

晚期胃癌中 PD-1/PD-L1 的表达及其单抗治疗的临床现状

朱小坚^{1*}, 骆晨^{1*}, 朱正明²

(1. 南昌大学 江西医学院, 南昌 330006; 2. 南昌大学第二附属医院, 南昌 330006)

摘要: 随着对肿瘤免疫逃逸机制研究的不断深入, PD-1 及其配体 PD-L1 构成的 PD-1/PD-L1 通路被证实与晚期胃癌患者生存期相关, 且 PD-L1 作为疗效预测标志物具有一定临床价值。在晚期胃癌的局部维持治疗、二线治疗及部分一线治疗的临床试验中, PD-1/PD-L1 抑制剂均获得了较好的治疗效果。PD-1/PD-L1 抑制剂联合放疗、细胞因子与其他免疫抑制剂及 JAK2/STAT1/IRF-1 信号通路靶向治疗也有一定成效。文章就 PD-1/PD-L1 免疫检查点抑制剂用于晚期胃癌治疗的现状进行回顾, 并对其假定的生物标志物, 正在进行的试验以及今后的发展进行讨论。

关键词: 晚期胃癌; 免疫治疗; PD-1/PD-L1 抑制剂; PD-1/PD-L1

中图分类号: R392.11

文献标志码: A

文章编号: 1001-2478(2019)01-0052-06

最近的全球调查统计将胃癌(gastric cancer, GC)列为第5大最常见的癌症(每年952 000例新发病例), 同时其也是导致全球癌症特异性死亡的第3大原因, 每年约725 000人死亡^[1]。2015年, 中国有679 100例新发GC病例, 死亡人数为498 000人。所有阶段的5年生存率约为30%, 伴有远处转移时预后更差, 中位生存期为1年左右^[2]。手术、放疗和细胞毒疗法是GC的主要治疗方式, 生物制剂曲妥珠单抗(HER-2单抗)和雷莫卢单抗(VEGFR-2单抗)的批准为晚期GC的治疗提供了更多的选择。开创性的多中心随机对照Ⅲ期临床研究试验也证实分子靶向治疗(曲妥珠单抗)在HER-2过表达的GC患者中有效, 并且逐渐成为该分子亚型的治疗金标准。尽管已有研究表明曲妥珠单抗在HER-2高水平表达的GC中能明显延长患者生存期, 但目前来说能引起有效且持续的抗肿瘤反应的治疗手段仍非常有限。本文重点回顾PD-1/PD-L1与GC预后的关系及其相关的免疫检查点抑制剂在晚期GC中的免疫治疗现状。

1 PD-1/PD-L1 在 GC 中的表达及与预后的关系

1.1 PD-1/PD-L1 的表达与 GC 预后的关系 PD-1

收稿日期: 2018-08-04

基金项目: 国家自然科学基金(81560389, 81860433); 江西省重点研发项目(20181BBG70015)

作者简介: 朱小坚(1992—), 男, 硕士生, 主要从事胃肠肿瘤的临床与基础研究; 骆晨(1990—), 男, 博士生, 主要从事胃肠肿瘤的临床与基础研究; * 为共同第一作者

通信作者: 朱正明(E-mail: zzm8654@163.com)

属于CD28家族, 是一种表达于活化T淋巴细胞表面的受体, 可调节其增殖、活化。PD-L1(也称为B7-H1)是PD-1的主要配体, 在一些肿瘤细胞以及活化的T淋巴细胞、B淋巴细胞、DC、髓样细胞和内皮细胞中表达。PD-1/PD-L1免疫检查点抑制剂在肿瘤研究中倍受瞩目, 而恶性肿瘤的重要标志之一就是免疫检查点参与的免疫逃逸。PD-1与PD-L1结合抑制T淋巴细胞增殖与细胞因子分泌, 负性调控T淋巴细胞激活, 阻断体内免疫系统对肿瘤细胞的攻击。PD-1/PD-L1单克隆抗体是目前临床研究与应用最广泛的免疫检查点抑制剂。大量研究表明PD-1在多种恶性肿瘤中高表达, 包括非小细胞肺癌、黑色素瘤、多发性骨髓瘤等, 并且针对PD-1的免疫抑制剂在以上恶性肿瘤中都取得了卓越的疗效^[3-5]。因此, 阐明PD-1/PD-L1介导的肿瘤免疫逃逸机制对于晚期GC的治疗具有重要的科学价值和临床意义。

多项研究表明, PD-L1在正常胃组织中几乎不表达, 而在GC组织中表达水平明显上调。在中国, 近一半的Ⅱ期和Ⅲ期GC患者中发现PD-L1呈高表达趋势, 并且其表达提示预后差^[6]。在发现PD-1/PD-L1广泛表达于GC组织中并可作为肿瘤标志物用于GC预后的判断后, 随着对其分子机制研究的深入, 研究者发现PD-1/PD-L1可通过多重免疫逃逸机制促进GC的发生发展。首先, 胃间质有大量的T淋巴细胞浸润, 这意味着相对其他肿瘤, GC的发展与免疫微环境更具相关性。PD-L1不仅在肿瘤细胞上高表达(74.8%), 而且在TIL

上也高表达(65.8%)^[7]。TIL上PD-L1的表达与总体生存率显著相关,也与肿瘤分期、有无手术有关,且可作为独立的预后因素^[8]。然而,TIL中的PD-1/PD-L1共表达却出现截然相反的结果:肿瘤细胞与TIL上的PD-1/PD-L1在幽门螺杆菌、EB病毒感染的GC中高表达,但TIL中PD-L1的表达却与良好预后相关,PD-1/PD-L1共表达也是有利的预后因素,且其对GC的抑制具有剂量效应^[9]。同样Ju等^[10]也发现,相比于单独把PD-L1作为预后标志物,PD-L1与已存在的CD3⁺CD8⁺TIL的组合方式能更加精确地反应GC预后。全基因组序列研究显示在EB病毒相关胃癌(Epstein-Barr virus associated gastric cancer, EBVaGC)与微卫星不稳定性(microsatellite instability, MSI)GC中PD-L1基因频繁扩增^[11]。在EBVaGC、MSI GC的肿瘤微环境中,相比于其他分子亚型的GC,EBVaGC、MSI GC中的PD-L1高表达(33/96; 34%),其基质中有密集的PD-L1⁺免疫细胞以及CD8⁺和PD-1⁺细胞浸润。总之,癌细胞中的PD-L1表达及其肿瘤免疫微环境可能有助于EBVaGC的进展^[12-13]。此外,有研究发现PD-L1和脱嘌呤/脱嘧啶核酸内切酶1(apurinic/aprimidinic endonuclease 1, APE1)在GC中共表达,其在GC组织中的阳性表达率分别为50.5%、86.9%。PD-L1和APE1共表达与浸润深度、病理类型、总体生存期(overall survival, OS)等高度相关,表明PD-L1和APE1共表达是GC预后的危险因素,针对PD-L1/APE1的信号通路可能是GC分子靶向治疗的新靶点^[14]。

1.2 PD-1/PD-L1联合免疫分型与GC预后的关系

随着GC中PD-1/PD-L1表达与预后间相关性的揭示,最近发现PD-1的联合免疫分型更能精确地判断GC预后。癌症基因组图谱(the cancer genome atlas, TCGA)大规模分子表型分析将GC分为4种分子亚型:EBVa、MSI、基因稳定型(genomic stability, GS)和染色体不稳定型(chromosomal instability, CIN)^[15]。这种分类可作为组织病理学的辅助手段,更重要的是这些分子亚型显示出显著的基因组特征,在临床试验中对不同亚型的GC患者进行评估,可为分子靶向药物的应用提供导向。TCGA新型分型将促进临床试验的发展,探索患者的个性化治疗方案,最终改善GC患者的存活率。最近研究表明TIL类型,特别是

CD8⁺CTL对于免疫检查点抑制剂的作用是极其重要的。在GC中,EB病毒阳性(EBV⁺)GC和MSI高(MSI-H)GC常伴有TIL的大量浸润,该分子亚型可能与免疫检查点抑制剂的疗效有关。类似的研究提出,包括上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)特征和TP53突变在内的其他标志物可用于进一步的分类,但是目前对这些肿瘤微环境相关视角的类别知之甚少。同样,有学者通过对肿瘤微环境中PD-L1表达和CD8⁺T细胞(细胞毒性T细胞)浸润的两个关键成分进行共同评估,将II期和III期GC患者进行免疫分型。发现EBVa和MSI-H GC是与TMIT I (PD-L1⁺/CD8高)紧密相关的不同亚型,并且CD8高表达组中的OS因PD-L1表达而不同。从而得出结论,PD-L1和CD8⁺TIL的共同评估具有临床意义(判断预后),并可作为免疫检查点阻断的预测标志物值得进一步研究^[16]。类似地在Wang等^[17]的研究中,也提出以CD8和PD-L1表达为特征的新型免疫分型。通过共同使用CD8⁺T淋巴细胞和表达PD-L1的TIL作为分类标准,发现强免疫反应的患者具有大量的CD8⁺T淋巴细胞和少量表达PD-L1的TIL,提示该类型预后较好。此外,在GC患者的外周血、组织中均发现PD-1⁺和Tim-3⁺CD8⁺共信号分子表达的T细胞显著增多,并且该细胞与CD8⁺T淋巴细胞功能受损密切相关,能够促进免疫逃逸,靶向PD-1和Tim-3的免疫疗法可能为GC治疗提供新思路^[18]。

1.3 PD-1/PD-L1表达的分子机制研究 大部分研究表明,PD-L1表达受癌细胞内、外可变机制调控。内在免疫耐受方面,PD-L1的致肿瘤逃逸作用与ALK和Ki-67过度表达、Kras激活以及PTEN和Lkb1失活有关。此外,外源性免疫耐受也在调节PD-L1中发挥重要作用。其中,IFN- γ 是诱导肿瘤细胞中PD-L1上调的关键性因子。另外IL-17、IL-27、TNF- α 等也被证实参与PD-1/PD-L1表达的调控。Zhang等^[19]的一项研究中,体内外实验均提示趋化因子信号通路参与GC细胞中PD-L1的表达调控。CXCL9/10/11-CXCR3通过激活GC细胞中的STAT和PI3K-Akt信号通路上调PD-L1的表达,并且GC组织中PD-L1和CXCR3的表达呈显著正相关。尽管前期研究已证实IFN- γ 是调控GC细胞中PD-L1表达的关键因素,但其具体机制并不完全清楚^[20]。Moon等^[21]的研究发

现,在 EBVaGC 细胞中 IFN- γ 介导 PD-L1 的过表达受 JAK2/STAT1/IRF-1 信号通路调节。IRF-1 通过结合 PD-L1 启动子的 IRF-1 α 位点直接调节 PD-L1 转录。此外,EB 病毒核抗原 1(Epstein-Barr virus nuclear antigen 1, EBNA1)通过 JAK2 的上调和部分增强 IFN- γ 的分泌介导 PD-L1 的表达。敲低 EBNA1 后,通过降低 JAK2 的转录和蛋白水平以及随后的 STAT1/IRF-1/PD-L1 信号通路来降低组成型和 IFN- γ 诱导型 PD-L1 启动子活性。这提示 EBNA1 可以适度增强 EBVaGC 细胞中的组成型和 IFN- γ 诱导型 PD-L1 的表达。因此,调节 PD-L1 表达的信号蛋白和 EBNA1 是 EBVaGC 中潜在的治疗靶点,PD-1/PD-L1 表达调控分子机制的揭示对于晚期 GC 的治疗具有指导意义。

2 针对 PD-1/PD-L1 的新型联合免疫疗法(临床前研究)

该免疫检查点抑制剂在过去 5 年中的使用很成功,PD-L1 抑制剂尤其适用于 EBVaGC 和 MSI GC 亚型,疗效显著。最近文献讨论将肿瘤微环境分为 4 种类型(I、II、III、IV),并报道对 PD-1 单抗有良好反应的 I 型(PD-L1⁺/TIL 高)肿瘤微环境中含有表达 PD-1 的肿瘤特异性 CD8⁺与 PD-L1⁺T 淋巴细胞。此类肿瘤,如黑色素瘤,对抗 PD-1/PD-L1 治疗更敏感。因此,阻断 PD-1 与 PD-L1 之间的相互作用可以增强 EBVaGC 中的抗肿瘤免疫应答。Su 等^[22]首次试图将 CRISPR-Cas9 修饰的 T 淋巴细胞用于治疗 EBVaGC 小鼠模型。研究发现通过 CRISPR-Cas9 破坏患者 EBV-LMP2A-CTL 上 PD-1 的表达可增强 EBVaGC 细胞的免疫应答和细胞毒性,是可改善 EBVaGC 的过继性 T 淋巴细胞治疗。更重要的是,这一新策略应用于体内研究也同样有效。在 EBVaGC 的异种移植小鼠模型中,当与低剂量放疗联合应用时,这些 PD-1 被删除的 T 淋巴细胞可改善局部抗肿瘤反应。因此,抗原特异性 T 淋巴细胞过继转移与抑制免疫检查点相结合用于肿瘤治疗是很有前景的。有研究发现新型负性检查点调节因子 VISTA(T 细胞活化的 V 域 Ig 抑制剂)在胃癌中表达并与 PD-1/PD-L1 相关,但其诱导的 T 淋巴细胞激活似乎并非全部通过 PD-1/PD-L1 途径,VISTA 与 PD-1/PD-L1 在 MSI GC 和 EBVaGC 中的共表达表明 GC 具有双重免疫

逃逸机制^[23]。另外,为提高 PD-1/PD-L1 阻断剂的治疗安全性和特异性,也有研究致力于靶向基因递送的 RNA 干扰。用磁性氧化铁 Fe₃O₄ 纳米颗粒复合物作为 PD-L1 敲低的 siRNA 递送系统,结果显示出了这类多功能超分子纳米颗粒在 GC 中靶向敲低 PD-L1 疗法和 MRI 诊断的潜力^[24]。最近还发现 PD-L1 在肿瘤浸润性嗜中性粒细胞(neutrophilic granulocyte, NG)中高表达,提示肿瘤中 PD-L1⁺NG 与 GC 病程、生存率降低有关,其分子机制可能与肿瘤来源的 GM-CSF 通过 JAK-STAT3 信号通路激活 NG 并诱导 PD-L1 表达有关。活化的 PD-L1⁺NG 可有效抑制正常 T 淋巴细胞免疫活性,有助于肿瘤免疫逃逸。该研究结果表明 GC 中活化的 NG 上 PD-L1 表达的新机制,提供了功能性证据说明 GM-CSF-PD-L1 途径可预防和阻断 GC 的免疫耐受^[25]。同样 Zhang 等^[26]也证实肿瘤细胞、NG 和 T 淋巴细胞通过特定的 GM-CSF/PD-L1/PD-1 信号通路促进 GC 生长的现象。因此,PD-L1 单抗单独或与其他免疫疗法联合使用可阻断 PD-L1 和 PD-1 之间的相互作用以增强免疫应答并介导临床前研究和临床试验中的抗肿瘤活性,也可能会改变 NG 的免疫抑制特性,并增强 GC 患者的抗肿瘤 T 淋巴细胞反应^[26]。这些新发现将有助于更好地了解 PD-L1⁺NG 在 GC 中的作用机制,有助于开发出针对 GC 的新型治疗方式。

3 PD-1/PD-L1 免疫抑制剂应用于 GC 的临床试验及其治疗效果

生存率高、持续时间长和毒性反应低的前景催生了大量研究 GC 中检查点抑制剂的临床试验。

3.1 抗 PD-1 抗体 大型多组群阶段 Ib KEY-NOTE-012 临床试验首先高度肯定 PD-L1⁺GC 中 Pembrolizumab 单抗的活性。在评估的 162 例 GC 患者中,65 例(40.1%)PD-L1 表达。在表达 PD-L1 的 GC 患者中,接受 Pembrolizumab 治疗后 8 例(12.3%)出现部分缓解,5 例(7.7%)处于疾病稳定期,亚洲、非亚洲患者间无显著差异。中期评估的中位无进展生存期(progression-free survival, PFS)为 1.9 个月,6 个月 PFS 为 26%。中位 OS 为 11.4 个月^[27]。另外,最近有报道用 Pembrolizumab 单抗治疗先前接受过其他治疗的晚期 GC 和胃食管交界处(gastroesophageal junction, GEJ)患者的临床疗效和安全性也得到肯定^[28]。

Nivolumab 与 Pembrolizumab 一样, 是一种针对 PD-1 的完全人免疫球蛋白(IgG4)单抗, 在多类型肿瘤中具有活性。目前正在进行的试验中, 有研究评估 Nivolumab 在已接受过化疗的进展期 GC 和 GEJ 患者中的疗效和安全性。在多个临床位点进行的随机、双盲、安慰剂对照的 III 期临床试验中, 按国家 ECOG(体力状况评分标准)性能状态和转移器官数量分类患者, 每 2 周接受 3 mg/kg Nivolumab 或安慰剂注射。试验随机分配 493 例患者接受 Nivolumab($n = 330$)或安慰剂($n = 163$)治疗。截止 2016 年 8 月 13 日, 幸存患者的中位随访时间为 Nivolumab 组 8.77 个月和安慰剂组 8.59 个月。Nivolumab 组的中位 OS 为 5.26 个月, 安慰剂组为 4.14 个月。Nivolumab 12 个月的中位 OR 率为 26.2%, 安慰剂组为 10.9%。在安全性方面, 接受 Nivolumab 的试验组、安慰剂组分别只有 34 例(10.3%)和 7 例(4.3%)发生治疗相关不良事件, 导致试验组 5 例(1.5%)和安慰剂组 2 例(1.2%)死亡。在第 3 阶段研究中, 生存曲线表明 Nivolumab 可能成为接受过治疗的晚期 GC 和 GEJ 重度患者的新选择^[29]。相比于化疗效果不佳的晚期 GC 和 GEJ 患者的关键性 III 期临床试验数据^[30-31], 该试验结果显示 Nivolumab 在先前治疗过的晚期患者群体中存在显著的临床生存获益。尽管由于治疗方案、入选患者群体和治疗类型的差异, 试验中客观缓解率(objective response rate, ORR)、OR 表明 PD-1/PD-L1 免疫抑制剂在先前治疗过的重度患者中, 比起 Nivolumab, 二线药物雷莫单抗和三线药物阿帕替尼有更大的优势。

3.2 抗 PD-L1 抗体 Avelumab 是一种人免疫球蛋白 G1(IgG1)类型的抗 PD-L1 单抗, 具有潜在诱发免疫应答破坏肿瘤细胞的能力。临床前研究显示, 其诱导固有免疫反应对抗癌细胞的能力使得抗 PD-L1 与 PD-1 抗体被批准用于临床试验。Avelumab 正在国际 JAVELIN 临床试验中评估, 该试验涉及 16 种以上肿瘤类型, 既有单一疗法也有联合疗法。2017 年 3 月美国 FDA 批准 Avelumab 用于治疗转移性 Merkel 细胞癌, 并且取得了惊人的疗效^[32]。已有研究证明其在多种晚期恶性肿瘤中具有显著的抗肿瘤活性和可控制的不良事件^[33]。正在进行的 I b 期 JAVELIN 试验中, 研究至少有 1 次先前治疗(2L 组)或接受 Avelumab 作为转换维持治疗(switch maintenance, SwM)的晚期 GC 和

GEJ 患者。在美国临床肿瘤学会 2016 年会议上, 151 例患者(2L 组中的 62 名患者, SwM 组中的 89 名患者)接受 Avelumab 治疗后, 在 2L 组中, ORR、疾病控制率(disease control rate, DCR)、中位 PFS 分别为 6/62 例(9.7%)、29.0%和 6.0 周。在 SwM 组中, ORR、DCR 和中位 PFS 分别为 8/89 例(9.0%)、57.3%和 12.0 周^[34]。这些安全性数据验证了 Avelumab 单抗在晚期 GC 治疗中的可行性。

Durvalumab 是一种人工合成的抗 PD-L1 IgG1 同种型单抗, 与 PD-L1 结合后可阻止 PD-L1 与 PD-1 和 CD80 结合。在 I 期临床试验中, 包括 GC 患者在内的实体瘤患者每 2 周静脉注射一次 Durvalumab, 持续 12 个月后, 初步疗效数据显示(4/16)的 GC 患者 ORR 为 25%。2 例经过预处理的 GC 患者在 24 周内保持稳定, 超过目前批准的 2L 疗法的当前中位 PFS^[35]。

3.3 联合治疗 鉴于 PD-1 抑制剂在肿瘤免疫治疗领域的卓越疗效, PD-1 单抗联合化疗也在积极的临床试验中。正在进行的第 2 阶段 KEYNOTE-059 以及第 3 阶段 KEYNOTE-062 研究中, 从 25 例晚期 HER2⁻ 胃腺癌患者获得的初步数据显示, 这些接受一线化疗药 5-氟尿嘧啶、顺铂联合 Pembrolizumab 治疗后的患者都取得了可喜的治疗效果^[36]。考虑到过表达 HER2 的肿瘤患者总是表现出对曲妥珠单抗的耐药性, 因此也有研究正在将 PD-1 阻断剂与抗 HER2 药物联合应用。如新型抗 HER2 单抗 Margetuximab 联合 Pembrolizumab 用于晚期 HER2⁺ GC 患者的治疗。免疫系统具有识别和特异性排斥肿瘤的能力, 放射疗法(radiation therapy, RT)可导致免疫原性肿瘤细胞死亡, 导致肿瘤特异性 T 淋巴细胞的交叉激活, 充当原位肿瘤疫苗。然而, RT 很少能诱导有效的抗肿瘤免疫引起全身性肿瘤排斥。如在临床前肿瘤模型中所证实的, 免疫疗法可以作为 RT 的补充以帮助克服肿瘤免疫逃逸。因此有研究提出不同免疫疗法和放疗组合的基本想法, 并回顾这些组合在癌症治疗中的重要意义。多种临床前肿瘤模型都显示联合放疗与 PD-1/PD-L1 阻断疗法存在协同抗肿瘤活性^[37-38]。

4 结语

随着研究的日益深入, 发现 PD-1/PD-L1 相关

的联合免疫分型更能精确反应 GC 预后；针对 PD-1/PD-L1 的联合免疫疗法(临床前研究)可有效延长晚期 GC 患者的生存期；证实 PD-1/PD-L1 阻断疗法应用于临床试验的有效性，其联合放化疗等方式也丰富了晚期 GC 的治疗选择。免疫治疗的研究为晚期 GC 治疗提供了一个新的广阔空间，与其他治疗方法相比，其具有独特的优势，如相对安全性、有效性、副作用小等。特别是随着 PD-1 通路在免疫调节分子机制中的发现和持续深入研究，来自许多临床试验的数据表明，EBVaGC、MSI GC 患者已经从 PD-1/PD-L1 免疫检查点抑制剂中获益。目前的研究成果对于开发一种新型治疗方式来说只是令人鼓舞的第一步，随着 PD-1 免疫逃逸机制的研究成熟，相信 PD-1 检查点抑制剂将被广泛用于改善晚期 GC 患者的生活质量，其免疫疗法具有可观的发展前景。

参考文献

- [1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, *et al.* Global cancer statistics, 2012[J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(2): 87-108.
- [2] Chen W, Zheng R, Baade PD, *et al.* Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132.
- [3] Shukuya T, Mori K, Amann JM, *et al.* Relationship between overall survival and response or progression-free survival in advanced non-small cell lung cancer patients treated with anti-PD-1/PD-L1 antibodies[J]. *J Thorac Oncol*, 2016, 11(11): 1927-1939.
- [4] Tumei PC, Hellmann MD, Hamid O, *et al.* Liver metastasis and treatment outcome with anti-PD-1 monoclonal antibody in patients with melanoma and NSCLC[J]. *Cancer Immunol Res*, 2017, 5(5): 417-424.
- [5] Badros A, Hyjek E, Ma N, *et al.* Pembrolizumab, pomalidomide, and low-dose dexamethasone for relapsed/refractory multiple myeloma[J]. *Blood*, 2017, 130(10): 1189-1197.
- [6] Zhang L, Qiu MZ, Jin Y, *et al.* Programmed cell death ligand 1 (PD-L1) expression on gastric cancer and its relationship with clinicopathologic factors[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(9): 11084-11091.
- [7] Ju XL, Shen R, Huang P, *et al.* Predictive relevance of PD-L1 expression with pre-existing TILs in gastric cancer[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(59): 99372-99381.
- [8] Fang WF, Chen Y, Sheng J, *et al.* Association between PD-L1 Expression on Tumour-Infiltrating Lymphocytes and Overall Survival in Patients with Gastric Cancer[J]. *J Cancer*, 2017, 8(9): 1579-1585.
- [9] Wu YH, Cao DH, Qu LM, *et al.* PD-1 and PD-L1 co-expression predicts favorable prognosis in gastric cancer[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(38): 64066-64082.
- [10] Ju XL, Shen R, Huang P, *et al.* Predictive relevance of PD-L1 expression with pre-existing TILs in gastric cancer[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(59): 99372-99381.
- [11] Chen J, Jiang CC, Jin L, *et al.* Regulation of PD-L1: A novel role of pro-survival signalling in cancer[J]. *Ann Oncol*, 2016, 27(3): 409-416.
- [12] Saito R, Abe H, Kunita A, *et al.* Overexpression and gene amplification of PD-L1 in cancer cells and PD-L1(+) immune cells in Epstein-Barr virus-associated gastric cancer: The prognostic implications[J]. *Mod Pathol*, 2017, 30(3): 427-439.
- [13] Ma C, Patel K, Singhi AD, *et al.* Programmed death-ligand 1 expression is common in gastric cancer associated with Epstein-Barr virus or microsatellite instability[J]. *Am J Surg Pathol*, 2016, 40(11): 1496-1506.
- [14] Qing Y, Li Q, Ren T, *et al.* Upregulation of PD-L1 and APE1 is associated with tumorigenesis and poor prognosis of gastric cancer[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2015, 9: 901-909.
- [15] Bass AJ, Thorsson V, Shmulevich I, *et al.* Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma[J]. *Nature*, 2014, 513(7517): 202-209.
- [16] Koh J, Ock CY, Kim JW, *et al.* Clinicopathologic implications of immune classification by PD-L1 expression and CD8-positive tumor-infiltrating lymphocytes in stage II and III gastric cancer patients[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(16): 26356-26367.
- [17] Wang W, Wang K, Chen Z, *et al.* Immunoclassification characterized by CD8 and PD-L1 expression is associated with the clinical outcome of gastric cancer patients[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(15): 12164-12173.
- [18] Takano S, Saito H, Ikeguchi M. An increased number of PD-1⁺ and Tim-3⁺ CD8⁺ T cells is involved in immune evasion in gastric cancer[J]. *Surg Today*, 2016, 46(11): 1341-1347.
- [19] Zhang C, Li Z, Xu L, *et al.* CXCL9/10/11, a regulator of PD-L1 expression in gastric cancer[J]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1): 462.
- [20] Jiang D, Xu YY, Li F, *et al.* The role of B7-H1 in gastric carcinoma: Clinical significance and related mechanism[J]. *Med Oncol*, 2014, 31(11): 268.
- [21] Moon JW, Kong SK, Kim BS, *et al.* IFN γ induces PD-L1 overexpression by JAK2/STAT1/IRF-1 signaling in EBV-positive gastric carcinoma[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 17810.
- [22] Su S, Zou Z, Chen F, *et al.* CRISPR-Cas9-mediated disruption of PD-1 on human T cells for adoptive cellular therapies of EBV positive gastric cancer[J]. *Oncoimmunology*, 2017, 6(1): e1249558.
- [23] Boger C, Behrens HM, Kruger S, *et al.* The novel negative checkpoint regulator VISTA is expressed in gastric carcinoma and associated with PD-L1/PD-1: A future perspective for a combined gastric cancer therapy?[J]. *Oncoimmunology*, 2017, 6(4): e1293215.
- [24] Luo X, Peng X, Hou J, *et al.* Folic acid-functionalized poly-

- ethylenimine superparamagnetic Iron oxide nanoparticles as theranostic agents for magnetic resonance imaging and PD-L1 siRNA delivery for gastric cancer[J]. *Int J Nanomedicine*, 2017, 12: 5331-5343.
- [25] Wang TT, Zhao YL, Peng LS, *et al.* Tumour-activated neutrophils in gastric cancer foster immune suppression and disease progression through GM-CSF-PD-L1 pathway[J]. *Gut*, 2017, 66(11): 1900-1911.
- [26] Zhang X, Xu WR. Neutrophils diminish T-cell immunity to foster gastric cancer progression: The role of GM-CSF/PD-L1/PD-1 signalling pathway[J]. *Gut*, 2017, 66(11): 1878-1880.
- [27] Muro K, Chung HC, Shankaran V, *et al.* Pembrolizumab for patients with PD-L1-positive advanced gastric cancer (KEYNOTE-012): A multicentre, open-label, phase 1b trial [J]. *Lancet Oncol*, 2016, 17(6): 717-726.
- [28] Fuchs CS, Doi T, Jang RW, *et al.* Safety and efficacy of pembrolizumab monotherapy in patients with previously treated advanced gastric and gastroesophageal junction cancer: Phase 2 clinical KEYNOTE-059 trial [J]. *JAMA Oncol*, 2018, 4(5): e180013.
- [29] Kang YK, Boku N, Satoh T, *et al.* Nivolumab in patients with advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer refractory to, or intolerant of, at least two previous chemotherapy regimens (ONO-4538-12, ATTRACTION-2): A randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial [J]. *Lancet*, 2017, 390(11111): 2461-2471.
- [30] Fuchs CS, Tomasek J, Yong CJ, *et al.* Ramucirumab monotherapy for previously treated advanced gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (REGARD): An international, randomised, multicentre, placebo-controlled, phase 3 trial[J]. *Lancet*, 2014, 383(9911): 31-39.
- [31] Li J, Qin S, Xu J, *et al.* Randomized, double-blind, placebo-controlled phase III trial of apatinib in patients with chemotherapy-refractory advanced or metastatic adenocarcinoma of the stomach or gastroesophageal junction[J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34(13): 1448-1454.
- [32] Kaufman HL, Russell J, Hamid O, *et al.* Avelumab in patients with chemotherapy-refractory metastatic Merkel cell carcinoma: A multicentre, single-group, open-label, phase 2 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2016, 17(10): 1374-1385.
- [33] Heery CR, O'Sullivan-Coyne G, Madan RA, *et al.* Avelumab for metastatic or locally advanced previously treated solid tumours (JAVELIN Solid Tumor): A phase 1a, multicohort, dose-escalation trial[J]. *Lancet Oncol*, 2017, 18(5): 587-598.
- [34] Chung HC, Arkenau HT, Wyrwicz LA, *et al.* Avelumab (MSB0010718C; anti-PD-L1) in patients with advanced gastric or gastroesophageal junction cancer from JAVELIN solid tumor phase 1b trial: Analysis of safety and clinical activity [J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34(15): S4009.
- [35] Segal NH, Antonia SJ, Brahmer JR, *et al.* Preliminary data from a multi-arm expansion study of MEDI4736, an anti-PD-L1 antibody[J]. *J Clin Oncol*, 2014, 32(15): S3002.
- [36] Fuchs CS, Ohtsu A, Tabernero J, *et al.* Pembrolizumab (MK-3475) plus 5-fluorouracil (5-FU) and cisplatin for first-line treatment of advanced gastric cancer: Preliminary safety data from KEYNOTE-059[J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34(4): S161.
- [37] Dovedi SJ, Adlard AL, Lipowska-Bhalla G, *et al.* Acquired resistance to fractionated radiotherapy can be overcome by concurrent PD-L1 blockade[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(19): 5458-5468.
- [38] Vatner RE, Cooper BT, Vanpouille-Box C, *et al.* Combinations of immunotherapy and radiation in cancer therapy[J]. *Front Oncol*, 2014, 4: 325.