

• 论 著 •

可溶性程序性死亡受体-1、可溶性程序性死亡配体-1 和 γ -干扰素 在晚期肿瘤患者血清中的表达特征和临床意义*

孔评石¹, 陈美云², 滕凤猛^{3△}

江苏省第二中医院:1. 检验科;2. 肿瘤科, 江苏南京 210017;3. 南京中医药大学

附属医院/江苏省中医院检验科, 江苏南京 210004

摘要:目的 探讨可溶性程序性死亡受体-1(sPD-1)、可溶性程序性死亡配体-1(sPD-L1)和 γ -干扰素(IFN- γ) 在晚期肿瘤患者血清中的表达特征及其临床意义。方法 检测晚期肺癌患者(肺癌组)和消化道肿瘤患者(消化道肿瘤组)血清免疫标志物 sPD-1、sPD-L1、IFN- γ 和肿瘤标志物甲胎蛋白(AFP)、癌胚抗原(CEA)、糖类抗原 125(CA125)、糖类抗原 153(CA153)、糖类抗原 199(CA199)、糖类抗原 724(CA724)、细胞角蛋白 19 片段(Cyfra211)、神经元特异性烯醇化酶(NSE)的水平, 分析其与健康人(体检组)和肺炎患者(肺炎组)间的差异;分析肿瘤患者 IFN- γ 及上述肿瘤标志物对 sPD-1、sPD-L1 的影响;分析 sPD-1 与 sPD-L1, sPD-L1 与 IFN- γ 的相关性。结果 消化道肿瘤组和肺癌组 CEA 水平高于肺炎组和体检组($P < 0.01$);消化道肿瘤组 CA125 水平高于肺炎组($P < 0.05$);肺癌组 CA153 水平高于肺炎组($P < 0.05$);消化道肿瘤组 CA199 水平高于体检组($P < 0.01$);消化道肿瘤组 CA724 水平高于肺炎组($P < 0.05$);肺癌组、消化道肿瘤组 Cyfra211 水平高于体检组和肺炎组($P < 0.01$);肺癌组 NSE 水平高于体检组($P < 0.05$);肿瘤患者 sPD-1 和 sPD-L1 水平相对肺炎患者和体检者有升高趋势, 其中消化道肿瘤组 sPD-1 水平高于体检组($P < 0.05$);消化道肿瘤组 sPD-L1/IFN- γ 高于肺炎组($P < 0.01$)。不同水平 IFN- γ 的患者其 sPD-1 和 sPD-L1 分布差异有统计学意义($P < 0.01$);sPD-1 与 sPD-L1 在肺癌患者、消化道肿瘤患者和全部肿瘤患者中均呈正相关($r = 0.688, 0.594, 0.550, P < 0.05$);在肺炎患者中 IFN- γ 与 sPD-L1 呈正相关($r = 0.547, P < 0.05$)。结论 sPD-1 与 sPD-L1 在晚期肿瘤患者外周循环中整体呈高表达并且具有同步变化趋势;IFN- γ 水平会影响 sPD-1 和 sPD-L1 的分布, sPD-1、sPD-L1 和 IFN- γ 的表达特征对反映晚期肿瘤的免疫状态具有重要参考价值, 在肿瘤的临床诊疗中具有潜在的生物标志物价值。

关键词:免疫检查点; 可溶性程序性死亡受体-1; 可溶性程序性死亡配体-1; γ -干扰素; 肿瘤标志物

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2021.22.001

中图法分类号: R730.3

文章编号: 1673-4130(2021)22-2689-06

文献标志码: A

Expression characteristics and clinical significance of soluble programmed death receptor-1, soluble programmed death ligand-1 and interferon- γ in serum of patients with advanced tumors*

KONG Pingshi¹, CHEN Meiyun², TENG Fengmeng^{3△}

1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Oncology, the Second Traditional Chinese Medicine Hospital of Jiangsu, Nanjing, Jiangsu 210017, China; 3. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of NanJing University of Chinese Medicine/ Jiangsu Province Hospital of Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu 210004, China

Abstract: Objective To investigate the expression and clinical significance of soluble programmed death-1 (sPD-1), soluble programmed death ligand-1 (sPD-L1) and interferon- γ (IFN- γ) in serum of patients with advanced cancer. **Methods** The serum levels of sPD-1, sPD-L1, IFN- γ and tumor markers such as alpha fetoprotein (AFP), carcinoembryonic antigen (CEA), carbohydrate antigen (CA)125, CA153, CA199, CA724, cytokeratin 19 fragments (Cyfra211) and neuron specific enolase (NSE) were detected in patients with advanced lung cancer (lung cancer group) and gastrointestinal cancer (gastrointestinal cancer group), the differences between them and healthy persons (physical examination group) and pneumonia patients (pneumonia group) were analyzed; the effects of IFN- γ and above tumor markers on sPD-1 and sPD-L1 in tumor patients

* 基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(81503299)。

作者简介: 孔评石, 男, 副主任技师, 主要从事感染免疫和肿瘤免疫相关研究。△ 通信作者, E-mail: landsky0330@163.com。

本文引用格式: 孔评石, 陈美云, 滕凤猛. 可溶性程序性死亡受体-1、可溶性程序性死亡配体-1 和 γ -干扰素在晚期肿瘤患者血清中的表达特征和临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(22): 2689-2694.

were analyzed; the correlation between sPD-1 and sPD-L1, sPD-L1 and IFN- γ was analyzed. **Results** The level of CEA in gastrointestinal tumor group and lung cancer group was higher than that in pneumonia group and physical examination group ($P < 0.01$). The level of CA125 in gastrointestinal tumor group was higher than that in pneumonia group ($P < 0.05$). The level of CA153 in lung cancer group was higher than that in pneumonia group ($P < 0.05$). The level of CA199 in gastrointestinal tumor group was higher than that in physical examination group ($P < 0.01$). The level of CA724 in gastrointestinal tumor group was higher than that in pneumonia group ($P < 0.05$). The level of Cyfra211 in lung cancer group and gastrointestinal tumor group was higher than that in physical examination group and pneumonia group ($P < 0.01$). The level of NSE in lung cancer group was higher than that in physical examination group ($P < 0.05$). The levels of sPD-1 and sPD-L1 in tumor patients were higher than those in pneumonia patients and physical examination people, and the level of sPD-1 in gastrointestinal tumor group were higher than that in physical examination group ($P < 0.05$). The sPD-L1/IFN- γ in gastrointestinal tumor group was higher than that in pneumonia group ($P < 0.01$). The distribution of sPD-1 and sPD-L1 was significantly different in patients with different IFN- γ levels ($P < 0.01$). There was a positive correlation between SPD-1 and SPD-L1 in lung cancer patients, gastrointestinal tumor patients and all tumor patients ($r = 0.688, 0.594, 0.550, P < 0.05$). IFN- γ was positively correlated with sPD-L1 in patients with pneumonia ($r = 0.547, P < 0.05$). **Conclusion** The expression of sPD-1 and sPD-L1 in the peripheral circulation of patients with advanced cancer is high and has a synchronous trend. The distribution of sPD-1 and sPD-L1 is affected by the level of IFN- γ . The expression characteristics of sPD-1, sPD-L1 and IFN- γ have important reference value for reflecting the immune status of advanced tumors, and have potential value as biomarkers for clinical diagnosis and treatment of tumors.

Key words: immune checkpoint; soluble programmed death-1; soluble programmed death ligand-1; interferon- γ ; tumor marker

随着近年来免疫检查点抑制剂(ICB)疗法在肿瘤治疗中取得的巨大进步,程序性死亡受体-1(PD-1)和程序性死亡配体-1(PD-L1)等免疫检查点分子的表达特征在临床治疗中的预测价值备受关注,病理组织中PD-1和PD-L1的表达水平联合其他指标的预测模式正在逐步建立。可溶性程序性死亡受体-1(sPD-1)和可溶性程序性死亡配体-1(sPD-L1)是PD-1和PD-L1的可溶性形式,与细胞膜型分子联系密切,在免疫平衡中发挥重要作用,对判断机体免疫状态、预测免疫治疗疗效和肿瘤转归具有潜在的重要价值,并且因PD-1/PD-L1通路在免疫检查点相关的免疫抑制中的关键性和广泛性作用而越发受到关注;然而sPD-1和sPD-L1在外周循环中的表达特征和表达水平仍缺乏更广泛的数据支持,国内的研究也相对较少。 γ -干扰素(IFN- γ)在调控PD-L1中具有重要作用,有研究发现,IFN- γ 联合PD-L1能够对肿瘤微环境的不同免疫特征进行有效划分,并具有一定的治疗预测价值^[1],然而二者在外周血中同步观察的数据较少。本研究拟以健康人和良性疾病患者为对照,对晚期恶性实体肿瘤(包括肺癌和消化道肿瘤)患者血清sPD-1和sPD-L1的水平进行检测,同时分析其与IFN- γ 及传统肿瘤标志物表达水平的相关性,旨在对肿瘤免疫中外周血可溶性免疫检查点分子的表达特征和临床意义进行初步探讨。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究纳入 2020 年 5—7 月江苏省

第二中医院(简称本院)肿瘤科收治的非小细胞肺癌(NSCLC)患者 21 例(肺癌组),男 13 例,女 8 例,年龄 55~80 岁,平均(67.1 $\pm$ 6.7)岁;消化道肿瘤患者 13 例(消化道肿瘤组),男 8 例,女 5 例,年龄 58~82 岁,平均(67.8 $\pm$ 7.0)岁,包括胃癌 3 例,胰腺癌 2 例,食管癌 2 例,结肠癌 6 例。纳入病例均经过病理检查或细胞学检查确诊,既往进行过化疗且未进行过免疫治疗,TNM 分期为Ⅲb~Ⅳ期,分别符合《原发性肺癌诊疗规范(2018 版)》《食管癌诊疗规范(2018 版)》《胃癌诊疗规范(2018 版)》《胰腺癌诊疗规范(2018 版)》《中国结直肠癌诊疗规范(2017 版)》的诊断标准。另选取同期本院呼吸科住院的肺部良性疾病患者 16 例(肺炎组)及体检健康者 12 例(体检组)作为对照,肺炎组男 9 例,女 7 例,年龄 51~77 岁,平均(64.8 $\pm$ 8.3)岁;体检组男 6 例,女 6 例,年龄 40~74 岁,平均(54.7 $\pm$ 12.3)岁。各组人群性别及年龄比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。排除自身免疫性疾病和结核、梅毒、病毒性肝炎等传染性疾病及器官功能严重受损者。

1.2 方法 受试者常规空腹抽取静脉血,离心分离血清。甲胎蛋白(AFP)、癌胚抗原(CEA)、糖类抗原 125(CA125)、糖类抗原 153(CA153)、糖类抗原 199(CA199)、糖类抗原 724(CA724)、细胞角蛋白 19 片段(Cyfra211)、神经元特异性烯醇化酶(NSE)采用全自动化学发光检测;sPD-1、sPD-L1和IFN- γ 检测分别按酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒说明书操作,

检测信号波长:450 nm, 矫正波长:570 nm; 采用双抗体夹心法, 标准曲线采用四参数拟合。上述肿瘤标志物采用 Roche 公司 Cobas e602 电化学发光分析仪和配套 Elecsys 试剂检测; 免疫标志物 sPD-1、sPD-L1 和 IFN- γ 采 Thermo 公司 Multiskan FC 酶标仪检测, 试剂盒为上海爱必信公司产品。

1.3 统计学处理 采用 IBM SPSS19.0 统计软件进行数据分析。计数资料以例数或百分率表示, 组间比较采用 χ^2 检验; 符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 不符合正态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示, 差异性比较采用非参数检验, 多组间比较用 Kruskal-Wallis H 检验。相关性分析采用 Spearman 相关。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

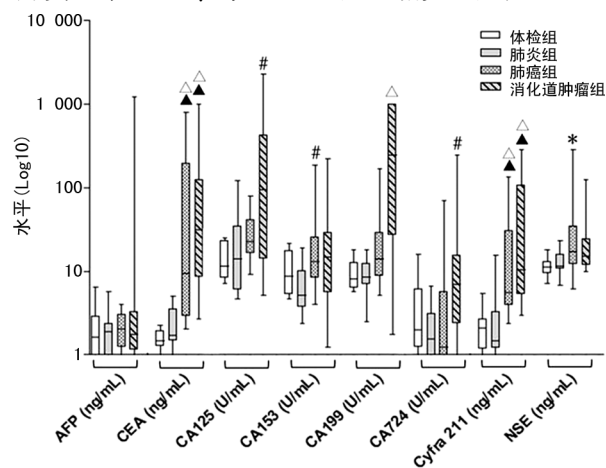
2 结果

2.1 各组肿瘤标志物水平比较 消化道肿瘤组 CEA 为 18.35 (6.12, 112.05) ng/mL, 肺癌组 CEA 为 9.46 (2.89, 194.65) ng/mL, 均高于肺炎组的 1.73 (1.48, 3.56) ng/mL 和体检组的 1.46 (1.27, 1.92) ng/mL ($P < 0.01$); 消化道肿瘤组 CA125 为 95.15 (14.17, 424.15) U/mL, 高于肺炎组的 14.11 (5.96, 34.56) U/mL ($P < 0.05$); 肺癌组 CA153 为 13.17 (8.27, 25.58) U/mL, 高于肺炎组的 5.18 (3.74, 10.24) U/mL ($P < 0.05$); 消化道肿瘤组 CA199 为 244.30 (26.99, 1 000.00) U/mL, 高于体检组的 8.05 (6.35, 12.82) U/mL ($P < 0.01$); 消化道肿瘤组 CA724 为 7.03 (2.38, 15.56) U/mL, 高于肺炎组的 1.54 (0.77, 3.11) U/mL ($P < 0.05$); 肺癌组 Cyfra211 为 5.54 (3.94, 30.40) ng/mL, 消化道肿瘤组 Cyfra211 为 10.40 (5.27, 108.65) ng/mL, 均高于体检组的 2.09 (1.17, 2.72) ng/mL 和肺炎组的 1.47 (1.20, 3.62) ng/mL ($P < 0.01$); 肺癌组 NSE 为 17.10 (12.01, 34.87) ng/mL, 高于体检组的 11.14 (9.41, 12.99) ng/mL ($P < 0.05$)。见图 1。

2.2 各组免疫指标水平比较 肿瘤患者的 sPD-1 和 sPD-L1 水平有升高的趋势, 其中消化道肿瘤组 sPD-1 为 480.51 (235.34, 4 745.00) pg/mL, 显著高于体检组的 182.13 (104.79, 320.37) pg/mL ($P < 0.05$), sPD-L1/IFN- γ 为 27.32 (5.15, 194.01), 高于肺炎组的 5.39 (2.99, 7.48) ($P < 0.01$); 各组 IFN- γ 水平比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 2。

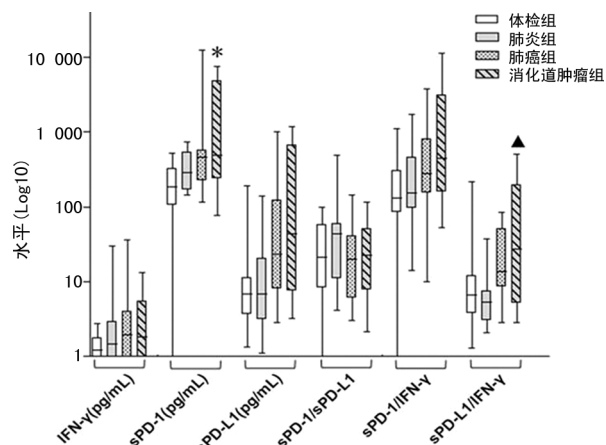
2.3 不同水平肿瘤标志物和 IFN- γ 对 sPD-1、sPD-L1 的影响 34 例肿瘤患者并非进行所有肿瘤标志物和免疫标志物的检测, 其中 CA125/CA153/CA724/Cyfra211 各有 2 例患者未做检测因而未纳入统计。以肿瘤患者各项肿瘤标志物和 IFN- γ 水平中位数作为界值将其分为高水平 and 低水平, 分析同水平肿瘤标志物和 IFN- γ 对 sPD-1 和 sPD-L1 表达高低的影响, 结果显示仅 IFN- γ 水平对 sPD-1 和 sPD-L1 水平有影响 ($P < 0.01$)。见表 1。

2.4 各项免疫指标的相关性分析 在肺癌组、消化道肿瘤组及所有肿瘤患者中, sPD-1 和 sPD-L1 呈正相关; 在肺炎组中, IFN- γ 与 sPD-L1 呈正相关。见图 3。



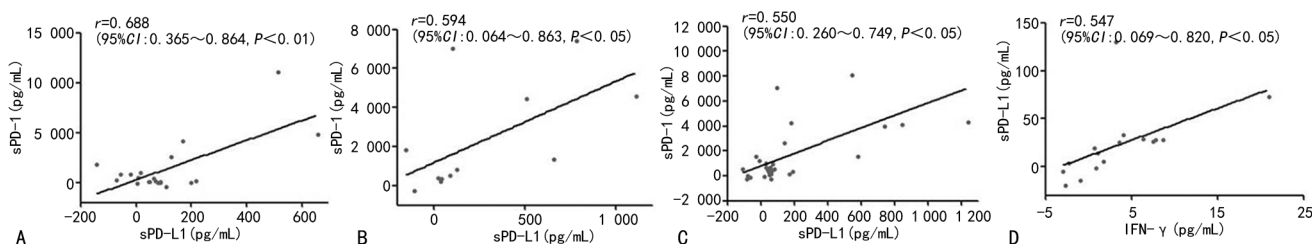
注:与体检组比较, $\Delta P < 0.01$; 与肺炎组比较, $\blacktriangle P < 0.01$; 与体检组比较, $* P < 0.05$; 与肺炎组比较, $\# P < 0.05$ 。

图 1 各组肿瘤标志物水平比较



注:与体检组比较, $* P < 0.05$; 与肺炎组比较, $\blacktriangle P < 0.01$ 。

图 2 各组免疫指标水平比较



注: A 为肺癌组; B 为消化道肿瘤组; C 为肺癌组+消化道肿瘤组; D 为肺炎组。

图 3 各项免疫指标的相关性分析

表 1 不同水平肿瘤标志物和 IFN- γ 对 sPD-1、sPD-L1 的影响(n)

变量	<i>n</i>	sPD-1		χ^2	<i>P</i>	<i>n</i>	sPD-L1		χ^2	<i>P</i>
		低水平	高水平				低水平	高水平		
AFP										
低水平	17	11	6	2.94	0.09	17	9	8	0.00	1.00
高水平	17	6	11			17	8	9		
CEA										
低水平	17	10	7	1.06	0.30	17	9	8	0.00	1.00
高水平	17	7	10			17	8	9		
CA125										
低水平	16	9	7	0.50	0.48	16	9	7	0.50	0.48
高水平	16	7	9			16	7	9		
CA153										
低水平	16	10	6	2.00	0.16	16	10	6	2.00	0.16
高水平	16	6	10			16	6	10		
CA199										
低水平	17	7	10	1.06	0.30	17	7	10	1.06	0.30
高水平	17	10	7			17	10	7		
CA724										
低水平	16	7	9	0.50	0.48	16	8	8	0.00	1.00
高水平	16	9	7			16	8	8		
Cyfra211										
低水平	16	6	10	2.00	0.16	16	7	9	0.50	0.48
高水平	16	10	6			16	9	7		
NSE										
低水平	17	10	7	1.06	0.30	17	11	6	2.94	0.09
高水平	17	7	10			17	6	11		
IFN-γ										
低水平	17	13	4	9.53	<0.01	17	15	2	19.88	<0.01
高水平	17	4	13			17	2	15		

3 讨 论

近年来随着肿瘤免疫调控机制的逐渐清晰,PD-1/PD-L1 作为新兴的生物标志物,其作用和价值在抗肿瘤疗效预测、病情监测和预后评估中得到迅速拓展^[2]。PD-1 作为共抑制分子广泛表达于 T 细胞等多种免疫细胞表面,在免疫平衡中发挥重要作用。肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)持续高表达的 PD-1 被认为是 T 细胞耗竭的重要标志之一,在多种肿瘤的治疗中显示出一定的预测价值,同时也是目前 ICB 疗法最集中的抑制靶点^[3]。PD-L1 是 PD-1 的配体,组成性表达于多种免疫细胞,在激发后其表达上调。多种肿瘤细胞和肿瘤微环境中抗原呈递细胞亦高表达 PD-L1,其与 TIL 上的 PD-1 结合,激活 PD-1/PD-L1 通路引起 T 细胞内一系列事件,最终导致 T 细胞耗竭、凋亡和肿瘤免疫耐受^[4]。PD-L1 在肿瘤组织中的表达水平是基于 PD-1/PD-L1 通路的多种 ICB 疗法的重要疗效预测标志物,近年来在肿瘤免疫治疗中得到了充分的发掘,PD-L1 及其联合 TIL 浸润程度、IFN- γ 共表达

以及 T 细胞免疫球蛋白粘蛋白-3(TIM-3)等其他免疫检查点分子的共表达等特征成为评价 TIL 状态、划分肿瘤微环境免疫类型、选择合适疗法、预判获益人群以及预后评估的重要工具^[4]。

sPD-1 是 PD-1 的可溶性形式,近年来发现其具有重要的免疫调节作用。sPD-1 是全长 PD-1(flPD-1)mRNA 剪接体的翻译产物之一,能与 PD-L1 结合从而阻断其与膜型 PD-1(mPD-1)结合,具有抵抗 T 细胞抑制的功能;sPD-1 能够促进树突状细胞(DC)的成熟从而提高 T 细胞的抗肿瘤效应。肿瘤特异性 T 细胞是 sPD-1 的主要来源,多种肿瘤患者 sPD-1 水平升高,提示其具有肿瘤生物标志物的潜能。有研究表明,sPD-1 在肝癌、胰腺癌、晚期食管癌等多种肿瘤治疗前的高表达与疾病严重程度、临床病理特征及预后有关^[5-7]。在乙型肝炎病毒(HBV)相关的肝细胞癌(HCC)中,通过评估 sPD-1 水平对 HBV 载量和 HCC 风险的影响发现,sPD-1 水平升高的纵向效应有助于维持长期较高的病毒载量,并且与肝癌风险呈正相

关^[8]。也有研究发现,sPD-1 水平的稳定或升高与肝癌手术、鼻咽癌放疗和肺癌的表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(EGFR-TKIs)治疗的预后改善有关^[9-11]。经 EGFR-TKIs 治疗的 NSCLC 患者 sPD-1 水平升高,与无进展生存期(PFS)和总生存期(OS)的提高有关;使用 PD-1 单抗治疗后,sPD-1 水平稳定或升高的 NSCLC 患者 PFS 和 OS 也得到改善^[12],可能提示 sPD-1 对免疫抑制的抵抗能引起肿瘤特异性细胞毒性 T 细胞再激活。

sPD-L1 是 PD-L1 的可溶性形式,主要由膜型 PD-L1(mPD-L1)经基质金属蛋白酶(MMPs)剪切产生,通过与 PD-1 特异性结合发挥免疫抑制作用。sPD-L1 可从 PD-L1 阳性的肿瘤细胞中释放,还来源于肿瘤微环境中的巨噬细胞、活化的 DC 等髓系细胞并受周围细胞因子、炎症环境等多因素调节。因此,sPD-L1 水平是由患者的肿瘤负荷和肿瘤外炎性背景共同决定的。sPD-L1 在多种肿瘤组织中表达,并已逐渐应用于肿瘤患者的病理特征、治疗反应和生存结局的预测^[13-15]。高水平 sPD-L1 与肺癌、肝癌预后不良相关^[14-15];sPD-L1 还与肺癌的分期、淋巴结的转移、腹部的脏器转移等因素密切相关^[16]。病情缓解的患者 sPD-L1 水平呈下降趋势,而病情进展的患者 sPD-L1 水平呈上升趋势,提示 sPD-L1 对 PD-1 阳性 T 细胞的抑制加强,有助于肿瘤细胞产生免疫逃逸。患者 sPD-L1 水平越高,机体免疫抑制越严重,预后越差。然而,亦有研究发现,在晚期胃癌患者的预后评估中,高水平的 sPD-L1 与肿瘤淋巴结转移无关,晚期胃癌患者 sPD-L1 水平越高,预后越好^[17]。

sPD-1 和 sPD-L1 可能在肿瘤的发病机制、免疫反应和疗效预测中发挥重要作用,但 sPD-1/sPD-L1 与肿瘤及 mPD-1/mPD-L1 之间的作用仍然十分复杂,现有的数据尚不能提供一致的预测模式。

本研究发现,在晚期肺癌和消化道肿瘤患者中,sPD-1 和 sPD-L1 整体呈高表达,消化道肿瘤组 sPD-1 水平显著高于体检组,sPD-L1 水平也具有一定的升高趋势;此外,肺癌组 sPD-1、PD-L1 和消化道肿瘤组 sPD-1、sPD-L1 水平范围较广,离散程度较大,推测一方面与患者病种和病理分型、分期的差异有关,另一方面也反映了肿瘤异质性和不同个体免疫反应强度的巨大差异。

本研究发现在肺癌组、消化道肿瘤组及全部肿瘤患者中,sPD-1 与 sPD-L1 均呈正相关。sPD-1/sPD-L1 的同步升高提示它们在免疫平衡中密切联系以对抗彼此消长的影响,即肿瘤特异性 T 细胞产生的 sPD-1 与癌细胞等分泌的 sPD-L1 维持一种有利于肿瘤细胞的免疫内稳态^[18],sPD-1 提升对 sPD-L1/mPD-1 的抵抗作用以避免 T 细胞过度抑制;相反,sPD-L1 的增加进一步作用于 mPD-1 以加强 T 细胞抑制,增强肿瘤免疫逃避并导致不良预后。目前利用

sPD-1 缓解 T 细胞抑制的抗癌策略受到越来越多的关注,并在研究中显示出巨大的潜力^[19]。

IFN- γ 是由活化 T 细胞、自然杀伤细胞及巨噬细胞等释放的重要的抗肿瘤细胞因子,能够通过激活酪氨酸蛋白激酶 2(JAK2)/信号传导与转录激活因子 3(STAT1)通路抑制肿瘤细胞增殖,并通过上调肿瘤细胞表面组织相容性复合体抗原分子的表达促进杀伤性 T 细胞对肿瘤细胞的识别杀伤。同时 IFN- γ 也是 PD-L1 的最强诱导因素,在多种肿瘤中介导 PD-L1 上调进而激活 PD-L1/PD-1 通路并抑制 T 细胞的抗肿瘤免疫应答^[20]。研究发现,IFN- γ 与 PD-L1 双阳性患者的肿瘤细胞对治疗敏感,无病生存期较其他患者显著延长。IFN- γ 与 PD-L1 双阳性的患者中,促进肿瘤生长的细胞周期相关基因的表达水平显著降低,因此 IFN- γ 和 PD-L1 双阳性表达可作为 PD-1/PD-L1 阻断治疗有效的预测指标^[1,20]。高密度 TIL 是多种肿瘤患者的有利预后因素,肺腺癌组织中 IFN- γ 的表达量与癌巢中 TIL 数目和 PD-1 的表达量均呈正相关,表明 IFN- γ 的表达水平可反映肿瘤微环境中免疫应答的强弱。

本研究未发现 IFN- γ 在肿瘤和肺炎患者呈明显的高表达,然而在肺炎患者中 IFN- γ 与 sPD-L1 呈正相关,反映了炎症环境中 sPD-L1 对 IFN- γ 促炎性的平衡作用。本研究中肺癌组和消化道肿瘤组 sPD-L1/IFN- γ 相对于肺炎组及体检组有升高趋势,并且消化道肿瘤组显著高于肺炎组,可能提示 IFN- γ 对晚期肿瘤中 sPD-L1 的上调作用更为显著,体现了肿瘤内稳状态下外周循环中 PD-L1 的免疫抑制对 IFN- γ 的免疫促进优势。同时笔者发现在肿瘤患者中,不同 IFN- γ 水平的患者其 sPD-1 和 sPD-L1 分布有显著差异,反映了不同个体的免疫反应强度差异以及外周循环中 IFN- γ /PD-L1/PD-1 在参与肿瘤免疫调控中扮演着重要角色。本研究结果显示,反映肿瘤负荷的传统肿瘤标志物在肿瘤患者中多有不同程度的升高,但是与 sPD-1/sPD-L1 缺乏明显的相关性。以往的证据表明,sPD-1/sPD-L1 的高表达与肿瘤的淋巴结转移关系密切^[16],同时考虑到癌巢中 TIL 等免疫细胞密度以及 mPD-1/mPD-L1 表达的不同,晚期肿瘤患者外周循环 sPD-1/sPD-L1 水平整体呈高表达且又存在巨大个体差异的特征可能更具有划分患瘤机体整体的细胞免疫状态的潜在价值,进而可能为 ICB 疗法等免疫治疗及其他抗肿瘤治疗策略的选择提供方向性的指导作用,有待今后的深入研究。

目前临床常应用免疫组化法检测局部肿瘤组织中 PD-1/PD-L1 的表达,需要通过侵入性手段获取肿瘤组织,对于晚期非手术适应患者尤其是转移性肿瘤患者存在取材障碍的问题,并且组织样本检测技术平台标准难以统一,操作步骤复杂以及结果判定上存在主观差异,结果的可重复性不够理想,因此 PD-1/PD-

L1 组织病理检测难以成为广泛适用的手段。而血清可溶性分子的检测具有无创性取材、能够动态连续观察指标变化的明显优势,并且在一定程度上可均质化肿瘤的异质性和多发转移性,能同时检测多个相关指标,更客观地反映机体整体的肿瘤免疫状态。sPD-1/sPD-L1 的潜在应用价值已越来越受到关注,本研究仅为针对临床晚期肿瘤患者小样本量的探索,不同实体瘤病种及分期、分型中 sPD-1/sPD-L1 表达变化以及更精准的预后和治疗预测价值有待研究的进一步深入和拓展。

参考文献

- [1] 高铁. γ -干扰素抑制肺腺癌增殖并上调肿瘤 PD-L1 表达的临床意义和机制研究[D]. 武汉:华中科技大学,2018.
- [2] PATEL S P, KURZROCK R. PD-L1 expression as a predictive biomarker in cancer immunotherapy [J]. *Mol Cancer Ther*, 2015, 14(4):847-856.
- [3] KIM K S, SEKAR R R, PATIL D, et al. Evaluation of programmed cell death protein 1 (PD-1) expression as a prognostic biomarker in patients with clear cell renal cell carcinoma[J]. *Oncoimmunology*, 2018, 7(4):e1413519.
- [4] DONG Y, SUN Q, ZHANG X. PD-1 and its ligands are important immune checkpoints in cancer[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(2):2171-2186.
- [5] LI N, ZHOU Z, LI F, et al. Circulating soluble programmed death-1 levels may differentiate immune-tolerant phase from other phases and hepatocellular carcinoma from other clinical diseases in chronic hepatitis B virus infection[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(28):46020-46033.
- [6] BIAN B, FANALE D, DUSETTI N, et al. Prognostic significance of circulating PD-1, PD-L1, pan-BTN3As, BTN3A1 and BTLA in patients with pancreatic adenocarcinoma[J]. *OncoImmunology*, 2019, 8(4):e1561120.
- [7] YOSHIDA J, ISHIKAWA T, DOI T, et al. Clinical significance of soluble forms of immune checkpoint molecules in advanced esophageal cancer [J]. *Med Oncol*, 2019, 36(7):60.
- [8] CHENG H Y, KANG P J, CHUANG Y H, et al. Circulating programmed death-1 as a marker for sustained high hepatitis B viral load and risk of hepatocellular carcinoma [J]. *PLoS One*, 2014, 9(11):e95870.
- [9] CHANG B, HUANG T, WEI H, et al. The correlation and prognostic value of serum levels of soluble programmed death protein 1 (sPD-1) and soluble programmed death-ligand 1 (sPD-L1) in patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2019, 68(3):353-363.
- [10] RUAN Y, HU W, LI W, et al. Analysis of plasma EBV-DNA and soluble checkpoint proteins in nasopharyngeal carcinoma patients after definitive intensity-modulated radiotherapy[J]. *BioMed Res Int*, 2019, 2019:3939720.
- [11] SORENSEN S F, DEMUTH C, WEBER B, et al. Increase in soluble PD-1 is associated with prolonged survival in patients with advanced EGFR-mutated non small cell lung cancer treated with erlotinib[J]. *Lung Cancer*, 2016, 100:77-84.
- [12] TIAGO MEYO M, JOUINOT A, GIROUX-LEPRIEUR E, et al. Predictive value of soluble PD-1, PD-L1, VEGFA, CD40 ligand and CD44 for nivolumab therapy in advanced non-small cell lung cancer; a case-control study [J]. *Cancers*, 2020, 12(2):473.
- [13] KRUGER S, LEGENSTEIN M L, ROSGEN V, et al. Serum levels of soluble programmed death protein 1 (sPD-1) and soluble programmed death ligand 1 (sPD-L1) in advanced pancreatic cancer[J]. *Oncoimmunology*, 2017, 6(5):e1310358.
- [14] 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.
- [15] FINKELMEIER F, CANLI Ö, TAL A, et al. High levels of the soluble programmed death-ligand (sPD-L1) identify hepatocellular carcinoma patients with a poor prognosis[J]. *Eur J Cancer*, 2016, 59:152-159.
- [16] ZHANG J, GAO J, LI Y, et al. Circulating PD-L1 in NSCLC patients and the correlation between the level of PD-L1 expression and the clinical characteristics [J]. *Thorac Cancer*, 2015, 6(4):534-538.
- [17] ZHENG Z, BU Z, LIU X, et al. Level of circulating PD-L1 expression in patients with advanced gastric cancer and its clinical implications[J]. *Chin J Cancer Res*, 2014, 26(1):104-111.
- [18] ABU HEJLEH T, FURQAN M, BALLAS Z, et al. The clinical significance of soluble PD-1 and PD-L1 in lung cancer[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2019, 143:148-152.
- [19] PAN X C, LI L, MAO J J, et al. Synergistic effects of soluble PD-1 and IL-21 on antitumor immunity against H22 murine hepatocellular carcinoma[J]. *Oncol Lett*, 2013, 5(1):90-96.
- [20] MANDAI M, HAMANISHI J, ABIKO K, et al. Dual faces of IFN gamma in cancer progression; a role of PD-L1 induction in the determination of pro- and antitumor immunity[J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(10):2329-2334.

(收稿日期:2021-02-02 修回日期:2021-06-30)