

# 中晚期恶性肿瘤患者应用 PD-1 抑制剂多周期治疗对外周血淋巴细胞亚群影响的动态变化研究

黄玉斌<sup>1,2a</sup>, 刘霄<sup>2a</sup>, 徐翠香<sup>2b</sup>, 黄晓燕<sup>2b</sup>, 王建华<sup>2a</sup> (1. 西安医学院研究生处, 西安 710021; 2. 陕西省人民医院, a. 普外二科; b. 陕西省感染与免疫疾病重点实验室, 西安 710068)

**摘要:** **目的** 研究中晚期恶性肿瘤患者应用程序性死亡受体-1 (programmed death receptor-1, PD-1) 抑制剂治疗过程中淋巴细胞亚群数量的动态变化, 探索 PD-1 抑制剂治疗对患者细胞免疫功能及近期疗效的影响。 **方法** 选取 2019 年 1 月~2021 年 1 月入住陕西省人民医院肿瘤内科的 144 例接受 4 个周期治疗的中晚期恶性肿瘤患者, 随机分为 PD-1 单抗+化疗 (联合治疗) 组 ( $n=54$ )、PD-1 单抗组 ( $n=38$ ) 和化疗组 ( $n=52$ )。流式细胞术检测患者治疗前及每周周期治疗后外周血淋巴细胞亚群: T 细胞 ( $CD3^+$ ,  $CD4^+$ ,  $CD8^+$ ), B 细胞 ( $CD19^+$ ) 及 NK 细胞 ( $CD16^+$  $CD56^+$ ) 数量, 应用重复测量方差分析获得不同治疗方案患者淋巴细胞亚群的动态变化趋势。CT 或磁共振成像 (MRI) 检查评价治疗前及第 4 周期治疗后瘤体大小, 根据临床效果评价分为治疗有效组 (CR 和 PR) 和无效组 (SD 和 PD), 比较三种治疗方案疗效差异。 **结果** 联合治疗组和 PD-1 单抗治疗组患者外周血  $CD3^+$ T,  $CD4^+$ T,  $CD4^+$ / $CD8^+$  细胞数量与治疗前相比显著升高, 差异均有统计学意义 ( $F_{\text{联合治疗组}}=44.978\sim315.579$ ,  $F_{\text{PD-1 单抗治疗组}}=15.174\sim87.558$ , 均  $P<0.05$ ),  $CD8^+$ T 细胞数量显著降低, 差异有统计学意义 ( $F_{\text{联合治疗组}}=636.362$ ,  $F_{\text{PD-1 单抗治疗组}}=189.966$ , 均  $P<0.05$ )。经过 4 个周期治疗, 联合治疗组和 PD-1 单抗治疗组患者  $CD4^+$ T,  $CD4^+$ / $CD8^+$  细胞与化疗组相比显著升高,  $CD8^+$ T 细胞显著降低, 差异均有统计学意义 ( $F=3.365\sim5.362$ , 均  $P<0.05$ ); 联合治疗组 NK 细胞数量与其他两组治疗方案相比显著升高, 差异有统计学意义 ( $F=18.062$ ,  $P<0.05$ ); 三组治疗方案 B 细胞比较, 差异无统计学意义 ( $F=0.434$ ,  $P>0.05$ )。联合治疗组和 PD-1 单抗治疗组患者治疗有效率高于化疗组 (81.48%, 84.21% vs 63.46%), 差异有统计学意义 ( $\chi^2=6.710$ ,  $P<0.05$ )。 **结论** PD-1 抑制剂联合化疗或单独使用能显著提高中晚期恶性肿瘤患者的淋巴细胞亚群数量, 治疗有效率显著高于化疗组, 临床获益优于化疗。

**关键词:** 恶性肿瘤; 程序性死亡受体-1; 淋巴细胞亚群; 免疫治疗

中图分类号: R730.5; R730.43 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2022) 02-023-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2022.02.005

## Study on the Dynamic Changes of the Effect of PD-1 Inhibitor Multi-cycle Therapy on Peripheral Blood Lymphocyte Subsets in Patients with Advanced Malignant Tumors

HUANG Yu-bin<sup>1, 2a</sup>, LIU Xiao<sup>2a</sup>, XU Cui-xiang<sup>2b</sup>, HUANG Xiao-yan<sup>2b</sup>, WANG Jian-hua<sup>2a</sup>

(1. Graduate Division, Xi'an Medical University, Xi'an 710021, China; 2a. the Second Department of General Surgery; 2b. Shaanxi Key Laboratory of Infection and Immune Diseases, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, China)

**Abstract: Objective** To study the dynamic changes of lymphocyte subsets in patients with advanced malignant tumors treated with programmed death receptor-1 (programmed death receptor, PD-1) inhibitor, and evaluate the effect of PD-1 inhibitor on cellular immune function and short-term curative effect. **Methods** Selected 144 patients with advanced malignant tumors who were admitted to the department of Oncology, Shaanxi Provincial People's Hospital, and received 4 cycles of treatment from January 2019 to January 2021. They were randomly divided into PD-1 monoclonal antibody+chemotherapy combination therapy group (54 cases), PD-1 monoclonal antibody group (38 cases) and chemotherapy group (52 cases). The dynamic changes of lymphocyte subsets in peripheral blood of patients before and after treatment were detected by flow cytometry, including T ( $CD3^+$ ,  $CD4^+$ ,  $CD8^+$ ), B cells ( $CD19^+$ ) and NK cells ( $CD16^+$  $CD56^+$ ). Repeated measurement analysis of variance (ANOVA) was used to analyze the dynamic change trend of lymphocytes in patients. CT or magnetic resonance imaging (MRI) was used to evaluate

**基金项目:** 重点产业创新链 (群)-社会发展领域 (编号: 2021ZDLSF01-07); 国家自然科学基金青年科学基金项目 (编号: 81900686); 陕西省人民医院 2021 年科技人才支持计划 (编号: 2021LJ-02)。

**作者简介:** 黄玉斌 (1994-), 男, 硕士研究生在读。主要研究方向为肿瘤免疫, E-mail: huangyb828@163.com。

**通讯作者:** 王建华 (1971-), 男, 博士, 主任医师, 主要研究方向: 肿瘤免疫, E-mail: wangjianhuaman@163.com。

the tumor size before and after the fourth cycle of treatment. According to the clinical evaluation of different treatment schemes, the tumor size was divided into effective group (CR and PR) and ineffective group (SD and PD), which used to compare the curative effects of the three treatment schemes. **Results** The number of CD3<sup>+</sup>T, CD4<sup>+</sup>T and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> cells in peripheral blood of 54 patients in combined treatment group and 38 patients in PD-1 McAb treatment group were significantly higher than those before treatment ( $F_{\text{combined treatment group}}=44.978\sim315.579$ ;  $F_{\text{PD-1 McAb treatment group}}=15.174 \sim 87.558$ , all  $P<0.05$ ). The number of CD8<sup>+</sup>T cells were significantly lower than those before treatment ( $F_{\text{combined treatment group}}=636.362$ ,  $F_{\text{PD-1 McAb treatment group}}=189.966$ , all  $P<0.05$ ). After 4 cycles of treatment, the number of CD4<sup>+</sup>T and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> cells in combined treatment group and PD-1 McAb group were significantly higher than those in chemotherapy group, while CD8<sup>+</sup>T cells were significantly lower than those in chemotherapy group ( $F=3.365 \sim 5.362$ , all  $P<0.05$ ). The number of NK cells in combined treatment group were significantly higher than those in the other two groups, the difference was statistically significant ( $F=18.062$ ,  $P<0.05$ ), but there was no significant difference in B cells among the three groups, the difference was not statistically significant ( $F=0.434$ ,  $P>0.05$ ). The effective rate in the combination treatment group and PD-1 monoclonal antibody treatment group was significantly higher than that in the chemotherapy group (81.48%, 84.21% vs 63.46%), the difference was statistically significant ( $\chi^2=6.710$ ,  $P<0.05$ ). **Conclusion** PD-1 inhibitors combined with chemotherapy or alone could significantly increase the number of lymphocyte subsets in patients with advanced malignant tumors, the effective rate of treatment was significantly higher than that of chemotherapy group, and the clinical benefit is better than that of chemotherapy.

**Keywords:** malignant tumor; programmed death receptor-1; lymphocyte subsets; immunotherapy

近年来恶性肿瘤的发病率趋于年轻化和逐渐增高趋势<sup>[1]</sup>, 对于中晚期恶性肿瘤患者的根治方法主要以手术联合放、化疗为主, 然而并未给中晚期实体瘤患者带来长期的生存获益<sup>[2-3]</sup>。肿瘤复发的原因较多, 近年来免疫微环境改变导致的肿瘤免疫逃逸被认为是主要危险因素之一, 成为了目前肿瘤免疫领域研究的热点与重点内容<sup>[4]</sup>。肿瘤复发转移与机体自身免疫密切相关, 正常机体处于免疫动态平衡状态, 而恶性肿瘤患者免疫负向调节通路活化, 导致免疫失衡、肿瘤微环境改变<sup>[5]</sup>。其中程序性死亡分子1 (programmed death-1, PD-1) / 程序性死亡配体1 (programmed death ligand-1, PD-L1) 信号通路是启动这一系列过程的主要机制之一<sup>[6]</sup>。近年来 PD-1 抑制剂在中晚期恶性肿瘤的治疗中已经取得了突破性进展, 尤其在黑色素瘤、肺癌、膀胱癌及霍奇金淋巴瘤等的治疗中取得了较好的疗效<sup>[7-8]</sup>。大量研究表明, PD-1 抑制剂能改变恶性肿瘤患者外周血淋巴细胞的功能和比例, 如 CD3<sup>+</sup>T, CD4<sup>+</sup>T, CD8<sup>+</sup>T, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 细胞等, 从而改善恶性肿瘤患者预后<sup>[9]</sup>。但在临床研究中, 很少涉及在治疗过程中对淋巴细胞亚群动态变化的探究, 故本研究旨在通过分析中晚期恶性肿瘤患者应用 PD-1 抑制剂治疗外周血淋巴细胞亚群数量的动态变化, 探讨 PD-1 抑制剂对机体的免疫功能及近期疗效的影响, 为临床恶性肿瘤患者制定个体化治疗方案提供参考和依据。

## 1 材料与方法

**1.1 研究对象** 收集 2019 年 1 月 ~ 2021 年 1 月陕西省人民医院肿瘤内科恶性肿瘤患者 144 例。纳入标准: ①经术后病理或组织活检确诊为中、晚期肿

瘤患者, 既往未行免疫抑制药物治疗或诊断病毒性疾病; ②行为状态良好, 卡氏功能状态 (Karnofsky performance status, KPS) 评分  $\geq 70$  分, 生存时间  $> 3$  个月; ③具有计算机断层扫描 (CT) 或核磁共振 (MRI) 等可评估的肿瘤病灶。排除标准: ①并发严重心、肺、肝等器官功能障碍疾病; ②伴有免疫系统性疾病; ③未完成 4 个周期治疗或因疾病进展更换治疗方案。根据纳入、排除标准, 共入组中、晚期恶性肿瘤患者 144 例, 其中男性 70 例, 女性 74 例; 年龄 28 ~ 78 岁, 中位年龄 59 岁; 美国癌症联合委员会 (American Joint Committee on Cancer, AJCC) 肿瘤分期为 III 期和 IV 期 (III 期: 45 例, IV 期: 99 例); 肿瘤类型包括肺癌 40 例, 胃癌 25 例, 结直肠癌 22 例, 乳腺癌 16 例, 宫颈癌 7 例, 肾癌 6 例, 胰腺癌 5 例, 肝癌、卵巢癌各 4 例, 食管癌、子宫内膜癌、小肠癌、前列腺癌各 2 例, 神经外胚瘤、膀胱癌、黑色素瘤、胸腺瘤、牙龈癌、鼻咽癌、甲状腺癌各 1 例。随机分为三组: ①联合治疗组 (PD-1 单抗 + 化疗) 患者 54 例; ② PD-1 单抗组患者 38 例; ③单纯化疗组患者 52 例。三组患者性别、年龄、肿瘤类型及治疗前淋巴细胞亚群数量比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。以上患者均知情同意并经陕西省人民医院伦理委员会批准。

**1.2 仪器与试剂** BD FACSanto 流式细胞仪及其抗体 (抗 CD3 FITC, 抗 CD4 PE, 抗 CD8 PE, 抗 CD19 PE, CD16 CD56 PE, 红细胞裂解液), 均由美国 Becton Dickinson 公司提供。CT 和磁共振成像 (MRI) 系统由德国 Siemens 公司提供。所有操作严格按照操作说明书进行。

### 1.3 方法

1.3.1 治疗方法: ①联合治疗方案: 紫杉醇 + pembrolizumab 单抗方案 (第1天紫杉醇 200mg/m<sup>2</sup>, 第1天 pembrolizumab 单抗 2mg/kg); 紫杉醇 + nivolumab 单抗方案 (第1天紫杉醇 200mg/m<sup>2</sup>, 第1天 nivolumab 单抗 3mg/kg)。②PD-1 单抗治疗方案: nivolumab 单抗 (第1天 3mg/kg) 或 pembrolizumab 单抗 (第1天 2mg/kg)。③化疗方案: 紫杉醇 + 卡铂方案 (第1天紫杉醇 260mg/m<sup>2</sup>, 卡铂 200mg/m<sup>2</sup>) 或紫杉醇 + 顺铂方案 (第1天紫杉醇 200mg/m<sup>2</sup>, 第1, 2天顺铂 50mg/m<sup>2</sup>)。三种治疗方案均以每3周为1个周期。

1.3.2 检测及观察指标: 治疗前及每周期治疗结束后第21天, 空腹抽取肘静脉血 5ml, 加入 10 ml 抗体, 室温下避光孵育 20 min, 加入红细胞裂解液, 避光静置 10 min, 1 500 r/min 离心 20 min, 弃上清, 洗涤 3 次加入磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline, PBS) 上机检测外周血淋巴细胞亚群 CD3<sup>+</sup>T, CD4<sup>+</sup>T, CD8<sup>+</sup>T, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>, B 细胞 (CD19<sup>+</sup>) 及 NK 细胞 (CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>) 数量水平。观察指标: ①比较三种方案治疗前后淋巴细胞亚群数量变化趋势。②比较三种方案之间淋巴细胞亚群数量变化差异。③比较三种方案之间疗效差异。

1.3.3 疗效评价标准: 所有患者治疗前及第4周期治疗后3周行 CT 或 MRI 检查评价疗效。采用 WHO 可测量实体瘤疗效统一标准<sup>[10]</sup>: 完全缓解 (complete response, CR): 临床检查肿瘤完全消失; 部分缓解 (partial response, PR): 肿瘤最大直径与其最大垂直径的乘积减少 >50% 以上; 疾病稳定 (stable response, SD): 肿瘤最大直径与其最大垂直径的乘积减少 <50% 或增加 <25%; 疾病进展 (progressive response, PD): 肿瘤最大直径与其最大垂直径的乘积增加 >25% 及其他转移征象。有效组包括 CR 和 PR; 无效组包括 SD 和 PD。

1.4 统计学分析 采用统计学软件 SPSS 26.0 对数据进行统计分析, 计量资料以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 重复测量数据多组比较采用单因素及两因素重复测量方差分析 (统计量为  $F$ ); 计数资料以率 (%) 表示, 采用  $\chi^2$  检验 (统计量为  $\chi^2$ )。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 不同治疗方案淋巴细胞亚群数量变化趋势对比见表1。与治疗前比较, 经过连续4个周期治疗, 54例联合治疗组患者外周血 CD3<sup>+</sup>T, CD4<sup>+</sup>T, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 及 NK 细胞数量显著升高, 差异具有统计学意义 ( $F=44.978 \sim 448.929$ , 均  $P < 0.05$ ), CD8<sup>+</sup>T 细胞数量显著降低, 差异具有统计学意义 ( $F=636.362$ ,

$P < 0.05$ ), B 细胞数量无明显变化, 差异无统计学意义 ( $F=0.941$ ,  $P > 0.05$ ); 38例 PD-1 单抗组患者外周血 CD3<sup>+</sup>T, CD4<sup>+</sup>T, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 细胞数量显著升高, 差异具有统计学意义 ( $F=15.174 \sim 87.558$ , 均  $P < 0.05$ ), CD8<sup>+</sup>T 细胞数量明显降低, 差异具有统计学意义 ( $F=189.966$ ,  $P < 0.05$ ), B 细胞及 NK 细胞数量无明显变化, 差异无统计学意义 ( $F=0.328, 2.065$ , 均  $P > 0.05$ ); 52例化疗组患者外周血 CD3<sup>+</sup>T, CD4<sup>+</sup>T, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 细胞数量显著升高, 差异具有统计学意义 ( $F=7.312 \sim 130.232$ , 均  $P < 0.05$ ), CD8<sup>+</sup>T 细胞、B 细胞及 NK 细胞数量无明显变化, 差异无统计学意义 ( $F=0.084 \sim 2.592$ , 均  $P > 0.05$ )。

2.2 不同治疗方案及周期淋巴细胞亚群数量变化 根据三组治疗方案的不同, 采用统计学两因素重复测量方差分析比较不同组别、不同治疗周期淋巴细胞亚群数量变化, Mauchly 球形检验结果均显示  $P < 0.05$ , 证明实验数据不对称, 以“多变量检验结果”为此研究最终结果。结果显示: 经过连续4个周期治疗, 三种治疗方案 CD3<sup>+</sup>T, CD4<sup>+</sup>T 和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 细胞数量随治疗周期数增加均显著升高, 差异具有统计学意义 ( $F=423.589, 202.709, 56.095$ , 均  $P < 0.05$ ), CD8<sup>+</sup>T 细胞数量随治疗周期数增加均显著降低, 差异具有统计学意义 ( $F=328.596$ ,  $P < 0.05$ )。与化疗组比较, 联合治疗组及 PD-1 单抗组 CD4<sup>+</sup>T, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 细胞数量随治疗周期数增加均显著增加 ( $F=4.192, 5.362$ , 均  $P < 0.05$ ), CD8<sup>+</sup>T 细胞数量随治疗周期数增加均显著降低, 差异具有统计学意义 ( $F=3.365$ ,  $P < 0.05$ ); CD3<sup>+</sup>T 细胞数量在不同治疗方案及周期数比较, 差异无统计学意义 ( $F=2.764$ ,  $P > 0.05$ )。三种治疗方案 B 细胞数量在不同治疗方案及周期数比较, 差异无统计学意义 ( $F=0.434$ ,  $P > 0.05$ )。联合治疗组 NK 细胞数量随治疗周期数增加显著升高, 差异具有统计学意义 ( $F=18.062$ ,  $P < 0.05$ )。与化疗组比较, 联合治疗组 NK 细胞数量随治疗周期数增加显著增加, 差异具有统计学意义 ( $F=4.032$ ,  $P < 0.05$ ), PD-1 单抗组与化疗组比较, 差异无统计学意义 ( $F=0.009$ ,  $P > 0.05$ )。

2.3 不同治疗方案多周期治疗后疗效比较 54例联合治疗患者有效组 44例 (CR 14例, PR 30例), 无效组 10例 (SD 7例, PD 3例), 治疗有效率为 81.48%; 38例 PD-1 单抗治疗患者有效组 32例 (CR 4例, PR 28例), 无效组 6例 (SD 4例, PD 2例), 治疗有效率为 84.21%; 52例化疗治疗患者有效组 33例 (CR 8例, PR 25例), 无效组 19例 (SD 14例, PD 5例), 治疗有效率为 63.46%; 三种不同



治疗方案疗效比较, 差异有统计学意义 ( $\chi^2=6.710$ ,  $P=0.035$ )。

表1 三种治疗方案淋巴细胞亚群数量变化对比 ( $\bar{x} \pm s$ )

指标	组别	治疗前	治疗第一周期	治疗第二周期	治疗第三周期	治疗第四周期	F 值	P 值
CD3 <sup>+</sup>	联合治疗	55.67 ± 10.68	56.07 ± 11.28	60.81 ± 10.63	64.99 ± 11.35	66.42 ± 10.74	315.579	<0.001
	PD-1 单抗	55.12 ± 11.81	55.76 ± 11.75	59.15 ± 11.39	61.64 ± 11.30	64.11 ± 12.31	65.93	<0.001
	化疗	54.90 ± 11.62	54.54 ± 11.76	54.82 ± 11.76	56.05 ± 11.82	58.43 ± 11.79	130.232	<0.001
CD4 <sup>+</sup>	联合治疗	25.25 ± 6.50	26.31 ± 6.21	29.76 ± 7.01	33.26 ± 7.21	35.61 ± 7.13	109.425	<0.001
	PD-1 单抗	25.23 ± 7.03	25.82 ± 6.51	28.74 ± 7.97	32.82 ± 6.92	34.59 ± 7.42	87.558	<0.001
	化疗	25.66 ± 6.73	26.86 ± 6.62	25.80 ± 6.77	27.07 ± 6.82	28.43 ± 6.71	20.893	<0.001
CD8 <sup>+</sup>	联合治疗	30.07 ± 7.44	29.07 ± 7.19	24.55 ± 7.50	22.76 ± 7.67	19.62 ± 7.50	636.362	<0.001
	PD-1 单抗	30.03 ± 9.59	29.44 ± 9.16	25.34 ± 10.07	22.52 ± 9.57	20.33 ± 9.61	189.966	<0.001
	化疗	30.26 ± 10.86	29.67 ± 11.68	29.53 ± 11.71	29.02 ± 12.15	29.70 ± 11.81	2.592	0.058
CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>	联合治疗	0.89 ± 0.33	0.96 ± 0.36	1.33 ± 0.58	1.61 ± 0.63	2.11 ± 1.10	44.978	<0.001
	PD-1 单抗	0.93 ± 0.42	0.95 ± 0.37	1.32 ± 0.65	1.80 ± 1.20	2.13 ± 1.33	15.174	<0.001
	化疗	0.98 ± 0.45	1.03 ± 0.48	1.05 ± 0.54	1.12 ± 0.54	1.13 ± 0.55	7.312	<0.001
B 细胞	联合治疗	5.87 ± 5.30	5.76 ± 4.92	5.63 ± 4.62	5.79 ± 5.04	5.87 ± 4.94	0.941	0.448
	PD-1 单抗	5.73 ± 3.21	5.90 ± 3.16	5.93 ± 3.22	6.10 ± 3.73	6.02 ± 3.01	0.328	0.859
	化疗	5.68 ± 3.68	5.57 ± 3.53	5.68 ± 3.46	5.61 ± 3.41	5.64 ± 3.77	0.084	0.987
NK 细胞	联合治疗	25.94 ± 9.12	26.79 ± 9.43	31.29 ± 8.76	32.06 ± 8.85	33.13 ± 9.07	448.929	<0.001
	PD-1 单抗	25.56 ± 11.09	25.74 ± 10.90	25.95 ± 11.10	26.27 ± 10.71	26.57 ± 10.44	2.065	0.107
	化疗	25.50 ± 12.10	25.74 ± 12.02	25.57 ± 11.80	26.10 ± 12.04	26.03 ± 11.73	0.788	0.534

### 3 讨论

随着肿瘤疫苗、CAR-T 细胞疗法及免疫检查点阻断等治疗手段的出现, 免疫疗法再次成为肿瘤治疗研究的前沿和热点, 其中免疫检查点 PD-1/PD-L1 通路引起了国内外学者越来越多的关注。作为目前肿瘤治疗领域中最具前景的研究方向之一, PD-1 于 1992 年被日本学者发现并命名。研究证实, PD-1/PD-L1 在正常机体免疫系统中发挥保护作用, 防止机体 T 淋巴细胞过度激活从而导致自身免疫损害; 而肿瘤发生时, 肿瘤细胞则可利用此免疫检查点逃脱机体免疫系统的监视与杀伤<sup>[11]</sup>。PD-1 在活化的 T、B 细胞等多种免疫细胞上表达, 其胞质结构域中有两个酪氨酸残基: 膜近端的一个构成免疫受体酪氨酸抑制基序 (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif, ITIM), 另一个构成免疫受体酪氨酸转换基序 (immunoreceptor tyrosine-based switch motif, ITSM)。当 PD-1/PD-L1 结合后, 位于 PD-1 ITSM 内的酪氨酸残基被磷酸化, 并可招募蛋白酪氨酸磷酸酶, 该蛋白酶可诱导多种关键信号激酶去磷酸化, 促使肿瘤微环境中 T 细胞耗竭<sup>[12]</sup>。PD-L1 则表达于包括肿瘤细胞在内的多种细胞类型, 其在正常组织中表达是生理性免疫耐受检查点, 在机体受损后控制自身免疫反应。然而肿瘤细胞也可以利用 PD-L1 来减弱 T 细胞介导的细胞毒性<sup>[13]</sup>。恶性肿瘤在发生发展过程中高表达 PD-L1, 与招募在肿瘤微环境周围免疫细胞表达的 PD-1 结合, 激活 PD-1/PD-L1 通路, 使整个肿瘤微环境呈免疫抑制

状态, 最终导致肿瘤细胞发生免疫逃逸。近年来, PD-1 抑制剂临床研究取得重大进展, 为部分中晚期实体瘤患者的治疗带来了新的希望。

研究表明, 肿瘤的发生发展与宿主的免疫状态相关, 在免疫防御中起决定作用的是细胞免疫。免疫系统中各群淋巴细胞相互作用, 维持机体免疫动态平衡。然而研究发现恶性肿瘤患者外周血淋巴细胞亚群比例会出现异常, 如抑制性 CD8<sup>+</sup>T 细胞比例升高, 辅助性 CD4<sup>+</sup>T 细胞比例下降, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比例降低。而当肿瘤负荷降低或解除时, 淋巴细胞亚群则逐渐恢复平衡。目前 PD-1 抑制剂在临床应用过程中, 部分患者对其响应率增高, 因此, 选择 T、B 淋巴细胞亚群及 NK 细胞数量水平的动态变化作为监测 PD-1 抑制剂治疗肿瘤患者的疗效及预后指标是有参考价值的。本研究证实所有纳入患者在连续 4 个周期治疗过程中 CD3<sup>+</sup>T、CD4<sup>+</sup>T 和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 细胞比例均显著增加, 其机制与肿瘤患者细胞免疫功能紊乱及受抑制有关<sup>[14-15]</sup>, 经过有效地治疗后肿瘤负荷降低, 细胞免疫功能逐渐恢复。同时研究显示, 联合治疗组及 PD-1 单抗治疗组从第 2 周期开始 CD4<sup>+</sup>T、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 细胞数量显著升高, CD8<sup>+</sup>T 细胞数量显著降低, 化疗组淋巴细胞数量则恢复较慢。进一步分析发现, 与化疗组比较, 联合治疗组与 PD-1 单抗治疗组 CD4<sup>+</sup>T、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 细胞比例显著升高, CD8<sup>+</sup>T 细胞比例显著降低。与此同时, 临床疗效观察发现, 联合治疗组与 PD-1 单抗治疗组治疗有效率显著高于化疗组; 其涉及机制

可能与免疫治疗激活了机体的免疫系统密切相关, PD-1 抑制剂的使用解除了 T 细胞受抑制状态, 使其正常活化增殖, 细胞毒性 T 淋巴细胞比例升高。此外, 国内外学者研究发现化疗引起的骨髓抑制能够刺激机体免疫系统, 这种反馈稳态性增生能够增强机体抗肿瘤免疫应答<sup>[16]</sup>, 杀伤肿瘤细胞。研究已证实 PD-1 抑制剂可阻断 PD-1 在 T 细胞与抗原呈递细胞相互作用阶段的抑制信号传导, 同时在效应阶段阻断 PD-1 与肿瘤细胞上的 PD-L1 结合, 恢复细胞毒性 T 淋巴细胞的功能<sup>[17]</sup>。化疗是治疗肿瘤的经典有效手段之一, 研究发现其可增强肿瘤细胞的抗原性, 增加免疫细胞对肿瘤细胞的敏感性<sup>[18]</sup>, 直接影响细胞毒性 T 淋巴细胞发挥抗肿瘤效应。因此, 由于 PD-1 抑制剂和化疗药物作用机制的不同, 二者联合治疗可发挥更强的抗肿瘤作用。

本研究着重分析了外周血淋巴细胞亚群数量的动态变化及近期疗效, 但各种免疫细胞、细胞因子及肿瘤细胞之间存在着错综复杂的网络关系, 因此需要更多的检测肿瘤微环境中免疫细胞及相关细胞因子的变化趋势, 才可能对免疫治疗疗效起到更好的预测作用。此外, 本研究的样本量较小, 观察治疗周期数短, 作为一个初步探索性的研究, 尚需大样本前瞻性的临床研究进一步探索, 为实现肿瘤患者个体化精准治疗提供参考, 在减少不良反应的同时实现抗肿瘤效应最大化。

#### 参考文献:

- [1] TORRE L A, SIEGEL R L, WARD E M, et al. Global cancer incidence and mortality rates and Trends--An update[J]. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention, 2016, 25(1): 16-27.
- [2] TARAZI M, GUEST K, COOK A J, et al. Two and five year survival for colorectal cancer after resection with curative intent: A retrospective cohort study [J]. International Journal of Surgery (London, England), 2018, 55: 152-155.
- [3] HASSANIPOUR S, DELAM H, ARAB-ZOZANI M, et al. Survival rate of prostate cancer in Asian countries: A systematic review and meta-analysis[J]. Annals of Global Health, 2020, 86(1): 2.
- [4] OSIPOV A, SAUNG M T, ZHENG L, et al. Small molecule immunomodulation: the tumor microenvironment and overcoming immune escape[J]. Journal for Immunotherapy of Cancer, 2019, 7(1): 224.
- [5] SHAABAN M, OTHMAN H, IBRAHIM T, et al. Immune checkpoint regulators: a new era toward promising cancer therapy[J]. Current Cancer Drug Targets, 2020, 20(6): 429-460.
- [6] HAN Yanyan, LIU Dandan, LI Lianhong. PD-1/PD-L1 pathway: current researches in cancer[J]. American Journal of Cancer Research, 2020, 10(3): 727-742.
- [7] JOSEPH R W, SHILLINGTON A C, LEE T A, et al. Hospitalization and emergency department utilization in patients with advanced melanoma receiving pembrolizumab versus ipilimumab plus nivolumab in US academic centers[J]. Journal of Medical Economics, 2020, 23(2): 132-138.
- [8] FUCHS C S, DOI T, JANG R W, et al. Safety and efficacy of pembrolizumab monotherapy in patients with previously treated advanced gastric and gastroesophageal junction cancer: phase 2 clinical KEYNOTE-059 Trial [J]. JAMA Oncology, 2018, 4(5): e180013.
- [9] XING Y F, PAN X, QIAN B, et al. Expression of PD-1 and PD-L1 in the peripheral blood of advanced non-small-cell lung cancer patients and its implications. National Medical Journal of China, 2019, 99(2):111-114.
- [10] DUFFAUD F, THERASSE P. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors[J]. Bull Cancer, 2000, 87:881-886.
- [11] DERMANI F K, SAMADI P, RAHMANI G, et al. PD-1/PD-L1 immune checkpoint: Potential target for cancer therapy[J]. Journal of Cellular Physiology, 2019, 234(2): 1313-1325.
- [12] RIBAS A, WOLCHOK J D. Cancer immunotherapy using checkpoint blockade[J]. Science, 2018, 359(6382):1350-1355.
- [13] HUGO A, MARIA G C, MIREN Z, et al. PD-1 signal transduction pathways in T cells[J]. Oncotarget, 2017, 8(31): 51936-51945.
- [14] 郑荣, 何三军, 朱宏才, 等. 食道癌患者血清 CYFRA21-1, CA19-9 和  $\beta$ -hCG 水平联合检测的诊断价值及与 T 淋巴细胞亚群表达的相关性研究 [J]. 现代检验医学杂志, 2021, 36(1): 51-53, 91. ZHENG Rong, HE Sanjun, ZHU Hongcai, et al. Diagnostic value of CYFRA21-1, CA19-9 and  $\beta$ -hCG in patients with esophageal cancer and its correlation with T lymphocyte subsets [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2021, 36(1):51-53,91.
- [15] 刘艳霞, 区静怡, 黄颖, 等. 新型冠状病毒肺炎患者外周血淋巴细胞及其亚群检测的临床意义 [J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(4):94-96, 105. LIU Yanxia, OU Jingyi, HUANG Ying, et al. Clinical significance of detection of peripheral blood lymphocyte and its subgroups in patients with coronavirus disease 2019 [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2020, 35(4):94-96,105.
- [16] DOSSET M, VARGAS T R, LAGRANGE A, et al. PD-1/PD-L1 pathway: an adaptive immune resistance mechanism to immunogenic chemotherapy in colorectal cancer[J]. Oncoimmunology, 2018, 7(6): e1433981.
- [17] KUMAGAI S, TOGASHI Y, KAMADA T, et al. The PD-1 expression balance between effector and regulatory T cells predicts the clinical efficacy of PD-1 blockade therapies[J]. Nature Immunology, 2020, 21(11): 1346-1358.
- [18] HEINHUIS K M, ROS W, KOK M, et al. Enhancing antitumor response by combining immune checkpoint inhibitors with chemotherapy in solid tumors[J]. Annals of Oncology, 2019, 30(2): 219-235.

收稿日期: 2021-05-28

修回日期: 2021-12-16