

非小细胞肺癌免疫治疗预测标志物研究进展

权 阳^{1,2}, 赵 征², 姚俊涛²

(1. 西安医学院, 陕西 西安 710068; 2. 西安交通大学医学院附属陕西省肿瘤医院, 陕西 西安 710061)

摘要:目前免疫检查点抑制剂在肺癌治疗方面取得了突破性进展,正在迅速的改变着肺癌的治疗模式。由于免疫治疗费用高昂,单药治疗的获益人群较低,且非筛选人群免疫治疗的获益率仅为20%,因此如何筛选出免疫治疗获益人群显得尤为重要。肿瘤通过PD-1/PD-L1通路发生免疫逃逸,在效应CD8+ T细胞进入肿瘤细胞周围过程中,产生大量IFN γ ,可以诱导肿瘤细胞表面PD-L1上调,与效应T细胞表面的PD-1受体结合,从而降低效应T细胞的增殖,诱导其凋亡,引起细胞毒T细胞的耗竭,通过上调PD-L1的表达下调效应T淋巴细胞的抗肿瘤免疫反应,创造出适合自身生长的局部微环境,形成免疫逃逸,促进肿瘤细胞的生长。肿瘤突变负荷已被多个临床研究证实可作为一种免疫治疗预测标志物,其表达高低可能与吸烟具有一定的相关性。微卫星不稳定在肺癌中表达较低,是否可将其与肿瘤淋巴浸润联合作为预测免疫治疗的标志物有待证实。除此之外,T细胞受体多样性、主要组织相容性复合体I分子的表达均可能影响肿瘤新抗原的呈递和识别。DNA损伤修复基因的异常发生功能性突变,导致其他驱动基因缺失和插入性突变增加,这些移码突变导致新抗原和肿瘤突变负荷增加,与免疫检查点抑制剂的疗效相关。免疫治疗时代的开展推动了对免疫治疗预测标志物更加严格的要求,新的免疫预测标志物层出不穷,免疫时代赋予非小细胞肺癌免疫治疗的预测标志物更需要临床进一步证实。

关键词:非小细胞肺癌;免疫治疗;预测标志物;PD-L1;肿瘤突变负荷;MSI;TIL

中图分类号:R734.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-170X(2019)11-0952-05

doi:10.11735/j.issn.1671-170X.2019.11.B005

Progress on Predictive Markers of Immunotherapy for Non-small Cell Lung Cancer

QUAN Yang^{1,2}, ZHAO Zheng², YAO Jun-tao²

(1. Xi'an Medical University, Xi'an 710068, China; 2. Shaanxi Provincial Cancer Hospital, Affiliated to Xi'an Jiaotong University Medical College, Xi'an 710061, China.)

Abstract: Immune checkpoint inhibitors have made breakthrough in the treatment of lung cancer and changed its therapeutic mode. Currently, the benefit rate of single immunotherapy drug in non-screened patients is only 20%, so how to screen out the benefit population for immunotherapy is particularly important. Tumor by PD-1/PD-L1 (programmed cell death 1 / programmed cell death 1 ligand 1) pathways in the immune escape, in effect in the process of CD8+ T cells into the surrounding tumor cells and produce a large number of IFN gamma, PD can induce the tumor cell surface-L1 increases, and the effect of T cell receptors on the surface of PD-1, thus reducing effect of T cell proliferation and induce its apoptosis, causes the cytotoxic T cell depletion. By up-regulating the expression of pd-l1 and down-regulating the anti-tumor immune response of T lymphocytes, local microenvironment suitable for their own growth is created to form immune escape and promote the growth of tumor cells. TMB(tumor mutation burden) has been confirmed by multiple clinical studies as a predictive marker of immunotherapy, and its expression level may be correlated with smoking. MSI (microsatellite instability, microsatellite instability) expressed in lung cancer is low, and whether it can be with TIL(tumor infiltrates lymphocytes and tumor lymphatic invasion) joint as a biomarker for predicting immunotherapy needs to be confirmed. In addition, the diversity of TCR(T-cell receptor(T cell receptor) and the expression of MHC-1 (major histocompatibility complex 1, major histocompatibility complex 1) molecules may affect the presentation and recognition of tumor new antigens. Abnormal functional mutations of DNA damage repair genes lead to the deletion of other driver genes and the increase of insertional mutations. These code shift mutations lead to the increase of neoantigen and tumor mutation load, which is related to the efficacy of immune checkpoint inhibitors. The development of the era of immunotherapy has promoted more stringent requirements on immunotherapy predictive markers, and new immunoprediction markers are emerging in an endless stream.

Subject words: non-small cell lung cancer; immunotherapy; predictors; PD-L1; tumor mutation burden; MSI; TIL

肺癌是全球肿瘤发生率及死亡率较高的恶性肿

瘤之一^[1],其中非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)约占肺癌患者的85%^[2]。大多数肺癌患者就诊时已属于中晚期。肺癌的常规治疗手段包括手术、放化疗及靶向药物治疗。随着对肿瘤免疫机

通信作者:姚俊涛,硕士生导师,主任医师,硕士;陕西省肿瘤医院放疗科,陕西省西安市雁塔西路309号(710061),E-mail: 1278748172@qq.com

收稿日期:2019-05-05;修回日期:2019-06-27

制研究的不断深入,免疫治疗 2.0 时代已经全面启动,随之而来出现一系列的免疫治疗相关的生物标志物。目前 NSCLC 的免疫治疗模式尚处于初期,并且只有少部分人对免疫治疗获益。因此,免疫治疗相关标志物对筛选获益的非小细胞肺癌患者就显得格外重要。目前 PD-L1 已成为肺癌免疫检测点抑制剂最常用的预测标志物。

已经有大量实验证明肿瘤突变负荷(tumor mutation burden, TMB)、微卫星不稳定(microsatellite instability, MSI)、肿瘤淋巴浸润 (tumor infiltrates lymphocytes, TIL)等可以作为预测免疫治疗的生物标志物,而未来可以作为预测免疫治疗的生物标志物仍层出不穷,如 IL-35、POLE 基因、TCR、HLA 分型等。对于免疫预测标志物的深入研究有助于对获益人群的筛选。

1 PD-L1 作为非小细胞肺癌免疫治疗首要的预测标志物

1.1 PD-1/PD-L1 通路使肿瘤发生免疫逃逸

人体免疫机制分为固有免疫和适应性免疫,其中适应性免疫在肿瘤发生、发展过程中发挥重要作用。Thomas 和 Burnet 教授于 1957 年提出免疫监视假说^[3]。肿瘤临床前阶段,机体的免疫系统可以识别杀伤并且清除肿瘤,形成“免疫清除和免疫平衡”阶段,在免疫和肿瘤相互作用过程中,肿瘤细胞通过多种机制,比如提高肿瘤细胞表面的 PD-L1 表达、降低 MHC-1 分子的形成以及肿瘤免疫微环境产生大量的免疫抑制分子,比如 TGF β 、IDO、LAG3,以及大量的免疫负性细胞,比如 TAM、MDSC 和 Treg,从而诱导肿瘤细胞的免疫原性降低,这个阶段称为“肿瘤免疫逃逸”。

PD-1 称为程序性死亡因子 1,为重要的免疫抑制性受体,因其能促进程序性细胞死亡而将其命名为程序性死亡因子 1(PD-1)^[4]。PD-L1 为程序性死亡配体 1,PD-1 与 PD-L1 相互作用可抑制机体的免疫反应^[5]。在效应 CD8⁺ T 细胞进入肿瘤细胞周围过程中,产生大量 IFN γ ,可以诱导肿瘤细胞表面 PD-L1 上调,与效应 T 细胞表面的 PD-1 受体结合,从而降低效应 T 细胞增殖,诱导细胞凋亡,引起细胞毒 T 淋巴细胞的耗竭,通过上调 PD-L1 表达下调效应 T 淋巴

细胞的抗肿瘤免疫反应,创造出适合自身生长的局部微环境,形成免疫逃逸,促进肿瘤细胞的生长。

阻断 PD-1/PD-L1 的肿瘤免疫疗法已经证实 NSCLC 中通过阻断 PD-1/PD-L1 信号通路,使 T 细胞恢复免疫活性,增强免疫应答,提高杀伤肿瘤细胞的能力^[6]。

1.2 PD-L1 作为免疫治疗有效的预测因子

PD-L1 阴性患者免疫治疗的反应率为 0~17%,而在表达 PD-L1 的肿瘤中反应率从 36%到 100%不等^[7]。因此,PD-L1 作为一种生物标志物的广泛应用。

目前 PD-1/PD-L1 通路抑制剂对肺癌的免疫治疗已取得了明显的疗效,并且可将 PD-L1 作为免疫治疗的预测因子。2015 年 FDA 批准对于 PD-L1 表达 $\geq 50\%$,且无明确驱动基因 EGFR 和 ALK 突变的初诊晚期 NSCLC 患者,可以一线选择 Pembrolizumab 治疗,其客观缓解率为 44.98%,疾病稳定时间为 10.3 个月,均显著性优于化疗^[8]。此后,多项临床试验表明非小细胞免疫治疗疗效优于单纯化疗。近期一项大型随机 III 期临床试验 Keynote042 研究证明:PD-L1 表达率 $\geq 1\%$ 的局部晚期/转移性非小细胞肺癌患者,一线对比使用免疫抑制剂派姆单抗和标准含铂化疗,其 OS 较标准化疗延长 4~8 个月。

1.3 PD-L1 可作为与驱动基因突变相关的免疫治疗标志物

对于驱动基因 EGFR 突变的晚期 NSCLC,PD-1 抑制剂的疗效较低,客观缓解率仅为 3%。现有临床研究发现,PD-L1 阴性(<1%)、弱阳性(1%~49%)和高表达($\geq 50\%$)患者中,EGFR 突变阳性患者比例并无显著性差异,而 KRAS 突变患者中 PD-L1 阳性比例显著性高于 KRAS 野生型患者^[9]。而其他临床前研究^[10]却发现,EGFR 突变细胞系的 PD-L1 明显上调,采用 EGFR TKI 诱导治疗后检测肿瘤细胞表面的 PD-L1 明显降低。进一步研究发现,肿瘤细胞依据 EGFR 信号通路上调 PD-L1 的同时也上调其他免疫抑制分子,比如 IL-6、TGF β 、PGRN,此外通过分泌炎症趋化因子,募集 MDSC 和 Treg 免疫抑制细胞聚集在肿瘤微环境。TGF β 通过诱导上皮至间质转化,促进肿瘤细胞转移。那么,临床实践 EGFR 敏感突变患者接受 PD-1 抑制剂治疗的疗效低的原因是什么呢?肿瘤细胞 PD-L1 的表达分为两类:一类是由于肿瘤细胞基因突变导致,比如脑胶质瘤患者出

现 PI3K-AKT 通路的激活、霍奇金淋巴瘤出现 9p24.1 基因的易位和扩增导致,称为固有性 PD-L1 表达。另一类是肿瘤免疫编辑过程中,适应性免疫反应导致效应 T 细胞 IFN γ 释放,诱导肿瘤细胞 PD-L1 表达,称为适应性表达。因此,后者常常表现为适应性免疫原性增加,肿瘤微环境内的 TIL 增多,这样的患者接受 PD-1 抑制剂获益概率增加。而 EGFR 突变的部分患者尽管 PD-L1 上调,但其原因并不是由肿瘤适应性免疫导致,而是 EGFR 突变导致的下游信号通路异常,最终导致的 PD-L1 组成性表达上调,肿瘤微环境中 TIL 数目低,且 TGF β 、IL-6 等免疫抑制分子增加。另一方面,EGFR 驱动突变的高增殖肿瘤者 TMB 较低,仅为 3~4/MB,而重度吸烟肺癌患者 TMB 高达 8~9/MB^[11],导致肿瘤新抗原被 T 细胞识别的机会降低,这也是影响免疫治疗疗效的原因之一。

2 肿瘤突变负荷表达高低可能与免疫检查点抑制剂的疗效相关

目前对于预测免疫治疗结果的预测标志物,除了检测最多的 PD-L1 之外,对于 TMB 的研究也备受关注。目前研究显示,TMB 越高,越容易被免疫细胞识别,免疫治疗响应度也越高^[12-13]。因此,有 TMB 越高免疫治疗效果越好的说法。TMB 是一种正在不断研究发展中的生物标志物,可能有助于选择适合接受免疫治疗的患者。从 Checkmate026 研究证明,相对于中、低 TMB 组,高 TMB 可以从纳武单抗获益,Checkmate227 再次证明 TMB-H 可以作为独立的疗效预测因子。近期,一篇发表在 JAMA 上的文章显示:TMB-H 的人群 OS 显著性高于 TMB-L/M 的人群^[14]。

有数据表示免疫检查点抑制剂更有可能使 NSCLC 患者受益,并且发现吸烟患者具有更高的肿瘤突变负荷^[15]。对于吸烟患者是否应均建议进行 TMB 检测,仍需进一步验证。近期另一项研究表明,使用免疫抑制剂的疗效在高表达 TMB 的人群中较低表达组更具优势,而与 PD-L1 表达无关^[16]。TMB 越高,阻断 PD-1/PD-L1 预后越好,且双重检查点的好处是没有显示出对 TMB 强烈的依赖^[17]。

PD-L1 表达大于 50% 的非小细胞肺癌患者可能与目前吸烟或曾经吸烟相关,但仍存在争议;同时目

前吸烟或曾经吸烟的患者在使用免疫检测点抑制剂后 ORR 更高^[18]。在吸烟人群中,高 ORR 值可能是肺癌患者有一个与高 TMB 有关的“吸烟信号分子”。同时发现,以前吸烟患者较目前吸烟患者对派姆单抗有更好的疗效。通过该研究,对于曾经吸烟指数为重度的患者,提醒是否可首先检测 PD-L1 的表达,大于 50% 患者可直接建议进行免疫治疗,若小于 50% 患者可进行 TMB 检测,若 TMB 增高,该患者进行免疫治疗的 ORR 值可能较高。但针对吸烟暴露时间与免疫疗效相关性,以及戒烟时间与免疫疗效相关性等仍需进一步验证。

3 微卫星不稳定联合肿瘤淋巴细胞浸润作为免疫治疗的预测因子

微卫星不稳定(MSI)是指在 DNA 复制过程中由于错配修复基因(mismatch repair,MMR)的缺陷而导致短的重复 DNA 序列发生插入或缺失等改变^[19]。最新研究证实 MSI-H 结直肠癌对抗 PD-1 治疗有更好的疗效^[20]。也有相关报道指出结直肠癌患者和错配修复基因异常(通常与高 TMB 相关)也通常对 PD-1/PD-L1 阻断反应^[21]。

国外报道肺癌的 MSI 发生率较低。抗 PD-L1 治疗对 MSI 的非小细胞肺癌是否有更好的疗效,目前的相关报道较少。有研究发现 CD8+T 淋巴细胞的数量是 NSCLC 患者免疫治疗的独立预后因素^[22]。在 Pembrolizumab I 期临床试验(Keynote001)中发现,治疗有效的患者基线活检标本肿瘤实质和边缘中 CD8+T 淋巴细胞数量高于进展的患者^[23]。一项用多重定量免疫荧光技术同位检测 CD3+细胞肿瘤淋巴细胞浸润水平,结果发现突变负荷、I 类候选新抗原及瘤内 CD3+显著性升高均与免疫治疗反应性有关。此外发现,休眠的“TIL”(低增殖、低分化)与免疫抑制剂治疗的患者获益相关^[24]。因此肿瘤浸润淋巴细胞与免疫治疗疗效有一定关联。

4 未来生物标志物之星

4.1 IL-35

IL-35 是 IL-12 家族的细胞因子,主要由 CD4+、CD25+、FOXP3+调节 T 细胞及表达 IL-35 的调节 B 细胞产生。IL-35 可通过不同的信号通路抑制血管生

成,发挥抗炎及免疫调节作用。通过加快细胞增殖、促进血管生成、抑制细胞凋亡以及限制抗肿瘤免疫T细胞等作用机制来促进肿瘤的生长^[25]。

一项研究通过检测及对比 NSCLC 患者外周血和支气管肺泡灌洗液中 IL-35 的表达,结果发现肿瘤所在部位的支气管肺泡灌洗液中 IL-35 表达明显升高,而外周血中并无升高。因此考虑 NSCLC 的 IL-35 不影响肿瘤的生物活性,如增殖、细胞因子的产生、细胞循环及浸润,但是会降低细胞毒性 T 细胞的功能,从而使 T 细胞功能紊乱或耗竭来发挥抑制抗肿瘤免疫反应。因此,未来通过检测 IL-35 的水平来预测 NSCLC 患者免疫治疗的预后将有待被验证。

4.2 POLE

POLE 基因是一种可编码核酸外切酶区,及时识别并切除 DNA 复制过程中出现的错误碱基。若 POLE 基因突变,则导致其校正功能消失,导致大量的基因突变细胞产生。有研究表明:POLE 基因突变的患者 TMB、PD-L1 表达均高于野生型,表明具有 POLE 基因突变的患者接受免疫治疗获益较好,因此未来可将 POLE 基因突变作为免疫治疗的预测标志物,但其可靠性等仍有待临床进一步验证^[26]。

肿瘤免疫机制错综复杂,因此对于免疫治疗的预测标志物的探索仍在不断进展中,TCR、HLA 分型等将在未来成为免疫治疗预测标志物的明日之星。

综上,肿瘤治疗已进入免疫治疗时代,免疫治疗作为肿瘤治疗最新的治疗手段,仍存在很多问题,其检测费用及治疗费用昂贵,如何筛选患者就显得格外重要。在肿瘤免疫监测过程中,肿瘤免疫逃逸是肿瘤发生、发展的主要特征之一,首先免疫系统识别肿瘤新抗原,肿瘤细胞的肽段与 MHC-1 分子结合,呈递给 CD8+T 细胞,这些非己的新抗原主要是由肿瘤体细胞非同义突变产生的抗原。恶性黑色素瘤、吸烟的肺癌患者,呈现较高的肿瘤突变负荷。临床研究发现,TMB 与免疫检查点抑制剂的客观缓解率和疾病稳定时间呈正相关。那些真正被 T 细胞识别的新抗原免疫疗效预测因子之一。肿瘤进化过程中,不断产生耐药亚克隆,这些耐药克隆产生的新抗原如果不能被 T 细胞识别,那么免疫治疗的疗效会降低。此外,MHC-1 分子的表达、TCR 多样性均会影响肿瘤新抗原的呈递和识别。DNA 损伤修复基因的异

常,比如 dMMR、MSI 以及 BRCA、POLE 等功能性突变,导致其他驱动基因缺失和插入性突变增加,这些移码突变导致新抗原和肿瘤突变负荷增加,与免疫检查点抑制剂的疗效相关。MSI 肿瘤诱导免疫负性因子如 PD-1、PD-L1、CTLA4、LAG3 以及 IDO 的释放,从而产生适应性免疫耐受的微环境。此外,宿主免疫相关基因多态性,导致免疫易感性水平的波动,也会影响肿瘤免疫原性。肿瘤免疫微环境是影响 PD-1 抑制剂疗效的主要因素之一。PD-L1 状态、TIL 密度、类型和分布均会影响肿瘤免疫微环境。依据肿瘤内部和周围 TIL 和 PD-L1 状态,可以将肿瘤免疫原性分为四类:适应性免疫耐受型、免疫排斥型、免疫抑制型和原发性免疫抗拒型。此外,WNT β -catenin、JAK2、B2M、STK11 等免疫负性调控基因的突变,会影响免疫检查点药物的疗效。

除了上述的免疫标志物,新的免疫疗效预测的生物标志物仍层出不穷,例如 PD-L1 高表达与 IL-35 升高有关,因此 IL-35 抑制剂也可阻断 PD-1/PD-L1 通路来治疗非小细胞肺癌;POLE 突变可导致新抗原大幅度增加,可能增加 PD-1 抑制剂的敏感性等。因此 TCR、IL-35、POLE、HLA 分型等都将可能作为免疫预测生物标志物,而且多个免疫标志物之间关系错综复杂,相互影响,对于预测非小细胞肺癌免疫治疗的标志物各有不同结论,如何利用预测标志物来准确筛选受益人群仍需临床进一步验证。

参考文献:

- [1] Lancet T. GLOBOCAN 2018:counting the toll of cancer [J]. Lancet,2018,392(10152):985.
- [2] Hong-Min W,Xiao-Hong Z,Ming-Ming F,et al. Interleukin-35 suppresses the antitumor activity of T cells in patients with non-small cell lung cancer[J]. Cell Physiol Biochem,2018,47(6):2407-2419.
- [3] Beatty GL,Gladney WL. Immune escape mechanisms as a guide for cancer immunotherapy [J]. Clinical Cancer Research,2015,21(4):687-692.
- [4] Quan SC,Hu J,Liu C,et al. Research status and application progress of immunotarget PD-1/PD-L1 [J]. Journal of Practical Medicine,2018,34(14):2283-2286.[全诗翠,胡佳,刘畅,等.免疫靶点 PD-1/PD-L1 的研究现状与应用进展[J].实用医学杂志,2018,34(14):2283-2286.]
- [5] La-Beck NM,Jean GW,Huynh C,et al. Immune check-

- point inhibitors; new insights and current place in cancer therapy[J]. *Pharmacotherapy*, 2015, 35(10):963–966.
- [6] Zheng Z, Bu Z, Liu X, et al. Level of circulating PD-L1 expression in patients with advanced gastric cancer and its clinical implications [J]. *Chin J Cancer Res*, 2014, 26(1): 104–111.
- [7] Patel SP, Kurzrock R. PD-L1 expression as a predictive biomarker in cancer immunotherapy[J]. *Molecular Cancer Therapeutics*, 2015, 14(4):847–856.
- [8] D'Incecco A, Andreozzi M, Ludovini V, et al. PD-L1 and PD-1 expression in molecularly selected non-small-cell lung cancer(NSCLC) patients[J]. *Br J Cancer*, 2015, 11(2): 95–102.
- [9] Garon EB, Rizvi NA, Leigh N, et al. Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(21):2018–2028.
- [10] Akbay EA, Koyama S, Carretero J, et al. Activation of the PD-1 pathway contributes to immune escape in EGFR-driven lung tumors[J]. *Cancer Discovery*, 2013, 3(12):1355–1363.
- [11] Lawrence MS, Stojanov P, Polak P, et al. Mutational heterogeneity in cancer and the search for new cancer-associated genes[J]. *Nature*, 2013, 499(7457):214–218.
- [12] Goodman AM, Kato S, Bazhenova L, et al. Tumor mutation burden as an independent predictor of response to immunotherapy in diverse cancers[J]. *Mol Cancer Ther*, 2017, 16(11):2598–2608.
- [13] Yarchoan M, Hopkins A, Jaffee EM. Tumor mutational burden and response rate to PD-1 inhibition[J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(25):2500–2501.
- [14] Singal G, Miller PG, Agarwala V, et al. Association of patient characteristics and tumor genomics with clinical outcomes among patients with non-small cell lung cancer using a clinicogenomic database[J]. *JAMA*, 2019, 321(14): 1391–1399.
- [15] Peters S, Kerr KM, Stahel R. PD-1 blockade in advanced NSCLC: a focus on pembrolizumab [J]. *Cancer Treatment Reviews*, 2017, 62:39–49.
- [16] Goodman AM, Kato S, Bazhenova L, et al. Tumor mutational burden as an independent predictor of response to immunotherapy in diverse cancers[J]. *Mol Cancer Ther*, 2017, 16(11):2598–2608.
- [17] Hellmann MD, Ciuleanu TE, Pluzanski A, et al. Nivolumab plus ipilimumab in lung cancer with a high tumor mutational burden[J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(22):2093–2104.
- [18] Norum J, Nieder C. Tobacco smoking and cessation and PD-L1 inhibitors in non-small cell lung cancer(NSCLC): a review of the literature[J]. *ESMO Open*, 2018, 3(6):e000406.
- [19] Le DT, Uram JN, Wang H, et al. PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(26):2509–2520.
- [20] Geiersbach KB, Samowitz WS. Microsatellite instability and colorectal cancer [J]. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 2011, 135(10):1269–1277.
- [21] Le DT, Uram JN, Wang H, et al. PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(26):2509–2520.
- [22] Zeng DQ, Yu YF, Ou QY, et al. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes for clinical therapeutic research in patients with non-small cell lung cancer [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(12):13765–13781.
- [23] Garon EB, Rizvi NA, Hui R, et al. Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(21):2018–2028.
- [24] Gettinger SN, Choi J, Mani N, et al. A dormant TIL phenotype defines non-small cell lung carcinomas sensitive to immune checkpoint blockers [J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1):3196.
- [25] Wang HM, Zhang XH, Feng MM, et al. Interleukin-35 suppresses the antitumor activity of T cells in patients with non-small cell lung cancer[J]. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2018, 47(6):2407–2419.
- [26] Song Z, Cheng G, Xu C, et al. Clinicopathological characteristics of POLE mutation in patients with non-small-cell lung cancer[J]. *Lung Cancer*, 2018, 118:57–61.