表达水平，如果可以将多种生物标志物联合起来，可能会增加 PD-L1 表达水平的判读的准确性，从而快速、精准地选择出适合用 PD-1/PD-L1 抑制剂治疗的患者[14]。

## 7. PD-L1 单抗在各瘤种治疗中的响应率

1) 在黑色素瘤的治疗中，难治性转移性黑色素瘤中 Nivolumab 的有效率为 12.8%；进展期黑色素瘤中 Nivolumab 有效率为 28%，Nivolumab 与 ipilimumab 联用的有效率为 40%。2) 在霍奇金淋巴瘤的治疗中，Nivolumab 治疗复发或难治性霍奇金淋巴瘤的有效率为 78%，Pembrolizumab 的有效率为 66%。3) 对于非小细胞肺癌，在难治性转移性非小细胞肺癌中，Nivolumab 的响应率为 12.8%，进展期非小细胞肺癌为 18%，进展期难治性非小细胞肺癌为 17%，进展期鳞癌中为 20%；在 PD-L1 阳性的非小细胞肺癌病人中，Pembrolizumab 的有效率为 45.2%，Durvalumab 的有效率为 23%，Atezolizumab 的有效率为 38%。4) 在肾细胞癌的治疗中，Nivolumab 的响应率为 25%，Atezolizumab 的响应率为 21%，MDX-1105 的响应率为 11.7%。5) 在乳腺癌的治疗中，Atezolizumab 的响应率为 19%，Pembrolizumab 的响应率为 18.5%。6) 在小细胞肺癌的治疗中，Nivolumab 的响应率为 18%，Pembrolizumab 的响应率为 35%，Atezolizumab 的响应率为 21%。7) 在头颈部癌的治疗中，Durvalumab 的响应率为 12%，Pembrolizumab 的响应率为 24.8%，Atezolimumb 的响应率为 19%。8) 在肝细胞癌的治疗中，Nivolumab 的响应率为 19%。9) 在胃癌的治疗中，Nivolumab 的响应率为 31%，Atezolizumab 的响应率为 21%。10) 在卵巢癌的治疗中，Nivolumab 的响应率为 15%，Avelumab 为 14.7%，Pembrolizumab 为 11.5%，Atezolizumab 为 21%，MDX-1105 为 5.9%。11) 对于膀胱癌，Atezolizumab 在未选定人群中的响应率为 26%，在 PD-L1 阳性人群中的响应率为 43%；Pembrolizumab 在未选定人群中的响应率为 25%，在 PD-L1 阳性人群中的响应率为 38%。12) 对于微卫星不稳定癌，Pembrolizumab 在错配修复缺陷型 CRC 中的响应率为 40%，在错配修复完整型 CRC 中的响应率为 0%，在错配修复缺陷型非结直肠癌中的响应率为 71%。13) 在默克尔细胞癌的治疗中，Pembrolizumab 的响应率为 71%。

## 8. 结语

综上所述，在针对 PD-1/PD-L1 通路的肿瘤免疫疗法取得巨大进展的同时，PD-L1 的检测方法和检测结果的可行性、准确性也非常重要。免疫组化技术仍然是目前主要的 PD-L1 检测方法，然而免疫组化技术也有局限性。目前，关于 PD-L1 检测方法的探索和研究不断进步，RNAscope 技术、核医学显像探针

技术、血浆 PD-L1mRNA 检测技术正在研究中, 显示出了良好的前景。关于 PD-L1 免疫治疗的生物标志物的研究也不断取得进展, 并且应用于临床。随着 PD-L1 检测技术的创新和生物标志物研究的深入, PD-L1 的检测会更加准确、可行, 从而促进免疫疗法在肿瘤治疗中的应用。

## 参考文献

- [1] 郭雪晶, 曹赫, 周建娅, 周建英. PD-L1 检测方法在非小细胞肺癌的研究进展[J]. 中国肺癌杂志, 2019, 22(1): 40-44.
- [2] 王俊, 冉凤鸣, 钱羽. PD-L1 表达检测的研究进展[J]. 实用肿瘤杂志, 2020, 35(1): 89-93.
- [3] 陈晓童. PD-L1 临床免疫组织化学检测新进展[J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(17): 21-22.
- [4] 邢杰, 赵继开, 丁闻洁, 韩昱晨. 免疫组化双重染色技术在胸腺肿瘤 PD-L1 检测中的应用[J]. 临床与实验病理学杂志, 2020, 36(12): 1482-1484.
- [5] 徐瑶, 王满香, 王明伟, 张杨鹤龄, 金苏, 方娜, 岳君秋. 免疫组化双重染色技术在非小细胞肺癌 PD-L1 检测中的应用[J]. 临床与实验病理学杂志, 2022, 38(3): 347-349.
- [6] 缪小兵, 沈蓉, 张邢松, 尹海兵. RNAscope 原位杂交技术在胃癌 PD-1、PD-L1 表达分析中的应用[J]. 临床与实验病理学杂志, 2022, 38(3): 337-339, 343.
- [7] 李莹莹. RNAscope 技术对乳腺癌 PD-1 和 PD-L1 检测的临床意义[D]: [硕士学位论文]. 唐山: 华北理工大学, 2018: 1-43.
- [8] 王欣. RNAscope 技术对胃肠道间质瘤 PD-1/PD-L1 检测的临床意义[D]: [硕士学位论文]. 唐山: 华北理工大学, 2019: 1-44.
- [9] 杨林超, 李文杰, 陈楠. 核医学显像探针在肿瘤 PD-L1 免疫治疗中的应用[J]. 肿瘤防治研究, 2021, 48(12): 1123-1128.
- [10] 古骄阳. 血浆 PD-L1mRNA 检测的方法学研究及临床意义[D]: [硕士学位论文]. 重庆: 陆军军医大学, 2019: 24-36.
- [11] 侯少华. 肿瘤特异性外泌体快速富集及诊断价值研究[C]//中国抗癌协会肿瘤标志物委员会. 2021 年中国肿瘤标志物学术大会暨第十五届肿瘤标志物青年科学家论坛论文集. 广州: 中国科学技术出版社, 2021: 114-115.
- [12] 梁婷, 黄慧艳, 雷先华, 李荣. 子宫内膜的微卫星不稳定性与 PD-L1 表达的相关性及临床意义[J]. 中国现代医生, 2021, 59(11): 122-124.
- [13] 张周, 伍小琼, 邱荣元, 杨泽若, 李熙微, 毛杨明, 余飞跃. 微卫星不稳定性与结直肠癌免疫微环境关系的研究[J]. 湖南师范大学学报, 2021, 18(6): 110-113.
- [14] 沈仕俊, 王巧丽, 杨金江, 李国剑, 李孟丽, 张小丽, 甘平. 肿瘤突变负荷对 PD-1/PD-L1 抑制剂治疗非小细胞肺癌临床疗效预测的 Meta 分析[J]. 肿瘤防治研究, 2021, 48(3): 281-287.
- [15] 吴立鹏. 错配修复基因缺失型胃癌中 PD-1 和 PD-L1 的表达[D]: [硕士学位论文]. 衡阳: 南华大学, 2018: 1-55.