

• 综述 •

## 血液学生物标志物在肺癌免疫治疗中的研究进展\*

柯萍, 江波<sup>△</sup>

650118 昆明, 昆明医科大学第三附属医院 干部医疗科

[摘要] 生物标志物是一种可以客观衡量和评估机体生物学特征的指标,能反映抗肿瘤治疗的效果,指导临床用药策略的制定。目前,肺癌的治疗已进入以免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitor, ICI)为代表的免疫治疗时代,但并不是所有的患者都能从 ICI 治疗中获益,临床上用程序性死亡受体配体 1、肿瘤突变负荷等生物标志物来筛选 ICI 治疗的获益群体,已经取得不错的成绩,然而临床现有的生物标志物并未完全满足筛选获益群体指导免疫治疗的目的。另外,临床应用的生物标志物多是通过肿瘤组织进行检测,然而组织病理活检存在依从性差、操作复杂、组织异质性、难以动态检测等缺陷,从而限制了其临床应用。外周血具有肿瘤同源性和操作简便性的特点,易于实时评估,其成为生物标志物载体的潜在价值很大。本篇综述主要介绍了血液学生物标志物在肺癌免疫治疗中的研究进展并讨论了联合标志物的应用,以期筛选生物标志物指导临床免疫治疗提供参考。

[关键词] 免疫检查点抑制剂;生物标志物;外周血;肺癌;程序性死亡受体配体 1

[中图分类号] R734.2 [文献标志码] A doi:10.3969/j.issn.1674-0904.2021.04.012

引文格式:Ke P, Jiang B. Research progress of blood biomarkers in lung cancer immunotherapy[J]. J Cancer Control Treat, 2021, 34(4): 359-364. [柯萍, 江波. 血液学生物标志物在肺癌免疫治疗中的研究进展[J]. 肿瘤预防与治疗, 2021, 34(4): 359-364.]

### Research Progress of Blood Biomarkers in Lung Cancer Immunotherapy

Ke Ping, Jiang Bo

Department of Geriatric Oncology, Yunnan Cancer Hospital & the Third Affiliated Hospital of Kunming Medical University & Yunnan Cancer Center, Kunming 650118, Yunnan, China

Corresponding author: Jiang Bo, E-mail: jiangruonin1973@163.com

This study was supported by grants from Yunnan Provincial Science and Technology Department (No. 2017FE467-186).

[Abstract] Biomarker is an indicator that can objectively measure and evaluate the biological characteristics of the body, reflect the effect of anti-tumor treatment, and guide the formulation of medication strategies. At present, the treatment of lung cancer has entered the era of immunotherapy represented by immune checkpoint inhibitor (ICI), but not all patients can benefit from ICI treatment. Biomarkers such as programmed death receptor ligand 1 and tumor mutation burden have been used to screen the benefit groups of ICI treatment, and good results have been achieved. However, the existing clinical biomarkers do not fully meet the purpose of screening benefit groups for guiding immunotherapy. In addition, most of the biomarkers used in clinical application are detected with tumor tissue, but the clinical application of histopathological biopsy has been limited for poor compliance, complex operation, tissue heterogeneity, and difficulty in dynamic detection. Peripheral blood, which is easily evaluated in real time, has great potential value as a biomarker carrier for tumor homology and ease operation. This review mainly introduces the research progress of blood biomarkers in lung cancer, and discusses the application of combined markers, in order to provide experience for guiding clinical immunotherapy by screening biomarkers.

[Key words] Immune checkpoint inhibitor; Biomarker; Peripheral blood; Lung cancer; Programmed death receptor ligand 1

[收稿日期] 2020-06-14 [修回日期] 2020-07-25

[基金项目] \* 云南省应用基础研究(编号:2017FE467-186)

[通讯作者] <sup>△</sup>江波, E-mail: jiangruonin1973@163.com

肺癌是全世界死亡率最高的恶性肿瘤<sup>[1]</sup>。晚期肺癌的治疗继化学治疗、分子靶向治疗之后,进入以免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitor, ICI)为代表的治疗时代。尽管 ICI 改变了肺癌患者

的治疗策略,但实际上获益人群仅占晚期非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)患者的20%左右<sup>[2]</sup>。生物标志物可以标记机体生理状态,常被用来评估 ICI 抗肿瘤治疗的效果并指导临床用药,但是,临床现有的生物标志物并不足以满足筛选 ICI 获益群体的需求,因此需要进一步探索更明确的生物标志物。另外,目前临床应用的生物标志物多是通过肿瘤组织进行检测,然而组织病理活检具有一定侵入性,限制了用于监测治疗反应和治疗耐药性研究所需的重复采样的可能;同时,由于肿瘤异质性的存在,可能会遗漏重要的特征。外周血液与肿瘤有同源的基因,能有效克服肿瘤异质性,较为完整地反映原发肿瘤的基因突变状态,其检测技术因其非侵入性、操作简便等特点可以实现肿瘤实时监测及预后判断,因此,其中可能存在潜在的生物标志物<sup>[3]</sup>。本文通过归纳整理存在于外周血液的生物标志物,包括程序性死亡受体配体 1(programmed cell death 1 ligand 1, PD-L1)、可溶性 PD-L1(soluble PD-L1, sPD-L1)、血浆肿瘤突变负荷(blood tumor mutation burden, bTMB)、微小核糖核酸(microRNA, miRNA)、突变基因、T 细胞受体(T cell receptor, TCR)库、外周血免疫效应标志物和外周血细胞计数,介绍上述标志物在肺癌中的研究进展并讨论联合标志物的应用,以期筛选血液生物标志物指导临床免疫治疗提供参考。

## 1 PD-L1

程序性死亡受体 1(programmed cell death protein 1, PD-1)主要由活化的 T 细胞表达,其配体 PD-L1 主要由肿瘤细胞表达,PD-L1 与 PD-1 的结合能诱导与维持外周 T 细胞的耐受,是肿瘤免疫逃避的关键机制<sup>[4]</sup>。多个指南推荐肿瘤组织 PD-L1 可以作为指导肺癌 ICI 治疗的生物标志物<sup>[5-8]</sup>,但是由于空间和时间异质性,局部肿瘤组织 PD-L1 的表达量不能完整反映肿瘤的状态<sup>[9-10]</sup>。

循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)随血液循环播散到全身,导致肿瘤的转移,因此比组织样本更容易检测到 PD-L1 的表达。有研究检测了 71 个晚期 NSCLC 患者配对的肺癌组织和 CTCs 样本中 PD-L1 的表达水平,两者一致性达 93%(CTCs 的敏感性为 55%,特异性为 100%),显示了通过 CTCs 监测 PD-L1 表达的可行性<sup>[11]</sup>。Tanizaki 等<sup>[12]</sup>收集晚期 NSCLC 患者使用 PD-1 抑制剂纳武单抗

(nivolumab)治疗前的外周血并分离 CTCs,结果显示,无进展生存期(progression-free survival, PFS) < 6 个月组的患者 CTCs 中 PD-L1 表达水平明显要高于 PFS > 6 个月组患者,反应了 CTCs 中 PD-L1 低表达水平对良好预后的评估作用。目前,经 CTCs 检测 PD-L1 的表达应用挑战较大,因精准富集一定数量的 CTCs 是必要条件,另外,由于缺乏规范的检测流程与质量标准,所以需要完善检测的重复性。

PD-L1 是 PD-1 主要的配体,部分以 sPD-L1 存在于血液中<sup>[13]</sup>。22 例使用 PD-1/PD-L1 抑制剂的患者的研究结果显示血液中 sPD-L1 的表达与肿瘤组织中 PD-L1 表达水平无相关性,sPD-L1 低水平组的患者总生存期(overall survival, OS)明显延长<sup>[14]</sup>。Okuma 等<sup>[15]</sup>检测 39 例使用 nivolumab 治疗的晚期 NSCLC 患者 sPD-L1 的表达水平,发现 sPD-L1 低表达组患者的 OS 高于高表达组( $P = 0.040$ ),客观缓解率(objective response rate, ORR)高于高表达组(59% vs 25%,  $P = 0.0069$ ),但该研究未评估血浆 sPD-L1 水平与肿瘤组织标本中 PD-L1 表达水平之间的相关性。Costantini 等<sup>[16]</sup>收集了 43 例 nivolumab 治疗前 NSCLC 患者的血浆,发现高水平 sPD-L1 的表达和低水平颗粒酶 B 的含量与不良的 PFS 和 OS 相关,该研究也显示 sPD-L1 的表达与相对应肿瘤组织标本中 PD-L1 的表达水平无关。上述研究均提示血浆 sPD-L1 的低水平表达可能是晚期 NSCLC 患者免疫治疗的独立预后因素。sPD-L1 可简便易行地判断临床预后,但在其功能和释放机制上仍有争议,即血浆 sPD-L1 水平可能代表肿瘤组织中固有 T 细胞反应的程度或由 PD-1 / PD-L1 免疫检查点机制介导免疫抑制的程度;另外,目前尚无标准化的 sPD-L1 检测方法,就目前研究中使用的几种 ELISA 试剂盒,其阈值不同,评判标准也不统一。总之,sPD-L1 作为潜在的免疫治疗生物标志物在未来仍需要进一步的研究。

## 2 bTMB

肿瘤突变负荷(tumor mutation burden, TMB)是指每百万碱基中检测出的体细胞基因编码错误、碱基替换、基因插入或缺失错误的总数。理论上 TMB 越高,新的肿瘤相关抗原越多,刺激产生免疫应答的可能性越大,治疗效果就越好。关于 NSCLC 的治疗,美国国立综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)指南推荐行免疫治疗的患

者检测 TMB<sup>[17]</sup>,然而,TMB 的检测却受限于肿瘤组织的获取,研究发现可以通过存在于血液中的循环肿瘤 DNA (circulating tumor DNA, ctDNA) 检测 TMB,即 bTMB<sup>[18]</sup>。

Gandara 等<sup>[19]</sup>对两项大型临床研究中 NSCLC 患者血浆样本的 bTMB 进行回顾性分析,发现 bTMB 和组织 TMB (tissue TMB, tTMB) 的阳性一致率为 64%,阴性一致率为 88%,且 bTMB 的含量与 PD-L1 表达水平无关,在 PD-L1 高表达且 bTMB  $\geq 16$  的患者中,PFS 有明显延长 ( $HR = 0.38$ ),该研究也提示多种生物标志物的组合比任何单一生物标志物能更好地预测治疗效果。Chen 等<sup>[20]</sup>收集 PD-1 抑制剂帕博利珠单抗 (pembrolizumab) 治疗的 8 例 NSCLC 患者的肿瘤组织及 ctDNA 同时检测 TMB,结果也高度一致。Wang 等<sup>[21]</sup>使用下一代测序 (next generation sequencing, NGS) 肿瘤基因板评估了 NSCLC 患者的 bTMB,发现 bTMB  $> 6$  的患者 PFS 更长 ( $HR = 0.39, P = 0.01$ )。这些研究显示了 bTMB 与 tTMB 的良好相关性,且有助于预测高 bTMB 患者对 ICI 的反应,但这些方法仍存在一些局限性。首先,不同的检测平台及检测方法使 ctDNA 的检测结果参差不齐,其次,目前用于确定 bTMB 的基因面板使用不同的序列和阈值,导致研究结果各不相同,所以,bTMB 的准确性仍需大型 III 期临床研究进行验证。

### 3 循环 miRNA

miRNA 通过多种方式调控基因表达,对肿瘤的生长、进展、转移和耐药性等每一个标志性事件都有非常重要的作用,体液和组织中的 miRNA 表达水平一致,且 miRNA 与肿瘤的分期及基因突变无关<sup>[22]</sup>,循环 miRNA 能稳定存在于血清及血浆中,因此引起了广泛的关注。

miR-215 具有抑癌作用<sup>[23]</sup>,一项回顾性研究<sup>[24]</sup>对接受 nivolumab 治疗的晚期 NSCLC 患者血清行 miRNA 分析,结果表明七个 miRNA (miR-215-5p、miR-411-3p、miR-493-5p、miR-494-3p、miR-495-3p、miR-548j-5p 和 miR-93-3p) 与患者 OS  $> 6$  个月显著相关。Boeri 等<sup>[25]</sup>检测接受 ICI 治疗的 NSCLC 患者组织 PD-L1 的表达水平及计算由 24 种 miRNA 组成的血浆 miRNA 特征分类器 (miRNA-signature classifier, MSC) 的水平,发现 MSC 水平与患者 ORR ( $P = 0.0009$ ) 相关,MSC 水平联合 PD-L1 表达水平则与患者 PFS ( $P = 0.0001$ ) 和 OS ( $P = 0.0002$ ) 相关,表

明了血浆 MSC 水平联合肿瘤组织 PD-L1 的表达量,可以预测免疫治疗方案中 ORR、PFS 和 OS 较差的晚期肺癌患者。目前关于循环 miRNA 对 ICI 疗效预测的相关报道多是回顾性或小样本研究,需要更大型的独立验证队列进行前瞻性评估。循环 miRNA 检测的局限性在于检测方法对溶血敏感性的限制,另外,用于定量检测的基因选择上也不一致。

### 4 突变基因

肿瘤驱动基因通路和 PD-1/PD-L1 通路可能存在相互影响,研究显示表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)、间变性淋巴瘤激酶等驱动基因突变患者接受免疫治疗具有更低的 ORR<sup>[26]</sup>,因此 ICI 治疗需除外此类基因突变的患者。临床中突变基因在肺癌组织中的受检率并不高,通过血液学检测突变基因已在多项研究中得到证实<sup>[27-28]</sup>,中国临床肿瘤学会 (Chinese Society of Clinical Oncology, CSCO) 指南也表示可通过外周血中的游离/循环肿瘤 DNA (cf/ctDNA) 进行 EGFR 突变检测<sup>[29]</sup>。有研究收集晚期 NSCLC 患者的 ctDNA 行 NGS,13 例基线检测到 KRAS 转化或 TP53 转化的患者显示出 nivolumab 治疗的临床获益,继续治疗直至疾病进展的病例中有 8 例患者 STK11 突变与 TP53 转化并存或 STK11 突变与 KRAS 转化并存,提示 STK11 突变是原发耐药驱动因素<sup>[30]</sup>。但目前关于免疫治疗疗效和突变基因在肺癌中的研究较少,没有确切证据证明有特定的癌基因与免疫治疗疗效有独立相关性。

### 5 TCR 库

ICI 可能在一定程度上影响和改变了机体免疫系统对抗肿瘤的能力,针对癌细胞的宿主免疫应答的激活包括通过克隆增殖性 TCR 识别新抗原<sup>[31]</sup>,因此基于 TCR 的生物标记可能会预测肿瘤对 ICI 的反应。之前有研究报道<sup>[32-33]</sup>抗 PD-1 治疗后外周血 PD-1<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T 细胞的早期增殖与临床获益相关。因此,Han 等<sup>[34]</sup>收集接受 ICI 治疗的 NSCLC 患者的外周血样本,对从 PD-1<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T 细胞分离的 TCR 进行了测序,结果显示外周血 PD-1<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> TCR 的多样性可以预测抗 PD-1/PD-L1 治疗的临床获益。这些结果表明,外周血 PD-1<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> TCR 可能是 ICI 的疗效预测标志物,但此研究没有配对血液及肿瘤组织样本,不能更有力地说明结论,且样本量小,需要更大

的队列研究证实。TCR 测序预测免疫治疗疗效的潜在价值很高,但检测时机及检测方法仍是目前研究所要探寻的问题。

## 6 免疫效应标志物

癌细胞通过生长因子、趋化因子、白介素及其自身受体的复杂网络与微环境进行通讯,PD-1/PD-L1 免疫治疗解除免疫抑制,下游一系列炎症因子,如 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6 和 IL-8 等也可能发生相应的变化。所以,炎症因子可能是预测免疫治疗疗效的标志物。研究检测接受免疫药物治疗(pembrolizumab 或 nivolumab)的 NSCLC 患者诊断时和治疗开始后 3 个月时的细胞因子(IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6 和 IL-8)数值,结果显示细胞因子数值的增加与患者 OS 的延长明显相关<sup>[35]</sup>。但此研究中,样本较少,有一些患者在接受抗 PD-1 抑制剂治疗之前接受一线化疗,在二线使用 PD-1 抑制剂的背景下,常规化疗对细胞因子水平的影响仍然不明确。另有研究<sup>[36]</sup>示使用 nivolumab 或 pembrolizumab 的 NSCLC 患者治疗 1 周内血清 IL-6 和 C-反应蛋白升高组的治疗有效率显著高于未升高组。上述研究均提示了免疫效应标志物与免疫治疗疗效相关,然而在研究时应排除并发炎症引起的假象的可能性,可考虑与炎症指标相结合,以区分与癌症进展相关的效应标志物的升高以及可能由炎性疾病(如并发感染或自身免疫不良事件)引起的升高。目前关于外周血细胞因子研究较多,但还没有定论。

## 7 血细胞计数

炎症细胞可促进肿瘤发展,故监测外周血细胞是值得研究的领域,全血细胞计数是最常见的实验室检测。一项使用 nivolumab 的晚期 NSCLC 患者的回顾性研究<sup>[12]</sup>表明,低水平中性粒细胞绝对计数(absolute neutrophil count, ANC)、高水平淋巴细胞绝对计数(absolute lymphocytes count, ALC)和高水平嗜酸性粒细胞绝对计数(absolute eosinophil count, AEC)的患者有较长的 PFS 及 OS。该研究的局限性在于未设置未接受 nivolumab 治疗的患者,无法确定 ANC, ALC 和 AEC 是对 nivolumab 反应的一般预后标志物还是预测标志物。一项荟萃分析评估了 1 700 名用 PD-1 / PD-L1 抑制剂治疗的 NSCLC 患者血液中性粒细胞与淋巴细胞比值(neutrophil-to-lymphocyte ratio, NLR)的预测和预后价值,表明接受

PD-1 / PD-L1 抑制剂治疗的 NSCLC 患者血液 NLR 升高与 PFS 和 OS 缩短相关<sup>[37]</sup>。Kim 等<sup>[33]</sup>测量 ICI 治疗后 7 天的患者外周血 PD-1<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T 细胞中 Ki-67 阳性细胞百分比,发现高比例的 Ki-67 阳性细胞有持久的临床获益。但外周血细胞计数容易受外界的干扰,筛选特异的细胞有助于提高预测的可靠性。

## 8 联合检测的意义及必要性

从目前临床应用结果看来,单一标志物的应用并不理想,多因素联合预测是未来研究的方向。有研究根据 PD-L1 与肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte, TIL)的表达将肺癌患者分为四型:I型(TIL<sup>+</sup>/PD-L1<sup>+</sup>)、II型(TIL<sup>-</sup>/PD-L1<sup>-</sup>)、III型(TIL<sup>+</sup>/PD-L1<sup>-</sup>)、IV型(TIL<sup>-</sup>/PD-L1<sup>+</sup>),并评估上述四分法对接受 ICI 治疗的 NSCLC 患者的预测作用,I、II、III和IV型患者的 OS 分别为 35.3 个月、36.9 个月、未达到中位 OS 和 13.9 个月( $P=0.11$ ),结果表明 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞高的患者有较长的 PFS 和 OS<sup>[38]</sup>。Park 等<sup>[39]</sup>将患者的性别、ECOG 评分、NLR、DNLR 设计成 ISEND 计算模型,用 nivolumab 进行治疗,发现评分好的患者 PFS 明显延长(17.4 月 vs 5.1 月,  $HR=0.32$ ,  $P<0.001$ )。以上研究均提示多因素联合预测的意义重大,未来应综合多维度特征,构建复合变量的预测模型是很有发展前景的。

## 9 总结及展望

综上,血液学标志物能极大地补充生物标志物筛选 ICI 获益群体的需要,然而现阶段血液学标志物的应用还存在局限性,血液采样和分析之间的时间应尽可能缩短,在低肿瘤负荷患者中,其血液中的生物标志物含量很低,这对检测技术的灵敏度要求很高。另外,目前免疫联合治疗优势越来越明显,那么,联合治疗模式下生物标志物的选择又可能不同,当前多是免疫单药治疗的相关研究,为此,未来应利用大数据进行更深地挖掘,单独或组合测试不同的生物标志物,统一化标志物检测技术,确定阈值,建立综合模型来预测治疗敏感性,开展大型的前瞻性临床试验进行验证。

**作者声明:**本文全部作者对于研究和撰写的论文出现的不端行为承担相应责任;并承诺论文中涉及的原始图片、数据资料等已按照有关规定保存,可

接受核查。

**学术不端:** 本文在初审、返修及出版前均通过中国知网(CNKI)科技期刊学术不端文献检测系统的学术不端检测。

**同行评议:** 经同行专家双盲外审,达到刊发要求。

**利益冲突:** 所有作者均声明不存在利益冲突。

**文章版权:** 本文出版前已与全体作者签署了论文授权书等协议。

[参考文献]

[1] The Lancet T. Globocan 2018: Counting the toll of cancer[J]. Lancet, 2018,392(10152):985.

[2] Remon J, Chaput N, Planchard D. Predictive biomarkers for programmed death-1/programmed death ligand immune checkpoint inhibitors in nonsmall cell lung cancer[J]. Curr Opin Oncol, 2016,28(2):122-129.

[3] Friedrich MJ. Going with the flow: The promise and challenge of liquid biopsies[J]. JAMA, 2017,318(12):1095-1097.

[4] Sharma P, Hu-Lieskovan S, Wargo JA, et al. Primary, adaptive, and acquired resistance to cancer immunotherapy [J]. Cell, 2017,168(4):707-723.

[5] Reck M, Rodriguez-Abreu D, Robinson AG, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for PD-L1-positive non-small-cell lung cancer[J]. N Engl J Med, 2016,375(19):1823-1833.

[6] Mok T, Wu YL, Kudaba I, et al. 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[J]. Lancet, 2019,393(10183):1819-1830.

[7] Paz-Ares L, Vicente D, Tafreshi A, et al. A randomized, placebo-controlled trial of pembrolizumab plus chemotherapy in patients with metastatic squamous NSCLC: Protocol-specified final analysis of Keynote-407[J]. J Thorac Oncol, 2020,15(10):1657-1669.

[8] Gandhi L, Rodríguez-Abreu D, Gadgeel S, et al. Pembrolizumab plus chemotherapy in metastatic non-small-cell lung cancer[J]. N Engl J Med, 2018,378(22):2078-2092.

[9] Ilie M, Long-Mira E, Bence C, et al. Comparative study of the PD-L1 status between surgically resected specimens and matched biopsies of NSCLC patients reveal major discordances; A potential issue for anti-PD-L1 therapeutic strategies[J]. Ann Oncol, 2016,27(1):147-153.

[10] Liu YW, Dong ZW, Jiang T, et al. Heterogeneity of PD-L1 expression among the different histological components and metastatic lymph nodes in patients with resected lung adenocarcinoma[J]. Clin Lung Cancer, 2018,19(4):e421-e430.

[11] Ilie M, Szafer-Glusman E, Hofman V, et al. Detection of PD-L1 in circulating tumor cells and white blood cells from patients with

advanced non-small-cell lung cancer[J]. Ann Oncol, 2018,29(1):193-199.

[12] Tanizaki J, Haratani K, Hayashi H, et al. Peripheral blood biomarkers associated with clinical outcome in non-small cell lung cancer patients treated with nivolumab [J]. J Thoracic Oncol, 2018,13(1):97-105.

[13] 冀玉珍, 刘晓良, 侯森. 可溶性程序性死亡分子配体 1 在肺癌胸腔积液中的水平及临床意义[J]. 检验医学, 2017,32(2):99-103.

[14] Joaquín AB, Atenza CZ, Alcorisa SV, et al. PI.07-028 Determination of soluble PD-L1 as a potential biomarker for anti-PD(L)1 therapy in non-small cell lung cancer (NSCLC) [J]. J Thoracic Oncol, 2017,12(11):2006-2007.

[15] Okuma Y, Hosomi Y, Nakahara Y, et al. High plasma levels of soluble programmed cell death ligand 1 are prognostic for reduced survival in advanced lung cancer[J]. Lung Cancer, 2017,104:1-6.

[16] Costantini A, Julie C, Dumenil C, et al. Predictive role of plasma biomarkers in advanced non-small cell lung cancer treated by nivolumab[J]. Oncoimmunology, 2018,7(8):e1452581.

[17] 曾大雄, 黄建安. 美国国家综合癌症网络非小细胞肺癌指南 2019 V1 版更新要点解读[J]. 世界临床药物, 2019,40(1):1-5.

[18] Cabel L, Proudhon C, Romano E, et al. Clinical potential of circulating tumour DNA in patients receiving anticancer immunotherapy[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2018,15(10):639-650.

[19] Gandara DR, Paul SM, Kowanz 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.

[20] Chen L. PI. 07-026 Predicting tumor mutational burden (tmb) and tumor neoantigen burden (tnb) of east asian anscle patients by a targeted genomic profiling[J]. J Thoracic Oncol, 2017,12(11, S2):S2006.

[21] Wang ZJ, Duan JC, Cai SL, et al. Assessment of blood tumor mutational burden as a potential biomarker for immunotherapy in patients with non-small cell lung cancer with use of a next-generation sequencing cancer gene panel[J]. JAMA Oncol, 2019,5(5):696-702.

[22] Verri C, Borzi C, Holscher T, et al. Mutational profile from targeted ngs predicts survival in ldct screening-detected lung cancers [J]. J Thorac Oncol, 2017,12(6):922-931.

[23] Hou Y, Zhen JW, Xu XD, et al. miR-215 functions as a tumor suppressor and directly targets ZEB2 in human non-small cell lung cancer[J]. Oncol Lett, 2015,10(4):1985-1992.

[24] Halvorsen AR, Sandhu V, Sprauten M, et al. Circulating microRNAs associated with prolonged overall survival in lung cancer patients treated with nivolumab[J]. Acta Oncol, 2018,57(9):1225-1231.

[25] Boeri M, Milione M, Proto C, et al. Circulating miRNAs and PD-L1 tumor expression are associated with survival in advanced

- NSCLC patients treated with immunotherapy: A prospective study [J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(7):2166-2173.
- [26] Gainor JF, Shaw AT, Sequist LV, *et al.* EGFR mutations and ALK rearrangements are associated with low response rates to PD-1 pathway blockade in non-small cell lung cancer: A retrospective analysis[J]. *Clinical Cancer Res*, 2016, 22(18):4585-4593.
- [27] Mok T, Wu YL, Lee JS, *et al.* Detection and dynamic changes of EGFR mutations from circulating tumor DNA as a predictor of survival outcomes in NSCLC patients treated with first-line intercalated erlotinib and chemotherapy[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(14):3196-3203.
- [28] Douillard JY, Ostoros G, Cobo M, *et al.* Gefitinib treatment in EGFR mutated caucasian NSCLC: Circulating-free tumor DNA as a surrogate for determination of EGFR status[J]. *J Thorac Oncol*, 2014, 9(9):1345-1353.
- [29] 陈炎, 陈亚蓓, 陶荣芳. 《CSCO 原发性肺癌诊疗指南 2016》非小细胞肺癌治疗内容介绍[J]. *中国实用内科杂志*, 2017, 37(S1):35-37.
- [30] Guibert N, Jones G, Beeler J F, *et al.* Early prediction of outcomes to PD1 inhibitors in non-small cell lung cancer (NSCLC) using next generation sequencing (NGS) of plasma circulating tumor DNA (ctDNA)[J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(s15):9078.
- [31] Riaz N, Havel JJ, Makarov V, *et al.* Tumor and microenvironment evolution during immunotherapy with nivolumab[J]. *Cell*, 2017, 171(4):934-949.
- [32] Kamphorst AO, Pillai RN, Yang S, *et al.* Proliferation of PD-1 + CD8 T cells in peripheral blood after PD-1 - targeted therapy in lung cancer patients [J]. *Proc Nat Acad Sci USA*, 2017, 114(19):4993-4998.
- [33] Kim KH, Cho J, Ku BM, *et al.* The first-week proliferative response of peripheral blood PD-1 (+) CD8 (+) T cells predicts the response to anti-PD-1 therapy in solid tumors[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(7):2144-2154.
- [34] Han JF, Duan JC, 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.
- [35] Boutsikou E, Domvri K, Hardavella G, *et al.* Tumour necrosis factor, interferon-gamma and interleukins as predictive markers of anti-programmed cell-death protein-1 treatment in advanced non-small cell lung cancer: A pragmatic approach in clinical practice [J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2018, 10(14):1758835918768238.
- [36] Ozawa Y, Amano Y, Koyachi T, *et al.* P2.07-022 Inflammatory cytokine induction after anti-PD-1 Ab administration relates to the efficacy and safety in patients with non-small cell lung cancer [J]. *J Thoracic Oncol*, 2017, 12(11):2423-2424.
- [37] Jiang T, Bai YC, Zhou F, *et al.* Clinical value of neutrophil-to-lymphocyte ratio in patients with non-small-cell lung cancer treated with PD-1/PD-L1 inhibitors[J]. *Lung Cancer*, 2019, 130(19):76-83.
- [38] Tokito T, Azuma K, Kawahara A, *et al.* Predictive relevance of PD-L1 expression combined with CD8 + TIL density in stage III non-small cell lung cancer patients receiving concurrent chemoradiotherapy[J]. *Eur J Cancer*, 2016, 55:7-14.
- [39] Park W, Lopes G, Kwon D, *et al.* P1.07-025 Correlating ISEN and tumor mutation burden (TMB) with clinical outcomes of advanced non-small cell lung cancer (ANSCLC) patients on nivolumab[J]. *J Thorac Oncol*, 2017, 12(11S2):S2005-S2006.