·文献综述·

生物标志物预测肝细胞癌患者抗PD-1/PD-L1治疗客观疗效的研究进展

柳利利[1,2]，张成仁[2,3]，郝相勇[2]，田宏伟[2]，邓渊[2]，李雄[2,3]，蒋智良[1,2]，郭天康[2]

（1.甘肃中医药大学 第一临床医学院，甘肃 兰州 730030；2.甘肃省人民医院 普通外科，甘肃 兰州 730030；3. 宁夏医科大学 临床医学院，宁夏 银川 750000）

摘　要　近年来，抗 PD-1/PD-L1 免疫治疗的出现为晚期肝细胞癌（HCC）患者带来了新的希望。然而，临床实践发现大约只有 10%~30% 的 HCC 患者才能从抗 PD-1/PD-L1 的治疗中获益。因此，精确筛选出抗 PD-1/PD-L1 治疗的获益人群成为目前的一大难题。循证医学证据的不断积累以及精准诊疗生物标志物的迅速发展，为 HCC 患者抗 PD-1/PD-L1 的精准治疗提供了有力帮助。生物标志物是免疫治疗的重大突破，不仅可以筛选出免疫治疗的获益人群，还能够避免毒副反应。本文中，笔者主要阐述 HCC 患者抗 PD-1/PD-L1 治疗相关生物标志物的研究现状和未来发展。

关键词　癌，肝细胞；程序性细胞死亡受体 1；免疫检查点抑制剂；生物标记；综述
中图分类号：R735.7

Research progress of biomarkers in predicting objective efficacy of anti-PD-1/PD-L1 therapy in patients with hepatocellular carcinoma

LIU Lili[1,2], ZHANG Chengren[2,3], HAO Xiangyong[2], TIAN Hongwei[2], DENG Yuan[2], LI Xiong[2,3], JIANG Zhiliang[1,2], GUO Tiankang[2]

(1. Department of First Clinical Medical College of Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730030, China; 2. Department of General Surgery, Gansu Provincial People's Hospital, Lanzhou 730030, China; 3. Clinical Medical College of Ningxia Medical University, Yinchuan 750000, China)

Abstract　In recent years, anti-PD-1 /PD-L1 immunotherapy has brought new hope to patients with advanced hepatocellular carcinoma (HCC). However, only about 10%−30% of the HCC patients can benefit from anti-PD-1/PD-L1 therapy as evidenced by clinical observation. Therefore, the accurate screening of patients suitable for the anti-PD-1/PD-L1 immunotherapy has become a challenge at present. The continuous accumulation of evidence-based knowledge and the rapid development of biomarkers for precision medicine provide powerful help for the precise treatment of anti-PD-1/PD-L1 for HCC patients. The discovery of biomarkers is a major breakthrough in immunotherapy, which can not only screen patients who benefit from immunotherapy, but also avoid toxic and side effects. Here, the authors

mainly address the research status and future development of biomarkers associated with anti-PD-1/PD-L1 treatment in HCC patients.

Key words　Carcinoma, Hepatocellular; Programmed Cell Death 1 Receptor; Immune Checkpoint Inhibitors; Biomarkers; Review

CLC number: R735.7

2020 年全球癌症统计报告[1]显示肝癌为全球六大常见癌症之一，在世界癌症相关病死率中居第 3 位，每年约有 90.6 万新发病例和 83 万死亡病例。原发性肝癌主要为肝细胞癌（hepatocellular carcinoma，HCC）（占 75%~85%），其主要危险因素包括病毒感染、吸烟、肥胖、大量饮酒、2 型糖尿病以及食用黄曲霉毒素污染的食物等[2]。随着医疗技术的进步，早期 HCC 患者的生存率虽有所提高，但晚期肿瘤患者的 5 年生存率仍不足 16%[3]。因此，众多的研究者致力于提高晚期 HCC 患者生存率的研究，经过多年的临床实践发现晚期 HCC 患者的生存率仅依靠单一的放化疗在当前阶段很难取得突破性的进展。随着肿瘤生物学和肿瘤免疫学基础理论的发展，肿瘤免疫治疗和化疗的联合使用在多种肿瘤中取得了较单一疗法更优的临床疗效。免疫治疗与化疗的联合不仅能逆转肿瘤晚期导致的免疫抑制，提高肿瘤抗原的交叉提呈作用，增强杀伤性 T 细胞的抗肿瘤效应，还能一定程度上减少化疗带来的毒副作用以及降低肿瘤细胞耐药性[4-6]。

近年来，肿瘤免疫治疗研究较为深入的当属程序性细胞死亡受体 1（programmed death 1，PD-1）及其配体（programmed cell death 1 ligand 1，PD-L1）。PD-1 是表达于免疫细胞上的表面蛋白，可为免疫反应提供抑制信号，当与肿瘤细胞上的配体 PD-L1 结合时可发生免疫抑制，从而使肿瘤细胞发生免疫逃逸。抗 PD-1/PD-L1 治疗的基本机制是依靠免疫检查点抑制剂（immune checkpoint inhibitors，ICIs）阻断 PD-1 与 PD-L1 的结合，恢复机体的抗肿瘤免疫，从而达到抗肿瘤效应[7-11]。然而，大量的临床试验发现大约只有 10%~30% 的 HCC 患者才能在抗 PD-1/PD-L1 的治疗中获益[12-13]。因此，精确筛选出抗 PD-1/PD-L1 治疗的获益人群成为当前一大难题。生物标志物则是免疫治疗的重大突破，不仅可以筛选出免疫治疗的获益人群，还能够避免无效治疗及其毒副反应。因此，本文通过大量阅读近期文献，对 HCC 患者抗 PD-1/PD-L1 治疗下新近出现的生物标志物的研究现状做一综述，以期为临床诊疗提供帮助。

1　组织生物标志物

1.1　PD-1/PD-L1

PD-L1 也称为表面抗原分化簇 274 或 B7 同源体，是由 CD274 基因编码的人类体内的一种蛋白质。一般来说，PD-L1 在肿瘤细胞中的表达水平越高，患者的生存预后越好，此观点已在多种肿瘤中得到证实[14]。Zhu 等[15]研究发现帕博利珠单抗（PD-1 单抗）治疗 HCC 患者后，PD-L1 在多种类型细胞中的组合表达评分（combined proportion score，CPS）阳性率 ≥1% 组的客观缓解率（objective response rate，ORR）为 25%，无进展生存期（progression-free survival，PFS）延长的病例比例高达 83%，而单纯肿瘤表达评分（tumor proportion score，TPS）和治疗反应没有相关性。另有研究[16]对纳武利尤单抗（PD-1 单抗）治疗的 HCC 患者进行免疫组化检测后发现，PD-L1 阳性率≥1%/TPS 组和 PD-L1 阳性率 <1%/TPS 组的中位总生存期（overall survival，OS）分别为 28.1 个月和 16.6 个月。此外，一项全球多中心试验[17]结果显示，替雷利珠单抗（PD-1 单抗）治疗 HCC 患者后 PD-L1 阳性率 ≥1% 组 ORR 达到 23.1%，疾病控制率（disease control rate，DCR）达到 57.7%。

然而，Liu 等[18]的研究却发现 PD-L1 的表达与患者的 OS 以及无病生存时间（disease free survival，DFS）呈负相关。一项 I/II 期临床试验[19]中发现 PD-L1 阳性率 <10%/TPS 组 ORR 达到 19%，DCR 达到 63%，而在 PD-L1 阳性率 ≥10%/TPS 组 ORR 和 DCR 均为 0。此外，有研究者[20]发现细胞缺氧可以刺激 CXCL12 的基因表达，同时 PD-L1 的表达也有所上升，该研究认为 CXCL12 阴性以及 PD-L1 高表达的 HCC 患者肿瘤的预后可能不佳。表 1 总结了近年来

HCC 患者免疫治疗下以 PD-1/PD-L1 作为生物标记物的研究。由于不同研究中 PD-L1 的检测存在免疫组化评分的主观性、瘤内异质性、抗体多样性以及缺乏统一的临界值标准等问题，因而得出的结论也各不一致[21]。因此，在 HCC 患者抗 PD-1/PD-L1

治疗中如何统计 PD-1/PD-L1 的表达水平以及选择哪种检测方法、PD-1/PD-L1 阳性率的最佳截断值以及 PD-L1 表达的异质性对其预测能力的影响等问题都是未来深入研究的重点[22]。

表 1　PD-1/PD-L1 预测 HCC 患者免疫治疗疗效的研究
Table 1　Studies on the efficacy of immunotherapy for HCC patients predicted by PD-1/PD-L1

参考文献	发表年份	样本量(n)	治疗药物	生物标记物
Feun, 等[14]	2019	24	PD-1 抑制剂	PD-1、PD-L1
Zhu, 等[15]	2018	168	PD-1 抑制剂	PD-L1
Desai, 等[17]	2020	451	PD-1 抑制剂	PD-1、PD-L1
Liu, 等[18]	2018	453	PD-L1/PD-1 抑制剂	PD-L1
Shen, 等[19]	2020	300	PD-1 抑制剂	PD-1、PD-L1
Pinato, 等[21]	2019	100	PD-L1/PD-1 抑制剂	PD-L1
Liu, 等[23]	2019	122	PD-1 抑制剂	PD-1
Xu, 等[24]	2018	43	PD-1 抑制剂	PD-1
Finn, 等[25]	2020	501	PD-L1 抑制剂	PD-L1
Finn, 等[26]	2020	104	PD-1 抑制剂	PD-L1
Finn, 等[27]	2019	413	PD-1 抑制剂	PD-L1
Marabelle, 等[28]	2020	1 073	PD-1 抑制剂	PD-L1
Langhans, 等[29]	2019	50	PD-L1/PD-1 抑制剂	PD-1、PD-L1
Zahran, 等[30]	2020	41	未提供	PD-1
Ma, 等[31]	2018	578	未提供	PD-1
Macek Jilkova, 等[32]	2019	21	未提供	PD-1

1.2　微卫星不稳定性（microsatellite instability，MSI）与错配修复功能缺陷（mismatch repair deficient，dMMR）

MSI 是指 DNA 复制时插入或缺失突变引起的微卫星序列长度改变的现象，常由 dMMR 引起[33]。MSI 现象于 1993 年在结直肠癌中首次发现，随着研究的深入，研究者发现 MSI 现象不止存在于结直肠癌，在包括肝癌在内的其他实体瘤中均有发生[34-35]。一般来说，肿瘤细胞的 MSI 表达水平越高，患者的总体生存越好，并且高微卫星不稳定性（microsatellite instability-high，MSI-H）的肿瘤患者应用 PD-1 抑制剂的应答率要优于低微卫星不稳定性（microsatellite instability-low，MSI-L）的肿瘤患者，这个观点已在多种肿瘤中被证实[36]。帕博利珠单抗目前已获批用于 MSI-H/dMMR 的实体瘤，这也是美国食品药物管理局（Food and Drug Administration，FDA）首次基于分子标志物而非肿瘤组织来源批准的药物。因此，肿瘤患者的 MSI-H/dMMR 状态及其相关分子的变化对肿瘤的评估具

有重要的意义。然而，有研究[37]却发现在 HCC 中 MSI-H 患者的比例仅占 3.03%。因此，目前缺乏足够证据证明 MSI-H/dMMR 在预测 HCC 患者抗 PD-1/PD-L1 治疗疗效中的地位。

1.3　肿瘤突变负荷（tumor mutational burden，TMB）

TMB 是指蛋白编码区非同义突变分布的密度。众所周知，肿瘤的发生是由于基因突变引起的，一般情况下人体的免疫系统可通过识别突变细胞表达的抗原从而对其进行清除，但部分肿瘤细胞由于肿瘤微环境的调节以及抗原的异常表达，导致机体无法识别这些抗原从而发生免疫逃逸，发生免疫逃逸的肿瘤细胞继续分裂生长则形成肿瘤[38]。目前 TMB 专指蛋白编码区的非同义突变，因为只有突变的 TMB 才有可能使肿瘤细胞产生新抗原。肿瘤患者的 TMB 越高，新抗原的种类及数量越多，被免疫系统识别的概率越高，从而 ICIs 激活机体自身的抗肿瘤免疫应答后，杀伤这些肿瘤细胞的概率就越大[39-40]。HCC 的 TMB 相对于其他肿

瘤基因组呈现出较高的水平,且有研究证实中国 HCC 患者的 TMB 强度在所有肿瘤中居第 5 位,大约为 30~150 mut/MB[41]。此外,欧洲肿瘤医学会(European Society for Medical Oncology,ESMO)在 2019 年发布的一项共识[42]中推荐对实体瘤患者进行 TMB 检测,但 TMB 检测对肿瘤样本要求极高,检测周期漫长,价格颇为昂贵,且无统一的检测方法及其截断值。因此,TMB 用于预测 HCC 患者的免疫治疗疗效仍有很长的路走。

1.4　拷贝数变异(copy number variation,CNV)

CNV 是由基因组发生重排而导致的,一般指长度 1 kb 以上的基因组大片段的拷贝数增加或者减少,主要表现为亚显微水平的缺失和重复[43]。Pinyol 等[44]的研究发现抗 PD-1/PD-L1 治疗过程中低负荷 CNV 的 HCC 患者肿瘤微环境中免疫细胞浸润水平以及炎性细胞反应水平相对更高,而高负荷 CNV 的患者存在免疫排斥现象。因此,CNV 有潜力成为 HCC 患者抗 PD-1/PD-L1 治疗的预测性生物标志物。

1.5　懒氨酸甲基转移酶 2D(KMT2D)

KMT2D 属于哺乳动物 H3K4 甲基转移酶家族成员,在成人组织中广泛表达,对于早期胚胎的发育有着重要的作用,KMT2D 在调节细胞发育、分化、新陈代谢和肿瘤抑制方面具有重要作用,是癌症患者最常发生突变的基因之一,KMT2D 丢失导致 DNA 损伤和突变增加、染色质重塑、内含子保留和转座因子激活[45]。有研究[46]发现 KMT2D 突变的 HCC 患者免疫浸润增加,KMT2D 突变可能通过增强肿瘤免疫原性使肿瘤细胞对 ICIs 敏感性增加。

1.6　DNA 聚合酶 ε(polymerase epsilon,POLE)和 DNA 聚合酶 δ1(POLD1)

POLE 和 POLD1 在维持 DNA 复制保真度和防止突变方面至关重要。POLE/POLD1 突变是非常有潜力的免疫治疗的独立生物标志物,且不限癌种,与 ICIs 的临床疗效密切相关[47]。Wang 等[10]研究结果发现在接受抗 PD-1/PD-L1 治疗的实体瘤患者中,携带 POLE/POLD1 突变的患者中位 OS 显著优于未携带者(34 个月 *vs.* 18 个月)。该研究还发现那些通常认为无法获益于免疫治疗的微卫星稳定的患者如果伴随 POLE/POLD1 基因突变也能获益于免疫治疗。因此,POLE/POLD1 突变可作为预测免疫治疗获益的全新独立指标。

2　循环生物标志物

2.1　循环肿瘤 DNA(circulating tumor DNA,ctD-NA)

液体活检不仅克服了组织活检的局限性,还为寻找 HCC 患者免疫治疗疗效的预测性生物标志物提供了方向[48]。ctDNA 是一种特征性的肿瘤生物标志物,肿瘤细胞在进行分裂增殖过程中会凋亡或坏死破裂从而掉落 DNA 片段,这些片段释放入血后使用一定的检测手段可以检测出来,这意味着可以通过检测 ctDNA 来发现肿瘤的存在,对于肿瘤的早期诊断、用药方案的制定和预后观察都很有意义[49]。Jin 等[50]研究显示血液中存在和不存在 ctDNA 的 HCC 患者其中位 PFS 分别为 4.9 个月和 7.4 个月。而在另一项随机对照试验[51]中,研究者发现 ctDNA(+)的 HCC 患者使用阿替利珠单抗(PD-L1 单抗)治疗后的 DFS 和 OS 优于 ctDNA(−)的患者。虽然目前还没有任何一种以检测 ctDNA 来诊断早期癌症的方法得到美国 FDA 批准,但其未来的潜力值得期待。

2.2　肿瘤浸润淋巴细胞

肝脏是人体最大的免疫器官,长时间与外源性抗原发生应答,形成了复杂的免疫微环境[4, 50]。既往多项研究[16, 51]发现,淋巴细胞与 HCC 患者抗 PD-1/PD-L1 治疗后 OS 成正相关。肿瘤免疫微环境中 $CD8^+T$ 细胞的含量越高,HCC 患者抗 PD-1/PD-L1 治疗的效果越好[26, 32, 52]。Chen 等[53]研究发现 HCC 患者抗 PD-1/PD-L1 治疗后 $CD8^+/CD4^+T$ 细胞比率升高,并且 ORR 较高的患者治疗前 $CD8^+T$ 细胞的数量也更多。与此类似的一项研究[54]表明,使用 PD-1 单抗治疗 HCC 达到病情稳定的患者和治疗无效的患者相比,$CD4^+$ 和 $CD8^+T$ 细胞的聚集更高,提示 $CD4^+$ 和 $CD8^+T$ 细胞高浸润的患者抗 PD-1/PD-L1 治疗的反应更好。此外,Zhang 等[55]的研究发现 PD-L1 单抗联合紫杉醇治疗 HCC 患者呈现高反应时,患者肿瘤微环境中 CD8-CXCL13 和 CD4-CXCL13 呈现出高表达,而对免疫治疗无反应的患者肿瘤微环境中几乎检测不到 $CXCL13^+T$ 细胞,提示高基线水平的 CD8-CXCL13 和 CD4-CXCL13 对免疫治疗更加敏感。但肿瘤浸润淋巴细胞作为 HCC 患者抗 PD-1/PD-L1 治疗疗效的预测性生物标志物同样存在检测样本要求高、分析方法复杂、缺乏标准化的检测平台等问题,仍需继续研究。

2.3 嗜酸性粒细胞

目前嗜酸性粒细胞在肿瘤免疫微环境中的作用日益得到重视，并有研究[6]提示其变化水平可能与免疫治疗的疗效存在一定相关性。有研究[56]回顾性分析了抗 PD-1 治疗的 33 例晚期恶性实体肿瘤患者，结果显示在抗 PD-1 治疗获得明显缓解的肿瘤患者中，治疗 2 周期后外周血嗜酸性粒细胞的比例显著性升高，平均升高水平为基线的 3.5 倍，嗜酸性粒细胞比例升高患者与非升高患者的中位 PFS 分别为 12 个月和 2 个月，中位 OS 分别为 15 个月和 7 个月，提示嗜酸性粒细胞也有潜力成为 HCC 患者抗 PD-1 治疗疗效的预测性生物标志物。

2.4 外周血炎症指标

肿瘤的发生发展与炎症密切相关，炎症可促进癌细胞增殖、血管生成以及肿瘤侵袭，并且对一些抗癌药物的疗效也有一定程度的影响[57]。检测炎症因子有可能预测肿瘤的复发和预后，如中性粒细胞与淋巴细胞比值（neutrophil to lymphocyte ratio，NLR）、单核细胞与淋巴细胞比值（monocyte to lymphocyte ratio，MLR）以及血小板与淋巴细胞比值（platelet to lymphocyte ratio，PLR）等外周血炎症指标，很可能成为新一代重要的肿瘤生物标志物[58]。Qin 等[16]研究发现在接受 PD-1 单抗治疗的 HCC 患者中，NLR<5 的患者 OS 明显改善。目前已有研究[59]证实 MLR、NLR、PLR 在其他实体瘤（如胃癌，结直肠癌）中与患者的 DCR 显著相关，并且 MLR 是 PFS 和 OS 的独立影响因素。但目前关于上述炎症指标预测 HCC 患者抗 PD-1/PD-L1 治疗疗效的研究极少，需要后续加以验证。

3 其他的预测指标或方法

3.1 肠道微生物

肠道菌群是否会影响肝胆系统恶性肿瘤免疫治疗的应答目前没有统一的定论。Zheng 等[60]在研究中发现 HCC 患者抗 PD-1 治疗前的肠道菌群与健康人的基本一致，但经抗 PD-1 治疗后大肠杆菌、肺炎克雷伯杆菌的数量显著增加，其他菌群也发生了明显变化。肠道微生物群的动态变化不仅可以对 HCC 患者的免疫治疗进行早期预测，还对免疫治疗有一定的增效作用[61]。此外，有研究者[62]对 65 例接受抗 PD-1 治疗的晚期 HCC 患者的肠道菌群进行研究，发现螺旋菌 GAM79 以及拟杆菌富集的

患者 PFS 和 OS 显著增加，而韦荣氏菌科富集的患者 PFS 和 OS 则较短。

3.2 预测模型

随着肿瘤免疫治疗逐渐趋于个体化，建立可以多方位评估患者疾病的预测模型是必然趋势，目前已有相关学者进行了此类的研究。Wang 等[63]通过分析 TCGA 数据库免疫相关基因，构建了 HCC 免疫治疗的预测模型。Zhang 等[64]以 PDSS1、CDCA8 和 SLC7A11 等缺氧相关基因构建出了 HCC 患者免疫治疗的预后、复发和诊断模型，该研究认为缺氧相关基因可以正向调节免疫反应，是 HCC 诊断、预后和复发的潜在预测性生物标志物，可为患者的个性化治疗提供了免疫学视角。此外，有研究[65]以 5 个内质网应激相关基因构建了预测 HCC 患者免疫治疗的预后模型，该模型在 HCC 患者的风险分层和总生存预测方面具有很高的临床应用潜力。

4 小结与展望

近年来，肿瘤免疫治疗的蓬勃发展加之精准诊疗的理念逐渐深入人心，为晚期 HCC 患者带来了新的希望。本文综合以往的研究以及最新发现，选取了当前或未来阶段有潜力成为 HCC 患者抗 PD-1/PD-L1 治疗疗效的预测指标，以组织生物标志物（PD-1/PD-L1、 MSI-H/dMMR、 TMB、 CNV、KMT2D、 POLE/POLD1 突变）、循环生物标志物（ctDNA、肿瘤浸润淋巴细胞、嗜酸性粒细胞、外周血炎症指标）和其他预测指标或方法（肠道微生物、预测模型）进行分类阐述。但当前 HCC 患者抗 PD-1/PD-L1 治疗疗效预测和评价的多数研究尚未完善，并且缺乏标准化的生物标志物检测程序以及统一化的肿瘤疗效评价方法，极大地限制了众多有潜力的生物标志物的临床应用。因此，就目前阶段而言，尽管组织活检过程有创且复杂，并且也难以动态地监测，但其仍是不可缺少的一环。随着组学技术的迅速发展，未来多时间段的液体活检可能会成为主流。此外，单一生物标记物的敏感性和特异性不足，使其难以作为单独的生物标记物，多种生物标记物的联合可能更有利于预测 HCC 患者免疫治疗的疗效。笔者认为，未来不仅需要大量的研究对上述生物标记物加以反复验证，还需要制定标准化的疗效评价策略，统

一化的分子测量方法以及解决瘤内异质性和外部
有效性等问题。此外，在人工智能迅速发展和医
学理论以及技术不断成熟的背景下，开发更加精
准的预测 HCC 患者抗 PD-1/PD-L1 治疗疗效的工具，
对 HCC 的个体化免疫治疗具有重要意义。

利益冲突：所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献

[1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3):209−249. doi: 10.3322/caac.21660.

[2] Shrestha R, Prithviraj P, Anaka M, et al. Monitoring immune checkpoint regulators as predictive biomarkers in hepatocellular carcinoma[J]. Front Oncol, 2018, 8: 269. doi: 10.3389/fonc.2018.00269.

[3] Xu GL, Feng DJ, Yao Y, et al. Listeria-based hepatocellular carcinoma vaccine facilitates anti-PD-1 therapy by regulating macrophage polarization[J]. Oncogene, 2020, 39(7): 1429−1444. doi: 10.1038/s41388−019−1072−3.

[4] 邹添添, 覃伟, 朱迎, 等. 肝癌免疫微环境与免疫治疗: 研究进展与发展趋势[J]. 中国普通外科杂志, 2020, 29(7): 785−797. doi: 10.7659/j.issn.1005−6947.2020.07.002.
Zou TT, Qin W, Zhu Y, et al. Immune microenvironment and immunotherapy in hepatocellular carcinoma: research progress and development directions[J]. Chinese Journal of General Surgery, 2020, 29(7):785−797. doi: 10.7659/j.issn.1005−6947.2020.07.002.

[5] 乔天运, 郭文文, 熊延路, 等. 肿瘤免疫治疗联合化疗的理论基础及临床应用[J]. 现代肿瘤医学, 2021, 29(17): 3128−3132. doi: 10.3969/j.issn.1672−4992.2021.17.039.
Qiao TY, Guo WW, Xiong YL, et al. Theoretical basis and clinical application of tumor immunotherapy combined with chemotherapy[J]. Journal of Modern Oncology, 2021, 29(17): 3128−3132. doi: 10.3969/j.issn.1672−4992.2021.17.039.

[6] 宁克, 殷香保. 肝细胞癌免疫治疗的研究进展[J]. 中国普通外科杂志, 2019, 28(2): 234−240. doi: 10.7659/j.issn.1005−6947.2019.02.015.
Ning K, Yin XB. Research progress in immunotherapy of hepatocellular carcinoma[J]. Chinese Journal of General Surgery, 2019, 28(2):234−240. doi:10.7659/j.issn.1005−6947.2019.02.015.

[7] Ciombor KK, Goldberg RM. Hypermutated tumors and immune checkpoint inhibition[J]. Drugs, 2018, 78(2):155−162. doi: 10.1007/s40265−018−0863−0.

[8] 卢哲, 张国军, 姚群峰. 基于 PD-1/PD-L1 靶点的肿瘤免疫治疗研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2022, 30(5):926−930. doi:10.3969/j.issn.1672−4992.2022.05.036.
Lu Z, Zhang GJ, Yao QF. The progress in cancer immunotherapy targeting PD-1/PD-L1 immune checkpoint[J]. Journal of Modern Oncology, 2022, 30(5): 926−930. doi: 10.3969/j. issn. 1672−4992.2022.05.036.

[9] Ribas A, Wolchok JD. Cancer immunotherapy using checkpoint blockade[J]. Science, 2018, 359(6382): 1350−1355. doi: 10.1126/science.aar4060.

[10] Wang F, Zhao Q, Wang YN, et al. Evaluation of POLE and POLD1 mutations as biomarkers for immunotherapy outcomes across multiple cancer types[J]. JAMA Oncol, 2019, 5(10): 1504−1506. doi: 10.1001/jamaoncol.2019.2963.

[11] Gros A, Tran E, Parkhurst MR, et al. Recognition of human gastrointestinal cancer neoantigens by circulating PD-1+ lymphocytes[J]. J Clin Invest, 2019, 129(11): 4992−5004. doi: 10.1172/JCI127967.

[12] van der Sijde F, Vietsch EE, Mustafa DAM, et al. Circulating biomarkers for prediction of objective response to chemotherapy in pancreatic cancer patients[J]. Cancers, 2019, 11(1):93. doi: 10.3390/cancers11010093.

[13] von Felden J, Garcia-Lezana T, Schulze K, et al. Liquid biopsy in the clinical management of hepatocellular carcinoma[J]. Gut, 2020, 69(11):2025−2034. doi: 10.1136/gutjnl−2019−320282.

[14] Feun LG, Li YY, Wu CJ, et al. Phase 2 study of pembrolizumab and circulating biomarkers to predict anticancer response in advanced, unresectable hepatocellular carcinoma[J]. Cancer, 2019, 125(20): 3603−3614. doi: 10.1002/cncr.32339.

[15] Zhu AX, Finn RS, Edeline J, et al. Pembrolizumab in patients with advanced hepatocellular carcinoma previously treated with sorafenib (KEYNOTE-224): a non-randomised, open-label phase 2 trial[J]. Lancet Oncol, 2018, 19(7): 940−952. doi: 10.1016/S1470−2045(18)30351−6.

[16] Qin SK, Ren ZG, Meng ZQ, et al. Camrelizumab in patients with previously treated advanced hepatocellular carcinoma: a multicentre, open-label, parallel-group, randomised, phase 2 trial[J]. Lancet Oncol, 2020, 21(4):571−580. doi: 10.1016/S1470−2045(20)30011−5.

[17] Desai J, Deva S, Lee JS, et al. Phase IA/IB study of single-agent tislelizumab, an investigational anti-PD-1 antibody, in solid tumors[J]. J Immunother Cancer, 2020, 8(1):e000453. doi: 10.1136/jitc−2019−000453.

[18] Liu CQ, Xu J, Zhou ZG, et al. Expression patterns of programmed death ligand 1 correlate with different microenvironments and patient prognosis in hepatocellular carcinoma[J]. Br J Cancer, 2018, 119(1):80−88. doi: 10.1038/s41416−018−0144−4.

[19] Shen L, Guo J, Zhang QY, et al. Tislelizumab in Chinese patients with advanced solid tumors: an open-label, non-comparative, phase 1/2 study[J]. J Immunother Cancer, 2020, 8(1): e000437. doi: 10.1136/jitc−2019−000437.

[20] Semaan A, Dietrich D, Bergheim D, et al. CXCL12 expression and PD-L1 expression serve as prognostic biomarkers in HCC and are induced by hypoxia[J]. Virchows Arch, 2017, 470(2):185−196. doi: 10.1007/s00428−016−2051−5.

[21] Pinato DJ, Mauri FA, Spina P, et al. Clinical implications of heterogeneity in PD-L1 immunohistochemical detection in hepatocellular carcinoma: the Blueprint-HCC study[J]. Br J Cancer, 2019, 120(11):1033−1036. doi: 10.1038/s41416−019−0466−x.

[22] Macek Jilkova Z, Aspord C, Decaens T. Predictive factors for response to PD-1/PD-L1 checkpoint inhibition in the field of hepatocellular carcinoma: current status and challenges[J]. Cancers, 2019, 11(10):1554. doi: 10.3390/cancers11101554.

[23] Liu XL, Li MG, Wang XH, et al. PD-1 + TIGIT + CD8⁺ T cells are associated with pathogenesis and progression of patients with hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Immunol Immunother, 2019, 68(12): 2041−2054. doi: 10.1007/s00262−019−02426−5.

[24] Xu JM, Zhang Y, Jia R, et al. Anti-PD-1 antibody SHR-1210 combined with apatinib for advanced hepatocellular carcinoma, gastric, or esophagogastric junction cancer: an open-label, dose escalation and expansion study[J]. Clin Cancer Res, 2019, 25(2): 515−523. doi: 10.1158/1078−0432.CCR−18−2484.

[25] Finn RS, Qin SK, Ikeda M, et al. Atezolizumab plus bevacizumab in unresectable hepatocellular carcinoma[J]. N Engl J Med, 2020, 382(20):1894−1905. doi: 10.1056/NEJMoa1915745.

[26] Finn RS, Ikeda M, Zhu AX, et al. Phase ib study of lenvatinib plus pembrolizumab in patients with unresectable hepatocellular carcinoma[J]. J Clin Oncol, 2020, 38(26):2960−2970. doi: 10.1200/jco.20.00808.

[27] Finn RS, Ryoo BY, Merle P, et al. Pembrolizumab As second-line therapy in patients with advanced hepatocellular carcinoma in KEYNOTE-240: a randomized, double-blind, phase III trial[J]. J Clin Oncol, 2020, 38(3):193−202. doi: 10.1200/JCO.19.01307.

[28] Marabelle A, Fakih M, Lopez J, et al. Association of tumour mutational burden with outcomes in patients with advanced solid tumours treated with pembrolizumab: prospective biomarker analysis of the multicohort, open-label, phase 2 KEYNOTE-158 study[J]. Lancet Oncol, 2020, 21(10): 1353−1365. doi: 10.1016/S1470−2045(20)30445−9.

[29] Langhans B, Nischalke HD, Krämer B, et al. Role of regulatory T cells and checkpoint inhibition in hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Immunol Immunother, 2019, 68(12): 2055−2066. doi: 10.1007/s00262−019−02427−4.

[30] Zahran AM, Hetta HF, Rayan A, et al. Differential expression of Tim-3, PD-1, and CCR5 on peripheral T and B lymphocytes in hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma and their impact on treatment outcomes[J]. Cancer Immunol Immunother, 2020, 69 (7):1253−1263. doi: 10.1007/s00262−019−02465−y.

[31] Ma LJ, Feng FL, Dong LQ, et al. Clinical significance of PD-1/PD-Ls gene amplification and overexpression in patients with hepatocellular carcinoma[J]. Theranostics, 2018, 8(20):5690−5702. doi: 10.7150/thno.28742.

[32] Macek Jilkova Z, Aspord C, Kurma K, et al. Immunologic features of patients with advanced hepatocellular carcinoma before and during sorafenib or anti-programmed death-1/programmed death-L1 treatment[J]. Clin Transl Gastroenterol, 2019, 10(7): e00058. doi: 10.14309/ctg.0000000000000058.

[33] 谢桂生,吴远涛. 免疫检查点抑制剂在结直肠癌中的应用:当前和未来的策略[J]. 中国普通外科杂志, 2022, 31(4):544−553. doi: 10.7659/j.issn.1005−6947.2022.04.017.
Xie GS, Wu YT. Application of immune checkpoint inhibitors in colorectal cancer: current and future strategies[J]. Chinese Journal of General Surgery, 2022, 31(4):544−553. doi:10.7659/j.issn.1005−6947.2022.04.017.

[34] Gómez-Raposo C, Merino Salvador M, Aguayo Zamora C, et al. Immune checkpoint inhibitors in endometrial cancer[J]. Crit Rev Oncol, 2021, 161:103306. doi: 10.1016/j.critrevonc.2021.103306.

[35] Eso Y, Shimizu T, Takeda H, et al. Microsatellite instability and immune checkpoint inhibitors: toward precision medicine against gastrointestinal and hepatobiliary cancers[J]. J Gastroenterol, 2020, 55(1):15−26. doi: 10.1007/s00535−019−01620−7.

[36] Nebot-Bral L, Coutzac C, Kannouche PL, et al. Why is immunotherapy effective (or not) in patients with MSI/MMRD tumors?[J]. Bull Du Cancer, 2019, 106(2):105−113. doi: 10.1016/j.bulcan.2018.08.007.

[37] Le DT, Kim TW, Van Cutsem E, et al. Phase II open-label study of pembrolizumab in treatment-refractory, microsatellite instability-high/mismatch repair-deficient metastatic colorectal cancer: keynote-164[J]. J Clin Oncol, 2020, 38(1): 11−19. doi: 10.1200/JCO.19.02107.

[38] 中国抗癌协会肿瘤标志专业委员会遗传性肿瘤标志物协作组,中国抗癌协会肿瘤病理专业委员会分子病理协作组, 莪淼, 等. 肿瘤突变负荷检测及临床应用中国专家共识(2020 年版)[J]. 中国癌症防治杂志, 2020, 12(5):485−494. doi: 10.3969/j. issn.1674−5671.2020.05.01.
Genetic Tumor Markers Collaboration Group, Tumor Biomarker Committee, China Anticancer Association, Molecular Pathology Collaboration Group, Tumor Pathology Committee, China

AntiCancer Association. Chinese expert consensus on tumor mutational burden testing and clinical application[J]. Chinese Journal of Oncology Prevention and Treatment, 2020, 12(5): 485−494. doi:10.3969/j.issn.1674−5671.2020.05.01.

[39] Salem ME, Puccini A, Grothey A, et al. Landscape of tumor mutation load, mismatch repair deficiency, and PD-L1 expression in a large patient cohort of gastrointestinal cancers[J]. Mol Cancer Res, 2018, 16(5): 805−812. doi: 10.1158/1541−7786. MCR−17−0735.

[40] Endris V, Buchhalter I, Allgäuer M, et al. Measurement of tumor mutational burden (TMB) in routine molecular diagnostics: in silico and real-life analysis of three larger gene panels[J]. Int J Cancer, 2019, 144(9):2303−2312. doi: 10.1002/ijc.32002.

[41] Zang YS, Dai C, Xu XM, et al. Comprehensive analysis of potential immunotherapy genomic biomarkers in 1000 Chinese patients with cancer[J]. Cancer Med, 2019, 8(10):4699−4708. doi: 10.1002/cam4.2381.

[42] Luchini C, Bibeau F, Ligtenberg MJL, et al. ESMO recommendations on microsatellite instability testing for immunotherapy in cancer, and its relationship with PD-1/PD-L1 expression and tumour mutational burden: a systematic review-based approach[J]. Ann Oncol, 2019, 30(8): 1232−1243. doi: 10.1093/annonc/mdz116.

[43] 广东省精准医学应用学会遗传病分会, 广东省医学会妇幼保健分会产前诊断学组, 广东省妇幼保健协会产前诊断技术专家委员会, 等. 产前遗传学诊断拷贝数变异和纯合区域的数据分析解读及报告规范化共识[J]. 中华医学遗传学杂志, 2020, 37(7):701−708. doi:10.3760/cma.j.issn.1003−9406.2020.07.001.
Genetic Diseases Branch of Guangdong Precision Medicine Application Society, Prenatal Diagnosis Group, Maternal and Child Health Care Branch, Guangdong Medical Association, Expert Committee of Prenatal Diagnosis Technology of Guangdong Maternal and Child Health Care Association, et al. A consensus recommendation for the interpretation and reporting of copy number variation and regions of homozygosity in prenatal genetic diagnosis[J]. Chinese Journal of Medical Genetics, 2020, 37(7): 701−708. doi:10.3760/cma.j.issn.1003−9406.2020.07.001.

[44] Pinyol R, Sia D, Llovet JM. Immune exclusion-wnt/CTNNB1 class predicts resistance to immunotherapies in HCC[J]. Clin Cancer Res, 2019, 25(7): 2021−2023. doi: 10.1158/1078−0432. CCR−18−3778.

[45] 阎晗, 于明航. 组蛋白 H3K4 甲基转移酶 KMT2D 研究进展[J]. 天津医科大学学报, 2018, 24(6):562−565.
Yan H, Yu MH. Research progress of histone H3K4 methyltransferase KMT2D[J]. Journal of Tianjin Medical UniIversity, 2018, 24(6):562−565.

[46] Wang GC, Chow RD, Zhu LY, et al. CRISPR-GEMM pooled mutagenic screening identifies KMT2D as a major modulator of immune checkpoint blockade[J]. Cancer Discov, 2020, 10(12): 1912−1933. doi: 10.1158/2159−8290.CD−19−1448.

[47] He JJ, Ouyang W, Zhao WG, et al. Distinctive genomic characteristics in POLE/POLD1-mutant cancers can potentially predict beneficial clinical outcomes in patients who receive immune checkpoint inhibitor[J]. Ann Transl Med, 2021, 9(2):129. doi: 10.21037/atm−20−7553.

[48] Ocker M. Biomarkers for hepatocellular carcinoma: what's new on the horizon?[J]. World J Gastroenterol, 2018, 24(35): 3974−3979. doi: 10.3748/wjg.v24.i35.3974.

[49] 中华医学会检验医学分会分子诊断学组. 循环肿瘤细胞临床应用与实验室检测专家共识[J]. 中华检验医学杂志, 2021, 44(11): 1008−1020. doi: 10.3760/cma.j.cn114452−20210721−00445.
Molecular Diagnostic Group of Chinese Society of Laboratory Medicine. Chinese expert consensus on clinical application and laboratory test of circulating tumor cells[J]. Chinese Journal of Laboratory Medicine, 2021, 44(11):1008−1020. doi: 10.3760/cma.j.cn114452−20210721−00445.

[50] Jin Y, Chen DL, Wang F, et al. The predicting role of circulating tumor DNA landscape in gastric cancer patients treated with immune checkpoint inhibitors[J]. Mol Cancer, 2020, 19(1): 154. doi: 10.1186/s12943−020−01274−7.

[51] Powles T, Assaf ZJ, Davarpanah N, et al. ctDNA Guiding adjuvant immunotherapy in urothelial carcinoma[J]. Nature, 2021, 595 (7867):432−437. doi: 10.1038/s41586−021−03642−9.

[52] Foerster F, Hess M, Gerhold-Ay A, et al. The immune contexture of hepatocellular carcinoma predicts clinical outcome[J]. Sci Rep, 2018, 8:5351. doi: 10.1038/s41598−018−21937−2.

[53] Chen DS, Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle[J]. Immunity, 2013, 39(1): 1−10. doi: 10.1016/j.immuni.2013.07.012.

[54] Kaseb AO, Vence L, Blando J, et al. Immunologic correlates of pathologic complete response to preoperative immunotherapy in hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Immunol Res, 2019, 7(9): 1390−1395. doi: 10.1158/2326−6066.CIR−18−0605.

[55] Zhang YY, Chen HY, Mo HN, et al. Single-cell analyses reveal key immune cell subsets associated with response to PD-L1 blockade in triple−negative breast cancer[J]. Cancer Cell, 2021, 39(12): 1578−1593.e8. doi: 10.1016/j.ccell.2021.09.010.

[56] 陈延春, 孙雪竹, 孙鹏摇, 等. 外周血嗜酸性粒细胞比例变化与 PD-1 抗体治疗晚期实体肿瘤疗效的相关性分析[J]. 中华转移性肿瘤杂志, 2021, 4(1): 44−49. doi: 10.3760/cma. j. cn101548−20210226−00028.
Chen YC, Sun XZ, Sun PY, et al. Correlaten analysis betweem the

change of peripheral blood eosinophils proportion and PD-1 antibody treatment of patients with advanced solid tumors[J]. Chinese Journal of Metastatic Cancer, 2021, 4(1): 44−49. doi: 10.3760/cma.j.cn101548−20210226−00028.

[57] 奉建祁, 王志明. 中晚期原发性肝癌治疗的新进展[J]. 中国普通外科杂志, 2021, 30(7): 847−857. doi: 10.7659/j. issn. 1005−6947.2021.07.011.
Feng JQ, Wang ZM. Latest developments in the treatment of advanced hepatocellular carcinoma[J]. Chinese Journal of General Surgery, 2021, 30(7): 847−857. doi: 10.7659/j. issn. 1005−6947.2021.07.011.

[58] Qian SH, Golubnitschaja O, Zhan XQ. Chronic inflammation: key player and biomarker-set to predict and prevent cancer development and progression based on individualized patient profiles[J]. EPMA J, 2019, 10(4): 365−381. doi: 10.1007/s13167−019−00194−x.

[59] Fan XN, Wang D, Zhang WJ, et al. Inflammatory markers predict survival in patients with advanced gastric and colorectal cancers receiving anti-PD-1 therapy[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 638312. doi: 10.3389/fcell.2021.638312.

[60] Zheng Y, Wang TT, Tu XX, et al. Gut microbiome affects the response to anti-PD-1 immunotherapy in patients with hepatocellular carcinoma[J]. J Immunother Cancer, 2019, 7(1):193. doi: 10.1186/s40425−019−0650−9.

[61] Elkrief A, Derosa L, Zitvogel L, et al. The intimate relationship between gut microbiota and cancer immunotherapy[J]. Gut Microbes, 2019, 10(3): 424−428. doi: 10.1080/19490976.2018.1527167.

[62] Mao JZ, Wang DX, Long JY, et al. Gut microbiome is associated with the clinical response to anti-PD-1 based immunotherapy in hepatobiliary cancers[J]. J Immunother Cancer, 2021, 9(12): e003334. doi: 10.1136/jitc−2021−003334.

[63] Wang Y, Xie YT, Ma JY, et al. Development and validation of a prognostic and immunotherapeutically relevant model in hepatocellular carcinoma[J]. Ann Transl Med, 2020, 8(18): 1177. doi: 10.21037/atm−20−6112.

[64] Zhang BH, Tang BF, Gao JY, et al. A hypoxia-related signature for clinically predicting diagnosis, prognosis and immune microenvironment of hepatocellular carcinoma patients[J]. J Transl Med, 2020, 18(1):342. doi: 10.1186/s12967−020−02492−9.

[65] Liu P, Wei J, Mao F, et al. Establishment of a Prognostic Model for Hepatocellular Carcinoma Based on Endoplasmic Reticulum Stress-Related Gene Analysis [J]. Front Oncol, 2021, 11: 641487. doi: 10.3389/fonc.2021.641487.

（本文编辑　熊杨）