

血清标记物预测免疫检查点抑制剂治疗晚期非小细胞肺癌疗效的研究进展

李颖^{1,2}, 田绍东^{2*}, 向明钧¹, 唐红兰²

¹吉首大学医学院, 湖南 吉首

²湖南医药学院总医院肿瘤中心, 湖南 怀化

收稿日期: 2024年8月12日; 录用日期: 2024年9月6日; 发布日期: 2024年9月13日

摘要

免疫检查点抑制剂在晚期非小细胞肺癌中的应用显著提高了患者的生存获益, 但是现在临床上没有明确对于免疫治疗疗效预测的标记物, 常见的PDL1、CTLA-4只能通过组织活检获得, 如果能证明外周血相关指标对于疗效的预测, 会更简便或者与组织学综合考量后预测价值更高。本文将从血清标记物对免疫检查点抑制剂治疗晚期非小细胞肺癌预后基线及动态监测的相关研究进展进行综述。

关键词

非小细胞肺癌, 免疫检查点抑制剂, 外周血标记物

Progress in the Study of Serum Markers to Predict the Efficacy of Immune Checkpoint Inhibitors in the Treatment of Advanced Non-Small Cell Lung Cancer

Ying Li^{1,2}, Shaodong Tian^{2*}, Mingjun Xiang¹, Honglan Tang²

¹School of Medicine, Jishou University, Jishou Hunan

²Cancer Center, General Hospital of Hunan Medical University, Huaihua Hunan

Received: Aug. 12th, 2024; accepted: Sep. 6th, 2024; published: Sep. 13th, 2024

*通讯作者。

文章引用: 李颖, 田绍东, 向明钧, 唐红兰. 血清标记物预测免疫检查点抑制剂治疗晚期非小细胞肺癌疗效的研究进展[J]. 临床医学进展, 2024, 14(9): 917-924. DOI: 10.12677/acm.2024.1492547

Abstract

The application of immune checkpoint inhibitors in advanced non-small cell lung cancer has significantly improved the survival benefits of patients. However, there are no clear markers for predicting the efficacy of immunotherapy in clinical practice, and common PDL1 and CTA4 can only be obtained through tissue biopsy. If the prediction of efficacy of peripheral blood related indicators can be proved, the clinical curative effect can be more easily and dynamically predicted, or the predictive value of peripheral blood indicators combined with histology may be higher. This article reviews the progress of serum markers in baseline and dynamic monitoring of the prognosis of advanced non-small cell lung cancer treated with immune checkpoint inhibitors.

Keywords

Non-Small Cell Lung Cancer, Immune Checkpoint Inhibitors, Peripheral Blood Marker

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 前言

2020 年 GLOBOCAN 发布的数据表明,肺癌在全球发病率中位列第二(11.4%),死亡率占全球癌症首位(18%)。而在我国,肺癌的发病率和死亡率均位于第一。肺癌可分为非小细胞肺癌和小细胞肺癌,其中非小细胞肺癌占比达 80%~85% [1]。然而,由于其早期临床症状不明显且缺乏有效的筛查方法,大多数非小细胞肺癌患者在诊断时已经是晚期,预后较差,对于 IV 期的患者,传统化疗的中位生存期约为 8~12 个月[2]。尽管肺癌靶向治疗已经显著延长了患者的生存时间,但仍有 40%~50%驱动基因检测为阴性的非小细胞肺癌患者不适用于靶向治疗,而传统化疗的有效率约为 20%~30%,总生存期(OS)仅约一年。因此,这类患者需要一个新的治疗方案来延长其生存期。肿瘤免疫治疗的机制是通过激活人体的免疫系统,利用其自身的免疫功能来抑制肿瘤细胞,主要针对程序性死亡配体 1 (PD-L1)和程序性死亡 1 (PD-1)以及细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4 (CTLA-4)。这种疗法通过阻断 T 细胞激活的抑制信号,促使肿瘤反应性 T 细胞产生抗肿瘤反应,从而达到延长肿瘤患者的生存期的目的[3]。近年来,免疫检查点抑制剂(ICIs)在治疗驱动基因阴性的非小细胞肺癌(NSCLC)患者中取得了不错的结果。与标准化疗相比,免疫检查点抑制剂单药或联合化疗的使用使这类患者的近 5 年生存率上升至约 20% [4]。然而,尽管免疫治疗在 NSCLC 中取得了积极成果,但并非所有患者都能受益。同时,在 ICIs 治疗过程中,可能会出现完全缓解、部分缓解、病情稳定、假性进展和超进展等多种临床情况。因此,对于免疫治疗的优势人群尚未确定。虽然 PD-L1 和肿瘤突变负荷(TMB)是 NSCLC 免疫治疗疗效的常用生物标志物,微生物组、肿瘤浸润淋巴细胞和基因标志物也常被研究用来预测免疫治疗疗效,但这些肿瘤标志物存在连续获取难度大、时间长、成本高等较多问题,使得从分子水平对免疫治疗疗效进行动态监测比较困难。因此,迫切需要更简便获取的生物标志物,以便更好地筛选非小细胞肺癌免疫治疗的潜在受益人群。

2. ICIs 治疗晚期 NSCLC 的预后标志物

2.1. 淋巴细胞亚群

外周血淋巴细胞亚群在评估肿瘤患者免疫状态方面扮演着极其重要角色。CD4⁺T 淋巴细胞能够识别

抗原信号,并在启动和调节免疫反应中起到关键作用,而 CD8+T 淋巴细胞则主要通过直接杀伤受感染或癌变的细胞来发挥其免疫功能。CD4+/CD8+比值可以反映机体细胞免疫功能水平,临床上常用其来评估患者的免疫功能状态[5] [6]。在非小细胞肺癌(NSCLC)中,T 细胞在免疫反应中占据主导地位。其中,CD4+T 细胞约占总 T 细胞的 26%,而 CD8+T 细胞则约占 22% [7]-[9]。研究表明,肺癌患者在接受免疫检查点抑制剂(ICIs)治疗前,外周血中淋巴细胞的比例较高与较好的预后密切相关[10]。郭莹等人的研究进一步指出,在 ICIs 治疗后,外周血中总淋巴细胞计数、总 T 淋巴细胞计数以及 CD4+T 淋巴细胞计数的增加对晚期非小细胞肺癌患者的疗效具有积极意义[11]。此外,一些研究也表明,外周血中耗竭的 CD8+T 细胞亚群与 ICIs 治疗的疗效相关[12]-[14]。然而,由于免疫细胞种类繁多且相互作用复杂,单一的免疫细胞标志物可能难以全面预测疗效。因此,已有研究尝试通过联合多种免疫细胞指标来进行更全面的探索和评估。尽管如此,目前利用外周血免疫细胞作为免疫治疗疗效预测标志物的研究大多仍处于临床前阶段,各指标的判定阈值及最佳检测时机还需要进一步研究和确定。未来,随着研究的深入和技术的进步,这一领域有望为肿瘤免疫治疗提供更加精准和有效的评估工具。

2.2. 中性粒细胞与淋巴细胞比值与血小板与淋巴细胞比值

中性粒细胞与淋巴细胞比值(NLR)和血小板与淋巴细胞比值(PLR)被认为是反映肿瘤微环境中炎症因子的重要指标,相关研究报道了多种癌症中 NLR 和 PLR 的预后价值[15]。近年来,越来越多的研究表明,NLR 和 PLR 在非小细胞肺癌(NSCLC)中的预测价值具有重要意义。Soyano 等人[16]的研究显示,中性粒细胞计数和 NLR 较高的 NSCLC 患者在接受抗 PD-1/PD-L1 治疗后的生存期较差。同样,Moschetta 等人[17]的研究也发现,接受免疫检查点抑制剂治疗后 NLR 增高的患者生存率较低。这些研究表明,NLR 可以作为预测免疫治疗效果和患者预后的一个重要指标。此外,Russo 等人[18]进行的一项多中心研究显示,在接受免疫治疗的晚期 NSCLC 患者中,治疗前 PLR 较高的患者中位无进展生存期(PFS)为 4 个月,而 PLR 较低的患者中位 PFS 为 7 个月。同样,PLR 较高的患者中位总生存期(OS)也短于 PLR 较低的患者。这表明低 PLR 对患者的预后积极作用。国内外相关研究也指出,动态监测 NLR 和 PLR 的变化可能更有助于预测 NSCLC 患者对免疫治疗的反应和预后。Kaya 等人[19]的研究显示,接受 nivolumab 单药治疗的患者中,基线 NLR 高低与 PFS 无显著关联,但在治疗后 2 周和 4 周内 NLR 低于 3 的患者,其中位 PFS 更长(5.3 个月比 2.1 个月, $P = 0.0052$; 5.3 个月比 2.0 个月, $P = 0.0051$)。此外,Kiri 等人[20]的分析发现,治疗后 NLR 水平增加的患者比 NLR 稳定或减少的患者预后更差。随后的研究也证实,晚期 NSCLC 患者在接受免疫治疗期间,NLR 较低者无进展生存期明显延长[21] [22]。尽管 NLR 和 PLR 在临床预测中的潜力得到越来越多的认可,但关于其最佳截断值的选择尚无统一标准,在不同研究中,NLR 的临界值多取 3 至 5,PLR 的临界值多取 150 至 200,其选择方法也各不相同。所以这些指标的动态变化在预测治疗效果和患者预后方面的价值仍需更多的研究来验证,期待其为临床实践提供更为精准的指导。

2.3. 细胞因子

细胞因子是一组由机体内各种细胞,主要是免疫细胞以及癌细胞产生的小而可溶的多肽和糖蛋白,它们通过触发负责细胞激活、生长、分化、迁移和细胞毒性的信号通路发挥作用,对机体免疫应答的传导起重要作用[23]。细胞因子在肺癌的发生中起着重要作用,可以激活效应 T 细胞去抑制肿瘤生长,同时也参与肿瘤的生长、侵袭和转移[24]。已有研究表明,细胞因子的水平可以显著影响肿瘤患者的免疫治疗疗效。例如,研究表明[25]高水平的 IL-6 与较差的总生存率(OS)和无进展生存期(PFS)显著相关,较高的血清标志物水平通常预示着疾病的更快进展和更差的生存结果。一项涉及 45 名接受 ICIs 治疗的 NSCLC 患者的研究发现[26],血浆和肿瘤组织中 IL-6 基线水平较低的 NSCLC 患者可能从 ICIs 治疗中获得更多

益处。研究还揭示了 IL-6 水平与肿瘤微环境中免疫细胞组成之间的关系,这可能影响对 ICI 的反应。Li 等人[27]的研究发现,在 ICI 单药治疗队列中,治疗前 IL-6 水平高或治疗后 IL-6、IL-8 水平升高与较差的无进展生存期(PFS)相关。此外,Ke 等人[28]的综述总结了多项研究结果,指出 IL-6 表达与肺癌患者预后不良相关。血清 IL-6 水平 ≥ 4.0 pg/mL 与肺癌生存率显著降低相关。上述结果提示,血清 IL-6 水平可作为预测免疫治疗疗效的重要外周血标志物。在一些晚期肿瘤患者中,肿瘤微环境中 IL-8 水平升高与不良预后有关。动态监测血清 IL-8 水平可以反映假性进展的发生。当影像评估显示假性进展患者的肿瘤增大时,血清 IL-8 水平反而较低,而肿瘤实际进展时,IL-8 水平通常会显著升高[29]。这些结果表明,IL-6 和 IL-8 水平可以用于预测免疫治疗的疗效,而 IL-8 水平还可作为诊断和追踪假性进展的标志物。L-6 和 IL-8 等细胞因子不仅在癌症的生物学机制中发挥重要作用,还可以作为免疫治疗疗效的有价值预测标志物。通过动态监测这些细胞因子的水平变化,可以更好地评估患者对免疫治疗的反应,及时调整治疗方案,最终提高患者的生存率和生活质量。

2.4. 循环肿瘤 DNA (ctDNA)

ctDNA 从肿瘤细胞释放到血液中,携带肿瘤的遗传信息,为监测和评估疾病提供了非侵入性的方法。近年来,多个研究已证明 ctDNA 的水平及其动态变化与肿瘤免疫治疗的疗效密切相关。Cabel 等[30]的研究验证了 ctDNA 基线水平及其动态变化是评估肿瘤免疫治疗疗效的可靠指标。该研究发现,ctDNA 数值的变化与肿瘤大小具有相关性。在第 8 周时,未检测到 ctDNA 的患者相比于 ctDNA 阳性的患者,获得了更好的治疗反应和更长的总生存期(OS)及无进展生存期(PFS)。Nabet 等[31]的研究显示,ctDNA 的早期动态变化比影像学检查更优先表现出来,也对免疫治疗的长期疗效及患者预后具有良好的预测作用。以上结果表明,ctDNA 的动态变化能够有效预测非小细胞肺癌(NSCLC)患者对免疫检查点抑制剂(ICIs)的反应,并且准确性良好。其他类似研究也表明,ctDNA 可以用于评估免疫治疗的疗效和耐受性。一项关于 ctDNA 与帕博利珠单抗治疗 NSCLC 疗效的研究表明[32],ctDNA 可以早期预测治疗效果,甚至比影像学评估更快,ctDNA 与总生存期(OS)和无进展生存期(PFS)显著相关。一项 II 期临床研究[33]评估了 ctDNA 短期动态在预测二线 NSCLC 治疗中信迪利单抗联合多西他赛疗效方面的价值。其结果表示治疗 4 周后 ctDNA 水平下降 $\geq 50\%$ 的患者具有更好的客观缓解率(ORR)和疾病控制率(DCR)。Yue D 等人的研究[34]评估了 ctDNA 在预测 NSCLC 患者新辅助免疫治疗疗效和无复发生存期方面的作用,其结果提示:治疗前 ctDNA 水平与病理完全缓解(pCR)率相关,治疗后 ctDNA 下降与更长的无进展生存期相关。这些研究表明循环肿瘤 DNA 作为一种无创生物标志物,在预测免疫治疗肺癌疗效方面展现出重要的潜力。但是研究中 ctDNA 的具体标准值及评估的时间点并不一致,而且 ctDNA 水平在不同的肿瘤类型和不同患者之间会有所不同,受肿瘤大小、位置、代谢活性、组织学亚型和分级等多种因素影响,因此,关于监测 ctDNA 的一系列标准仍待确立。相信随着技术的进步和研究的深入,ctDNA 有望成为精准医学的重要组成部分,为肺癌患者带来更好的治疗前景。

2.5. 循环肿瘤细胞(Circulating Tumor Cells)

循环肿瘤细胞(CTCs)是从原发性或转移性肿瘤中脱落并进入血液循环的肿瘤细胞。其携带肿瘤的遗传和表观遗传信息,为监测和评估疾病提供了非侵入性的方法。近年来,多项研究表明,CTCs 不仅可以作为肿瘤负荷的标志物,还能为免疫治疗的疗效预测提供有价值的信息。CTCs 被认为是液体活检的主要项目之一,作为与肿瘤原发灶和转移灶同源的细胞,CTCs 可以提供丰富的信息,用于肿瘤细胞的形态学、蛋白质、DNA 和 RNA 等多方面的研究分析。这对于揭示肿瘤进展的机制、研究耐药性、以及发现新的潜在治疗靶点具有重要意义。通过分析 CTCs,我们可以更好地理解肿瘤的生物学特性,从而提高肿瘤诊

断和治疗的效果[35][36]。Rzhevskiy A 等人研究发现[37] CTCs 的存在与免疫检查点抑制剂(ICI)疗效显著相关。CTCs 数量的减少与患者的总生存期(OS)和无进展生存期(PFS)显著相关。CTC 的动态变化可以作为早期预测 ICI 疗效的生物标志物。一项研究表明[38], 高 PD-L1 表达的 CTCs 与更好的治疗反应和更长的 PFS 显著相关。此外, 关于 CTCs 在免疫治疗期间的动态变化的研究发现[39], CTCs 数量的减少与患者的治疗反应显著相关。CTCs 中 PD-L1 状态的变化可以反映患者对免疫治疗的反应, 并与 PFS 显著相关。这些研究结果表明, CTCs 在预测 NSCLC 免疫治疗疗效方面具有重要价值, 虽然 CTCs 在预测免疫治疗肺癌疗效方面展示了重要潜力, 但仍存在一些挑战。一方面, 由于 CTCs 的稀有性、异质性和转移过程的复杂性, CTCs 检测在临床应用中仍面临许多挑战, 需要采取有效的应对策略来解决。另一方面, 上述研究中的 CTCs 检测方法和评估标准不统一, 且样本量相对较小。其方法能否取代传统影像学作为免疫治疗早期治疗反应评估的标准仍需不断探讨。

2.6. 血液肿瘤突变负荷(Blood Tumor Mutational Burden)

肿瘤突变负荷(Tumor Mutational Burden, TMB)是指每百万碱基对肿瘤 DNA 中发生的突变数量。高 TMB 通常与新抗原的产生相关, 这些新抗原可以增强免疫系统对肿瘤的识别和攻击, 从而提高免疫治疗的效果[40]。近年来, 随着液体活检技术的发展, 基于外周血中的游离肿瘤 DNA (ctDNA)测定的肿瘤突变负荷(bTMB)逐渐成为一种重要的检测手段。相比传统的组织 TMB (tTMB), bTMB 检测具有非侵入性、取样方便以及反映肿瘤全局异质性的优势, 因而在临床实践中受到越来越多的关注。一个研究[41] bTMB 在阿替利珠单抗治疗中的预测价值的研究结果显示, bTMB ≥ 16 的患者具有更高的客观缓解率(ORR)和更长的总生存期(OS)以及无进展生存期(PFS)。另一研究[42]验证了这个结果, 其表明在接受一线阿替利珠单抗治疗的 NSCLC 患者中, bTMB 越高, 患者的客观缓解率、总生存期和无进展生存期越好。这进一步支持了 bTMB 作为免疫治疗生物标志物的有效性, 强调了其在指导免疫治疗方案选择中的潜在应用价值。综上所述, bTMB 作为免疫治疗的生物标志物, 展示了在预测患者对免疫治疗反应中的重要作用。高 bTMB 的患者通常对免疫治疗的响应更好, 表现出更高的缓解率和更长的生存期。随着研究的深入和检测技术的不断进步, bTMB 有望在临床实践中发挥更大的作用, 为非小细胞肺癌等肿瘤患者的个体化治疗提供科学依据。

3. 展望

外周血标记物作为预测免疫治疗肺癌疗效的重要工具, 近年来受到了广泛关注。通过非侵入性地检测和监测循环肿瘤 DNA、循环肿瘤细胞及免疫细胞亚群等, 医生能够更早地评估患者对治疗的反应, 优化治疗方案, 并提高个体化治疗的效果。这种方法不仅减少了患者的痛苦和不适, 也为临床医生提供了动态、实时的肿瘤变化信息, 使得治疗过程更加精准。随着技术的进步和研究的深入, 外周血标记物有望成为精准医学的重要工具, 为肺癌患者带来更好的治疗前景。例如, ctDNA 可以反映肿瘤基因组的变化, 帮助识别驱动突变, 从而指导靶向治疗和免疫治疗的选择。CTC 的检测则可以提供关于肿瘤细胞侵袭性和转移潜力的信息, 而免疫细胞亚群的分析则有助于评估患者的免疫状态和对免疫治疗的潜在反应。尽管前景广阔, 目前外周血标记物的应用仍面临一些挑战。其中检测方法和评估标准的不统一可能导致结果的不一致。此外, 血液生物标记物容易受到多种因素的干扰, 如样本处理、患者的生理状态和技术平台的差异等。因此, 还需通过更多大规模、前瞻性研究进一步验证这些标记物的应用价值和可靠性, 以确保其在临床实践中的有效性和可重复性。另一方面, 单一生物标记物的预测效果可能受到限制, 将多个生物标记物联合作为肺癌免疫治疗的预测指标, 或许可以提高预测的特异性和敏感性。例如, 将 ctDNA、CTC 和免疫细胞亚群等多种指标结合起来, 可以更准确地预测患者对免疫治疗的反应。未来,

随着研究的不断深入和技术的不断完善, 外周血标记物有望在临床实践中得到广泛应用, 为肺癌患者提供更加个体化和精准的治疗方案, 显著改善患者的生存率和生活质量。

参考文献

- [1] Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., *et al.* (2021) Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **71**, 209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- [2] Duma, N., Santana-Davila, R. and Molina, J.R. (2019) Non-Small Cell Lung Cancer: Epidemiology, Screening, Diagnosis, and Treatment. *Mayo Clinic Proceedings*, **94**, 1623-1640. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2019.01.013>
- [3] Kotecki, N., Vuagnat, P., O'Neil, B.H., Jalal, S., Rottey, S., Prenen, H., *et al.* (2021) A Phase I Study of an IDO-1 Inhibitor (LY3381916) as Monotherapy and in Combination with an Anti-PD-L1 Antibody (LY3300054) in Patients with Advanced Cancer. *Journal of Immunotherapy*, **44**, 264-275. <https://doi.org/10.1097/cji.0000000000000368>
- [4] Aggarwal, H., Ndirangu, K., Winfree, K.B., Muehlenbein, C.E., Zhu, E., Tongbram, V., *et al.* (2023) A Network Meta-Analysis of Immunotherapy-Based Treatments for Advanced Nonsquamous Non-Small Cell Lung Cancer. *Journal of Comparative Effectiveness Research*, **12**, e220016. <https://doi.org/10.2217/ce-2022-0016>
- [5] Borst, J., Ahrends, T., Bąbala, N., Melief, C.J.M. and Kastenmüller, W. (2018) CD4⁺ T Cell Help in Cancer Immunology and Immunotherapy. *Nature Reviews Immunology*, **18**, 635-647. <https://doi.org/10.1038/s41577-018-0044-0>
- [6] Gonzalez, H., Hagerling, C. and Werb, Z. (2018) Roles of the Immune System in Cancer: From Tumor Initiation to Metastatic Progression. *Genes & Development*, **32**, 1267-1284. <https://doi.org/10.1101/gad.314617.118>
- [7] Myers, J.A. and Miller, J.S. (2020) Exploring the NK Cell Platform for Cancer Immunotherapy. *Nature Reviews Clinical Oncology*, **18**, 85-100. <https://doi.org/10.1038/s41571-020-0426-7>
- [8] Li, X., Lv, Q., Feng, Y., Gu, Y., Xia, R., Ma, J., *et al.* (2018) Interleukin-33, a Potential Cytokine Expressed in the Tumor Microenvironment Is Involved in Antitumor Immunotherapy through Facilitating CD8⁺ T Cells. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, **38**, 491-499. <https://doi.org/10.1089/jir.2018.0069>
- [9] van Montfoort, N., Borst, L., Korner, M.J., Sluijter, M., Marijt, K.A., Santegoets, S.J., *et al.* (2018) NKG2A Blockade Potentiates CD8 T Cell Immunity Induced by Cancer Vaccines. *Cell*, **175**, 1744-1755.E15. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.10.028>
- [10] Heng, J.S., Kim, J.M., Jones, D.K., Stoessel, K.M., Weiss, S.A., Sznol, M., *et al.* (2022) Autoimmune Retinopathy with Associated Anti-Retinal Antibodies as a Potential Immune-Related Adverse Event Associated with Immunotherapy in Patients with Advanced Cutaneous Melanoma: Case Series and Systematic Review. *BMJ Open Ophthalmology*, **7**, e000889. <https://doi.org/10.1136/bmjophth-2021-000889>
- [11] 郭莹, 高天慧, 赵孟阳, 等. 晚期非小细胞肺癌淋巴细胞亚群及细胞因子与免疫疗效的关系研究[J]. 中华全科医学, 2022, 20(9): 1462-1465.
- [12] Kagamu, H., Kitano, S., Yamaguchi, O., Yoshimura, K., Horimoto, K., Kitazawa, M., *et al.* (2020) CD4⁺ T-Cell Immunity in the Peripheral Blood Correlates with Response to Anti-PD-1 Therapy. *Cancer Immunology Research*, **8**, 334-344. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.cir-19-0574>
- [13] Kim, C.G., Hong, M.H., Kim, K.H., Seo, I., Ahn, B., Pyo, K., *et al.* (2021) Dynamic Changes in Circulating PD-1⁺CD8⁺ T Lymphocytes for Predicting Treatment Response to PD-1 Blockade in Patients with Non-Small-Cell Lung Cancer. *European Journal of Cancer*, **143**, 113-126. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2020.10.028>
- [14] Youn, J., Park, S., Park, S., Kim, G., Lee, H., Son, J., *et al.* (2020) Peripheral Natural Killer Cells and Myeloid-Derived Suppressor Cells Correlate with Anti-PD-1 Responses in Non-Small Cell Lung Cancer. *Scientific Reports*, **10**, Article No. 9050. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65666-x>
- [15] Isacco, C.G., Ballini, A., De Vito, D., Nguyen, K.C.D., Cantore, S., Bottalico, L., *et al.* (2021) Rebalancing the Oral Microbiota as an Efficient Tool in Endocrine, Metabolic and Immune Disorders. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets*, **21**, 777-784. <https://doi.org/10.2174/1871530320666200729142504>
- [16] Soyano, A.E., Dholaria, B., Marin-Acevedo, J.A., Diehl, N., Hodge, D., Luo, Y., *et al.* (2018) Peripheral Blood Biomarkers Correlate with Outcomes in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Patients Treated with Anti-PD-1 Antibodies. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, **6**, Article 129. <https://doi.org/10.1186/s40425-018-0447-2>
- [17] Moschetta, M., Uccello, M., Kasenda, B., Mak, G., McClelland, A., Boussios, S., *et al.* (2017) Dynamics of Neutrophils-To-Lymphocyte Ratio Predict Outcomes of PD-1/PD-L1 Blockade. *BioMed Research International*, **2017**, Article 1506824. <https://doi.org/10.1155/2017/1506824>
- [18] Russo, A., Russano, M., Franchina, T., Migliorino, M.R., Aprile, G., Mansueto, G., *et al.* (2020) Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio (NLR), Platelet-to-Lymphocyte Ratio (PLR), and Outcomes with Nivolumab in Pretreated Non-Small Cell

- Lung Cancer (NSCLC): A Large Retrospective Multicenter Study. *Advances in Therapy*, **37**, 1145-1155. <https://doi.org/10.1007/s12325-020-01229-w>
- [19] Nakaya, A., Kurata, T., Yoshioka, H., Takeyasu, Y., Niki, M., Kibata, K., *et al.* (2018) Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio as an Early Marker of Outcomes in Patients with Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer Treated with Nivolumab. *International Journal of Clinical Oncology*, **23**, 634-640. <https://doi.org/10.1007/s10147-018-1250-2>
 - [20] Kiriu, T., Yamamoto, M., Nagano, T., Hazama, D., Sekiya, R., Katsurada, M., *et al.* (2018) The Time-Series Behavior of Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio Is Useful as a Predictive Marker in Non-Small Cell Lung Cancer. *PLOS ONE*, **13**, e0193018. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0193018>
 - [21] Sánchez-Gastaldo, A., Muñoz-Fuentes, M.A., Molina-Pinelo, S., Alonso-García, M., Boyero, L. and Bernabé-Caro, R. (2021) Correlation of Peripheral Blood Biomarkers with Clinical Outcomes in NSCLC Patients with High PD-L1 Expression Treated with Pembrolizumab. *Translational Lung Cancer Research*, **10**, 2509-2522. <https://doi.org/10.21037/tlcr-21-156>
 - [22] Lu, X., Wan, J. and Shi, H. (2022) Platelet-to-Lymphocyte and Neutrophil-to-Lymphocyte Ratios Are Associated with the Efficacy of Immunotherapy in Stage III/IV Non-Small Cell Lung Cancer. *Oncology Letters*, **24**, Article No. 266. <https://doi.org/10.3892/ol.2022.13386>
 - [23] Tay, S.H., Toh, M.M.X., Thian, Y.L., Vellayappan, B.A., Fairhurst, A., Chan, Y.H., *et al.* (2022) Cytokine Release Syndrome in Cancer Patients Receiving Immune Checkpoint Inhibitors: A Case Series of 25 Patients and Review of the Literature. *Frontiers in Immunology*, **13**, Article 807050. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.807050>
 - [24] Sillito, F., Holler, A. and Stauss, H.J. (2020) Engineering CD4⁺ T Cells to Enhance Cancer Immunity. *Cells*, **9**, Article 1721. <https://doi.org/10.3390/cells9071721>
 - [25] Honrubia-Peris, B., Garde-Noguera, J., García-Sánchez, J., Piera-Molons, N., Llombart-Cussac, A. and Fernández-Murga, M.L. (2021) Soluble Biomarkers with Prognostic and Predictive Value in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Treated with Immunotherapy. *Cancers*, **13**, Article 4280. <https://doi.org/10.3390/cancers13174280>
 - [26] Liu, C., Yang, L., Xu, H., Zheng, S., Wang, Z., Wang, S., *et al.* (2022) Systematic Analysis of IL-6 as a Predictive Biomarker and Desensitizer of Immunotherapy Responses in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer. *BMC Medicine*, **20**, Article No. 187. <https://doi.org/10.1186/s12916-022-02356-7>
 - [27] Hu, Y., Li, S., Xiao, H., Xiong, Y., Lu, X., Yang, X., *et al.* (2023) Distinct Circulating Cytokine/Chemokine Profiles Correlate with Clinical Benefit of Immune Checkpoint Inhibitor Monotherapy and Combination Therapy in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *Cancer Medicine*, **12**, 12234-12252. <https://doi.org/10.1002/cam4.5918>
 - [28] Ke, W., Zhang, L. and Dai, Y. (2020) The Role of IL-6 in Immunotherapy of Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) with Immune-Related Adverse Events (irAEs). *Thoracic Cancer*, **11**, 835-839. <https://doi.org/10.1111/1759-7714.13341>
 - [29] Sanmamed, M.F., Perez-Gracia, J.L., Schalper, K.A., Fusco, J.P., Gonzalez, A., Rodriguez-Ruiz, M.E., *et al.* (2017) Changes in Serum Interleukin-8 (IL-8) Levels Reflect and Predict Response to Anti-PD-1 Treatment in Melanoma and Non-Small-Cell Lung Cancer Patients. *Annals of Oncology*, **28**, 1988-1995. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx190>
 - [30] Cabel, L., Proudhon, C., Romano, E., Girard, N., Lantz, O., Stern, M., *et al.* (2018) Clinical Potential of Circulating Tumour DNA in Patients Receiving Anticancer Immunotherapy. *Nature Reviews Clinical Oncology*, **15**, 639-650. <https://doi.org/10.1038/s41571-018-0074-3>
 - [31] Nabet, B.Y., Esfahani, M.S., Moding, E.J., Hamilton, E.G., Chabon, J.J., Rizvi, H., *et al.* (2020) Noninvasive Early Identification of Therapeutic Benefit from Immune Checkpoint Inhibition. *Cell*, **183**, 363-376.E13. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.09.001>
 - [32] Anagnostou, V., Ho, C., Nicholas, G., Juergens, R.A., Sacher, A., Fung, A.S., *et al.* (2023) ctDNA Response after Pembrolizumab in Non-Small Cell Lung Cancer: Phase 2 Adaptive Trial Results. *Nature Medicine*, **29**, 2559-2569. <https://doi.org/10.1038/s41591-023-02598-9>
 - [33] Han, X., Tang, X., Zhu, H., Zhu, D., Zhang, X., Meng, X., *et al.* (2022) Short-Term Dynamics of Circulating Tumor DNA Predicting Efficacy of Sintilimab Plus Docetaxel in Second-Line Treatment of Advanced NSCLC: Biomarker Analysis from a Single-Arm, Phase 2 Trial. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, **10**, e004952. <https://doi.org/10.1136/jitc-2022-004952>
 - [34] Yue, D., Liu, W., Chen, C., Zhang, T., Ma, Y., Cui, L., *et al.* (2022) Circulating Tumor DNA Predicts Neoadjuvant Immunotherapy Efficacy and Recurrence-Free Survival in Surgical Non-Small Cell Lung Cancer Patients. *Translational Lung Cancer Research*, **11**, 263-276. <https://doi.org/10.21037/tlcr-22-106>
 - [35] Sharma, S., Zhuang, R., Long, M., Pavlovic, M., Kang, Y., Ilyas, A., *et al.* (2018) Circulating Tumor Cell Isolation, Culture, and Downstream Molecular Analysis. *Biotechnology Advances*, **36**, 1063-1078. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.03.007>
 - [36] Zhang, Y., Zheng, H., Zhan, Y., *et al.* (2018) Detection and Application of Circulating Tumor Cell and Circulating Tumor DNA in the Non-Small Cell Lung Cancer. *American Journal of Cancer Research*, **8**, 2377-2386.

-
- [37] Rzhetskiy, A., Kapitannikova, A., Malinina, P., Volovetsky, A., Aboulkheyr Es, H., Kulasinghe, A., *et al.* (2021) Emerging Role of Circulating Tumor Cells in Immunotherapy. *Theranostics*, **11**, 8057-8075. <https://doi.org/10.7150/thno.59677>
- [38] Zhou, Q., Liu, X., Li, J., Tong, B., Xu, Y., Chen, M., *et al.* (2023) Circulating Tumor Cells PD-L1 Expression Detection and Correlation of Therapeutic Efficacy of Immune Checkpoint Inhibition in Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *Thoracic Cancer*, **14**, 470-478. <https://doi.org/10.1111/1759-7714.14767>
- [39] Strati, A., Economopoulou, P., Lianidou, E. and Psyrri, A. (2023) Clinical Significance of PD-L1 Status in Circulating Tumor Cells for Cancer Management during Immunotherapy. *Biomedicines*, **11**, Article 1768. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11061768>
- [40] Chalmers, Z.R., Connelly, C.F., Fabrizio, D., Gay, L., Ali, S.M., Ennis, R., *et al.* (2017) Analysis of 100,000 Human Cancer Genomes Reveals the Landscape of Tumor Mutational Burden. *Genome Medicine*, **9**, Article No. 34. <https://doi.org/10.1186/s13073-017-0424-2>
- [41] Kim, E.S., Velcheti, V., Mekhail, T., Yun, C., Shagan, S.M., Hu, S., *et al.* (2022) Blood-Based Tumor Mutational Burden as a Biomarker for Atezolizumab in Non-Small Cell Lung Cancer: The Phase 2 B-FIRST Trial. *Nature Medicine*, **28**, 939-945. <https://doi.org/10.1038/s41591-022-01754-x>
- [42] Wang, Z., Duan, J., Cai, S., Han, M., Dong, H., Zhao, J., *et al.* (2019) Assessment of Blood Tumor Mutational Burden as a Potential Biomarker for Immunotherapy in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer with Use of a Next-Generation Sequencing Cancer Gene Panel. *JAMA Oncology*, **5**, 696-702. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2018.7098>