

DOI:10. 11798/j. issn. 1007-1520. 201806015

· 论 著 ·

PD-L1 蛋白在鼻咽癌中的表达及其临床意义

江 蓉^{1,2},邱艳芳¹,王 晖¹,陈晓燕³,徐晨阳^{1,2},刘桂云^{1,2},周 娇^{1,2},刘丰鑫^{1,2},刘志刚¹

(1. 湖南省肿瘤医院 中南大学湘雅医学院附属肿瘤医院 放射治疗科,湖南 长沙 410013; 2. 南华大学医学院 临床医学系,湖南 衡阳 421001; 3. 湖南省肿瘤医院 中南大学湘雅医学院附属肿瘤医院 病理科,湖南 长沙 410013)

摘 要: **目的** 探讨 PD-L1 在鼻咽癌中的表达及其临床意义。**方法** 采用免疫组织化学技术对收集的 162 例鼻咽癌组织进行 PD-L1 蛋白的表达检测,并结合患者临床病理参数及预后信息,探讨其临床价值。**结果** PD-L1 蛋白表达水平与性别、年龄、PS 评分、临床分期、吸烟情况等临床病理参数之间无显著差异($P>0.05$)。PD-L1 阳性组与阴性组 3 年总生存率分别为 92.3% 与 80.0%,差异具有统计学意义($P=0.026$)。**结论** PD-L1 蛋白阳性鼻咽癌患者预后较好,有望成为鼻咽癌患者预后评估的生物标志物。

关 键 词:鼻咽癌;PD-L1;免疫治疗;预后
中图分类号:R739. 63 **文献标识码:**A [中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2018,24(6):561–564,570]

Expression and clinical significance of PD-L1 protein
in nasopharyngeal carcinoma

JIANG Rong^{1,2}, QIU Yan-fang¹, WANG Hui¹, CHEN Xiao-yan³, XU Chen-yang^{1,2},
LIU Gui-yun^{1,2}, ZHOU Jiao^{1,2}, LIU Feng-xin^{1,2}, LIU Zhi-gang¹

(1. Department of Radiotherapy, Hunan Cancer Hospital, the Affiliated Cancer Hospital of Xiangya Medicine College, Central South University, Changsha 410013, China; 2. Department of Clinical Medicine, School of Medicine, University of South China, Hengyang 421001, China; 3. Department of Pathology, Hunan Cancer Hospital, the Affiliated Cancer Hospital of Xiangya Medicine College, Central South University, Changsha 410013, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression and clinical significance of programmed death-ligand 1 (PD-L1) protein in nasopharyngeal carcinoma (NPC). **Methods** Immunohistochemistry was used to detect the expression of PD-L1 in 162 NPC specimens. The relationship between PD-L1 expression and clinicopathological characteristics of NPC was further explored. **Results** The results showed that no significant relationship existed between PD-L1 expression and clinicopathological parameters such as patients' gender, age, PS score, and smoking status as well as clinical stage of the tumor (all $P>0.05$). The 3-year overall survival rate in PD-L1 positive group was much higher than that in PD-L1 negative group (92.3% vs 80.0%, $P=0.026$). **Conclusion** NPC patients with positive PD-L1 expression show better prognosis than those with negative PD-L1 expression, which indicates that PD-L1 may be a potential biomarker for the prediction of prognosis in patients with NPC.

Key words: Nasopharyngeal neoplasm; PD-L1; Immunotherapy; Prognosis
[Chinese Journal of Otorhinolaryngology-Skull Base Surgery,2018,24(6):561–564,570]

鼻咽癌是一种与 EB 病毒 (epstein-barr virus, EBV) 相关的恶性肿瘤,在全世界的发病率并不高,其高发地区主要集中在东南亚和中国华南地区,发

病率达 15 ~ 50/10 万。单纯放疗或同步放化疗是鼻咽癌的主要治疗方法。随着放疗技术的发展和化疗方案的完善,鼻咽癌患者的预后有了很大的提高。早期鼻咽癌患者 5 年生存率超过 90%^[1],局部晚期患者 5 年生存率亦达 70% ~ 85%^[2],但仍有约 20% 患者出现局部复发和远处转移^[3]。这部分患者只能接受姑息性化疗或放疗,生存期较差,总体生存率

基金项目:湖湘青年英才(2016RS3036);湖南省卫计委科研项目(C20180450)。
作者简介:江 蓉,女,在读硕士研究生,医师。
通信作者:刘志刚,Email:zhigangliu1983@hotmail. com

(overall survival, OS) 为 19 ~ 21 个月^[4]。因此,复发和转移鼻咽癌患者的治疗为临床的难点。

T 淋巴细胞作为机体免疫系统中至关重要的细胞,其功能与肿瘤的发生、发展密切相关。然而,程序性死亡配体 1(programmed death-ligand 1, PD-L1) 作为抑制性 T 细胞受体,可导致 T 细胞功能障碍,促进肿瘤免疫逃逸。PD-L1 在多种肿瘤中表达上调^[5-7],然而 PD-L1 的临床价值目前仍有争议。部分研究认为 PD-L1 的阳性表达与一些肿瘤的预后呈负相关^[8-9],但亦有报告认为 PD-L1 表达水平与肿瘤患者预后之间缺乏关联^[10]。本研究则通过免疫组化检测鼻咽癌患者 PD-L1 的表达水平,进一步分析 PD-L1 的表达与临床特征及预后的关系。

1 材料与方法

1.1 临床资料

本研究系统性回顾了 2012 年 3 月 ~ 2012 年 12 月在中南大学湘雅医学院附属肿瘤医院经病理组织学证实,未经治疗的 II-IV 期(根据 UICC/AJCC 第 7 版分期)原发性鼻咽癌患者。本研究获湖南省肿瘤医院医学伦理委员会批准。共收集了 162 例患者的基本临床资料,包括性别、年龄、一般体力状态评分(eastern cooperative oncology group, ECOG 评分)及临床分期等。其中男 105 例(64.8%),女 57 例(35.2%);平均年龄 21 ~ 69 岁,其中 69 例(42.6%) ≤ 45 岁,93 例(57.4%) > 45 岁。15 例(9.3%)患者临床分期为 II 期,90 例(55.6%)为 III 期,57 例(35.1%)为 IV 期,其中 IVa 期 36 例、IVb 期 17 例、IVc 期 4 例。目前或既往吸烟者 103 例(63.6%),从不吸烟者 59 例(36.4%)。所有患者均接受放疗,放疗技术使用三维适形放疗或调强放射治疗。其中放疗处方剂量分割方案按照鼻咽部肿瘤区(gross tumor volume, GTV) 70 Gy/33F,临床靶区(clinical target volume, CTV) 59.4 Gy/33 F,颈部 GTV 总量根据情况可达 70 Gy,CTV 达 50.4 Gy 进行。

1.2 免疫组织化学

组织石蜡包埋后切片(3 μm 厚度),然后在二甲苯中脱蜡水化。抗原修复后室温下 3% 过氧化氢除去内源性过氧化物酶 10 min。在 EDTA 缓冲液(pH 9.0)中进行抗原检索。PD-L1 多克隆抗体(迈新生物科技有限公司,兔抗) 37°C 下孵育 1 h, PBS 洗涤后 37°C 下二抗孵育 15 min, 3,3'-二氨基联苯胺显

色,苏木精复染后封片观察。

1.3 结果判定

肿瘤细胞膜和细胞质中出现棕黄色颗粒者为阳性细胞。染色范围为阳性细胞占计数总细胞的百分比,以 0 ~ 100% 表示。染色强度情况如下:0:无;1:轻度;2:中等;3:强。阳性肿瘤细胞占比大于 5% 认为该区域阳性^[11-12]。为尽量减少非特异性染色的潜在干扰^[13-14],将染色范围 ≥ 5% 且染色强度 ≥ 2 定义为 PD-L1 阳性表达。

1.4 统计学分析

使用 IBM-SPSS 20.0 版本进行统计学分析。Pearson 卡方检验用于分析 PD-L1 表达与临床参数之间的关系,利用 Kaplan-Meier 计算 OS,并描述生存曲线,使用 Log-rank 检验和 Cox 回归分析进行单因素和多因素分析, $P < 0.05$ 被认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 PD-L1 在鼻咽癌组织中的表达

162 例患者中位随访时间为 45 个月(范围为 3 ~ 52 个月),最后一次随访时间为 2016 年 7 月。3 年 OS 为 89.0%。117 例(72%)患者检测到 PD-L1 阳性表达,45 例(27.8%)阴性表达。具体见图 1。

2.2 PD-L1 的表达与鼻咽癌临床参数的相关性分析

本研究中,PD-L1 表达水平与性别、年龄、PS 评分、临床分期、T 分期、N 分期、M 分期和吸烟等临床变量之间无显著差异($P > 0.05$)。具体数据见表 1。

2.3 生存分析

单因素分析显示 PD-L1 表达水平与预后相关,PD-L1 阳性者有更好的 OS(49.0 个月 vs 45.7 个月, $P = 0.026$)(图 2)。同时,T 分期亦与预后密切相关($P = 0.075$)。将单因素分析 $P < 0.1$ 者纳入多因素分析,显示 PD-L1 表达水平是 OS 的显著预后因素。具体数据见表 2、3。

3 讨论

PD-L1 是 PD-1 的主要配体,在肿瘤细胞的细胞质、细胞膜或同时在膜和质中高表达^[15]。PD-L1 同样可在免疫炎性细胞和抗原提呈细胞中表达,进而抑制效应 T 细胞功能。目前有关 PD-L1 的表达在鼻咽癌中的临床研究结果仍有争议。有研究报

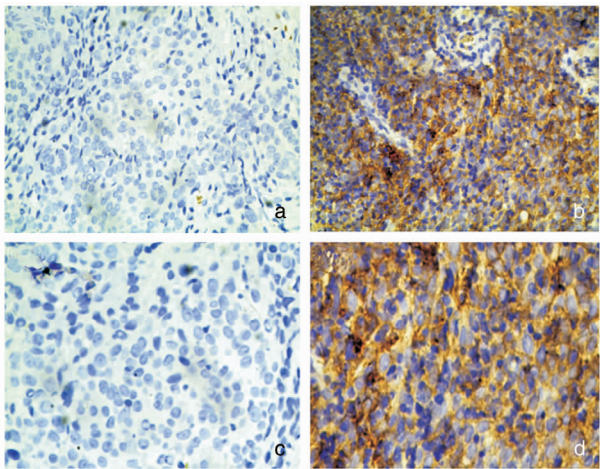


图 1 鼻咽癌活检组织 PD-L1 代表性染色 a、c: NPC 患者 PD-L1 染色阴性; b、d: NPC 患者免疫组化 PD-L1 染色阳性 (a、b: 免疫组化 ×100; c、d: 免疫组化 ×400)

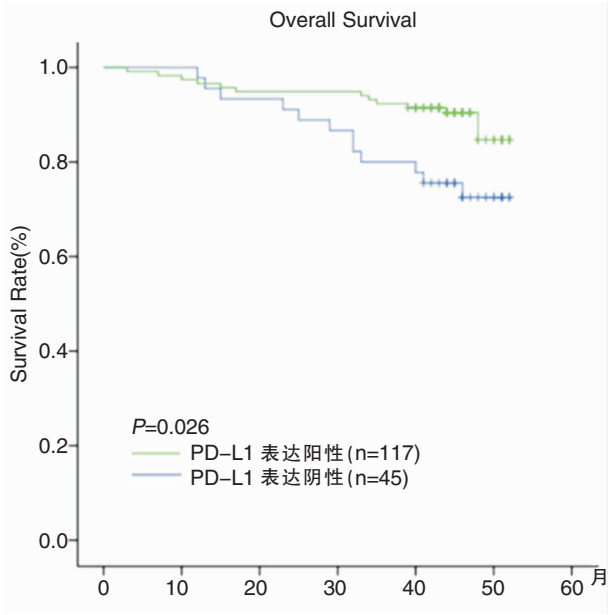


表 1 162 例鼻咽癌患者 PD-L1 表达水平与临床特征的相关性分析 [例(%)]

临床特征	PD-L1 阴性	PD-L1 阳性	P
性别			
男	26 (24.8)	79 (75.2)	0.164
女	19 (33.3)	38 (66.7)	
年龄(岁)			
≤45	21 (30.4)	48 (69.6)	0.317
>45	24 (25.8)	69 (74.2)	
ECOG 评分			
0	18 (28.6)	45 (71.4)	0.816
1	27 (27.6)	71 (72.4)	
2	0 (0.0)	1 (100.0)	
临床分期			
II	2 (13.3)	13 (86.7)	0.286
III	29 (32.2)	61 (67.8)	
IV	14 (24.6)	43 (75.4)	
T 分期			
T1	4 (57.1)	3 (42.9)	0.281
T2	18 (26.1)	51 (73.9)	
T3	14 (30.4)	32 (69.6)	
T4	9 (22.5)	31 (77.5)	
N 分期			
N0	1 (16.7)	5 (83.3)	0.459
N1	5 (17.2)	24 (82.8)	
N2	33 (30.3)	76 (69.7)	
N3	6 (33.3)	12 (66.7)	
M 分期			
M0	45 (28.5)	113 (71.5)	0.268
M1	0 (0.0)	4 (100.0)	
吸烟			
目前/既往	14 (23.7)	45 (76.3)	0.247
从不	31 (30.1)	72 (69.9)	

图 2 生存曲线

表 2 162 例鼻咽癌患者临床特征的单因素分析[例(%)]

临床特征	例数(%)	OS	
		χ^2	P
性别			
男	105 (64.8)	0.507	0.476
女	57 (35.2)		
年龄(岁)			
≤45	69 (42.6)	0.546	0.460
>45	93 (57.4)		
ECOG 评分			
0	63 (38.9)	1.086	0.581
1、2	99 (61.1)		
临床分期			
II、III	105 (64.8)	1.545	0.214
IV	57 (35.2)		
T 分期			
T1~3	122 (75.3)	3.172	0.075
T4	40 (24.7)		
N 分期			
N0、1	35 (21.6)	0.693	0.405
N2、3	127 (78.4)		
M 分期			
M0	158 (97.5)	0.251	0.616
M1	4 (2.5)		
吸烟			
目前/既往	103 (63.6)	0.053	0.817
从不	59 (36.4)		
PD-L1			
阴性	45 (27.8)	4.975	0.026
阳性	117 (72.2)		

表 3 162 例鼻咽癌患者临床特征的多因素分析

临床特征	例数	OS		
		HR	95% CI	P
T 分期				
T1 ~ 3	122	2. 156	0. 976 – 4. 763	0. 058
T4	40			
PD-L1				
阴性	45	0. 406	0. 187 – 0. 880	0. 022
阳性	117			

道^[16]鼻咽癌患者 PD-L1 表达水平与预后无明显相关性,与本研究结果不同。但 Lee 等^[17]研究了 104 例非转移性鼻咽癌患者 PD-L1 表达与生存终点的关系,研究结果显示高 PD-L1 表达者具有更好的局部无复发生存期和无进展生存期,提示治疗前 PD-L1 高表达者对治疗更为敏感。Zhu 等^[18]则发现鼻咽癌细胞中 PD-L1 高表达者有更好的生存率。该两组研究虽然在病例队列构成上与本研究稍有差异,但结果与本研究报道基本一致。上述研究结果的差异可能系不同的 IHC 评分标准所致^[19-20],表明实体瘤 PD-L1 表达的评分标准仍需进一步规范。

EB 病毒感染为鼻咽癌的重要致病因素之一,对 PD-L1 的表达同样具有调控作用。Fang 等^[21]发现 EBV 诱导的潜伏膜蛋白 1 (LMP1) 介导的致癌途径和干扰素 (IFN- γ) 的分泌协同调控 PD-L1,认为 EBV 阳性鼻咽癌细胞中 PD-L1 表达较高,提示 EB 病毒感染情况与 PD-L1 的表达相关。Outh-Gauer 等^[22]也认为在 EB 病毒阳性诱导的鼻咽非角化型癌中 PD-L1 过度表达,两者之间呈现正相关。但亦有研究提示 EBV 感染状态对 PD-L1 的表达无明显作用^[23]。因此,EB 病毒感染对 PD-L1 的调控有待于进一步证实。

近年来,PD-L1 抗体相关药物发展迅速。现获批的 PD-L1 抗体阿特珠单抗 (Tecentriq) 用于尿路上皮癌 (膀胱癌) 和晚期非小细胞肺癌的治疗; Durvalumab (Imfinzi) 获批的适应证包括非小细胞肺癌和尿路上皮癌 (膀胱癌); Avelumab (Banencio) 被获批治疗默克细胞癌和膀胱癌。当前,PD-L1 抑制剂结合放疗的联合治疗方案研究备受关注,且联合治疗方案已显示出良好的临床治疗效果^[24-25]。因此,对于转移或复发的鼻咽癌患者,可在进行放化疗的同时加用 PD-L1 抑制剂,其具体临床疗效尚未见报道。

总之,本研究发现 PD-L1 高表达患者预后好,是鼻咽癌患者预后的独立影响因素,有望成为鼻咽癌患者预后的评估指标。PD-L1 抑制剂联合放化疗仍需我们在今后的临床研究中验证。

参考文献:

[1] Su SF, Han F, Zhao C, et al. Treatment outcomes for different subgroups of nasopharyngeal carcinoma patients treated with intensity-modulated radiation therapy [J]. Chin J Cancer, 2011, 30 (8):565 – 573.

[2] Xiao WW, Huang SM, Han F, et al. Local control, survival, and late toxicities of locally advanced nasopharyngeal carcinoma treated by simultaneous modulated accelerated radiotherapy combined with cisplatin concurrent chemotherapy [J]. Cancer, 2011, 117 (9): 1874 – 1883.

[3] Sun X, Su S, Chen C, et al. Long-term outcomes of intensity-modulated radiotherapy for 868 patients with nasopharyngeal carcinoma: An analysis of survival and treatment toxicities [J]. Radiother Oncol, 2014, 110 (3):398 – 403.

[4] Jin Y, Shi YX, Cai XY, et al. Comparison of five cisplatin-based regimens frequently used as the first-line protocols in metastatic nasopharyngeal carcinoma [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2012, 138 (10):1717 – 1725.

[5] Yang CY, Lin MW, Chang YL, et al. Programmed cell death-ligand 1 expression in surgically resected stage I pulmonary adenocarcinoma and its correlation with driver mutations and clinical outcomes [J]. Eur J Cancer, 2014, 50 (7):1361 – 1369.

[6] Muenst S, Schaerli AR, Gao F, et al. Expression of programmed death ligand 1 (PD-L1) is associated with poor prognosis in human breast cancer [J]. Breast Cancer Res Treat, 2014, 146 (1): 15 – 24.

[7] D' Angelo SP, Shoushtari AN, Agaram NP, et al. Prevalence of tumor-infiltrating lymphocytes and PD-L1 expression in the soft tissue sarcoma microenvironment [J]. Hum Pathol, 2015, 46 (3): 357 – 365.

[8] Droeser RA, Hirt C, Viehl CT, et al. Clinical impact of programmed cell death ligand 1 expression in colorectal cancer [J]. Eur J Cancer, 2013, 49 (9):2233 – 2242.

[9] Velcheti V, Schalper KA, Carvajal DE, et al. Programmed death ligand-1 expression in non-small cell lung cancer [J]. Lab Invest, 2014, 94 (1):107 – 116.

[10] Konishi J, Yamazaki K, Azuma M, et al. B7-H1 expression on non-small cell lung cancer cells and its relationship with tumor-infiltrating lymphocytes and their PD-1 expression [J]. Clin Cancer Res, 2004, 10 (15):5094 – 5100.

[11] Mansfield AS, Rode AC, Peikert T, et al. B7-H1 expression in malignant pleural mesothelioms is associated with sarcomatoid histology and poor prognosis [J]. J Thorac Oncol, 2014, 9 (7):1036 – 1040.

[12] Uzzo RG, Rayman P, Kolenko V, et al. Implications of B7-H1 expression in clear cell carcinoma of the kidney for prognostication and therapy [J]. Clin Cancer Res, 1999, 5 (5):1219 – 1229.

[13] D' Incecco A, Andreozzi M, Ludovini V, et al. PD-1 and PD-L1 expression in molecularly selected non-small-cell lung cancer pa

(下转第 570 页)