

液态活检在 PD-1/PD-L1 抑制剂精准用药中的应用前景

王月华, 孙梦琦, 胡志远*

国家纳米科学中心, 北京 100190

* 联系人, E-mail: huzy@nanoctr.cn

2018-08-18 收稿, 2018-09-28 修回, 2018-10-14 接受, 2018-11-21 网络版发表

摘要 近年来, 精准医疗的液体活检技术已被广泛用于癌症早期筛查、辅助诊断、疗效监测以及药物疗效预测等领域. 液态活检的非侵入性、实时性、可以反复取样以及可动态监测肿瘤进程等优势使其成为目前最具发展潜力的诊疗手段之一. 与此同时, 作为肿瘤治疗新的革命性技术, 免疫治疗尤其是免疫检查点治疗模式发展迅猛, 多个PD-1/PD-L1抑制剂在肺癌、肝癌、黑色素瘤等十几个癌种中迅速得到临床批准. 如何提高PD-1/PD-L1抑制剂的疗效, 对疗效进行精准预测和动态监测成为临床界最关注的问题. 本文围绕循环肿瘤细胞、循环肿瘤DNA(ctDNA)和外泌体等几种液体活检主要技术在肿瘤免疫治疗中的应用前景进行综述.

关键词 液体活检, 免疫检查点, 循环肿瘤细胞, 免疫治疗

当今社会, 由于人口老龄化、生活方式和生存环境等多种因素的影响, 癌症已成为全社会日益关注的焦点问题. 据世界卫生组织的数据^[1], 全球范围内有1/6的人口死亡是由于罹患癌症, 同时有1/2的人群会在整个生命周期中出现不同种类的肿瘤. 癌细胞是人体内基因发生异常突变的细胞, 传统的临床诊断方法是通过手术或侵入性穿刺来获取肿瘤的部分组织, 进而对病人的肿瘤类型和分子标记进行分析和判断^[2]. 然而, 这种方法不仅使患者承受巨大痛苦, 而且肿瘤组织异质性容易造成取样结果的偏移, 特别是重复组织活检和实时动态检测由于取样困难而几乎不可能实现^[3]. 因此, 无创的液态活检技术的出现, 能够通过多次体液的检测生物标记物揭示肿瘤的发生、发展和分子靶标, 为临床治疗提供很好的指导.

1 液态活检的发展

作为传统组织活检的替代和补充技术以及多种癌症早期筛查的新技术, 液态活检通过非侵入性的血液取样方式检测肿瘤来源的生物标志物, 包括循

环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTC)、循环肿瘤DNA(cell-free circulating tumor DNA, ctDNA)以及外泌体(exosomes)^[4], 从而获得肿瘤病变信息用于肿瘤的早期筛查诊断、靶向用药预测、疗效动态监测、耐药分析和预后评估等, 是当代“精准医疗”体系中具有代表性的诊断技术^[5]. CTC是指存在于外周血中的各类肿瘤细胞的统称^[6], 其通过从原发或转移肿瘤组织脱落至血管中进入血循环, 其中少数细胞能够克服自身及血液循环中各种因素的杀伤作用, 存活并且能够顺利完成侵袭转移, 导致疾病的进展. CTC技术的发展历程和临床认可过程如图1所示. ctDNA是由肿瘤细胞释放到血浆中的单链或者双链DNA^[7], 携带有与原发肿瘤组织相一致的分子遗传学改变. 有研究表明: ctDNA检测作为一种无创的检测方法, 能够反映实体瘤组织中的基因突变图谱与频率, 是治疗效果的评估及治疗后临床随访的重要监测指标^[8]. 外泌体是指存在于人类体内的小细胞外囊泡^[9], 并含有源自其肿瘤细胞的DNA, RNA和蛋白质. 与前2种的液体活检方法相比, 富集相关肿瘤标志物

引用格式: 王月华, 孙梦琦, 胡志远. 液态活检在 PD-1/PD-L1 抑制剂精准用药中的应用前景. 科学通报, 2018, 63: 3706–3712

Wang Y H, Sun M Q, Hu Z Y. Prospect of liquid biopsy application for precise medication of PD-1/PD-L1 inhibitor (in Chinese). Chin Sci Bull, 2018, 63: 3706–3712, doi: 10.1360/N972018-00859

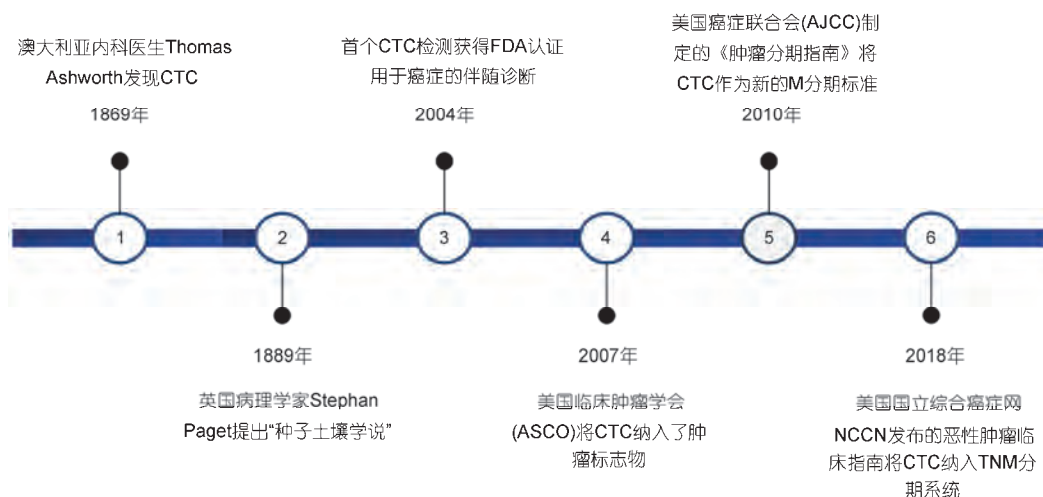


图1 CTC技术的研究发展过程

Figure 1 Development of CTC technology

的肿瘤外泌体提供了更灵敏的诊断方法。由于液体活检的非侵入性、实时性、可以反复取样以及可动态监测肿瘤进程等优势，引起了临床工作者的广泛关注。已经通过美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)认证的液体活检技术有CTC和ctDNA^[10]。

2 PD-1/PD-L1肿瘤免疫治疗的生物标记物

肿瘤免疫治疗近年来备受关注，是肿瘤治疗领域的最大进展，代表性的药物即为PD-1/PD-L1抑制剂^[11]。目前PD-1/PD-L1抑制剂已经在FDA获批多个适应症，分别是恶性黑色素瘤、非小细胞肺癌、肾细胞癌、经典型霍奇金淋巴瘤、尿路上皮癌、结直肠癌、胃癌和肝癌等^[12]。在正常机体中，PD-L1(programmed cell death-Ligand 1，程序性死亡受体-配体1)是一种表达于细胞表面的蛋白，又称B7-H1蛋白。它可以与效应T细胞上的PD-1蛋白(programmed death 1，程序性死亡受体-1)相结合，传导免疫抑制信号，抑制免疫效应T细胞的活性^[13]。PD-L1在肿瘤细胞表面的表达是肿瘤逃脱免疫细胞攻击的物质基础和预后不良的标记物。

PD-1/PD-L1免疫疗法(immunotherapy, IO)是当前全世界备受瞩目、广为研究的新一类抗癌免疫疗法，旨在利用人体自身的免疫系统进攻抗击癌症，通过阻断PD-1/PD-L1信号通路激活被抑制的免疫细胞，使癌细胞受到免疫细胞打击，具有治疗多种类型肿瘤的潜力，多项临床试验证明能够实质性改善患者

总生存期。如此诱人的医疗价值和商业前景，各大制药巨头展开了激烈的竞赛，包括国外的默沙东、百时美施贵宝、阿斯利康、罗氏和国内的恒瑞、信达等。百时美施贵宝的PD-1抑制剂(Opdivo)^[14]于2014年7月在日本获得批准，成为全球批准的首个PD-1抑制剂。默沙东的Keytruda于2014年9月初获美国FDA批准，是美国批准的首个PD-1抑制剂，短短4年，Keytruda已在80多个国家获批使用，覆盖了9个瘤种的12个以上适应症，包括黑色素瘤、非小细胞肺癌、头颈癌、霍奇金淋巴瘤、膀胱癌、宫颈癌、胃癌、B细胞淋巴瘤等^[15]。同时，Keytruda于2018年7月和Opdivo于2018年6月正式获得中国国家药品监督管理局审批，用于经一线治疗失败的不可切除或转移性黑色素瘤和晚期肺癌的治疗，标志着中国也正式迈入免疫治疗时代。

人们正在把PD-1/PD-L1免疫疗法用于其他更大范围的肿瘤，目前国际上几百个单药疗法和组合疗法的临床试验正在紧锣密鼓地进行，以充分发掘该类IO药物的最大临床潜力和价值。因为免疫疗法是激活自身的免疫系统，因此具有起效慢的特点，往往需要6个月甚至更长的时间才能真正看到药物的疗效。但是一旦药物起效，作用时效往往也是很长的。因此，对患者进行精准分层，寻找最佳获益人群显得尤为重要。目前的常用生物标记物包括如下几种：

PD-L1伴随诊断(companion diagnostics)是通过药物靶标PD-L1蛋白的表达高低鉴定来筛选对药物的响应者。默沙东公司团队通过利用组织表达

PD-L1>50%标准来鉴定对药物响应的非小细胞肺癌患者,细分患者群体,确定可能获益患者,这一精准医学策略在临床试验和商业推广上大获成功^[16]。但是有研究表明,PD-L1的IHC组织表达在手术标本和粗针穿刺标本中相关性较差,穿刺样品由于样本量稀少和组织分布异质性导致穿刺样品假阴性升高^[17]。

肿瘤突变负荷(tumor mutation burden, TMB)^[18]是全基因组中计入胚系DNA变体后体细胞突变数目。有研究发现,如果肿瘤组织中突变的基因多,激活患者身体免疫系统的可能性就高,从免疫治疗中获益的概率就越大。所以,TMB高突变也是预测使用PD-1抗体有效性的一个重要的生物标志物指标。高TMB可以帮助预测肿瘤免疫治疗在膀胱癌、黑色素瘤病人中的疗效。微卫星不稳定性(MSI)是另外一个标记物。微卫星是我们人体基因中的一小段DNA片段,DNA中的碱基对可能由于丢失或者位置错排导致微卫星形态出现了问题,也就形成了微卫星不稳定性^[19]。

为了比较几种生物标记物的预测效果,韩国Kim等人^[20]对61例接受PD-1抑制剂pembrolizumab的转移性胃癌患者进行了疗效分析和基因检测,将患者按照PD-L1表达、TMB、微卫星不稳定性(MSI-H)以及Epstein-Barr病毒(EBV)这4个类型分类,分析哪类胃癌患者使用pembrolizumab可以获得最大的受益,结果表明在所有客观缓解的13例患者都是PD-L1阳性(灵敏度100%),MSI-H指标可以挑出7例患者,其中6例达到客观缓解(特异性85.7%),TMB的客观缓解率也达到88.9%。该临床试验说明PD-L1,TMB和微卫星不稳定性都可以作为肿瘤免疫治疗的生物指标。

3 液态活检CTC, ctDNA和外泌体在PD-1/PD-L1免疫治疗中的应用

作为全球最大的癌种,肺癌的PD-1抑制剂的应答预测一直以来都是大家最关注的,特别是临床上约40%的患者得不到组织样品,而液体活检CTC使患者PD-L1的实时检测成为可能。意大利罗马第一大学某研究组^[21]近期在*Scientific Reports*发表文章“Monitoring PD-L1 positive circulating tumor cells in non-small cell lung cancer patients treated with the PD-1 inhibitor Nivolumab”。该研究组纳入参与Nivolumab治疗的24名IV期NSCLC患者,采用CellSearch系统利用B7-H1/PD-L1 PE缀合抗体分析CTC。在基线和开始治疗后3和6个月分别对表达

PD-L1的CTC进行评估。在基线和治疗3个月时,发现CTC及其PD-L1的表达与患者不良反应的结果相关。有意思的是,治疗后6个月所有患者外周血中CTC的PD-L1呈阴性患者都获得好的治疗效果,而CTC的PD-L1呈阳性患者的疾病都进展了。这表明持久的PD-L1(阳性)CTC存在能够反映出免疫治疗的逃逸机制。

免疫治疗之所以能发挥良好的抗癌效果,主要依赖于免疫细胞对癌细胞特异性抗原的识别。因此,从理论上讲,那些携带基因突变越多的癌症患者(TMB会比较高),癌细胞产生的新抗原越多,被免疫细胞识别的可能性更高。也就是说,TMB越高,患者或许从免疫治疗中获益越多^[22]。有关非小细胞肺癌一线治疗临床研究CheckMate-227表明,在TMB $\geq$ 10 mut/Mb的晚期非小细胞肺癌患者中,与铂类双联化疗相比,Nivolumab(英文商品名:Opdivo)与低剂量细胞毒性T淋巴细胞抗原-4(CTLA-4)的单克隆抗体Yervoy(又名ipilimumab)联合治疗明显延长了1年的无进展生存率(42.6%和13.2%);无进展生存时间也显著延长(7.2和5.4月)^[23]。这是全球范围内首次在临床试验中证实:非小细胞肺癌患者的TMB高,联合免疫治疗能够使他们的无进展生存期显著获益^[24,25]。近期,Shames与加州大学戴维斯分校综合癌症中心Gandara研究团队^[26]开发了一套在血液中检测TMB的技术方案bTMB,PD-L1抑制剂Tecentriq治疗非小细胞肺癌的临床研究发现,在OAK队列 $\geq$ 16 mut/Mb的人群中,接受Tecentriq免疫治疗的患者的中位总生存期是13.5个月,接受多西他赛治疗的患者的中位总生存期是6.8个月,增加了1倍。这个结果表明bTMB确实能够作为Tecentriq免疫治疗的潜在非侵入性生物标志,bTMB与PD-L1的高表达对PD-L1抗体疗效的预测是相互独立的。这种通过血液检测TMB可以很好地预测患者能否从PD-L1抗体治疗中获益,为后续的临床研究做好了铺垫。但是也应该注意到,TMB的临床获益数据局限在无进展生存期,总生存率的提高并不明显。

现有的诸多免疫疗法是通过抑制PD-1/PD-L1通路,如果免疫T细胞能不被癌细胞蒙蔽双眼,就能保持活性,对癌细胞进行攻击。研究人员期待能够通过简便的血检,在患者的血液中找到“指示”,告诉医生免疫疗法是否起效果。在血液里,研究人员们将注意力集中在了一类叫做“外泌体”的小泡,这类微小的

结构,直径只有红血球的百分之一,从癌细胞上分泌出的外泌体中具有丰富的信号分子,也许就隐藏着关于免疫疗法效果的奥秘.研究人员从接受了抗PD-1疗法治疗的黑色素瘤患者中收集了血液样本,通过液态活检方法能够检测和肿瘤相关的免疫抑制,并了解它随着时间推移会发生怎样的变化^[27].这些科学家意外发现,在黑色素瘤细胞分泌的外泌体表面,竟然有着大量免疫抑制分子PD-L1.由于外泌体在血液中不断循环,外泌体上的PD-L1能结合到免疫T细胞上,并抑制它们的功能^[28].通过分析患者在治疗前后的血液PD-L1水平,肿瘤学家能够预测患者的肿瘤负担,以及治疗的潜在效果.该发现使我们对免疫检查点的作用机制有了全新的理解^[29],今后医生和患者也会不断检测循环外泌体的PD-L1或其他生物标志物水平,密切关注治疗疗效,是精准医学和个体化医疗的又一巨大进步.

在当今精准医学飞速发展的时代,吴一龙研究组^[30]指出过去临床试验的模式都是在研究细胞毒药物的基础上所建立的方法,需要确立药物的有效剂量和最大耐受剂量(MTD)^[31],因而进行3期研究药物,其仅针对特定小部分人群.现在的精准靶向药物的特点和细胞毒药物有很大的不同,其中最大的不同之处在于精准靶向.靶向药物对这类患者有效率高、毒性低.基于这样的认识,吴一龙研究组提出了很多创新的试验设计,如无缝设计、篮子试验等,更符合精准医疗时代的药物开发特性.液态活检的优势在篮子试验中更为显著.

4 液态活检PD-L1表达与疗效预测的相关性的篮子试验

据不完全统计,国内至少已经有10家药厂的PD-1抑制剂(PD-1抗体、PD-L1抗体)进入临床试验或者即将进入临床试验,恒瑞、君实、百济和信达四家是目前推进最快的^[32].近年来,作为液态活检的开路先锋,利用CTC的分子特征反映肿瘤的分子特征,这是大家一直以来关注的问题,也关系到CTC能否在临床上具有越来越大的应用价值.

“PD-L1高表达(PD-L1 ++++)的CTC的比例可用于预测PD-1单药治疗效果”是军事医学科学院徐建明和中国科学院研究团队^[12]针对我国自主研发的PD-1单抗(ICI308) I期临床试验的科研成果(图2).该研究中,共招募了36名接受PD-1单抗ICI308(信达生物)治疗的不同类型晚期消化道肿瘤患者,使用“肿瘤捕手”(北京中科纳泰生物科技有限公司)技术对患者用药前、后分别进行CTC检测,其中35名都可以检测到中位数为8(1~70个)的CTC用于PD-L1蛋白表达水平的评估.该研究团队构建了一套半定量免疫荧光方法用于评估CTC上PD-L1的表达水平,分为PD-L1阳性CTC和PD-L1阴性CTC(图3);同时根据PD-L1表达水平将其分为4个等级:PD-L1表达阴性(PD-L1-),PD-L1低表达(PD-L1 +),PD-L1中表达(PD-L1 ++),PD-L1高表达(PD-L1 ++++).研究结果表明:(1) CTC数目动态变化可用于PD-1疗效评估.研究人员对30例评估合格的患者中,有11例获益(DC),19例发生进

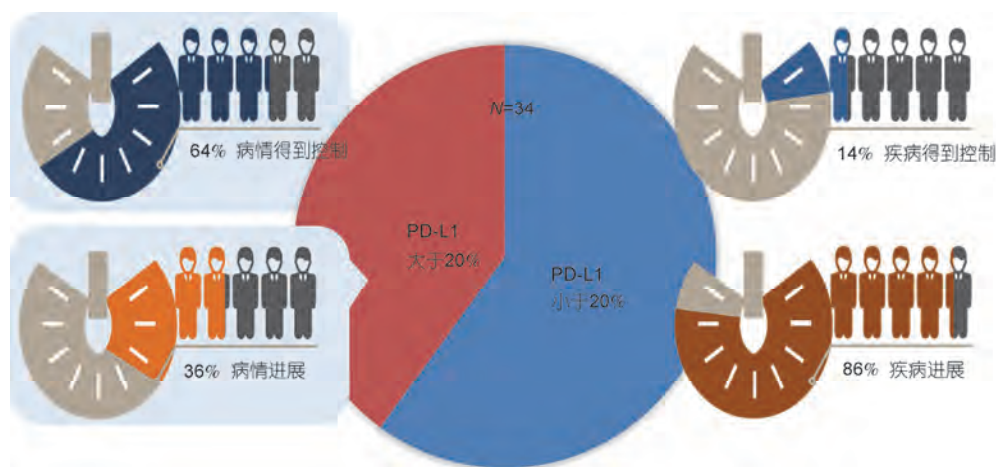


图2 PD-L1高表达可预测消化道(GI)肿瘤免疫治疗疗效

Figure 2 PD-L1+++ CTC ratio predicts the efficacy of PD-1 drugs for GI cancers

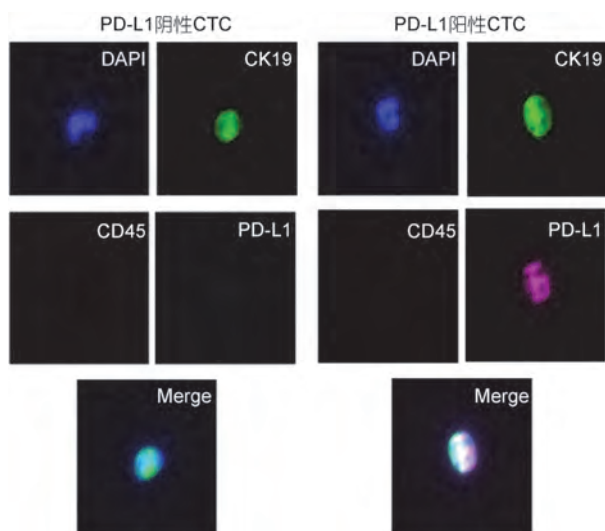


图3 基于CTC的PD-L1 荧光定量分析

Figure 3 CTC-based PD-L1 immunofluorescent assay

展(PD). 在11例获益患者中, 73%的患者CTC数目减少, 而在19例进展患者中, 相应CTC数量升高的患者比例高达89%. (2) 用药前PD-L1 +++ CTC可预测PD-1药物疗效. 用药前检出PD-L1 +++ CTC的21例患者中, 48%对治疗发生响应(disease control, DC), 而在无PD-L1 high CTC的14例患者中, 响应比例只有14%. 研究人员进一步统计了PD-L1高表达的比例(PD-L1 +++比例, PD-L1 +++ CTC/总CTC), 结果发现, 比例 $\geq 20\%$ 的患者响应率高达64%, 而比例 $< 20\%$ 的患者的响应率只有14%, 即外周血中有PD-L1高表达CTC的患者更容易从PD-1药物中获益, 而且这类细胞比例越高, 响应率越高. (3) PD-L1 +++ CTC比例高的患者治疗有着更好的预后. 对于PD-L1 +++比例

$\geq 20\%$ 的患者, 其中位无进展生存期为4.27个月, 而 $< 20\%$ 的患者仅为2.07个月. (4) 与意大利罗马第一大学的结果类似, 治疗后PD-L1 +++ CTC数目的升高提示患者出现耐药机制, 而且进一步证明PD-L1 +++ CTC数目的下降可以提示肿瘤的假进展. 该研究表明, 通过采用高度灵敏的多肽纳米磁珠Pep@MNPs技术进行CTC的捕获^[33,34], 获得足够数量的高纯度CTC用于PD-L1蛋白表达量的评估, PD-L1 +++ CTC的比例对免疫治疗疗效的预测极具价值, 这一预测性标记物的前瞻性研究的结果令人期待.

5 结语

与常规化疗和放疗相比, 由于液态活检的非侵入性、实时性、可以反复取样以及可动态监测肿瘤进程等优势, 引起了临床工作者的广泛关注. 同时, PD-1/PD-L1阻断治疗在一部分患者中产生了持久的抗肿瘤疗效, 已成为肿瘤综合治疗的一个重要部分. 随着精准医疗的不断发展, PD-L1在CTC上的表达检测有可能成为伴随诊断或辅助诊断的标记物, 这将有助于临床医生有效地筛选PD-1/PD-L1治疗的潜在获益患者, 并使精准免疫治疗有了实施可能. 然而液态活检的挑战还是比较大的, CTC富集技术的要求极高, 精准富集一定数量的CTC是必不可少的条件, TMB和bTMB等需要方法学上有更统一的标准, 费用高也阻碍该技术的推广应用. 有关外泌体疗效预测的应用, 目前还没有临床数据, 是未来精准医疗的发展方向, 值得期待. 总而言之, 液态活检技术的飞速发展和新的标志物的不断发现, 将使其在免疫治疗的预测和疗效评价中发挥更大的作用, 必将造福更多的肿瘤患者.

参考文献

- 1 Alixpanabières C, Pantel K. Clinical applications of circulating tumor cells and circulating tumor DNA as liquid biopsy. *Cancer Discov*, 2016, 6: 479–491
- 2 Alixpanabières C, Pantel K. Circulating tumor cells: Liquid biopsy of cancer. *Bull Cancer*, 2013, 59: 17–23
- 3 Koonce N A, Juratli M A, Cai C, et al. Real-time monitoring of circulating tumor cell (CTC) release after nanodrug or tumor radiotherapy using *in vivo* flow cytometry. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 492: 507–512
- 4 Chen Y, Huang J, Zhang S, et al. Superamphiphile based cross-linked small-molecule micelles for ph-triggered release of anticancer drugs. *Chem Mater*, 2017, 29: 3083–3091
- 5 Meo A D, Bartlett J, Cheng Y, et al. Liquid biopsy: A step forward towards precision medicine in urologic malignancies. *Mol Cancer*, 2017, 16: 80
- 6 Wang X, Qiang S, Liu Q, et al. CTC immune escape mediated by PD-L1. *Med Hypotheses*, 2016, 93: 138–139
- 7 Calapre L, Warburton L, Milward M, et al. Circulating tumour DNA (ctDNA) as a liquid biopsy for melanoma. *Cancer Lett*, 2017, 404: 62–69
- 8 Cai Z X, Chen G, Zeng Y Y, et al. Circulating tumor DNA profiling reveals clonal evolution and real-time disease progression in advanced

- hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer*, 2017, 141: 977–985
- 9 Kumata Y, Linuma Y, Suzuki Y, et al. Exosome encapsulated microRNA-23b as a minimally invasive liquid biomarker for the prediction of recurrence and prognosis of gastric cancer patients in each tumor stage. *Oncol Rep*, 2016, 40: 319–330
 - 10 Siravegna G, Marsoni S, Siena S, et al. Integrating liquid biopsies into the management of cancer. *Nat Rev Clin Oncol*, 2017, 14: 531–548
 - 11 Guibert N M, Delaunay M, Lusque A, et al. Monitoring PD-L1 expression on circulating tumor cells (CTC) in patients with NSCLC treated with PD1 inhibitors. *J Clin Oncol*, 2018, 36: 108–112
 - 12 Yue C, Jiang Y, Li P, et al. Dynamic change of PD-L1 expression on circulating tumor cells in advanced solid tumor patients undergoing PD-1 blockade therapy. *Oncoimmunology*, 2018, 7: e1438111
 - 13 Villaruz L, Socinski M. The clinical utility of PD-L1 testing in selecting non-small cell lung cancer patients for PD-1/PD-L1-directed therapy. *Clin Pharmacol Ther*, 2016, 100: 212–214
 - 14 Ahern E, Harjunpää H, O'Donnell J S, et al. RANKL blockade improves efficacy of PD1-PD-L1 blockade or dual PD1-PD-L1 and CTLA4 blockade in mouse models of cancer. *Oncoimmunology*, 2018, 7: e1431088
 - 15 Ferrara R, Caramella C, Texier M, et al. Hyperprogressive disease (HPD) is frequent in non-small cell lung cancer (NSCLC) patients (pts) treated with anti PD1/PD-L1 monoclonal antibodies (IO). *Ann Oncol*, 2017, 28: 1306PD
 - 16 Junior P N A, Mello R D, Tadokoro H, et al. Cost effectiveness and estimate of economical impact of immune checkpoint inhibitors for NSCLC relative to PD-L1 expression. *Ann Oncol*, 2016, 27: 1224
 - 17 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. *Ann Oncol*, 2016, 27: 147–153
 - 18 Wang V E, Urisman A, Albacker L, et al. Checkpoint inhibitor is active against large cell neuroendocrine carcinoma with high tumor mutation burden. *J Immunol Cancer*, 2017, 5: 75
 - 19 Kohn C G, Nguyen E, Miller J D, et al. The humanistic burden of microsatellite instability-high (MSI-H) colorectal cancer (CRC) and metastatic CRC (MCRC) patients treated with subsequent line therapy: A systematic review. *Value Health*, 2017, 20: A454
 - 20 Kim S T, Cristescu R, Bass A J, et al. Comprehensive molecular characterization of clinical responses to PD-1 inhibition in metastatic gastric cancer. *Nat Med*, 2018, 24: 1449–1458
 - 21 Chiara N, Cristina R, Marialaura M, et al. Monitoring PD-L1 positive circulating tumor cells in non-small cell lung cancer patients treated with the PD-1 inhibitor Nivolumab. *Sci Rep*, 2016, 6: 317–326
 - 22 Gandara D R, Kowanetz M, Mok T S K, et al. Blood-based biomarkers for cancer immunotherapy: Tumor mutational burden in blood (bTMB) is associated with improved atezolizumab (atezo) efficacy in 2L+ NSCLC (POPLAR and OAK). *Ann Oncol*, 2017, 28: 1295O
 - 23 Hellmann M D, Ciuleanu T E, Pluzanski A, et al. Nivolumab plus ipilimumab in lung cancer with a high tumor mutational burden. *New Engl J Med*, 2018, 378: 2093–2104
 - 24 Yarchoan M, Hopkins A, Jaffee E M. Tumor mutational burden and response rate to PD-1 inhibition. *New Engl J Med*, 2017, 377: 2500–2501
 - 25 Lim C, Tsao M S, Le L W, et al. Biomarker testing and time to treatment decision in patients with advanced nonsmall-cell lung cancer. *Ann Oncol*, 2015, 26: 1415–1421
 - 26 Gandara D R, Paul S M, Kowanetz M, et al. Blood-based tumor mutational burden as a predictor of clinical benefit in non-small-cell lung cancer patients treated with atezolizumab. *Nat Med*, 2018, 24: 1441–1448
 - 27 Re M D, Marconcini R, Pasquini G, et al. PD-L1 mRNA expression in plasma-derived exosomes is associated with response to anti-PD-1 antibodies in melanoma and NSCLC. *Br J Cancer*, 2018, 118: 820–824
 - 28 Yang Y. Cancer immunotherapy: Harnessing the immune system to battle cancer. *J Clin Invest*, 2015, 125: 3335–3337
 - 29 Alldredge J, Phelan M, Gallegos N, et al. Evaluation of PD-1 and PD-L1 levels in clear cell histologic subtypes of ovarian and uterine malignancies and correlation with stage and survival. *Gynecol Oncol*, 2017, 147: 218–219
 - 30 Wu Y L, Zhang L I, Trandafir L, et al. Phase I study of the Pan-PI3K inhibitor buparlisib in adult chinese patients with advanced solid tumors. *Anticancer Res*, 2016, 36: 6185–6194
 - 31 Hirsch F R, Scagliotti G V, Mulshine J L, et al. Lung cancer: Current therapies and new targeted treatments. *Lancet*, 2016, 389: 299–311
 - 32 Anantharaman A, Friedlander T, Lu D, et al. Programmed death-ligand 1 (PD-L1) characterization of circulating tumor cells (CTC) in muscle invasive and metastatic bladder cancer patients. *BMC Cancer*, 2016, 16: 744
 - 33 Liu X R, Shao B, Peng J X, et al. Identification of high independent prognostic value of nanotechnology based circulating tumor cell enumeration in first-line chemotherapy for metastatic breast cancer patients. *Breast*, 2017, 32: 119–125
 - 34 Bai L, Du Y, Peng J, et al. Peptide-based isolation of circulating tumor cells by magnetic nanoparticles. *J Mater Chem B*, 2014, 2: 4080–4088

Summary for “液态活检在 PD-1/PD-L1 抑制剂精准用药中的应用前景”

Prospect of liquid biopsy application for precise medication of PD-1/PD-L1 inhibitor

Yuehua Wang, Mengqi Sun & Zhiyuan Hu^{*}

National Center for Nanoscience and Technology of China, Beijing 100190, China

^{*} Corresponding author, E-mail: huzy@nanoctr.cn

In recent years, liquid biopsy has been widely used in cancer early screening, companion diagnosis, drug efficacy prediction and monitoring, etc. Liquid biopsy has the advantages of real time, noninvasive, sequential sampling etc., and is one of the most promising cancer diagnosis methods. Liquid biopsy includes circulating tumor cells (CTC), cell-free circulating tumor DNA (ctDNA), and exosomes to obtain tumor lesion information. For early screening and diagnosis of tumors, targeted drug prediction, dynamic monitoring of efficacy, drug resistance analysis and prognosis evaluation, it is a representative diagnostic technology in the contemporary “precise medical” system.

At the same time, the revolutionary immunotherapy puts forward higher requirements for the precise diagnosis, especially for the precise medication of programmed death 1/programmed death ligand 1(PD-1/PD-L1) inhibitors. In normal organisms, PD-L1 (programmed cell death-Ligand 1) is a protein expressed on the cell surface, also known as B7-H1 protein. It binds to PD-1 protein (programmed death receptor-1) on effector T cells, conducts immunosuppressive signals, and inhibits the activity of immune effector T cells. The expression of PD-L1 on the surface of tumor cells is the material basis for tumor escape from immune cell attack and a marker for poor prognosis. PD-1/PD-L1 immunotherapy is being used for other larger tumors. Currently, hundreds of clinical trials of monotherapy and combination therapy are being carried out intensively, to exploit the clinical potential and value of a largest number of such IO drugs. PD-L1 companion diagnostics is a screening for responders to drugs by identifying the expression of the drug target PD-L1 protein. The Merck East team identified patients with non-small cell lung cancer who responded to drugs by using tissue-expressed PD-L1>50% criteria, segmented patient populations, and identified potentially beneficial patients. This precise medical strategy was obtained in clinical trials and commercial promotion. Tumor mutation burden (TMB) is the number of somatic mutations in the whole genome after accounting for germline DNA variants. Studies have found that if there are many genes mutated in tumor tissues, the possibility of activating the body's immune system is high, and the probability of benefiting from immunotherapy is greater. Therefore, TMB high mutations are also an important biomarker for predicting the effectiveness of PD-1 antibodies.

Many existing immunotherapies inhibit the PD-1/PD-L1 pathway, and if immune T cells can be blinded by cancer cells, they can remain active and attack cancer cells. Researchers expect to be able to find “indications” in the patient's blood through a simple blood test to tell the doctor if the immunotherapy is effective. How to improve the efficacy of PD-1/PD-L1 inhibitors, accurate prediction and dynamic monitoring of therapeutic effects has become the most concerned issue in the clinical community. In this paper, we compare several liquid biopsy technologies including CTC, ctDNA and exosomes for the prediction and surveillance of PD-1/PD-L1 inhibitor drugs in immunotherapy.

liquid biopsy, check point, circulating tumor cells (CTC), immunotherapy

doi: 10.1360/N972018-00859