

肿瘤免疫治疗相关不良事件严重程度与外周血 CD8⁺ T 细胞水平的相关性[△]

化怡纯*,李羽斌,安娟,周莉莉,郑希希,施卉,李晓燕#(首都医科大学附属北京天坛医院肿瘤科,北京100070)

中图分类号 R979.1 文献标志码 A 文章编号 1672-2124(2023)09-1135-05

DOI 10.14009/j.issn.1672-2124.2023.09.022



摘要 目的:探索外周血T淋巴细胞亚群中CD4⁺、CD8⁺水平的动态变化与免疫治疗相关不良事件(irAEs)的发生及严重程度的相关性。方法:采用回顾性研究的方法,纳入2020年1月至2023年4月该院肿瘤内科178例接受免疫检查点抑制剂(ICI)治疗的实体瘤患者。其中发生irAEs的患者32例,对比分析其ICI治疗前及发生irAEs时的CD4⁺、CD8⁺T细胞水平的动态变化与irAEs的发生及严重程度的关系。结果:ICI治疗前与发生irAEs时,患者CD4⁺、CD8⁺T细胞水平的差异均无统计学意义($P>0.05$)。ICI治疗前,发生1—2级irAEs患者与发生3—4级irAEs患者的CD4⁺T细胞水平比较,差异无统计学意义($P=0.4744$)。ICI治疗前,发生1—2级irAEs患者与发生3—4级irAEs患者的CD8⁺T细胞水平比较,差异有统计学意义($P=0.0422$),发生3—4级irAEs患者的CD8⁺T细胞水平更高;CD8⁺T细胞水平>35%的患者与CD8⁺T细胞水平≤35%的患者发生irAEs级别组成的差异有统计学意义($P=0.010$),CD8⁺T细胞水平>35%的患者中发生3—4级irAEs的比例更高。结论:实体瘤患者使用ICI治疗前外周血中CD8⁺T细胞水平与irAEs的严重程度具有相关性,当CD8⁺T细胞水平>35%时,提示未来发生3—4级irAEs的可能性增加。

关键词 CD4⁺; CD8⁺; 实体瘤; 免疫检查点抑制剂; 免疫治疗相关不良事件

Correlation Between Severity of Tumor Immunotherapy-Related Adverse Events and Peripheral Blood CD8⁺ T Cell Levels[△]

HUA Yichun, LI Yubin, AN Juan, ZHOU Lili, ZHENG Xixi, SHI Hui, LI Xiaoyan (Dept. of Oncology, Beijing Tiantan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100070, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To probe into the correlation between the incidence and severity of immune-related adverse events (irAEs) and the dynamic changes of CD4⁺ and CD8⁺ in peripheral blood T lymphocyte subpopulation. **METHODS:** Totally 178 patients with solid tumors treated with immune checkpoint inhibitors (ICI) from Jan. 2020 to Apr. 2023 in the department of medical oncology of the hospital were selected for a retrospective study. Among them, 32 patients who developed irAEs were compared and analyzed for the correlation between dynamic changes of CD4⁺ and CD8⁺ T cell levels and incidence and severity of irAEs before ICI treatment and at the occurrence of irAEs. **RESULTS:** Differences in CD4⁺ and CD8⁺ T cell levels between patients before ICI treatment and at the occurrence of irAEs were not statistically significant ($P>0.05$). Before ICI treatment, the difference of CD4⁺ T cell levels between patients with grade 1-2 irAEs and patients with grade 3-4 irAEs was not statistically significant ($P=0.4744$). Before ICI treatment, the difference of CD8⁺ T cell levels of patients with grade 1-2 irAEs and patients with grade 3-4 irAEs was statistically significant ($P=0.0422$), and the CD8⁺ T cell level of patients with grade 3-4 irAEs was higher; the difference in grade composition of irAEs between patients with CD8⁺ T cell levels >35% and patients with CD8⁺ T cell levels ≤35% was statistically significant ($P=0.010$), with a higher proportion of grade 3-4 irAEs in patients with CD8⁺ T cell levels >35%. **CONCLUSIONS:** The level of CD8⁺ T cell in peripheral blood of patients with solid tumors was correlated with the severity of irAEs before ICI treatment, and when the level of CD8⁺ T cell was >35%, suggesting an increased possibility of grade 3-4 irAEs in the future.

KEYWORDS CD4⁺; CD8⁺; Solid tumors; Immune checkpoint inhibitors; Immune-related adverse events

△ 基金项目:国家自然科学基金项目(No. 81974361)

* 住院医师,硕士。研究方向:肺癌。E-mail: yichun_hua@126.com

通信作者:主任医师。研究方向:肺癌。E-mail: lixiaoyan@bjth.org

针对程序性死亡受体 1 (programmed death-1, PD-1) 途径的免疫检查点抑制剂 (immune checkpoint inhibitor, ICI), 在不同的恶性肿瘤中带来了显著的临床获益^[1]。ICI 通过阻断 PD-1、与伴侣蛋白结合, 导致肿瘤中的免疫微环境的激活, 然而该过程可能导致过度活跃的免疫反应, 从而引发免疫相关不良事件 (immune-related adverse events, irAEs)^[2]。任何器官都可能受到影响, irAEs 最常发生在皮肤、内分泌器官、肝脏、肾脏和肺, 有些不良反应并不常见, 如心肌炎和神经毒性^[3]; 而发生在有些部位的 irAEs 是严重的和致命的, 如脑炎和心肌炎^[4]。irAEs 常与其他疾病相混淆, 如感染、肿瘤进展以及其他药品不良反应等, 从而使诊断出现困难^[5]。因此, 若存在标志物在发生 irAEs 时表现出异常, 那么也许可以成为辅助诊断 irAEs 的一项依据。同时, irAEs 的严重程度与转归密切相关, 高级别的 irAEs 本身以及治疗所使用的糖皮质激素及免疫抑制剂等会带来一系列的严重后果^[6-7]。因此, 评估 irAEs 的易感人群十分关键。美国临床肿瘤学会关于 ICI 相关毒性的管理指南中推荐, 在进行 ICI 治疗前, 需要对患者的体力状况、是否患有免疫系统疾病、重要脏器的功能等进行评估^[4]。但即便如此, 在某些人群中依然会发生非预期的 irAEs, 既往有研究结果显示, 血细胞计数^[8]、自身抗体^[9]、趋化因子^[10]和 C 反应蛋白^[11]等可能与 irAEs 的发生、发展存在一定的相关性。综上, 寻找临床中简易可行的 irAEs 相关的标志物十分必要。本研究通过回顾性分析接受 ICI 治疗的实体瘤患者的 CD4⁺ T 淋巴细胞、CD8⁺ T 淋巴细胞 (以下简称 CD4⁺、CD8⁺) 水平, 比较 ICI 治疗前及发生 irAEs 时 CD4⁺、CD8⁺ 水平的变化, 分析动态监测 CD4⁺、CD8⁺ 水平与 irAEs 的发生及严重程度的相关性, 现报告如下。

1 资料与方法

1.1 资料来源

选取 2020 年 1 月至 2023 年 4 月我院肿瘤内科 178 例接受 ICI 治疗的实体瘤患者作为研究对象。入选标准: 接受免疫检查点抑制剂单药治疗或联合化疗、靶向治疗; 有免疫治疗前和 (或) 发生 irAEs 时的 CD4⁺、CD8⁺ 水平监测数据。排除标准: 存在自身免疫性疾病者; 合并严重感染者。其中 irAEs 组共 32 例患者, 非 irAEs 组共 146 例患者, 记录患者的年龄、性别等基本个人信息, 收集患者的临床病理学资料、程序性死亡受体配体 1 (PD-L1) 表达、肿瘤突变负荷 (TMB) 和治疗方案等, 见表 1。免疫检查点抑制剂包括 PD-1 单抗, 如帕博利珠单抗、纳武利尤单抗、派安普利单抗、信迪利单抗、替雷利珠单抗、卡瑞利珠单抗和斯鲁利单抗等; 或 PD-L1 单抗, 如阿替利珠单抗、度伐利尤单抗等。所有患者均签署知情同意书, 本研究经我院伦理审查委员会审查批准 (伦理审查编号: KY2022-112-02)。

1.2 方法

根据美国国家癌症研究所不良事件通用术语标准 (CTCAE) 5.0 版本和 2023 年美国国家综合癌症网络免疫治疗相关毒性管理第 2 版, 所有患者均接受 ICI 治疗, 在 ICI 治疗前和 (或) 发生 irAEs 时接受外周血 T 淋巴细胞亚群检测, 记录 CD4⁺、CD8⁺ 水平。若发生 irAEs, 记录其发生时间、部位、级别、处理方法及转归等。

表 1 患者的一般临床资料

Tab 1 General clinical data of patients

项目	irAEs 组 (n=32)	No-irAEs 组 (n=146)
中位年龄 (范围) / 岁	67 (53-87)	64 (30-83)
性别/例 (%)		
男性	27 (84.38)	103 (70.55)
女性	5 (15.62)	43 (29.45)
肿瘤类型/例 (%)		
肺癌	24 (75.00)	94 (64.38)
食管癌	2 (6.25)	11 (7.53)
胃癌	0 (0)	7 (4.79)
乙状结肠癌	2 (6.25)	5 (3.42)
肝癌、胆道癌	1 (3.12)	6 (4.11)
胰腺癌	0 (0)	1 (0.68)
泌尿系统肿瘤	2 (6.25)	7 (4.79)
乳腺癌	0 (0)	3 (2.05)
妇科肿瘤	0 (0)	4 (2.74)
黑色素瘤	0 (0)	2 (1.37)
滑膜肉瘤	0 (0)	1 (0.68)
头颈部癌	0 (0)	5 (3.42)
胸膜间皮瘤	1 (3.12)	0 (0)
PDL-1 表达/例 (%)		
<1%	4 (12.50)	23 (15.75)
1%~50%	2 (6.25)	16 (10.96)
>50%	9 (28.12)	20 (13.70)
未知	17 (53.12)	87 (59.59)
TMB/(Muts/Mb)		
中位数 (范围)	10.62 (3.76-18.31)	6.72 (1.88-52.58)
未知/例 (%)	21 (65.62)	125 (85.62)
治疗方式/例 (%)		
ICI 单药治疗	5 (15.62)	13 (8.90)
ICI 联合化疗	22 (68.75)	117 (80.14)
ICI 联合靶向治疗	5 (15.62)	16 (10.96)

1.3 统计学方法

采用非参数 Mann-Whitney 检验计算 CD4⁺、CD8⁺ 水平之间的统计学差异, 使用 ROC 曲线计算 cut-off 值, 分类变量比较采用 χ^2 检验。双侧 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。所有计算均采用 R 软件 4.3.0 版本。

2 结果

2.1 irAEs 的类型、分级及转归

32 例患者发生 irAEs, irAEs 的类型和分级分布情况见表 2。经治疗后, 好转 28 例, 稳定 1 例, 恶化 3 例。

表 2 irAEs 的类型和分级分布情况 (例)

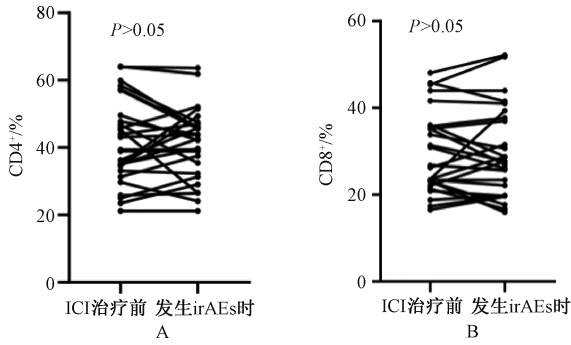
Tab 2 Distribution of types and grades of irAEs (cases)

不良事件	1 级	2 级	3 级	4 级	合计
间质性肺炎	1	5	1	1	8
急性肾损伤	5	0	1	0	6
肝毒性	0	3	2	0	5
皮疹	0	2	2	0	4
毛细血管增生症	4	0	0	0	4
甲状腺功能异常	0	3	0	0	3
炎性肌病	0	1	0	0	1
脊髓炎	0	1	0	0	1
合计	10	15	6	1	32

2.2 ICI 治疗前及发生 irAEs 时患者的 CD4⁺、CD8⁺ 水平变化情况

发生 irAEs 的 32 例患者中, 共有 27 例监测到了发生 irAEs 时 CD4⁺、CD8⁺ 水平。在上述 27 例患者中, ICI 治疗前 CD4⁺ 水平的中位数为 39.16% (范围: 21.14%~63.95%), 发生 irAEs 时 CD4⁺ 水平的中位数为 42.36% (范围: 21.14%~63.63%), 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 1(A); ICI 治疗前 CD8⁺ 水平的中位数为 26.80% (范围: 17.34%~48.07%),

发生 irAEs 时 CD8⁺水平的中位数为 27.73% (范围:15.95%~52.10%),差异无统计学意义 ($P>0.05$),见图 1(B)。提示发生 irAEs 时的 CD4⁺、CD8⁺水平与 ICI 治疗前相比并无明显变化,动态监测 CD4⁺、CD8⁺水平与 irAEs 的发生无相关性。



A. CD4⁺水平; B. CD8⁺水平。
A. CD4⁺ levels; B. CD8⁺ levels.

图 1 ICI 治疗前与发生 irAEs 时患者的 CD4⁺、CD8⁺水平变化情况

Fig 1 Changes of CD4⁺ and CD8⁺ levels before ICI treatment and at the occurrence of irAEs

2.3 irAEs 等级与 ICI 治疗前 CD4⁺水平的关系

32 例发生 irAEs 的患者中,25 例为 1—2 级 irAEs 患者,其 ICI 治疗前 CD4⁺水平的中位数为 43.27% (范围:21.14%~63.95%);7 例为 3—4 级 irAEs 患者,其 ICI 治疗前 CD4⁺水平的中位数为 38.96% (范围:25.82%~47.68%),差异无统计学意义 ($P=0.4744$),提示治疗前 CD4⁺水平与 irAEs 发生的严重程度无相关性,见图 2。

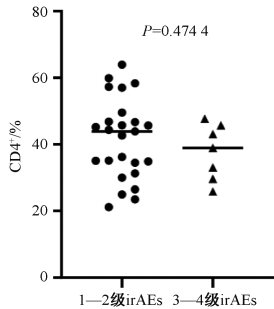


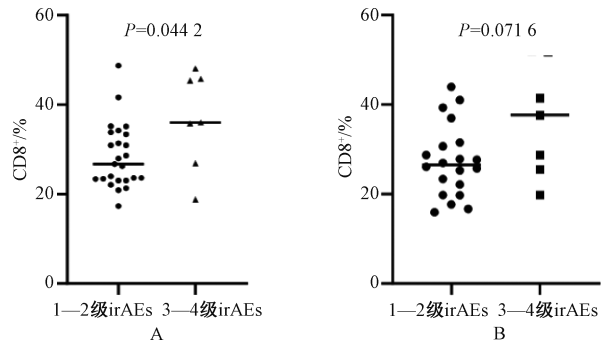
图 2 发生 1—2 级 irAEs 与发生 3—4 级 irAEs 的患者 ICI 治疗前 CD4⁺水平分布

Fig 2 Distribution of CD4⁺ levels in patients with grade 1-2 irAEs and patients with grade 3-4 irAEs before ICI treatment

2.4 irAEs 等级与 CD8⁺水平的关系

25 例 1—2 级 irAEs 患者 ICI 治疗前 CD8⁺水平的中位数为 27.36% (范围:17.34%~48.74%);7 例 3—4 级 irAEs 患者 ICI 治疗前 CD8⁺水平的中位数为 36.04% (范围:18.76%~48.07%),高于 1—2 级 irAEs 患者,差异有统计学意义 ($P=0.0422$),提示 ICI 治疗前 CD8⁺水平与 irAEs 发生的严重程度具有正相关性,见图 3(A)。共有 27 例患者监测到了发生 irAEs 时的 CD8⁺水平,此时 1—2 级 irAEs 患者 CD8⁺水平的中位数为 26.98% (范围:15.95%~43.97%),3—4 级 irAEs 患者 CD8⁺水平的中位数为 37.67% (范围:19.80%~52.10%),差异无统计学意义 ($P=0.0716$),提示发生 irAEs 时的 CD8⁺水平

无法反映 irAEs 的严重程度,但 3—4 级 irAEs 患者较 1—2 级 irAEs 患者发生 irAEs 时的 CD8⁺水平有一定的升高趋势,见图 3(B)。



A. ICI 治疗前; B. 发生 irAEs 时。

A. before ICI treatment; B. at the occurrence of irAEs.

图 3 发生 1—2 级 irAEs 与发生 3—4 级 irAEs 的患者 ICI 治疗前及发生 irAEs 时的 CD8⁺水平分布

Fig 3 Distribution of CD4⁺ levels in patients with grade 1-2 irAEs and patients with grade 3-4 irAEs before ICI treatment and at the occurrence of irAEs

2.5 不同 irAEs 等级患者 ICI 治疗前 CD8⁺水平的 cut-off 值

1—2 级与 3—4 级 irAEs 患者 ICI 治疗前 CD8⁺水平的 cut-off 值为 35.475%,曲线下面积 (AUC) 为 0.7714 (95% CI = 0.4963~1.0000),见图 4。按照 ICI 治疗前 CD8⁺水平 = 35% 为界,将 32 例发生 irAEs 的患者分为两组,其中 CD8⁺ ≤ 35% 组患者 23 例,发生 1—2 级 irAEs 的患者有 21 例 (占 91.30%),发生 3—4 级 irAEs 的患者有 2 例 (占 8.70%); CD8⁺ > 35% 组患者 9 例,发生 1—2 级 irAEs 的患者有 4 例 (占 44.44%),发生 3—4 级 irAEs 的患者有 5 例 (占 55.56%)。χ² 检验结果显示,两组发生 1—2 级及 3—4 级 irAEs 患者的比例不同,差异有统计学意义 ($P=0.010$),CD8⁺ > 35% 组发生 3—4 级 irAEs 患者所占比例更高。

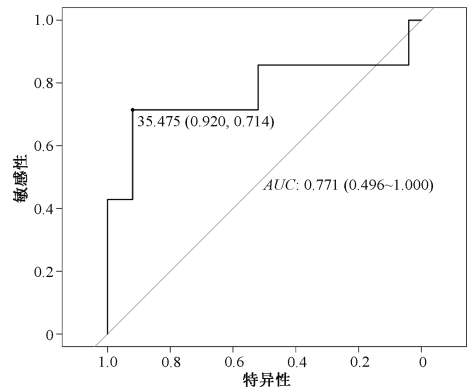


图 4 发生 1—2 级 irAEs 与发生 3—4 级 irAEs 的患者 ICI 治疗前 CD8⁺水平 cut-off 值 ROC 曲线图

Fig 4 ROC curve of cut-off value of CD8⁺ Levels in patients with grade 1-2 irAEs and patients with grade 3-4 irAEs before ICI treatment

3 讨论

既往研究结果显示,irAEs 的发生与淋巴细胞数量有一定

的相关性,尤其是2级及以上的irAEs^[12];而且,严重irAEs患者与轻度irAEs患者之间的外周T细胞水平存在差异^[13]。但T淋巴细胞亚群的相关性仍需要进一步探索。提高肿瘤微环境中CD8⁺T淋巴细胞水平有助于提高抗肿瘤免疫治疗的疗效^[14]。关于CD8⁺T淋巴细胞,既往已有多项小样本研究结果证实其与irAEs的发生、发展存在关系。Damo等^[15]对2例皮肤衣样irAEs患者皮肤活检的转录组学分析结果显示,在病变和非病变皮肤中都存在克隆扩张的效应CD8⁺T淋巴细胞。Lechner等^[16]获得了免疫相关性甲状腺炎的甲状腺标本,发现在白细胞介素21存在的情况下,CD8⁺T淋巴细胞通过细胞毒性分子 γ 干扰素和颗粒酶B的上调,增加了CXC趋化因子受体6的表达和甲状腺毒性能力。Zhu等^[17]发现,CD8⁺T淋巴细胞在免疫相关性心肌炎患者的血液中显著增加,而这些细胞在糖皮质激素治疗2个月后几乎消失。上述研究结果均提示,CD8⁺T淋巴细胞与irAEs之间可能存在密切的联系。Zhang等^[18]的研究指出,发生irAEs时,患者铁蛋白水平的中位数明显高于治疗前,提示铁蛋白可作为使用ICI治疗的患者发生irAEs的诊断标志,过量的铁蛋白会影响T淋巴细胞亚群的分布,会降低CD4⁺T淋巴细胞的数量和活性,并增加CD8⁺T淋巴细胞的数量和活性。

本研究中发现,ICI治疗前的CD8⁺水平与3—4级irAEs有相关性,与上述既往研究得出的结论似乎有一定程度的吻合,发生3—4级irAEs的患者ICI治疗前的CD8⁺水平明显高于发生1—2级irAEs的患者。通过AUC曲线确认35%为cut-off值,可能是由于样本量小的关系导致较宽泛的置信区间,未来需要更大样本量的计算增加可信性。随后使用 χ^2 检验进一步验证,发现CD8⁺>35%组中发生3—4级irAEs的患者所占比例增加,说明在使用ICI前,应检测CD8⁺水平,若>35%,提示未来发生3—4级irAEs的可能性升高。而发生irAEs时,发生3—4级irAEs患者与发生1—2级irAEs患者之间CD8⁺水平的差异无统计学意义($P=0.0716$),但3—4级irAEs患者较1—2级irAEs患者发生irAEs时的CD8⁺水平有一定的升高趋势。本研究的发现提示,未来CD8⁺T淋巴细胞或可作为irAEs药物治疗的切入点,以减少ICI治疗的患者出现高级别的严重irAEs。Zhang等^[19]通过分析美国食品药品监督管理局不良事件报告系统和癌症基因组图谱多组学数据,发现通过树突状细胞、TMB结合CD4⁺T淋巴细胞丰度可以提高irAEs预测的准确性。根据本研究的结果,发生irAEs时患者CD4⁺、CD8⁺水平与ICI治疗前的差异无统计学意义($P>0.05$),因此,动态监测CD4⁺、CD8⁺水平并不能起到提示irAEs发生、发展趋势的作用,提示可能需要与其他可能影响irAEs的因素进行联合分析。

此外,Zhang等^[18]的研究评估了irAEs患者的治疗效果,治疗有效患者的铁蛋白水平持续降至正常范围,疾病稳定的患者无明显变化,死亡患者的铁蛋白水平持续升高,提示铁蛋白可作为irAEs的预后标志。本研究拟根据irAEs治疗后的转归,分为结局好转、稳定和恶化三组进行探索性分析,比较各组患者CD4⁺、CD8⁺水平在治疗前和发生irAEs时的区别。但由于本研究为回顾性研究,统计发现恶化组仅3例患者,样本量过低,无法进行有效的统计学分析,同时大部分患者缺失发生irAEs后CD4⁺、CD8⁺连续多次动态监测数据,因

此无法判断CD4⁺、CD8⁺水平是否会提示ICI治疗患者irAEs的预后,需要大样本量、前瞻性随机对照、多中心的深入研究进一步探索。

综上所述,实体瘤患者使用ICI治疗前外周血中CD8⁺水平与irAEs的严重程度具有相关性,当CD8⁺>35%时,提示未来发生3—4级irAEs的可能性增加。发生3—4级irAEs的患者治疗前CD8⁺水平升高的机制有待进一步研究。

[致谢]本研究由国家自然科学基金项目(No. 81974361)资助,感谢我院所有参与此项研究的肿瘤科成员]

(利益冲突声明:作者声明不存在利益冲突)

参考文献

- [1] WANG J C, XU Y, HUANG Z M, et al. T cell exhaustion in cancer: mechanisms and clinical implications[J]. J Cell Biochem, 2018, 119(6): 4279-4286.
- [2] BRAHMER J R, ABU-SBEIH H, ASCIERTO P A, et al. Society for Immunotherapy of Cancer (SITC) clinical practice guideline on immune checkpoint inhibitor-related adverse events[J]. J Immunother Cancer, 2021, 9(6): e002435.
- [3] BARRON C C, STEFANOVA I, CHA Y, et al. Chronic immune-related adverse events in patients with cancer receiving immune checkpoint inhibitors: a systematic review [J]. J Immunother Cancer, 2023, 11(8): e006500.
- [4] BRAHMER J R, LACCHETTI C, SCHNEIDER B J, et al. Management of immune-related adverse events in patients treated with immune checkpoint inhibitor therapy: American Society of Clinical Oncology Clinical practice guideline[J]. J Clin Oncol, 2018, 36(17): 1714-1768.
- [5] KALISZ K R, RAMAIYA N H, LAUKAMP K R, et al. Immune checkpoint inhibitor therapy-related pneumonitis: patterns and management[J]. Radiographics, 2019, 39(7): 1923-1937.
- [6] JOHNSON D B, NEBHAN C A, MOSLEHI J J, et al. Immune-checkpoint inhibitors: long-term implications of toxicity[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2022, 19(4): 254-267.
- [7] LUO J, BEATTIE J A, FUENTES P, et al. Beyond steroids: immunosuppressants in steroid-refractory or resistant immune-related adverse events[J]. J Thorac Oncol, 2021, 16(10): 1759-1764.
- [8] EGAMI S, KAWAZOE H, HASHIMOTO H, et al. Peripheral blood biomarkers predict immune-related adverse events in non-small cell lung cancer patients treated with pembrolizumab: a multicenter retrospective study[J]. J Cancer, 2021, 12(7): 2105-2112.
- [9] LES I, MARTÍNEZ M, NARRO A, et al. Association of immune-related adverse events induced by nivolumab with a battery of autoantibodies[J]. Ann Med, 2021, 53(1): 762-769.
- [10] BAMIAS G, DELLADETSIMA I, PERDIKI M, et al. Immunological characteristics of colitis associated with anti-CTLA-4 antibody therapy[J]. Cancer Invest, 2017, 35(7): 443-455.
- [11] ABOLHASSANI A R, SCHULER G, KIRCHBERGER M C, et al. C-reactive protein as an early marker of immune-related adverse events[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2019, 145(10): 2625-2631.
- [12] DIEHL A, YARCHOAN M, HOPKINS A, et al. Relationships between lymphocyte counts and treatment-related toxicities and clinical responses in patients with solid tumors treated with PD-1 checkpoint inhibitors[J]. Oncotarget, 2017, 8(69): 114268-114280.

(下转第1142页)