



DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2022.02.11  
文章编号: 2095-1264(2022)02-0208-07

## 基于肿瘤微环境建立 NSCLC 免疫治疗疗效预测模型及其初步探索\*

曾 政, 杨鹤玲, 刘 宇, 王 勇, 徐 强, 蒋 鸥\*  
(内江市第二人民医院 肿瘤四科, 四川 内江, 641000)

**摘要:** **目的** 利用免疫组化技术筛选非小细胞肺癌(NSCLC)肿瘤微环境中具有重要意义的免疫指标,建立 NSCLC 免疫治疗疗效预测模型。**方法** 回顾性分析 2013 年至 2015 年我院收治并经手术病理确诊的 NSCLC 患者 46 例,采用聚类分析进行分组,收集病理标本及相关临床数据,采用聚类分析法及 *t* 检验对免疫组化指标进行降维筛选,建立 NSCLC 免疫治疗疗效预测模型,依据免疫细胞浸润密度及位置进行命名。通过接受免疫检查点抑制剂治疗的 11 例 NSCLC 患者进行验证,评估该模型的预测效能。**结果** 通过聚类分析将 46 例患者分为两组,分别为 8 例、38 例,两组患者中位无病生存期(mDFS)分别为 14.33 个月、25.84 个月( $P=0.015$ ),中位总生存期(mOS)分别为 16.00 个月、28.70 个月( $P=0.021$ )。利用聚类分析及 *t* 检验将 16 个免疫指标降维至 7 个,根据 Fisher 判别函数建立免疫治疗疗效预测模型,进一步分析两组免疫细胞情况,分别命名为免疫低反应型和免疫高反应型,评估结果显示该模型具有较好的预测价值。**结论** 基于肿瘤微环境建立的 NSCLC 免疫治疗疗效预测模型为 NSCLC 免疫治疗的疗效评估提供了一种新的方法。

**关键词:** 非小细胞肺癌; 肿瘤微环境; 免疫组化; 免疫治疗; 预测模型

**中图分类号:** R734.2 **文献标识码:** A

## Establishment of prediction model of NSCLC immunotherapy efficacy based on tumor microenvironment and its preliminary exploration\*

ZENG Zheng, YANG Heling, LIU Yu, WANG Yong, XU Qiang, JIANG Ou\*

(The Fourth Oncology Department, the Second People's Hospital of Neijiang, Neijiang, Sichuan, 641000, China)

**Abstract: Objective** To establish an efficacy prediction model for immunotherapy of non-small cell lung cancer (NSCLC) by screening the important immune indexes in the tumor microenvironment on the base of immunohistochemical technique. **Methods** A retrospective analysis was made on 46 patients with NSCLC conformed by postoperative pathology in our hospital between 2013 and 2015. Patients were divided into groups by cluster analysis, and their pathological samples and related clinical data were collected. The immunohistochemical indexes were screened by cluster analysis and *t* test for dimensionality reduction. A prediction model of NSCLC immunotherapy efficacy was established, and named according to the density and location of immune cell infiltration. The predictive effectiveness of the model was evaluated by validation in 11 cases of NSCLC patients who had immune checkpoint inhibitors treatment. **Results** The 46 patients were divided into two groups by cluster analysis, 8 patients in group 1 and 38 in group 2. The median disease-free survival (mDFS) of patients was 14.33 months in group 1 and 25.84 months in group 2 ( $P=0.015$ ). The median overall survival (mOS) of patients were respectively 16.00 months and 28.70 months in the two groups ( $P=0.021$ ). The dimension was reduced from 16 immune indexes to 7 by cluster analysis and *t* test. Using these indexes, the prediction model of immunother-

\*基金项目:国家科技重大专项-重大新药创制项目(2018ZX09303-014)。

作者简介:曾政,男,硕士,住院医师,研究方向:肿瘤免疫治疗。

\*通信作者:蒋鸥,男,博士,主任医师,研究方向:肿瘤免疫治疗。

apy efficacy was established according to the Fisher discriminant function. The immune cells in the two groups were further analyzed and separately named as immune low response type and immune high response type. The evaluation results showed that the model had a good prediction value. **Conclusion** The prediction model of NSCLC immunotherapy efficacy based on tumor microenvironment provides a new method for evaluating the efficacy of NSCLC immunotherapy.

**Keywords:** Non-small cell lung cancer; Tumor microenvironment; Immunohistochemistry; Immunotherapy; Prediction model

## 前言

肺癌是我国发病率和死亡率均居首位的恶性肿瘤,其中 80%~85% 为非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)<sup>[1]</sup>。随着免疫治疗的发展,NSCLC 的治疗也进入了免疫时代。但是,单用免疫治疗仅有约 20% 的患者可取得长期获益<sup>[2]</sup>。目前的研究证据表明,对免疫治疗具有预测作用的指标中,最令人信服的是程序性死亡配体-1(programmed death ligand-1, PD-L1)在肿瘤细胞上的免疫组化表达,但其预测价值有限且不稳定<sup>[3]</sup>。其他免疫治疗生物标志物,如肿瘤突变负荷(tumor mutational burden, TMB)、错配修复(mismatch repair, MMR)和微卫星不稳定性(microsatellite instability, MSI)等虽已应用于部分肿瘤类型,但仍存在一定的误差以及局限性<sup>[4-5]</sup>。基于肿瘤微环境的免疫分型可能具有更为精准的免疫治疗疗效预测价值。Chen 等<sup>[6]</sup>在抗程序性死亡受体 1(programmed death protein 1, PD-1)/PD-L1 治疗的基础上提出三种免疫分型(免疫炎症型、免疫豁免型、免疫沙漠型),为肿瘤免疫治疗时代的临床治疗和研究提供了有价值的指导。虽然上述分型已被普遍接受,但定量数据却很少,且研究显示其并不能解释所有肿瘤类型的免疫治疗疗效<sup>[7]</sup>。因此,本研究在三种免疫分型的基础上,根据不同免疫细胞在肿瘤微环境中的浸润位置和密度进一步进行更为准确的免疫分型,以期 NSCLC 免疫治疗的疗效预测提供一定的思路。

## 1 资料与方法

**1.1 研究资料** 收集我院病历系统中 2013 年 1 月至 2015 年 12 月经病理检查确诊为 NSCLC 的 46 例患者的手术病理样本,分期为 I-IIIb 期,均接受根治性手术治疗,追踪无病生存期(disease-free survival, DFS)及总生存期(overall survival, OS)等预后相关参数,随访资料完整,随访时间截至 2019 年 1 月 1 日。取患者的手术切除肿瘤组织蜡块,切片备用,进行免疫组化检测。本研究已通过医院伦理委员

会批准,所有患者均签署知情同意书。

**1.2 纳入和排除标准** 纳入标准:①经病理学检查首次确诊为 NSCLC,基线检查资料完整;②接受过手术治疗,病理组织标本完整。

排除标准:①年龄>75 岁或<18 岁,合并心力衰竭、肝肾功能衰竭、严重糖尿病;②有精神分裂病史;③患者此前已进行放、化疗,既往有其他恶性肿瘤史或术后病理提示肺部肿瘤系转移瘤;④术后住院期间死亡;⑤特殊人群,如妊娠期和哺乳期妇女等。

**1.3 研究方法** 免疫组化染色参照文献<sup>[8]</sup>方法进行。将组织蜡块切片,厚度 4 μm,45 °C 恒温箱烘干,室温下放置 60 min,使用二甲苯进行脱链烷化,并使用较低梯度浓度的乙醇溶液进行水化。使用热诱导的表位修复进行抗原修复,置于 pH=6 的修复缓冲液中煮沸,冷却后勾画组织范围。滴加 3% 过氧化氢去除内源性过氧化物酶,置于 37 °C 恒温箱中 10 min,缓冲液冲洗。分别滴加一抗 CD20、CD3、CD8、Foxp3、CD68、CD163、PD-1 和 PD-L1(福州迈新生物技术开发有限公司),置于 37 °C 恒温箱中 1 h,缓冲液冲洗。滴加二抗,置于 37 °C 恒温箱中 20 min,缓冲液冲洗。DAB 显色复染,酒精脱水后封片,显微镜下观察。

**1.4 结果判定** CD20 主要标记 B 细胞,CD3 主要标记 T 淋巴细胞,CD8 主要标记细胞毒性 T 细胞,Foxp3 主要标记调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg),CD68 主要标记巨噬细胞的胞质,CD163 主要标记 M2 型巨噬细胞。以黄褐色、棕黄色颗粒或着色深于背景者判定为阳性染色细胞。

数据采集与整理:先于低倍镜(SP×100)下观察整个切片,选择肿瘤区域,再移至高倍镜(SP×400)区域,分别观察左上、左下、右上、右下四个区域的癌巢及其间质表达情况,并采集图片。分别计数癌巢和间质区域内的免疫细胞;为避免取样误差,数据均来源于肿瘤中心区域;癌巢(nest,简写为 n)定义为:不含血管和纤维组织的肿瘤细胞聚集区;间质(mesenchyme,简写为 m)定义为:围绕(或支撑)肿

瘤细胞的组织,间质内可有个别散在肿瘤细胞;对同一样本的异质区分别统计。分别计算四个区域内癌巢中阳性细胞占细胞总数的百分比、间质中阳性细胞占细胞总数的百分比,并计算四个区域内癌巢/间质百分比的平均值。

**1.5 质量控制** 严格按照纳入标准选择研究对象,研究开始前对研究人员进行集中培训,研究阶段由 3 名病理学专业人员同时独立阅片,及时整理患者的病案资料,并核对信息的准确性和完整性。

**1.6 统计学方法** 采用 SPSS 17.0 统计学软件进行数据分析,患者分组以及免疫组化指标的降维采用聚类分析,组间两两比较采用 *t* 检验,预测模型的建立采用 Fisher 判别法,生存分析采用 Kaplan-Meier 法。 $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 患者分组及预后** 聚类分析是在没有先验知识的前提下分析每个患者的特征数据,按照其在性质上的差异程度进行自动分组<sup>[9]</sup>。通过平均欧式聚类分析,将 46 例患者分为两组:一组为 8 例,二组为 38 例。中位随访时间为 3 年。一组患者中位 DFS 为 14.33 (3.80 ~ 24.87) 个月,二组患者中位 DFS 为 25.84 (21.56 ~ 31.13) 个月,差异具有统计学意义 ( $P = 0.015$ ) (图 1)。一组患者中位 OS 为 16.00 (3.70 ~ 28.30) 个月,二组患者中位 OS 为 28.70 (24.92 ~ 32.47) 个月,差异具有统计学意义 ( $P = 0.021$ ) (图 2)。基于以上结果,经常规治疗后二组的预后优于一组。

**2.2 免疫组化指标选取** 通过质心-余弦相关性系统聚类分析(图 3),对 46 例患者的 16 个免疫组化指标及相应近似值进行分析。mCD163 与 mCD68 相似系数为 0.820, nCD163 与 nCD68 相似系数为 0.711;

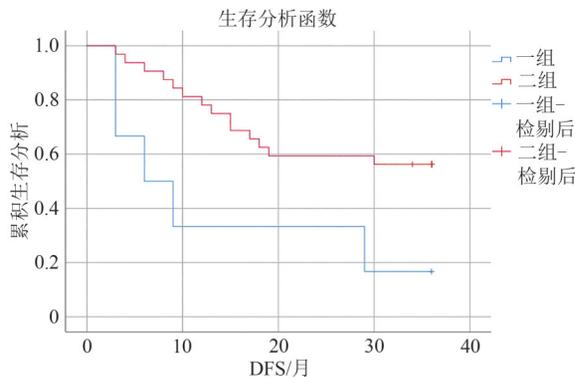


图 1 两组患者 DFS 生存曲线  
Fig. 1 The DFS curve of patients in the two groups

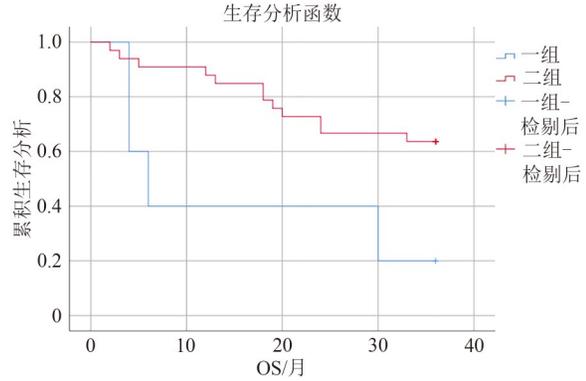


图 2 两组患者 OS 生存曲线  
Fig. 2 The OS curve of patients in the two groups

mCD3 与 mCD8 相似系数为 0.766, nCD3 与 nCD8 相似系数为 0.534; mCD20 与 mPD-L1 相似系数为 0.683, nCD20 与 nPD-L1 相似系数为 0.686; nPD-1 与 mPD-1 相似系数为 0.764; nFoxp3 与 mFoxp3 相似系数为 0.653; 以上 8 对变量的相似程度均较高,性质非常接近,可视为一类指标。通过以上聚类分析,我们将 16 个变量降维至 8 个。

**2.3 16 个变量的 *t* 检验** 两组变量 *t* 检验结果判读: 方差齐性显著性  $< 0.05$  时,记录其 *t* 值及 *P* 值;显著性  $> 0.05$  时,记录方差不齐时的 *t* 值及 *P* 值。nPD-L1 ( $P = 0.000$ )、mCD3 ( $P = 0.015$ )、mPD-1 ( $P = 0.015$ )、nPD-1 ( $P = 0.025$ ) 的相应 *t* 检验有统计学意义(图 4)。对比两组患者的数据差异,纳入有统计学意义的指标,结合聚类分析降维结果,最终获得主要影响两组数据差异的变量,即 nCD8、nCD163、nFoxp3、nPD-L1、mCD3、mCD163、mPD-1。

**2.4 NSCLC 免疫治疗疗效预测模型的建立** 利用以上 7 个免疫指标统计数值建立预测模型,得到 Fisher 判别函数  $Y = 4.575X_1 - 3.341X_2 - 9.705X_3 + 7.197X_4 - 2.324X_5 - 1.331X_6 - 4.854X_7 - 0.624$  ( $X_1$ : nCD8;  $X_2$ : nCD163;  $X_3$ : nFoxp3;  $X_4$ : nPD-L1;  $X_5$ : mCD3;  $X_6$ : mCD163;  $X_7$ : mPD-1)。判别函数预测组与实际分组几乎完全一致(仅 1 例误判)。将两组以上指标的平均值(表 1)代入判别函数,可得  $Y(1) = 4.57586$ 、 $Y(2) = -0.963665$ ,进而可得临界值  $Y_m(1, 2) = 1.8061$ 。将临界值以上设为“1 组”,临界值以下设为“2 组”,经常规治疗后 1 组的预后较 2 组差。

进一步分析两组的肿瘤免疫微环境差异,得出 1 组特点: CD8<sup>+</sup>T 细胞等组织细胞中均无 PD-1 表达,而肿瘤细胞中 PD-L1 高表达,间质和癌巢中的 M2 型巨噬细胞、CD8<sup>+</sup>T 细胞、CD4<sup>+</sup>T 细胞、B 细胞可

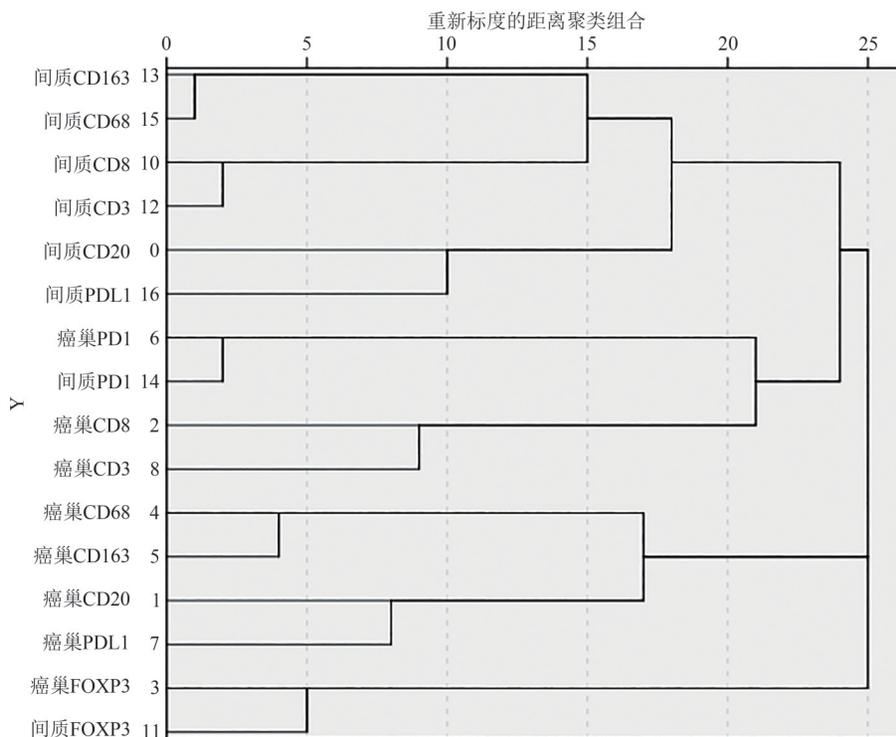
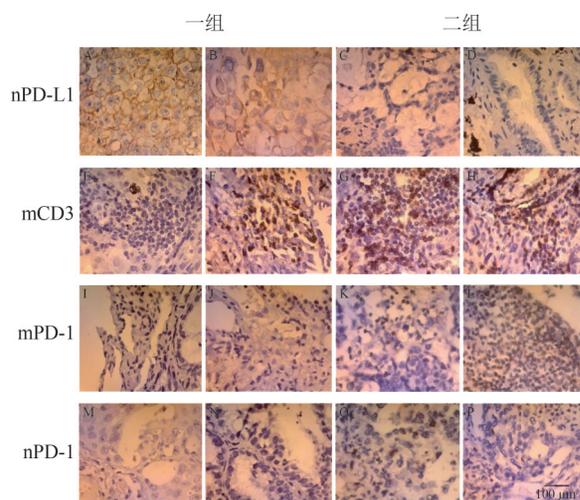


图3 16个变量聚类分析

Fig. 3 Cluster analysis of 16 variables



注：一组(A、B)nPD-L1阳性率明显高于二组(C、D)；二组(G、H)mCD3阳性率明显高于一组(E、F)；一组mPD-1阴性(I、J)，二组mPD-1少部分阳性(K、L)；一组nPD-1阴性(M、N)，二组nPD-1少部分阳性(O、P)。Bar=100 μm。

Note: The positive rate of nPD-L1 in group 1 (A, B) was significantly higher than that in group 2 (C, D); The positive rate of mCD3 in group 2 (G, H) was significantly higher than that in group 1 (E, F); The mPD-1 was negative in group 1 (I, J), and a small part of mPD-1 in group 2 was positive (K, L); The nPD-1 was negative in group 1 (M, N), and a small part of nPD-1 in group 2 was positive (O, P). Bar=100 μm.

图4 两组t检验有统计学意义的免疫组化染色结果(SP×400)

Fig. 4 The immunohistochemical staining results of the indexes with statistical significance by t test in the two groups (SP×400)

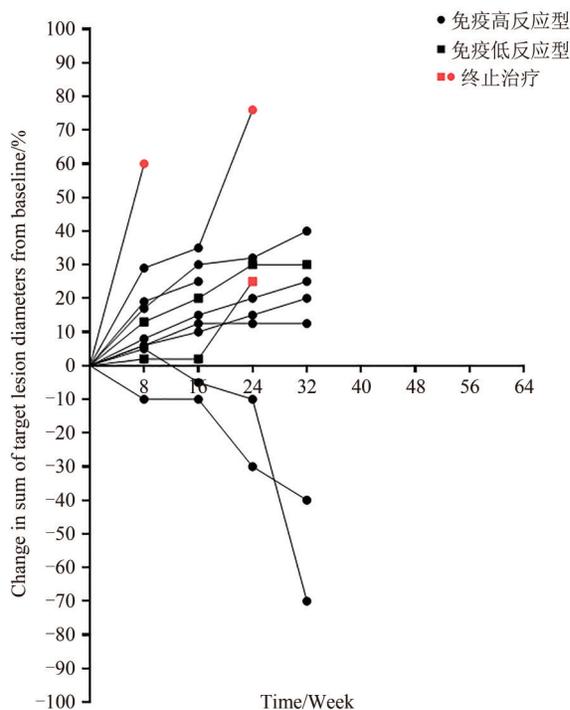
明显表达PD-L1,显示肿瘤微环境处于明显的免疫抑制状态,且免疫细胞未发生免疫应答;2组特点:肿瘤细胞中PD-L1阳性表达率显著低于1组,B细胞及M1型巨噬细胞均可表达PD-1;癌巢和间质中的CD8<sup>+</sup>T细胞均可表达PD-1,表明肿瘤微环境处于免疫激活状态。据此,我们将两组分别命名为免疫低反应型(1组)和免疫高反应型(2组)。

**2.5 免疫治疗疗效预测模型的初步探索** 收集我院病历系统中2019年1月至2019年6月经病理确诊为NSCLC的11例患者的病理样本,该11例患者中不包括既往预测模型建立所选择的46例患者,病理分期为IV期,均接受免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitor, ICI)单药二线治疗,追踪患者肿瘤直径变化情况,相关随访资料完整,随访截止时间为2020年1月1日。基于组织切片中CD8、CD3、CD163、Foxp3、PD-1、PD-L1的表达情况,运用判别公式对11例患者进行免疫分组。其中免疫低反应型2例,PD-L1肿瘤细胞阳性比例分数(tumor proportion score, TPS)≥50%;免疫高反应型9例,5例PD-L1 TPS<1%、3例1%~49%、1例≥50%。使用ICIs后,2例免疫低反应型患者肿瘤直径均较基线水平有所增加;免疫高反应型患者中,2例肿瘤直径较基线水平有所下降,PD-L1 TPS<1%、≥50%各1例,1例

表 1 7 个免疫指标的平均值  
 Tab. 1 Mean of 7 immune indexes

变量	nCD8	nCD163	nFoxp3	nPD-L1	mCD3	mCD163	mPD-1
X <sub>1</sub>	0.022 88	0.080 63	0.007 63	0.815 75	0.133	0.092 63	0
X <sub>2</sub>	0.026 68	0.044 237	0.002 82	0.100 76	0.305 105	0.163 74	0.017 47

无明显变化,6 例较前有所增大,11 例患者中 3 例因肿瘤进展而终止治疗(图 5)。PD-L1 TPS $\geq$ 50% 的患



注:肿瘤评价的 11 例患者中,有 3 例因肿瘤进展终止治疗,1 例仅进行 2 次评价,其余 7 例已进行 4 次评价。

Note: Among the 11 patients undergoing tumor evaluation, 3 patients were terminated for therapy due to tumor progression, 1 patient received only 2 evaluations, and the remaining 7 patients received 4 evaluations.

图 5 11 例患者原发肿瘤直径随时间的变化图

Fig. 5 Changes of primary tumor diameter over time in 11 patients

者 ICI 治疗有效率仅为 33.3%,而利用免疫治疗疗效预测模型可判断,免疫高反应型的近期有效率高于免疫低反应型,且准确性更高。

### 3 讨论

肿瘤微环境是由不同类型细胞组成的复杂生态系统,其中免疫细胞在肿瘤控制和治疗反应中起着重要作用。例如,CD8<sup>+</sup> T 细胞是主要的抗肿瘤免疫细胞,可特异性识别并杀灭肿瘤细胞<sup>[10]</sup>。但是,免疫细胞也可发挥免疫抑制功能,促进肿瘤的进展

和免疫逃逸,例如 Tregs<sup>[11]</sup>。因此,对不同类型的肿瘤浸润免疫细胞进行定量分析,可明确抗肿瘤免疫反应的潜在机制,并可能有助于评估抗肿瘤治疗的免疫原性,最终指导免疫治疗。

以 ICI 为代表的免疫治疗已成为晚期 NSCLC 的标准一线治疗方案。随着免疫治疗在临床中的重要性逐渐提高,如何明确 NSCLC 免疫治疗的获益人群,以及如何评估免疫治疗的疗效,还需进一步探索。Chen 等<sup>[6]</sup>根据肿瘤微环境的 T 细胞浸润情况,将肿瘤分为免疫炎症型、免疫豁免型、免疫沙漠型,并认为免疫炎症型属于热肿瘤,对免疫治疗有较好的应答。但杨鹤玲等<sup>[12]</sup>认为,该分型方法并不能很好地判断患者预后,也可能无法准确判断免疫系统对肿瘤的应答。本研究发现,影响肿瘤免疫微环境的细胞类型主要包括 Tregs、CD3<sup>+</sup> T 细胞、CD8<sup>+</sup> T 细胞、M2 型巨噬细胞,与既往相关研究结果一致<sup>[13]</sup>。根据病灶内 Tregs、CD3<sup>+</sup> T 细胞、CD8<sup>+</sup> T 细胞、M2 型巨噬细胞的占比构建函数公式,将 NSCLC 患者分为免疫低反应型和免疫高反应型,发现两组预后有明显区别( $P < 0.05$ ),表明肿瘤免疫微环境与 NSCLC 的预后密切联系。

Garon 等<sup>[2]</sup>研究显示,PD-L1 TPS $<$ 1%,1%~49%, $\geq$ 50% 的患者免疫治疗有效率分别为 8.1%,19.0% 及 46.8%。本研究中,PD-L1 TPS $\geq$ 50% 的患者使用 ICI 单药二线治疗的有效率仅 33.3%,因此需要提高预测的准确性。我们依据构建的函数公式开展前瞻性小样本研究,发现无论免疫低反应型患者 PD-L1 表达水平如何,ICI 的疗效均较差;而免疫高反应型患者即使 PD-L1 表达水平低,仍能从 ICI 治疗中获得较好的近期效果,故初步认为 ICI 对免疫高反应型的近期有效率较免疫低反应型更高。

多个指标联合可提高免疫治疗的预测效能,较 PD-L1 单独检测具有更高的准确性<sup>[14]</sup>。目前已有研究采用多个指标联合来构建 NSCLC 免疫治疗疗效预测模型。Mezquita 等<sup>[15]</sup>分析了 161 例接受 ICI 治疗的 NSCLC 患者的数据,在衍生粒淋比和乳酸脱氢酶的基础上生成肺免疫预后指数(lung immune

prognostic index, LIPI), 结果显示其与免疫治疗预后相关。Kazandjian 等<sup>[16]</sup>对 3 987 例 NSCLC 患者进行了 17 项随机试验,亦得出了类似结论。但这些研究主要在欧美人群中开展,而中国人群与欧美人群存在明显差异,因此有必要在中国人群中寻找有效的免疫治疗生物标志物。Chai 等<sup>[17]</sup>在既往研究基础上纳入吸烟指数、肝转移、体力状态评分、治疗线数四个临床病理特征以及 C 反应蛋白、CYFRA21-1 基线水平两个血清指标,建立预测模型,初步取得了中国人群中使用 ICI 治疗的晚期 NSCLC 患者的 OS 预测结果。但以上研究仅关注临床病理特征和常规血清指标对 ICI 治疗 NSCLC 的预后的影响,而利用免疫组化方法对肿瘤微环境进行分析,较传统检测手段的免疫治疗疗效预测效果可能更好<sup>[18]</sup>。Chen 等<sup>[19]</sup>通过回顾性分析肺腺癌患者的肿瘤微环境免疫细胞浸润模式,提出了 ICI 疗效预测模型,较 TMB 及 MSI 能更准确地预测免疫治疗的优势人群,但该研究缺乏外部队列来进一步验证该模型的效能。既往研究虽纳入了更多的样本量建立预测模型,但本研究的优势在于它是基于中国 NSCLC 患者的肿瘤微环境,包含了目前预测免疫治疗疗效最常用的 PD-L1,同时纳入了更多免疫细胞的浸润特点,如 T 细胞、B 细胞、巨噬细胞等,构建了 NSCLC 免疫治疗疗效预测模型,并通过少量 NSCLC 患者的疗效验证,发现其较 PD-L1 检测具有更准确的近期预测效能。

基于肿瘤微环境的特点探索免疫治疗疗效预测生物标志物,开始于免疫评分的研究。通过分析相同分期的结直肠癌患者肿瘤微环境内免疫细胞的类型,发现免疫细胞的密度和位置较 TNM 分期更能准确判断患者的预后<sup>[20]</sup>。这一研究促使了免疫评分的出现。免疫评分依赖于肿瘤微环境中 T 细胞的浸润情况,任何直接或间接影响该过程的机制都可能对评分系统产生影响<sup>[21]</sup>。而进一步区分免疫细胞所在的位置,如癌巢或间质,可以更好地了解肿瘤微环境,进而预测肿瘤患者的预后<sup>[22]</sup>。本研究通过对肿瘤微环境免疫细胞构成比进行分析,提取影响肿瘤微环境的主要细胞,即 Tregs、CD3<sup>+</sup> T 细胞、CD8<sup>+</sup> T 细胞、M2 型巨噬细胞,发现 Tregs 在癌巢和间质中的占比均较低,且未观察到其表达 PD-1 或 PD-L1。既往研究认为,Tregs 是某些肿瘤患者对 ICI 无反应的潜在原因<sup>[23]</sup>。不论癌巢还是间质中,两组 CD8<sup>+</sup> T 细胞的数量均无显著差异,但免疫低反应型患者癌巢中 CD3<sup>+</sup> T 细胞的数量显著高于免疫高反

应型,而免疫高反应型患者间质中 CD3<sup>+</sup> T 细胞的数量显著高于免疫低反应型。由于 T 细胞共同表达 CD3,而 CD4 标记辅助性 T 淋巴细胞,CD8 标记细胞毒性 T 细胞,说明 CD4<sup>+</sup> T 细胞在免疫低反应型癌巢和免疫高反应型间质中的数量明显增加。由于肿瘤免疫中肿瘤细胞新生抗原主要被 CD8<sup>+</sup> T 细胞识别,故 CD4<sup>+</sup> T 细胞往往易被忽略<sup>[24]</sup>。本研究观察到 CD4<sup>+</sup> T 细胞在 NSCLC 病理组织中大量存在,因此,深入研究 CD4<sup>+</sup> T 细胞在肿瘤免疫应答中的机制势在必行。肿瘤病灶内的巨噬细胞主要表现为 M2 极化特征,同时具有组织修复、细胞外基质重塑以及释放促血管生成因子的能力<sup>[25]</sup>。因此,更加细致地勾画肿瘤微环境的免疫图谱,有助于更好地指导临床开展免疫治疗。

综上所述,肿瘤免疫微环境与患者预后密切相关,本研究建立的 NSCLC 免疫治疗疗效预测模型可能为 NSCLC 免疫治疗预测提供了新的方法,也为进一步建立其他肿瘤的免疫治疗疗效预测模型奠定了基础。同时,本研究尚存在以下不足:①由于当时的治疗方式以及经济条件限制,并未利用已接受免疫治疗的 NSCLC 患者建立预测模型,不能排除免疫治疗引起的肿瘤微环境改变。②由于当时检测平台的限制,进行 PD-L1 检测时并未使用目前 FDA 批准的四类试剂(22C3、28-8、SP142、SP263),PD-L1 检测结果可能存在一致性差异<sup>[26]</sup>。③本研究为单中心研究,初步验证的病例数相对较少,未来将纳入更多的样本量进一步验证。我们也将后续研究中完善以上不足,为进一步探索两种免疫分型对于 ICI 治疗疗效的预测价值。

## 参考文献

- [1] 白玉君,魏玉春,袁双虎. 2019 年非小细胞肺癌放疗进展[J]. 肿瘤综合治疗电子杂志, 2020, 6(2): 90-95. DOI: 10.12151/JMCM.2020.02-12.
- [2] GARON E B, RIZVI N A, HUI R N, et al. Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer [J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(21): 2018-2028. DOI: 10.1056/NEJMoa1501824.
- [3] CHAE Y K, PAN A L, DAVIS A A, et al. Biomarkers for PD-1/PD-L1 blockade therapy in non-small-cell lung cancer: is PD-L1 expression a good marker for patient selection? [J]. *Clin Lung Cancer*, 2016, 17(5): 350-361. DOI: 10.1016/j.clcc.2016.03.011.
- [4] DUDLEY J C, LIN M T, LE D T, et al. Microsatellite instability as a biomarker for PD-1 blockade [J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(4): 813-820. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-1678.
- [5] AGGARWAL C, THOMPSON J C, CHIEN A L, et al. Baseline plasma tumor mutation burden predicts response to pembrolizumab-based therapy in patients with metastatic non-small cell lung

- cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(10): 2354–2361. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-19-3663.
- [6] CHEN D S, MELLMAN I. Elements of cancer immunity and the cancer-immune set point [J]. *Nature*, 2017, 541(7637): 321–330. DOI: 10.1038/nature21349.
- [7] TURAJLIC S, LITCHFIELD K, XU H, et al. Insertion-and-deletion-derived tumour-specific neoantigens and the immunogenic phenotype: a pan-cancer analysis [J]. *Lancet Oncol*, 2017, 18(8): 1009–1021. DOI: 10.1016/S1470-2045(17)30516-8.
- [8] DJUREINOVIC D, HALLSTRÖM B M, HORIE M, et al. Profiling cancer testis antigens in non-small-cell lung cancer [J]. *JCI Insight*, 2016, 1(10): e86837. DOI: 10.1172/jci.insight.86837.
- [9] 薛薇, 陈欢歌. *Clementine 数据挖掘方法及应用*[M]. 北京: 电子工业出版社, 2010.
- [10] CHEN D S, MELLMAN I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle [J]. *Immunity*, 2013, 39(1): 1–10. DOI: 10.1016/j.immuni.2013.07.012.
- [11] FINOTELLO F, TRAJANOSKI Z. New strategies for cancer immunotherapy: targeting regulatory T cells [J]. *Genome Med*, 2017, 9(1): 10. DOI: 10.1186/s13073-017-0402-8.
- [12] 杨鹤玲, 刘宇, 徐强, 等. 原发性肺癌免疫微环境与预后关系探讨[J]. *肿瘤药学*, 2020, 10(3): 334–338. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2020.03.13.
- [13] FINOTELLO F, TRAJANOSKI Z. Quantifying tumor-infiltrating immune cells from transcriptomics data [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2018, 67(7): 1031–1040. DOI: 10.1007/s00262-018-2150-z.
- [14] RIZVI H, SANCHEZ-VEGA F, LA K, et al. Molecular determinants of response to anti-programmed cell death (PD)-1 and anti-programmed death-ligand 1 (PD-L1) blockade in patients with non-small-cell lung cancer profiled with targeted next-generation sequencing [J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(7): 633–641. DOI: 10.1200/JCO.2017.75.3384.
- [15] MEZQUITA L, AUCLIN E, FERRARA R, et al. Association of the lung immune prognostic index with immune checkpoint inhibitor outcomes in patients with advanced non-small cell lung cancer [J]. *JAMA Oncol*, 2018, 4(3): 351–357. DOI: 10.1001/jamaoncol.2017.4771.
- [16] KAZANDJIAN D, GONG Y T, KEEGAN P, et al. Prognostic value of the lung immune prognostic index for patients treated for metastatic non-small cell lung cancer [J]. *JAMA Oncol*, 2019, 5(10): 1481–1485. DOI: 10.1001/jamaoncol.2019.1747.
- [17] CHAI R, FAN Y X, ZHAO J Y, et al. Prognostic nomogram on clinicopathologic features and serum indicators for advanced non-small cell lung cancer patients treated with anti-PD-1 inhibitors [J]. *Ann Transl Med*, 2020, 8(17): 1078. DOI: 10.21037/atm-20-4297.
- [18] LU S, STEIN J E, RIMM D L, et al. Comparison of biomarker modalities for predicting response to PD-1/PD-L1 checkpoint blockade: a systematic review and meta-analysis [J]. *JAMA Oncol*, 2019, 5(8): 1195–1204. DOI: 10.1001/jamaoncol.2019.1549.
- [19] CHEN D L, WANG Y F, ZHANG X, et al. Characterization of tumor microenvironment in lung adenocarcinoma identifies immune signatures to predict clinical outcomes and therapeutic responses [J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 581030. DOI: 10.3389/fonc.2021.581030.
- [20] MLECNIK B, TOSOLINI M, KIRILOVSKY A, et al. Histopathologic-based prognostic factors of colorectal cancers are associated with the state of the local immune reaction [J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(6): 610–618. DOI: 10.1200/JCO.2010.30.5425.
- [21] YOON H H, SHI Q, HEYING E N, et al. Intertumoral heterogeneity of CD3 + and CD8 + T-cell densities in the microenvironment of DNA mismatch-repair-deficient colon cancers: implications for prognosis [J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(1): 125–133. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-1984.
- [22] CHURCH S E, GALON J. Regulation of CTL infiltration within the tumor microenvironment [M]//*Advances in Experimental Medicine and Biology*. Cham: Springer International Publishing, 2017: 33–49. DOI: 10.1007/978-3-319-67577-0\_3.
- [23] RIZVI N A, HELLMANN M D, SNYDER A, et al. Cancer immunology. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer [J]. *Science*, 2015, 348(6230): 124–128. DOI: 10.1126/science.aaa1348.
- [24] BORST J, AHRENDTS T, BABAŁA N, et al. CD4 + T cell help in cancer immunology and immunotherapy [J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18(10): 635–647. DOI: 10.1038/s41577-018-0044-0.
- [25] MANTOVANI A, MARCHESI F, MALESCI A, et al. Tumour-associated macrophages as treatment targets in oncology [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2017, 14(7): 399–416. DOI: 10.1038/nrclinonc.2016.217.
- [26] LLOYD I E, ZHOU W H, WITT B L, et al. Characterization of PD-L1 Immunohistochemical Expression in Cell Blocks With Different Specimen Fixation and Processing Methods [J]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2019, 27(2): 107–113. DOI: 10.1097/PAI.0000000000000572.

收稿日期:2021-01-19 校稿:李征 王娟

本文引用格式: 曾政, 杨鹤玲, 刘宇, 等. 基于肿瘤微环境建立 NSCLC 免疫治疗疗效预测模型及其初步探索[J]. *肿瘤药学*, 2022, 12(2): 208–214. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2022.02.11.

Cite this article as: ZENG Zheng, YANG Heling, LIU Yu, et al. Establishment of prediction model of NSCLC immunotherapy efficacy based on tumor microenvironment and its preliminary exploration [J]. *Anti-tumor Pharmacy*, 2022, 12(2): 208–214. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2022.02.11.