

PD-L1表达与TILs浸润分型预测食管鳞癌免疫联合化疗疗效的临床研究

刘 林, 高会江, 石国栋, 艾江山, 赵连政, 张 震, 兰亚良, 魏煜程*

青岛大学附属医院胸外科, 山东 青岛

收稿日期: 2025年3月18日; 录用日期: 2025年4月11日; 发布日期: 2025年4月18日

摘 要

目的: 评估PD-L1表达(CPS)和TILs密度对ESCC免疫联合化疗疗效的预测能力, 验证TIME分型体系, 探索其临床转化潜力。方法: 回顾性分析2017年1月至2024年12月青岛大学附属医院收治的238例初治ESCC患者, 均接受PD-1/PD-L1抑制剂联合化疗。通过免疫组化检测PD-L1表达(CPS)和TILs密度, 基于PD-L1 (CPS ≥ 10)和TILs ($\geq 20\%$)将TIME分为四型(PD-L1⁺/TIL⁺、PD-L1⁺/TIL⁻、PD-L1⁻/TIL⁺、PD-L1⁻/TIL⁻)。采用Fisher-Freeman-Halton检验等统计学方法评估各型ORR差异, 并用Kaplan-Meier法及Log-rank检验分析生存数据。结果: PD-L1阳性(CPS ≥ 10)和TILs高浸润($\geq 20\%$)患者ORR更高(PD-L1⁺ vs. PD-L1⁻: 34.9% vs. 20.8%, $P = 0.030$; TIL⁺ vs. TIL⁻: 42.7% vs. 7.4%, $P < 0.001$)。II型(PD-L1⁺/TIL⁺) ORR最高(44.55%), 显著优于其他亚型(vs. IV型: $P < 0.001$; vs. III型: $P = 0.017$; vs. I型: $P = 0.025$); I型(PD-L1⁻/TIL⁻) ORR最低(12.50%)。生存分析显示, II型中位OS (37.4个月)和PFS (23.1个月)显著优于I型和IV型(Log-rank $P < 0.001$)。结论: TIME分型可有效预测ESCC免疫联合化疗的疗效和生存结局。II型为理想获益人群, I型及IV型需探索逆转免疫抑制的策略。

关键词

食管鳞状细胞癌, 肿瘤免疫微环境, PD-L1, 肿瘤浸润淋巴细胞

Clinical Research on Predicting the Efficacy of Immunotherapy Combined with Chemotherapy in Esophageal Squamous Cell Carcinoma Based on PD-L1 Expression and TILs Infiltration Typing

*通讯作者。

文章引用: 刘林, 高会江, 石国栋, 艾江山, 赵连政, 张震, 兰亚良, 魏煜程. PD-L1 表达与 TILs 浸润分型预测食管鳞癌免疫联合化疗疗效的临床研究[J]. 临床医学进展, 2025, 15(4): 2064-2075. DOI: 10.12677/acm.2025.1541155

Lin Liu, Huijiang Gao, Guodong Shi, Jiangshan Ai, Liangzheng Zhao, Zhen Zhang,
Yaliang Lan, Yucheng Wei*

Thoracic Surgery Department, Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong

Received: Mar. 18th, 2025; accepted: Apr. 11th, 2025; published: Apr. 18th, 2025

Abstract

Objective: To assess the predictive value of PD-L1 expression (CPS) and TILs density for ICI-chemotherapy efficacy in ESCC patients and validate the TIME classification system. **Methods:** Retrospective analysis of 238 treatment-naïve ESCC patients receiving PD-1/PD-L1 inhibitors combined with chemotherapy from January 2017 to December 2024. PD-L1 (CPS) and TILs density were evaluated by immunohistochemistry. TIME was classified into four subtypes based on PD-L1 (CPS ≥ 10) and TILs ($\geq 20\%$). ORR differences were assessed using Fisher-Freeman-Halton test, and survival data were analyzed using Kaplan-Meier and Log-rank tests. **Results:** PD-L1 positivity (CPS ≥ 10) and high TILs infiltration ($\geq 20\%$) were associated with higher ORR (PD-L1⁺ vs. PD-L1⁻: 34.9% vs. 20.8%, $P = 0.030$; TIL⁺ vs. TIL⁻: 42.7% vs. 7.4%, $P < 0.001$). Type II (PD-L1⁺/TIL⁺) had the highest ORR (44.55%) which was significantly better than other subtypes (vs. Type IV: $P < 0.001$; vs. Type III: $P = 0.017$; vs. Type I: $P = 0.025$); Type I (PD-L1⁻/TIL⁻) had the lowest ORR (12.50%). Survival analysis showed that Type II had significantly longer median OS (37.4 months) and PFS (23.1 months) compared with Type I and Type IV (Log-rank $P < 0.001$). **Conclusion:** TIME classification effectively predicts the efficacy and survival outcomes of ICI-chemotherapy in ESCC patients. Type II represents the ideal beneficiary population. Strategies to reverse immune suppression should be explored for Type I and Type IV.

Keywords

Esophageal Squamous Cell Carcinoma, Tumor Immune Microenvironment, PD-L1,
Tumor-Infiltrating Lymphocytes

Copyright © 2025 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. 背景

食管鳞状细胞癌(ESCC)是一种在全球范围内广泛发生的恶性肿瘤,其中东亚地区的新发病例数占全球总数的70%以上[1]。尽管传统的治疗方法在一定程度上能够取得疗效,但对于晚期ESCC患者而言,其5年生存率仍然低于20%[2]。在我国,食管癌的组织类型以鳞状细胞癌为主,大多数食管癌患者在就诊时已处于局部晚期,这使得手术切除率较低,进而导致预后较差,总体5年生存率仅为10%~30%[3]。尽管近年来多学科治疗模式,如化疗、放射治疗以及化学放射治疗等均取得了显著进展,但食管癌患者的预后仍不尽如人意。近年来,免疫治疗与化疗的联合应用作为一种创新的治疗模式,因其在治疗多种类型癌症中展现出的巨大潜力而备受关注。该疗法通过化疗药物重塑肿瘤免疫微环境(TIME),激活抗原呈递细胞,增强T细胞功能,并协同免疫检查点抑制剂阻断免疫逃逸机制,从而增强抗肿瘤效果[4]。包括ESCC在内的多种恶性肿瘤治疗中取得了令人信服的反应和显著的临床益处,但遗憾的是,并非所有

患者都能从中获益[5]。鉴于此，迫切需要确定有效的生物标志物，以筛选出可能对这些免疫联合化疗产生反应的患者群体，并进一步优化临床治疗策略，以有效克服耐药性问题。本研究旨在通过分析基于 PD-L1 表达和免疫浸润对肿瘤免疫微环境进行分类的不同类型，探讨其与食管鳞癌患者对免疫联合化疗疗效的相关性，进而研究其作为食管鳞癌免疫联合化疗疗效有效生物标志物的可行性。

2. 研究对象和方法

2.1. 研究对象

本研究为单中心、回顾性队列研究，在青岛大学附属医院开展。研究数据源自青岛大学附属医院科研大数据系统(YIDUYUN System)，由两名医师独立审核并记录患者的人口学、治疗及随访信息。研究纳入 2017 年 1 月至 2023 年 12 月接受治疗的 1527 名食管鳞癌患者，其中 238 名符合纳入排除标准。该研究方案获青岛大学附属医院医学伦理委员会审批(QYFYEC2024-309)，且已获得患者家属知情同意。

2.2. 纳入及排除标准

纳入标准：① 经我院组织病理学确诊的食管鳞癌患者；② 未接受过手术、放疗、化疗等抗肿瘤治疗，为初治状态；③ 初始治疗方案为至少 3 周期 PD-1/PD-L1 免疫检查点抑制剂联合化疗(铂类 + 紫杉醇类)；④ 治疗前后均进行了符合 RECIST v1.1 标准的影像学检查；⑤ 具有完整的临床资料及治疗前胃镜组织蜡块。排除标准：① 既往接受过放疗、化疗、长期或大剂量激素治疗、手术或分子靶向治疗；② 既往或合并其他恶性肿瘤(已治愈皮肤基底细胞癌和宫颈原位癌除外)；③ 肿瘤组织不足；④ 关键临床信息缺失。

2.3. 临床患者资料的收集

收集患者的基本临床信息，涵盖年龄、性别、肿瘤分化程度、肿瘤浸润深度(T)、淋巴结转移情况(N)以及远处转移情况(M)，并依据 AJCC/UICC 第 8 版标准进行肿瘤分期(见表 1)。同时，按照 RECIST 1.1 标准对治疗效果进行评估，分为以下几类：完全缓解(CR)、部分缓解(PR)、病情稳定(SD)以及疾病进展(PD)(见表 1)。对石蜡包埋的胃镜肿瘤标本切片进行苏木精 - 伊红(hematoxylin and eosin, HE)染色，采用标准化的 ITWG 评分方法精准计数肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)。利用免疫组化处理的肿瘤胃镜切片经扫描后，通过 CaseViewer2.4 软件放大观察，并借助 Halo v3.0.311.314 分析软件中的 Classifier 模块区分肿瘤区域，再利用 Indica Labs-Area Quantification FL v2.1.2 模块评估 CPS 评分。

2.4. 随访与数据收集

患者生存随访时间截至 2024 年 12 月，中位随访时间为 24.6 个月(范围：3.2~60.1 个月)。通过医院电子病历系统及电话随访收集生存数据，主要终点为总生存期(Overall Survival, OS)，定义为从治疗开始至因任何原因死亡的时间；次要终点为无进展生存期(Progression-Free Survival, PFS)，定义为从治疗开始至疾病进展或死亡的时间。失访率为 4.2% (10/238)，采用截尾数据处理。

2.5. 统计学方法

采用 SPSS27.0 软件进行统计分析，运用卡方检验或 Fisher 精确概率法评估 PD-L1 蛋白表达或 TILs 与临床病理特征(包括性别、吸烟史、饮酒史、肿瘤位置、远处转移(M))之间的相关性。在处理浸润深度(T)、淋巴结转移(N)、分化程度及分期等资料时则运用非参数统计方法 Spearman 秩相关系数来描述。根据 PD-L1 表达水平和 TILs 浸润对食管鳞癌肿瘤微环境进行分型，然后基于 Bonferroni 校正的多重比较检

验分析各型患者对治疗疗效的差异。对于生存分析，将采用 Kaplan-Meier 法计算 OS/PFS，并通过 Log-rank 检验比较组间差异，Cox 回归多因素分析。

Table 1. Basic clinical information of esophageal squamous cell carcinoma patients
表 1. 食管鳞癌患者基本临床信息

临床特征	结果
中位年龄(范围), 岁	61 (48~75)
性别(男/女)	225/15
吸烟史(有/无)	163/75
饮酒史(有/无)	169/69
肿瘤位置(颈胸上段/中段/下段)	33/107/98
肿瘤分化程度(低/中/高)	62/149/27
肿瘤浸润深度(T1/T2/T3/T4)	13/74/118/33
淋巴结转移(N0/N1/N2/N3)	42/105/70/21
远处转移(M0/M1)	157/81
分期(I/II/III/IV)	16/43/74/105

3. 结果

3.1. PD-L1 表达水平与临床特征的相关性

本研究选取 CPS ≥ 10 为 PD-L1 阳性表达的阈值[6] [7]，对 238 例食管鳞癌患者的 PD-L1 表达水平与临床特征的相关性进行了分析。研究发现，PD-L1 阳性表达与吸烟史及淋巴结转移(N)显著相关($P < 0.05$)，而与性别、饮酒史、肿瘤位置、浸润深度(T)、远处转移(M)、分化程度及分期均无显著关联($P > 0.05$) (见表 2)。

Table 2. Correlation between PD-L1 expression and clinical characteristics of patients
表 2. PD-L1 表达与患者临床特征情况

临床特征		PD-L1 表达		P 值
		阴性	阳性	
性别	男	222	66	0.513
	女	16	6	
吸烟史	有	163	56	0.042
	无	75	16	
饮酒史	有	169	53	0.560
	无	69	19	
肿瘤浸润深度(T)	T1	13	8	0.465
	T2	74	17	
	T3	118	32	
	T4	33	15	

续表

淋巴结转移(N)				
N0	42	24	18	0.001
N1	105	32	73	
N2	70	16	54	
N3	21	0	21	
远处转移(M)				
M0	157	48	109	0.881
M1	81	24	57	
肿瘤位置				
颈胸上段	33	13	20	0.299
中段	107	33	74	
下段	98	26	72	
肿瘤分化程度				
低分化	62	21	41	0.150
中分化	149	47	102	
高分化	27	4	23	
分期				
I 期	16	11	5	0.185
II 期	43	16	27	
III 期	74	12	62	
IV 期	105	33	72	

3.2. TILs 与临床特征的相关性

对于 TIL⁺的阈值的选取,我们绘制了 TILs 和患者缓解状态的 ROC 曲线(AUC = 0.706, 95% CI: 0.640~0.773, $P < 0.001$), 最终定义 TIL⁺为 TILs $\geq 20\%$ (图 1), 在此阈值下, 敏感度为 78.1%, 特异性为 65.5%。然后对 238 例食管鳞癌患者的 TILs 与临床特征的相关性进行了分析。研究发现, TILs 阳性表达与远处转移(M)及 PD-L1 表达有相关性($P < 0.05$), 而与性别、吸烟史、饮酒史、肿瘤位置、浸润深度(T)、淋巴结转移(N)、远处转移(M)、分化程度及分期均无显著关联($P > 0.05$) (表 3)。

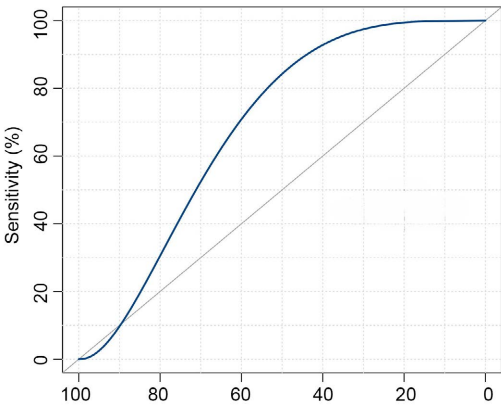


Figure 1. ROC curve for TILs (%) in predicting response status
图 1. TILs (%)预测缓解状态的 ROC 曲线

Table 3. The correlation between TILs and patient clinical characteristics
表 3. TILs 与患者临床特征情况

临床特征		TILs		P 值
		TIL ⁻	TIL ⁺	
性别				
男	222	76	146	0.808
女	16	5	11	
吸烟史				
有	163	54	109	0.664
无	75	27	48	
饮酒史				
有	169	54	115	0.289
无	69	27	42	
肿瘤浸润深度(T)				
T1	13	5	8	0.263
T2	74	28	46	
T3	118	39	79	
T4	33	9	24	
淋巴结转移(N)				
N0	42	4	38	0.062
N1	105	44	61	
N2	70	27	43	
N3	21	6	15	
远处转移(M)				
M0	157	45	112	0.015
M1	81	36	45	
肿瘤位置				
颈胸上段	33	15	18	0.133
中段	107	39	68	
下段	98	27	71	
肿瘤分化程度				
低分化	62	17	45	0.075
中分化	149	51	98	
高分化	27	13	14	
分期				
I 期	16	5	11	0.065
II 期	43	10	33	
III 期	74	24	50	
IV 期	105	42	63	

续表

PD-L1 表达				
PD-L1 ⁻	72	16	56	0.0011
PD-L1 ⁺	166	65	101	

3.3. 基于 PD-L1 表达与 TILs 密度的食管鳞癌肿瘤微环境(TIME)分型

以 CPS ≥ 10 及 TILs $\geq 20\%$ 分别定义 PD-L1⁺ 及 TIL⁺，按照适应性免疫抵抗机制，肿瘤免疫微环境 (TIME) 被分为四种类型[8]：PD-L1⁻/TIL⁻ (I 型)：共 16 例(6.7%)；PD-L1⁺/TIL⁺ (II 型)：共 101 例(42.4%)；PD-L1⁻/TIL⁺ (III 型)：共 56 例(23.5%)；以及 PD-L1⁺/TIL⁻ (IV 型)：共 65 例(27.3%)。II 型(PD-L1⁺/TIL⁺)患者的 ORR (44.55%)显著高于其他三组(与 IV 型相比：P < 0.001；与 III 型相比：P = 0.017；与 I 型相比：P = 0.025)，这突出了 PD-L1 与 TIL 协同激活抗肿瘤免疫的关键作用；IV 型(PD-L1⁺/TIL⁻)的 ORR (18.46%)显著低于 II 型(P < 0.001)，但与 III 型(25.00%)无差异(P = 0.572)，表明 TIL 缺失可能削弱 PD-L1 单阳性表型的免疫应答；III 型(PD-L1⁻/TIL⁺)患者 ORR (25.00%)虽较 I 型(12.50%)数值更高，但两者间无统计学差异(P = 0.338)，需进一步验证 TIL 单独浸润的潜在代偿效应(见表 4)。同时，我们依据该分型方案，对 195 例样本进行了长期生存分析。分析结果显示，该四组中位 OS 分别是：23.1 个月(10.18~35.82)，37.4 个月(95%CI: 35.60~40.40)，33.6 个月(95%CI: 26.12~41.88)，31.0 个月(95%CI: 22.13~39.87)；中位 PFS 分别是：11.3 个月(95%CI: 6.95~15.05)、19.2 个月(95%CI: 15.11~22.89)、15 个月(95%CI: 13.11~16.89)、13.2 个月(95%CI: 10.97~15.03)。TIME 分型与患者的总生存期(OS)及无进展生存期(PFS)具有显著相关性(Log-rank 检验：OS P = 0.00083；PFS P < 0.0001)。其中，II 型(PD-L1⁺/TIL⁺)患者的预后最为理想，与其他三组相比均显著更优(Log-rank 成对比较：与 IV 型相比，OS P < 0.001；PFS P < 0.001；与 III 型相比，OS P = 0.002；PFS P = 0.001；与 I 型相比，OS P = 0.021)。III 型(PD-L1⁻/TIL⁺)患者的生存情况优于 I 型(OS P = 0.015；PFS P = 0.021)，余组间比较在 OS 及 PFS 方面均无统计学差异(P < 0.05) (见图 2、图 3)。Cox 多因素分析显示，肿瘤浸润深度(HR = 0.467, 95%CI: 0.266~0.821, P = 0.008)、淋巴结转移(HR = 2.136, 95%CI: 1.005~4.542, P = 0.049)、远处转移(HR = 2.182, 95%CI: 1.342~3.546, P = 0.002)、肿瘤 TNM 分期(HR = 0.857, 95%CI: 0.422~1.741, P = 0.037)是影响患者预后的独立因素。校正 T 分期、N 分期、远处转移、性别、吸烟史等临床变量后，TIME 分型与总生存期显著相关(P < 0.001)。与 II 型(PD-L1⁺/TIL⁺)相比，I 型(HR = 3.345, 95%CI: 1.475~7.587, P = 0.004)和 IV 型(HR = 2.720, 95%CI: 1.650~4.483, P < 0.001)患者的死亡风险显著升高，且独立于传统预后指标。TIME 分型可补充传统 TNM 分期，为临床分层治疗提供依据。未来需结合分子机制研究明确其生物学基础(见表 5)。

Table 4. Comparison of TIME typing and objective response rate (ORR)

表 4. TIME 分型与客观缓解率(ORR)的比较

TIME 分型	例数(n)	缓解数	ORR	统计学比较(p 值)
I 型	16	2	12.50%	vs II 型: 0.025*
II 型	101	45	44.55%	Reference
III 型	56	14	25.00%	vs II 型: 0.017**；vs I 型: 0.338
IV 型	65	12	18.46%	vs II 型: 0.001***；vs III 型: 0.506

注：统计学检验：采用 Fisher 精确检验，多重比较经 Bonferroni 校正(显著性阈值 $\alpha = 0.008$)。*P < 0.05 (未通过校正，趋势显著)；**P < 0.01；***P < 0.001。总体差异：卡方检验($\chi^2 = 17.043$ ，自由度 = 3，P < 0.001)；Fisher-Freeman-Halton 精确检验(P < 0.001)。

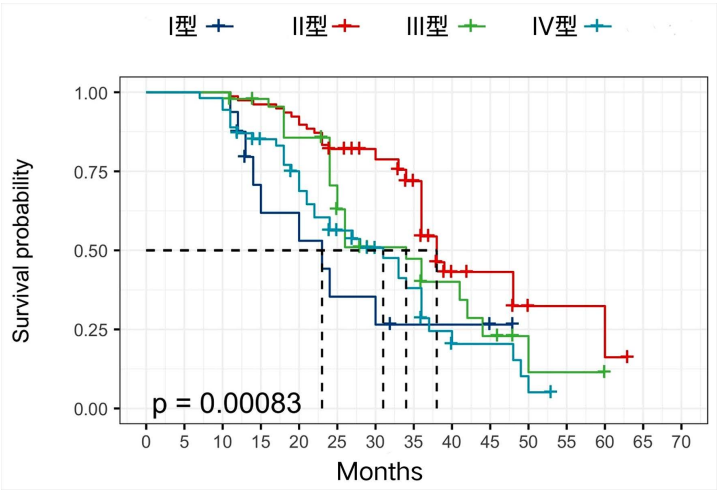


Figure 2. Kaplan-Meier curves of overall survival (OS) based on TIME classification in ESCC patients

图 2. 基于 TIME 分型的食管鳞癌患者总生存期(OS)的 Kaplan-Meier 曲线

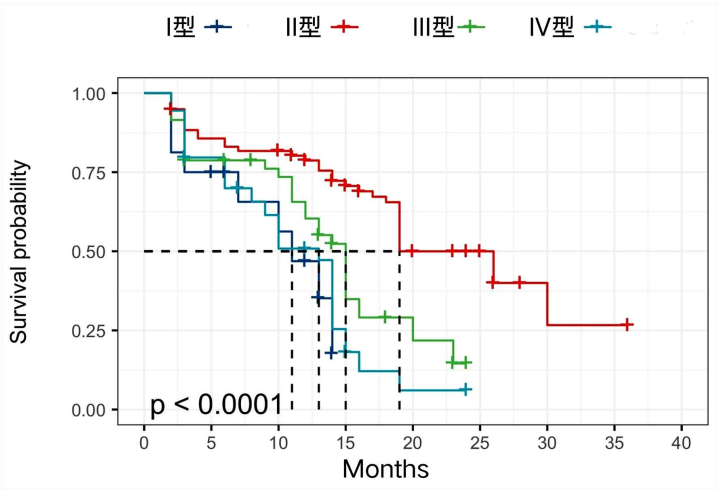


Figure 3. Kaplan-Meier curves of progression-free survival (PFS) based on TIME classification in ESCC patients

图 3. 基于 TIME 分型的食管鳞癌患者无进展生存期(PFS) Kaplan-Meier 曲线

Table 5. Results of multivariate Cox regression analysis of overall survival in esophageal squamous cell carcinoma patients
表 5. 食管鳞癌患者总生存期的多因素 Cox 回归分析结果

临床因素	系数(β)	P 值	风险比(HR)	95%置信区间
性别(男 vs. 女)	-0.715	0.076	0.489	0.150~0.766
吸烟史(无 vs. 有)	0.116	0.682	1.122	0.645~1.953
饮酒史(无 vs. 有)	0.111	0.721	1.117	0.609~2.051
原发肿瘤位置: 颈上段 vs. 中下段	0.341	0.279	1.407	0.758~2.610
肿瘤分化程度: 低分化 vs. 中高分化	0.233	0.342	1.263	0.781~2.042
I、II 期 vs. III、IV 期	-0.154	0.037	0.857	0.422~1.741

续表

肿瘤浸润深度 T1、T2 vs. T3、T4	-0.761	0.008	0.467	0.266~0.821
淋巴结转移(N+ vs. N0)	0.759	0.049	2.136	1.005~4.542
远处转移(M1 vs. M0)	0.780	0.002	2.182	1.342~3.546
TIME 分型(参考组: II 型)		<0.001		
I 型 vs. II 型	1.208	0.004	3.345	1.475~7.587
III 型 vs. II 型	0.072	0.804	1.074	0.610~1.891
IV 型 vs. II 型	1.000	<0.001	2.720	1.650~4.483

4. 讨论

PD-L1 作为免疫检查点分子的关键配体,其表达水平是预测免疫治疗反应的重要生物标志物。本研究中,以 $CPS \geq 10$ 作为阈值时,PD-L1⁺患者的 ORR 显著高于 PD-L1⁻患者(34.9% vs. 20.8%, $RR = 1.68$, $P = 0.030$),这一结果与 KEYNOTE-590 的结果类似,后者显示 PD-L1 $CPS \geq 10$ 的 ESCC 患者接受帕博利珠单抗联合化疗后总生存期(OS)显著延长($HR = 0.57$) [9]。需要注意的是,PD-L1 的表达动态受微环境调控:化疗药物(如顺铂)可通过诱导 IFN- γ 分泌激活 JAK-STAT 信号通路,进而上调 PD-L1 表达,这种适应性反馈机制可能解释为何部分 PD-L1 基线阴性患者仍对免疫治疗有响应[10]-[12]。此外,IFN- γ 还可通过 IRF1 增强 PD-L1 转录,形成免疫抑制与 T 细胞激活的双向调节网络[10] [13]。然而,不同研究中 PD-L1 阈值的选择存在差异,如 CheckMate 648 试验及 ORIENT-16 实验分别将 PD-L1 $\geq 1\%$ 、 $CPS \geq 5$ 作为阳性标准[14] [15],这可能与肿瘤异质性、检测方法(如抗体克隆、评分系统)及人群特征有关[16] [17]。食管鳞癌肿瘤微环境中,PD-L1 阳性表达与 TILs 浸润、吸烟、肿瘤侵袭性因素(淋巴结转移)相关。PD-L1 表达、TILs 浸润密度及肿瘤免疫微环境(TIME)分型对免疫联合化疗反应的有预测价值,即 II 型(PD-L1⁺/TIL⁺)患者是免疫联合化疗的理想人群,而 IV 型(PD-L1⁺/TIL⁻)患者需探索新型联合策略。本研究中 PD-L1 表达与吸烟史及淋巴结转移显著相关($P < 0.05$),提示吸烟可能通过诱导基因组不稳定或炎症微环境上调 PD-L1 表达[18],而淋巴结转移区域的免疫抑制状态(如 Tregs 富集)可能通过 TGF- β 信号促进 PD-L1 表达[19] [20]。

TILs 作为抗肿瘤免疫的核心效应细胞,其浸润程度直接影响免疫联合化疗治疗反应。本研究显示,TILs $\geq 20\%$ 的患者 ORR 显著高于 TILs⁻组(42.7% vs. 7.4%, $RR = 5.77$, $P < 0.001$),且 TILs 与远处转移(M)负相关($P = 0.015$)。这一结果与多项研究一致:在黑色素瘤和 NSCLC 中,高 TILs 浸润与 PD-1 抑制剂疗效显著相关[16] [17];在胃癌中,TILs 富集的微环境可增强化疗联合免疫治疗的协同效应[21]。单细胞测序研究进一步揭示,TILs 的功能异质性可能影响疗效。例如,膀胱癌中 LAMP3⁺树突状细胞通过招募 Tregs 抑制 CD8⁺T 细胞活性[22],而乳腺癌中 TILs 的空间分布(如侵袭边缘 vs. 肿瘤核心)与预后密切相关[22]。这些发现提示,ESCC 中 TILs 的绝对数量可能不足以完全表征其功能状态,需结合亚群表型(如 CXCR5⁺PD-1⁺CD8⁺T 细胞)及空间定位进行精细化评估[23] [24]。TILs 通过分泌 IFN- γ 等细胞因子激活抗肿瘤免疫,同时诱导 PD-L1 表达形成适应性免疫抵抗[13] [24]。然而,本研究中 TILs 与 PD-L1 表达仅呈弱正相关(Cramér's $V = 0.26$),提示 TILs 功能状态(如耗竭或激活)可能比单纯数量更重要[18] [25]。

本研究首次联合客观缓解率(ORR, $n = 238$)与生存数据(OS/PFS, $n = 195$)全面评估肿瘤免疫微环境(TIME)分型的预测效能。基于 PD-L1 表达($CPS \geq 10$)和 TILs 浸润($\geq 20\%$)的四分类体系显示,TIME 分型可显著区分患者的治疗响应及预后。II 型(PD-L1⁺/TIL⁺)患者为最理想获益人群,其 ORR、中位 OS 及 PFS 均显著优于其他亚组,凸显 PD-L1 与 TILs 协同激活抗肿瘤免疫的核心作用。I 型(PD-L1⁻/TIL⁻)患者预后

最差,提示双阴性微环境的免疫原性低下,需探索非免疫依赖性治疗途径(如抗血管生成药物或溶瘤病毒)[26][27]。IV型(PD-L1⁺/TIL⁻)虽PD-L1阳性,但因TILs缺失导致生存结局较差,表明单纯PD-L1表达不足以预测疗效,需结合TILs状态制定策略。III型(PD-L1⁻/TIL⁺)患者ORR及生存优于I型,但低于II型,提示TILs浸润可部分克服PD-L1阴性缺陷,需联合免疫激动剂(如STING或CD40激动剂)以增强疗效[12][25]。

该分型体系与Chen等人提出的“免疫炎性型(I-I TIME)”和“免疫沙漠型(I-E TIME)”理论[28]及Sun的NSCLC研究[29]高度一致,提示其跨癌种普适性。II型微环境表现为“炎性表型”,PD-L1表达反映适应性免疫抵抗,而TILs提供效应细胞基础,二者协同增强治疗响应[16][24];IV型因T细胞排斥或耗竭导致免疫抑制,需联合T细胞招募策略(如放疗或CD40激动剂)[11][12]。III型与结直肠癌MSI-H患者类似,即使PD-L1阴性仍对免疫治疗敏感[21][30],而I型可能依赖先天免疫(如NK细胞)或非T细胞机制(如ADCC)[26][27]。该分型不仅可预测疗效,还可指导分层治疗:II型适合免疫单药或联合化疗,III型需免疫激活剂,IV型需逆转免疫抑制策略,I型需非免疫依赖性疗法。这些发现为食管鳞癌个体化治疗提供了重要依据,未来需整合多组学数据进一步优化分层模型。

5. 本研究的局限性

① 单中心回顾性设计可能导致选择偏倚;② 样本量较小(n = 238),尤其是I型患者(n = 16)的亚组分析效能不足。

6. 结论

本研究结果证实了PD-L1表达和TILs是ESCC免疫联合化疗疗效的关键预测因子,TIME分型能够有效区分患者获益人群。其中,II型患者为理想的治疗对象,而I型及IV型需探索逆转免疫抑制的策略。该分型体系为食管鳞癌个体化免疫治疗提供了重要依据,未来仍需进一步优化并验证其临床转化潜力。

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] Abnet, C.C., Arnold, M. and Wei, W. (2018) Epidemiology of Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Gastroenterology*, **154**, 360-373. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2017.08.023>
- [3] Yang, H., Wang, F., Hallemeier, C.L., Lerut, T. and Fu, J. (2024) Oesophageal Cancer. *The Lancet*, **404**, 1991-2005. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(24\)02226-8](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(24)02226-8)
- [4] Zhang, Y., Chen, H., Mo, H., Zhao, N., Sun, X., Liu, B., et al. (2025) Distinct Cellular Mechanisms Underlie Chemotherapies and PD-L1 Blockade Combinations in Triple-Negative Breast Cancer. *Cancer Cell*, **43**, 446-463.e7. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2025.01.007>
- [5] Tang, Q., Chen, Y., Li, X., Long, S., Shi, Y., Yu, Y., et al. (2022) The Role of PD-1/PD-L1 and Application of Immune-Checkpoint Inhibitors in Human Cancers. *Frontiers in Immunology*, **13**, Article 964442. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.964442>
- [6] Kojima, T., Shah, M.A., Muro, K., Francois, E., Adenis, A., Hsu, C., et al. (2020) Randomized Phase III KEYNOTE-181 Study of Pembrolizumab versus Chemotherapy in Advanced Esophageal Cancer. *Journal of Clinical Oncology*, **38**, 4138-4148. <https://doi.org/10.1200/jco.20.01888>
- [7] 中华人民共和国国家卫生健康委员会医政医管局. 食管癌诊疗指南(2022年版)[J]. 中华消化外科杂志, 2022, 21(10): 1247-1268.
- [8] Kim, T.K., Vandsemb, E.N., Herbst, R.S. and Chen, L. (2022) Adaptive Immune Resistance at the Tumour Site: Mechanisms and Therapeutic Opportunities. *Nature Reviews Drug Discovery*, **21**, 529-540. <https://doi.org/10.1038/s41573-022-00493-5>
- [9] Sun, J., Shen, L., Shah, M.A., Enzinger, P., Adenis, A., Doi, T., et al. (2021) Pembrolizumab Plus Chemotherapy versus

- Chemotherapy Alone for First-Line Treatment of Advanced Oesophageal Cancer (KEYNOTE-590): A Randomised, Placebo-Controlled, Phase 3 Study. *The Lancet*, **398**, 759-771. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(21\)01234-4](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(21)01234-4)
- [10] Ayers, M., Lunceford, J., Nebozhyn, M., Murphy, E., Loboda, A., Kaufman, D.R., *et al.* (2017) IFN- γ -Related mRNA Profile Predicts Clinical Response to PD-1 Blockade. *Journal of Clinical Investigation*, **127**, 2930-2940. <https://doi.org/10.1172/jci91190>
- [11] Galluzzi, L., Humeau, J., Buqué, A., Zitvogel, L. and Kroemer, G. (2020) Immunostimulation with Chemotherapy in the Era of Immune Checkpoint Inhibitors. *Nature Reviews Clinical Oncology*, **17**, 725-741. <https://doi.org/10.1038/s41571-020-0413-z>
- [12] Galon, J. and Bruni, D. (2019) Approaches to Treat Immune Hot, Altered and Cold Tumours with Combination Immunotherapies. *Nature Reviews Drug Discovery*, **18**, 197-218. <https://doi.org/10.1038/s41573-018-0007-y>
- [13] Garcia-Diaz, A., Shin, D.S., Moreno, B.H., Saco, J., Escuin-Ordinas, H., Rodriguez, G.A., *et al.* (2017) Interferon Receptor Signaling Pathways Regulating PD-L1 and PD-L2 Expression. *Cell Reports*, **19**, 1189-1201. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.04.031>
- [14] Doki, Y., Ajani, J.A., Kato, K., Xu, J., Wyrwicz, L., Motoyama, S., *et al.* (2022) Nivolumab Combination Therapy in Advanced Esophageal Squamous-Cell Carcinoma. *New England Journal of Medicine*, **386**, 449-462. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2111380>
- [15] Xu, J., Jiang, H., Pan, Y., Gu, K., Cang, S., Han, L., *et al.* (2023) Sintilimab Plus Chemotherapy for Unresectable Gastric or Gastroesophageal Junction Cancer: The ORIENT-16 Randomized Clinical Trial. *JAMA*, **330**, 2064-2074. <https://doi.org/10.1001/jama.2023.19918>
- [16] Chen, D.S. and Mellman, I. (2017) Elements of Cancer Immunity and the Cancer-Immune Set Point. *Nature*, **541**, 321-330. <https://doi.org/10.1038/nature21349>
- [17] Taube, J.M., Klein, A., Brahmer, J.R., Xu, H., Pan, X., Kim, J.H., *et al.* (2014) Association of PD-1, PD-1 Ligands, and Other Features of the Tumor Immune Microenvironment with Response to Anti-PD-1 Therapy. *Clinical Cancer Research*, **20**, 5064-5074. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-13-3271>
- [18] Tumeh, P.C., Harview, C.L., Yearley, J.H., Shintaku, I.P., Taylor, E.J.M., Robert, L., *et al.* (2014) PD-1 Blockade Induces Responses by Inhibiting Adaptive Immune Resistance. *Nature*, **515**, 568-571. <https://doi.org/10.1038/nature13954>
- [19] Farrag, M.S., Abdelwahab, K., Farrag, N.S., Elrefaie, W.E. and Emarah, Z. (2021) Programmed Death Ligand-1 and CD8 Tumor-Infiltrating Lymphocytes (TILs) as Prognostic Predictors in Ovarian High-Grade Serous Carcinoma (HGSC). *Journal of the Egyptian National Cancer Institute*, **33**, Article No. 16. <https://doi.org/10.1186/s43046-021-00073-5>
- [20] Mantovani, A., Marchesi, F., Malesci, A., Laghi, L. and Allavena, P. (2017) Tumour-associated Macrophages as Treatment Targets in Oncology. *Nature Reviews Clinical Oncology*, **14**, 399-416. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2016.217>
- [21] Chau, I. (2017) Clinical Development of PD-1/PD-L1 Immunotherapy for Gastrointestinal Cancers: Facts and Hopes. *Clinical Cancer Research*, **23**, 6002-6011. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-17-0020>
- [22] Chen, Z., Zhou, L., Liu, L., Hou, Y., Xiong, M., Yang, Y., *et al.* (2020) Single-Cell RNA Sequencing Highlights the Role of Inflammatory Cancer-Associated Fibroblasts in Bladder Urothelial Carcinoma. *Nature Communications*, **11**, Article No. 5077. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18916-5>
- [23] Ma, F., Liu, X., Zhang, Y., Tao, Y., Zhao, L., Abusalamah, H., *et al.* (2025) Tumor Extracellular Vesicle-Derived PD-L1 Promotes T Cell Senescence through Lipid Metabolism Reprogramming. *Science Translational Medicine*, **17**, eadm7269. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.adm7269>
- [24] Wei, S.C., Duffy, C.R. and Allison, J.P. (2018) Fundamental Mechanisms of Immune Checkpoint Blockade Therapy. *Cancer Discovery*, **8**, 1069-1086. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.cd-18-0367>
- [25] Zhang, Y. and Chen, L. (2016) Classification of Advanced Human Cancers Based on Tumor Immunity in the Microenvironment (TIME) for Cancer Immunotherapy. *JAMA Oncology*, **2**, 1403-1404. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2016.2450>
- [26] Bagaev, A., Kotlov, N., Nornie, K., Svekolkin, V., Gafurov, A., Isaeva, O., *et al.* (2021) Conserved Pan-Cancer Microenvironment Subtypes Predict Response to Immunotherapy. *Cancer Cell*, **39**, 845-865.e7. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2021.04.014>
- [27] Teng, M.W.L., Ngiow, S.F., Ribas, A. and Smyth, M.J. (2015) Classifying Cancers Based on T-Cell Infiltration and Pd-1. *Cancer Research*, **75**, 2139-2145. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-15-0255>
- [28] Binnewies, M., Roberts, E.W., Kersten, K., Chan, V., Fearon, D.F., Merad, M., *et al.* (2018) Understanding the Tumor Immune Microenvironment (TIME) for Effective Therapy. *Nature Medicine*, **24**, 541-550. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0014-x>
- [29] Sun, D., Liu, J., Zhou, H., Shi, M., Sun, J., Zhao, S., *et al.* (2023) Classification of Tumor Immune Microenvironment

According to Programmed Death-Ligand 1 Expression and Immune Infiltration Predicts Response to Immunotherapy Plus Chemotherapy in Advanced Patients with NSCLC. *Journal of Thoracic Oncology*, **18**, 869-881. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2023.03.012>

- [30] Jiao, R., Luo, H., Xu, W. and Ge, H. (2019) immune Checkpoint Inhibitors in Esophageal Squamous Cell Carcinoma: Progress and Opportunities. *OncoTargets and Therapy*, **12**, 6023-6032. <https://doi.org/10.2147/ott.s214579>