

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.12.008

· 临床研究 ·

外周血 PD-1 及相关免疫指标在鼻咽癌患者放化疗过程中的变化及其意义

黄超雄^a, 许婷^a, 黄传钟^b, 郑秋红^c, 陈传本^a(福建医科大学附属肿瘤医院暨福建省肿瘤医院 a. 放疗科; b. 肿瘤免疫学研究室; c. 福建省肿瘤生物治疗重点实验室, 福建 福州 350014)

[摘要] **目的:** 检测鼻咽癌患者接受放化疗过程中 T 细胞表面 PD-1 表达、T 细胞亚群等免疫指标的水平, 探讨不同治疗时间段内患者的免疫功能。 **方法:** 收集 2015 年 4 月至 2015 年 9 月在福建省肿瘤医院经病理确诊的 30 例鼻咽癌患者的血液标本, 通过流式细胞术动态监测患者在不同治疗时段(治疗前、新辅助化疗后、放疗结束)的免疫指标水平, 包括 T 细胞上 PD-1 及 T 细胞亚群、NK 细胞、B 细胞等。 **结果:** 与治疗前相比, 新辅助化疗后外周血 CD3⁺ 细胞、CD4⁺ T 细胞、CD8⁺ CD28⁺ T 细胞及 CD4⁺/CD8⁺ 比值显著升高, 而 CD19⁺ (即 B 细胞) 及 CD3⁺ CD16⁺ CD56⁺ (即 NK 细胞) 细胞水平显著下降(均 $P < 0.05$)。放化疗结束后, 外周血 CD4⁺ 细胞、CD8⁺ CD28⁺ T 细胞、CD4⁺/CD8⁺ 比值下调至较治疗前更低的水平(均 $P < 0.05$), 而 NK 细胞的比例则表现为上调($P < 0.05$)。与治疗前相比, 放疗后 T 细胞 PD-1 的表达水平显著升高($P < 0.05$)。 **结论:** 鼻咽癌患者外周血 T 细胞亚群比例在新辅助化疗后上调, 而放疗结束时明显下降, 提示放疗结束时患者的免疫功能受到显著抑制; T 细胞 PD-1 的表达水平在放疗结束时显著上调, 意味着放化疗结束时可能正是使用 PD-1 抑制剂的良机, 抗 PD-1 维持治疗有望产生更高效持久的抗肿瘤效应。

[关键词] 鼻咽癌; PD-1; 放疗; 化疗; T 细胞亚群; B 细胞; NK 细胞

[中图分类号] R739.6; R730.54 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2021)12-1201-06

Changes and significance of peripheral blood PD-1 level and related immune indicators during radiochemotherapy in patients with nasopharyngeal carcinoma

HUANG Chaoxiong^a, XU Ting^a, HUANG Chuanzhong^b, ZHENG QiuHong^c, CHEN Chuanben^b (a. Department of Radiation Oncology; b. Laboratory of Immuno-Oncology; c. Fujian Provincial Key Laboratory of Tumor Biotherapy, Fujian Medical University Cancer Hospital & Fujian Cancer Hospital, Fuzhou 350014, Fujian, China)

[Abstract] **Objective:** To detect the expression of programmed death molecule 1 (PD-1) on T cell surface, the levels of T cell subsets and other immune indices in patients with nasopharyngeal carcinoma (NPC) during chemoradiotherapy, and to discuss the immune function of patients in different treatment periods. **Methods:** Blood samples of 30 patients who were pathologically confirmed of nasopharyngeal carcinoma in Fujian Cancer Hospital from April 2015 to September 2015 were collected for this study. Flow cytometry was used to dynamically detect the immune indicators of NPC patients in different treatment periods (pre-treatment, post-chemotherapy and post-radiotherapy), including PD-1 on T cell surface, T cell subsets, NK cells and B cells etc. **Results:** Compared with pre-treatment, the proportion of CD3⁺ T cells, CD4⁺ T cells, CD8⁺ CD28⁺ T cells and CD4⁺/CD8⁺ ratio in peripheral blood of patients increased significantly, while the proportion of B cells (CD19⁺) and NK cells (CD3⁺ CD16⁺ CD56⁺ cells) decreased significantly after neoadjuvant chemotherapy (all $P < 0.05$). After chemoradiotherapy, the proportion of CD4⁺ T cells, CD8⁺ CD28⁺ T cells and CD4⁺/CD8⁺ ratio in peripheral blood of patients decreased to a lower level compared to pre-treatment (all $P < 0.05$), while the proportion of NK cells was up-regulated ($P < 0.05$). Compared with pre-treatment, the expression level of PD-1 on T cells increased significantly after radiotherapy ($P < 0.05$). **Conclusion:** The study found that the proportion of T cell subsets in peripheral blood increased after neoadjuvant chemotherapy but decreased significantly at the end of radiotherapy, indicating that the immune function of NPC patients was significantly suppressed at the end of radiotherapy. The expression level of PD-1 on T cells was significantly up-regulated after radiotherapy, indicating that the end of chemoradiotherapy maybe an optimal timepoint for anti-PD-1 immunotherapy, which may exert more efficient and long-lasting anti-tumor effect for NPC.

[基金项目] 福建省自然科学基金资助(No. 2015J01380); 福建医科大学启航基金项目资助(No. 2019QH1193)。Project supported by the the Natural Science Foundation of Fujian Province (No. 2015J01380), and the Qihang Foundation of Fujian Medical University (No. 2019QH1193)

[作者简介] 黄超雄(1990—), 男, 硕士, 住院医师, 主要研究方向为肿瘤放射治疗, E-mail: hcx2017@yeah.net

[通信作者] 陈传本(CHEN Chuanben, corresponding author), 学士, 主任医师, 教授, 博士生导师, 主要从事肿瘤放射治疗基础与临床研究, E-mail: ccbben@126.com

[Key words] nasopharyngeal carcinoma; PD-1; radiotherapy; chemotherapy; T cell subsets; B cells; NK cells

[Chin J Cancer Biother, 2021, 27(12): 1201-1206. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.12.008]

鼻咽癌是起源于鼻咽被覆上皮的恶性肿瘤,因其解剖结构复杂及对射线的敏感性,使放疗成为鼻咽癌最主要的治疗手段。随着联合铂类为基础的化疗以及调强放疗技术的广泛应用,目前复发转移成为鼻咽癌治疗失败最主要的原因。体内隐匿的残留病灶和转移灶以及脱落的循环肿瘤细胞是肿瘤复发转移的关键因素之一^[1]。T细胞介导的免疫应答在肿瘤免疫逃逸中发挥关键角色^[2-3]。作为一对共抑制分子,PD-1与PD-L1结合之后介导的信号可负调控T细胞的活化和增殖,削弱抗肿瘤免疫反应^[4]。相关研究^[5-7]证实,在肺癌、胃癌、宫颈癌等多种恶性肿瘤的外周血T细胞表面PD-1发生过表达,提示PD-1的过表达可能与肿瘤的发生发展密切相关。PD-1抑制剂也被证实对黑色素瘤、肺癌、肾癌、头颈鳞癌等多种肿瘤有效^[8-10]。鼻咽癌治疗疗效的提高得益于放化疗的联合应用,放化疗也影响机体免疫状态。关于放化疗对鼻咽癌患者免疫功能的影响,尤其是外周血T细胞PD-1表达的影响尚未明确。本研究动态监测鼻咽癌患者在3个不同治疗时段(治疗前、新辅助化疗后、放疗结束)外周血免疫指标的水平,包括外周血T细胞上PD-1表达水平及免疫指标(T细胞亚群、NK细胞、B细胞)的变化,旨在探讨鼻咽癌患者不同治疗时间段的免疫状态,为开展鼻咽癌的免疫治疗进一步提高综合治疗效果奠定基础。

1 材料与方法

1.1 主要研究对象

收集2015年4月到2015年9月在福建省肿瘤医院经病理确诊的30例鼻咽癌患者3个时间段的血液标本,其中男性21例、女性9例,平均年龄 48.0 ± 9.2 (26~67)岁。肿瘤分期:I期0例、II期1例、III期9例、IV期20例。临床分期标准:鼻咽癌AJCC第7版分期。鼻咽癌组入组标准:年龄大于18岁、小于70岁;卡氏评分大于80分;经病理确诊为鼻咽非角化性未分化型癌;未经任何治疗的首诊患者;无肿瘤病史,无自身免疫性疾病。入组前一个月内未服用任何抗肿瘤药物。本研究经福建省肿瘤医院伦理委员会批准,所有研究对象均知情同意并签署书面知情同意书。

1.2 治疗方式

所有鼻咽癌患者均行2~3周期新辅助化疗后行同步放化疗。新辅助化疗方案为“紫杉醇d1(135 mg/m²)+顺铂d1~3(80 mg/m²)/奈达铂d2(80 mg/m²),q3w”或“吉西他滨d1,d8(1 g/m²)+顺铂

d1~3(80 mg/m²)/奈达铂d2(80 mg/m²),q3w”。放疗采用调强放疗技术。鼻咽及颈部转移病灶放疗剂量约70 Gy,放疗期间采用“顺铂d1~3(80 mg/m²)/奈达铂d1(80 mg/m²),q3w”同步化疗2周期。分别于新辅助化疗前、2周期新辅助化疗后、放疗结束时于清晨采空腹血。

1.3 PBMC的分离及流式细胞仪检测外周血淋巴细胞亚群的比例

用EDTA-K2抗凝管采集静脉血标本,并立即置于4℃保存,6 h内送检。采集的血标本在肝素抗凝管中摇匀,加入等体积D-PBS稀释,移至装有3 ml淋巴细胞分离液的离心管中;700×g离心25 min后用毛细吸管吸出第二层环状乳白色淋巴细胞层,加入另一支离心管中;用5倍以上体积的D-PBS液洗涤2次得到PBMC。主要的标记抗体有:CD3-PC5/CD4-PC7/CD8-ECD抗体(购自美国Beckman Coulter公司),6-color TBNK CD3-FITC/CD16-PE+CD56-PE/CD45-PerCP-CyTM 5.5/CD4-PE-CyTM 7/CD19-APC/CD8-APC-Cy7、CD8-FITC/CD28-PE和FITC鼠抗人CD279(PD-1抗体)及上述抗体对应的同型抗体(均购自美国BD公司)。将分离后的PBMC分别加入上述抗体及对应的同型抗体,室温避光孵育30 min后,分别加入1 ml D-PBS液重悬细胞,500×g离心3 min,洗涤2次;弃上清液,加入300 μl的4%多聚甲醛固定液重悬细胞,用流式细胞仪上样进行检测,分析CD3⁺细胞、CD4⁺T细胞、CD8⁺CD28⁺CTL、CD19⁺细胞(B细胞)、CD3⁺CD16⁺CD56⁺细胞(NK细胞)水平以及CD4⁺/CD8⁺比值。

1.4 统计学处理

采用SPSS 19.0统计软件包进行数据分析,Graph Pad Prism 8绘图软件绘图。符合正态分布的计量数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。*K-S*检验(Kolmogorov-Smirnov test)用于各组计量资料的正态性检验,LEVENE检验用于两组方差齐性的检验,符合正态分布的两组配对资料的比较采用配对*t*检验。以*P*<0.05或*P*<0.01表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 新辅助化疗对外周血淋巴细胞亚群比例的影响

与治疗前相比,新辅助化疗后鼻咽癌患者的CD3⁺细胞、CD4⁺T细胞水平及CD4⁺/CD8⁺比值显著升高而NK细胞及B细胞水平显著下降(*P*<0.05或*P*<0.01)。新辅助化疗前后CD8⁺T细胞的水平则相对稳定(表1、图1)。

2.2 新辅助化疗对外周血 T 细胞表面 PD-1 及 CD8⁺CD28⁺表达水平的影响

新辅助化疗之后的 CD8⁺CD28⁺细胞比例较治疗前显著上调[(10.7±3.9)% vs (8.7±3.2)% , t=3.381, P<0.05], T 细胞 PD-1 的表达水平在新辅助化疗前后差异无统计意义[(11.6±5.8)% vs (10.7±5.2)% , t=0.785, P>0.05], 如图2所示。

2.3 放疗后外周血淋巴细胞亚群的比例

与治疗前相比(表2、图1), 放疗后 CD4⁺细胞、CD4⁺/CD8⁺比值的变化趋势从新辅助化疗后的高点下调到比治疗前更低的水平(P<0.01), 而 CD8⁺T 细胞、NK 细胞比例则出现上调(P<0.01)。在放疗结束后 B 细胞的水平继续下调(P<0.01)。

表1 新辅助化疗后淋巴细胞亚群的比例($\bar{x}\pm s, n=30$)

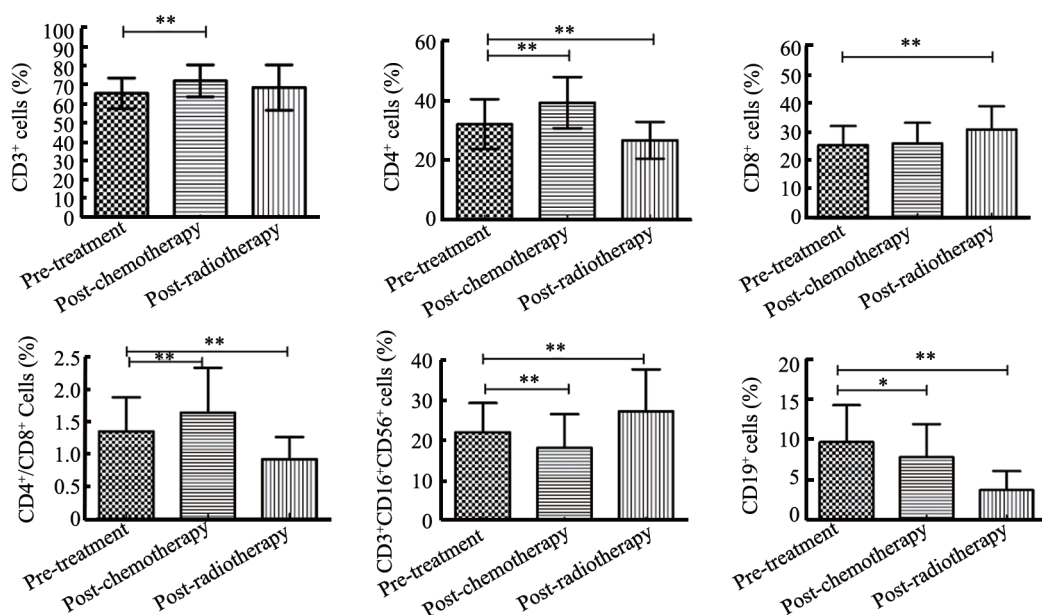
Tab.1 The proportion of lymphocyte subsets after neoadjuvant chemotherapy ($\bar{x}\pm s, n=30$)

	Pre-treatment	Post-chemotherapy	t	P
CD3 ⁺	(65.8±8.0)%	(72.3±8.4)%	4.937	<0.001
CD4 ⁺	(32.1±8.3)%	(39.3±8.6)%	6.060	<0.001
CD8 ⁺	(25.5±6.7)%	(26.2±7.2)%	0.740	0.465
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	(1.4±0.5)%	(1.6±0.7)%	3.604	0.001
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	(22.2±7.2)%	(18.3±8.4)%	3.350	0.002
CD19 ⁺	(9.87±4.6)%	(7.9±4.1)%	2.330	0.027

表2 放疗后淋巴细胞亚群的比例($\bar{x}\pm s, n=30$)

Tab.2 The proportion of lymphocyte subsets in after radiotherapy ($\bar{x}\pm s, n=30$)

	Pre-treatment	Post-radiotherapy	t	P
CD3 ⁺	(65.8±8.0)%	(68.8±11.8)%	1.666	0.107
CD4 ⁺	(32.1±8.3)%	(26.7±6.1)%	3.436	0.002
CD8 ⁺	(25.5±6.7)%	(31.0±8.1)%	3.385	0.002
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	(1.4±0.5)%	(0.9±0.3)%	4.466	<0.001
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	(22.2±7.2)%	(27.4±10.3)%	3.010	0.005
CD19 ⁺	(9.8±4.6)%	(3.7±2.4)%	8.584	<0.001



*P<0.05, **P<0.01

图1 淋巴细胞亚群在3个治疗时间点的变化趋势

Fig.1 Variation trend of lymphocyte subsets in three treatment periods

2.4 放疗后外周血T细胞表面PD-1及CD8⁺CD28⁺的表达水平

与治疗前相比(图2),放疗后鼻咽癌患者外周血T细胞PD-1的表达水平显著上调[(13.4±6.3)% vs

(10.7±5.2)%, $t=2.255$, $P<0.05$], CD8⁺CD28⁺T细胞的比例较治疗前显著下调[(7.1±2.6)% vs (8.7±3.2)%, $t=2.915$, $P<0.05$]。

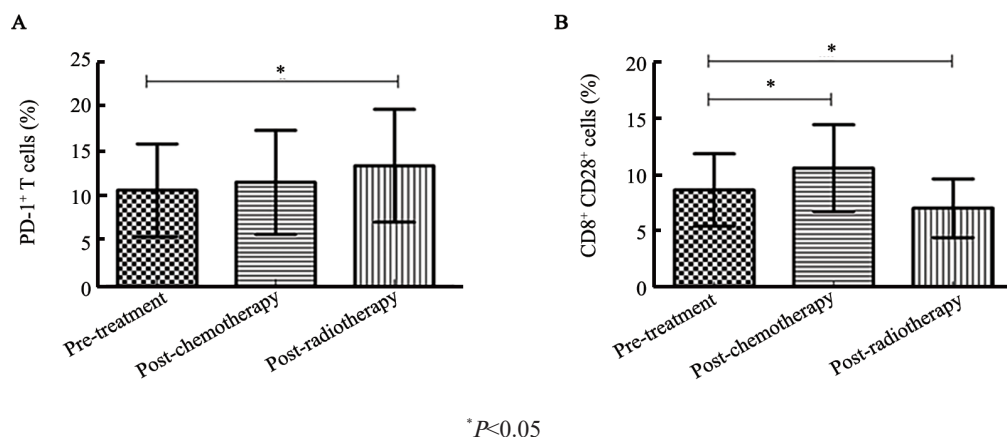


图2 T细胞PD-1(A)及CD8⁺CD28⁺细胞(B)在3个治疗时间段的变化趋势

Fig.2 Variation trend of PD-1 (A) and CD8⁺CD28⁺ cells (B) on T lymphocytes in three treatment periods

3 讨论

鼻咽癌的发生与EB感染有关,并且免疫功能失调在鼻咽癌的发生发展中发挥重要作用^[11]。在抗肿瘤免疫中,T淋巴细胞相关的免疫应答至关重要。CD4⁺T细胞能释放多种细胞因子激活CD8⁺T细胞、NK细胞和巨噬细胞,增强杀伤肿瘤细胞的效力,也可促进B细胞分泌抗体增强体液免疫,杀伤肿瘤^[12]。CD8⁺T淋巴细胞可分为CD8⁺CD28⁺T细胞及CD8⁺CD28⁻T细胞。CD8⁺CD28⁺T细胞具有细胞毒作用,主要通过分泌细胞毒性物质溶解肿瘤细胞或者通过死亡受体途径诱导肿瘤细胞的凋亡发挥细胞免疫功能。而CD8⁺CD28⁻T细胞即调节性T细胞,无细胞毒功能,具有免疫抑制的作用^[12]。T细胞亚群的比例是评估体内抗肿瘤免疫状态的关键指标之一^[13-14]。研究结果^[15-16]显示,多种肿瘤患者存在T细胞亚群比例失调的现象,常表现为CD4⁺T细胞及CD4⁺/CD8⁺的比值下降。有研究^[17]发现,人体免疫系统具有自稳性增生的现象,即在接受化疗等外界因素干预时,体内在出现短暂的淋巴细胞减少之后会诱发T细胞的增殖,从而使T细胞数目可以稳定在一定的水平。有学者^[18-19]认为,患者化疗后机体免疫系统在自稳性增生这一过程中上调了记忆性T细胞的比例,同时也增强了淋巴细胞杀伤效应,提高了抗肿瘤的特异性免疫应答。白海亚等^[20]发现,化疗有效的乳腺癌患者在经过新辅助化疗之后,外周血CD3⁺细胞、CD4⁺T细胞水平和CD4⁺/CD8⁺比值较化疗前显著升高,提示在化疗减少部分肿瘤负荷之后相关免疫抑制因子减少,体

内T细胞免疫功能有恢复的趋势。肺腺癌的相关研究结果^[18]显示,在接受以顺铂为基础联合多西他赛或培美曲塞的化疗之后,外周血CD3⁺细胞、CD4⁺T细胞水平和CD4⁺/CD8⁺比值较化疗前显著升高。本研究发现,鼻咽癌患者在接受新辅助化疗之后,外周血CD3⁺细胞、CD4⁺T细胞的水平以及CD4⁺/CD8⁺的比值较治疗前上调,这与乳腺癌、肺腺癌的相关研究结论类似^[18,20]。LAMBERTI等^[21]认为,化疗药物介导的凋亡细胞能够通过诱导DC成熟,增强DC提呈肿瘤抗原的作用,从而激活抗肿瘤的免疫反应。因此,新辅助化疗除了直接杀伤鼻咽癌细胞之外,还具有改善T淋巴细胞抗肿瘤免疫功能的作用。

NK细胞是一类具有直接杀伤靶细胞效应的大颗粒淋巴细胞,其在杀伤靶细胞之前无需抗原的致敏,也无需MHC的协助。因此,NK细胞是机体监视、杀伤肿瘤的第一道防线,在机体抗肿瘤免疫和抗病毒感染中发挥着重要作用^[12]。有研究^[11]将顺铂、5-氟尿嘧啶或吉西他滨与NK细胞一起培养,可诱导NK细胞表面的PD-1表达升高;加入PD-1抗体之后,NK细胞对鼻咽癌细胞的细胞毒性显著增加。本研究发现,新辅助化疗之后,鼻咽癌外周血NK细胞的比例较治疗前显著下降,提示在化疗背景下NK细胞的增殖活化功能受限,化疗联合阻断PD-L1/PD-1信号有望增强NK细胞对鼻咽癌细胞的杀伤。在EBV相关疾病中,B细胞是病毒感染的主要靶细胞^[22]。XU等^[23]发现,鼻咽癌患者治疗前外周血EBV-DNA的含量与B细胞的水平呈负相关,SHEN等^[24]研究结果显示,低水平B细胞是鼻咽癌不利的独立预后因

素,提示循环外周血中B细胞的水平和功能在鼻咽癌中具有重要的临床意义。本研究发现,新辅助化疗之后外周血B细胞的比例较治疗前下降,提示新辅助化疗之后机体的抗肿瘤固有免疫和体液免疫功能受明显抑制。

CD28与B7是一对正性共刺激分子,两者结合后产生的共刺激信号在启动T细胞活化的过程中发挥着重要的作用,具有抑制T细胞凋亡、促进T细胞活化增殖的效应^[25-26]。CD8⁺CD28⁺T细胞具有细胞毒作用,是抗肿瘤免疫的主要效应细胞。本研究发现,鼻咽癌患者在新辅助化疗后CD8⁺CD28⁺T细胞的水平显著上调,推测新辅助化疗杀伤鼻咽癌细胞的同时也增强了肿瘤细胞的免疫原性及抗原提呈细胞的活性,进而上调了共刺激分子CD28的表达,诱导CD8⁺CD28⁺T细胞的细胞毒效应,进而增强抗肿瘤免疫。PD-1属于CD28家族成员,主要表达在CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞表面。配体PD-L1属B7家族,主要表达于T细胞、抗原提呈细胞以及多种肿瘤细胞等。PD-1与PD-L1相结合可诱导T细胞衰竭,并产生促进肿瘤生长和侵袭的肿瘤微环境,介导免疫抑制和肿瘤免疫逃逸^[4]。本研究发现,鼻咽癌患者在新辅助化疗之后PD-1⁺T细胞的水平与治疗前无明显差异。

放疗作为治疗鼻咽癌的主要方式,治疗过程中所引起的各种不良反应也影响着患者的免疫功能。因此,了解鼻咽癌放疗结束时患者的免疫状态可以为后续治疗提供依据。外周血的获取简便、实用性强且患者易于接受,临床应用前景较好,且是目前唯一可以借此动态监测鼻咽癌患者免疫状态的方法。多数研究结果^[16,24,27]认为,恶性肿瘤患者在放疗后外周血中射线敏感的淋巴细胞减少,表现为CD3⁺细胞、CD4⁺T细胞水平及CD4⁺/CD8⁺比值明显下降。本研究结论与上述研究一致,患者在放疗结束后CD3⁺细胞、CD4⁺T细胞、CD8⁺CD28⁺T细胞水平、CD4⁺/CD8⁺比值及B细胞明显下降。提示鼻咽癌患者在放疗后T细胞的细胞免疫及B细胞的体液免疫均受到抑制。本研究发现,鼻咽癌患者外周血PD-1⁺T细胞水平在放疗结束后出现显著上调,这可能是CD4⁺T细胞、CD8⁺CD28⁺T细胞水平及CD4⁺/CD8⁺比值明显下降的机制之一。PD-1的表达水平上调抑制了T细胞的肿瘤杀伤功能,导致肿瘤细胞发生免疫耐受。有研究^[28]发现,放疗过程中产生的急性炎症反应可引起非特异性免疫反应因子TLR4表达从而激活机体的非特异性免疫。TLR4表达增多还可以激活更多的DC,从而将大量肿瘤抗原提呈给NK细胞,促使NK细胞活化增殖^[29],这可能是NK细胞在放疗结束时大幅度上调的原因之一,提示放疗后体内的固有免疫功能

有所改善。综上所述,治疗结束时,鼻咽癌患者无论是体液免疫还是细胞免疫均出现了显著的免疫功能紊乱,这种免疫状态失衡很有可能在鼻咽癌治疗后的复发转移中扮演重要角色。

在综合治疗背景下,治疗局部晚期鼻咽癌的疗效改善遇到瓶颈。本研究发现,T细胞亚群比例在新辅助化疗后上调,而放疗结束后出现明显下降,提示放疗结束时鼻咽癌患者的免疫功能受到显著的抑制。鼻咽癌患者外周血PD-1⁺T细胞水平在放化疗结束后显著上调,意味着放化疗结束可能是使用PD-1抑制剂的良机,抗PD-1免疫维持治疗可能具更高效、持久的抗肿瘤效应。本研究结果为开展鼻咽癌的免疫治疗,以期突破局部晚期鼻咽癌的疗效瓶颈提供了有价值的信息。但本研究样本量偏少,还有待扩大病例规模进行分析及开展前瞻性的临床试验来进一步验证。

[参考文献]

- [1] VALASTYAN S, WEINBERG R A. Tumor metastasis: molecular insights and evolving paradigms[J]. *Cell*, 2011, 147(2): 275-292. DOI:10.1016/j.cell.2011.09.024.
- [2] ZITVOGEL L, KROEMER G. Targeting PD-1/PD-L1 interactions for cancer immunotherapy[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2012, 1(8): 1223-1225[2012-08-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3518493/>. DOI:10.4161/onci.21335.
- [3] ZHOU W C, DENG J X, CHEN Q M, et al. Expression of CD4⁺CD25⁺CD127^{low} regulatory T cells and cytokines in peripheral blood of patients with primary liver carcinoma[J/OL]. *Int J Med Sci*, 2020, 17(6): 712-719[2021-08-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7085268/>. DOI:10.7150/ijms.44088.
- [4] KHAN M, AROOJ S, WANG H. Soluble B7-CD28 family inhibitory immune checkpoint proteins and anti-cancer immunotherapy[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 651634[2021-08-10].<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34531847/>. DOI:10.3389/fimmu.2021.651634.
- [5] ZHENG H, LIU X, ZHANG J H, et al. Expression of PD-1 on CD4⁺T cells in peripheral blood associates with poor clinical outcome in non-small cell lung cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(35): 56233-56240. DOI:10.18632/oncotarget.9316.
- [6] SAITO H, KURODA H, MATSUNAGA T, et al. Increased PD-1 expression on CD4⁺ and CD8⁺T cells is involved in immune evasion in gastric cancer[J]. *J Surg Oncol*, 2013, 107(5): 517-522. DOI:10.1002/jso.23281.
- [7] CHEN Z F, PANG N N, DU R, et al. Elevated expression of programmed death-1 and programmed death ligand-1 negatively regulates immune response against cervical cancer cells[J]. *Mediators Inflamm*, 2016, 2016: 6891482[2021-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27721577/>. DOI:10.1155/2016/6891482.
- [8] BORGHAEI H, PAZ-ARES L, HORN L, et al. Nivolumab versus docetaxel in advanced nonsquamous non-small-cell lung cancer[J/OL]. *N Engl J Med*, 2015, 373(17): 1627-1639[2021-08-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5705936/>. DOI: 10.1056/NEJMoa1507643.

- [9] MOTZER R J, ESCUDIER B, GEORGE S, et al. Nivolumab versus everolimus in patients with advanced renal cell carcinoma: updated results with long-term follow-up of the randomized, open-label, phase 3 CheckMate 025 trial[J/OL]. *Cancer*, 2020, 126(18): 4156-4167[2021-08-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8415096/>. DOI:10.1002/cncr.33033.
- [10] TOPALIAN S L, HODI F S, BRAHMER J R, et al. Five-year survival and correlates among patients with advanced melanoma, renal cell carcinoma, or non-small cell lung cancer treated with nivolumab[J]. *JAMA Oncol*, 2019, 5(10): 1411-1420. DOI:10.1001/jamaoncol.2019.2187.
- [11] HUANG S C M, TSAO S W, TSANG C M. Interplay of viral infection, host cell factors and tumor microenvironment in the pathogenesis of nasopharyngeal carcinoma[J]. *Cancers*, 2018, 10(4): 106[2021-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29617291/>. DOI:10.3390/cancers10040106.
- [12] 曹雪涛. 医学免疫学[M]. 7版. 北京: 人民卫生出版社, 2018: 82-124.
- [13] WALDMAN A D, FRITZ J M, LENARDO M J. A guide to cancer immunotherapy: from T cell basic science to clinical practice[J/OL]. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20(11): 651-668[2021-08-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7238960/>. DOI: 10.1038/s41577-020-0306-5.
- [14] BORST J, AHRENDTS T, BAŁAŁA N, et al. CD4⁺ T cell help in cancer immunology and immunotherapy[J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18(10): 635-647. DOI:10.1038/s41577-018-0044-0.
- [15] LIN K R, PANG D M, JIN Y B, et al. Circulating CD8⁺ T-cell repertoires reveal the biological characteristics of tumors and clinical responses to chemotherapy in breast cancer patients[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2018, 67(11): 1743-1752. DOI: 10.1007/s00262-018-2213-1.
- [16] WANG X B, WU D J, CHEN W P, et al. Impact of radiotherapy on immunological parameters, levels of inflammatory factors, and clinical prognosis in patients with esophageal cancer[J]. *J Radiat Res*, 2019, 60(3): 353-363. DOI:10.1093/jrr/rrz006.
- [17] WANG L X, LI R, YANG G J, et al. Interleukin-7-dependent expansion and persistence of melanoma-specific T cells in lymphodepleted mice lead to tumor regression and editing[J/OL]. *Cancer Res*, 2005, 65(22): 10569-10577[2021-08-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2241747/>. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-2117.
- [18] 燕翔, 赵晓, 焦顺昌, 等. 晚期肺癌患者一线化疗后T淋巴细胞亚群变化及临床意义[J]. *中国肺癌杂志*, 2012, 15(3): 164-171. DOI:10.3779/j.issn.1009-3419.2012.03.06.
- [19] 陈丽, 焦顺昌. 化疗对肿瘤免疫功能影响的研究进展[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2011, 16(9): 853-856. DOI: 10.3969/j.issn.1009-0460.2011.09.021.
- [20] 白海亚, 马秀芬. 新辅助化疗对局部进展期乳腺癌患者T淋巴细胞亚群及NK细胞免疫功能的影响[J]. *中国免疫学杂志*, 2012, 28(9): 843-845. DOI:10.3969/j.issn.1000-484X.2012.09.018.
- [21] LAMBERTI M J, NIGRO A, MENTUCCI F M, et al. Dendritic cells and immunogenic cancer cell death: a combination for improving antitumor immunity[J/OL]. *Pharmaceutics*, 2020, 12(3): E256[2021-08-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7151083/>. DOI:10.3390/pharmaceutics12030256.
- [22] SÁNCHEZ-PONCE Y, FUENTES-PANANÁ E M. The role of coinfections in the EBV-host broken equilibrium[J]. *Viruses*, 2021, 13(7): 1399[2021-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34372605/>. DOI:10.3390/v13071399.
- [23] XU T, HUANG Z L, SU B J, et al. Prognostic significance of circulating CD19⁺ B lymphocytes in EBV-associated nasopharyngeal carcinoma [J]. *Med Oncol*, 2014, 31(10): 1-9. DOI:10.1007/s12032-014-0198-y.
- [24] SHEN D S, YAN C, LIANG Y, et al. Prognostic significance of circulating lymphocyte subsets before treatment in patients with nasopharyngeal carcinoma[J/OL]. *Cancer Manag Res*, 2021, 13: 8109-8120[2021-08-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8558319/>. DOI:10.2147/CMAR.S334094.
- [25] SHARPE A H, PAUKEN K E. The diverse functions of the PD-1 inhibitory pathway[J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18(3): 153-167. DOI:10.1038/nri.2017.108.
- [26] ESENSTEN J H, HELOU Y A, CHOPRA G, et al. CD28 costimulation: from mechanism to therapy[J/OL]. *Immunity*, 2016, 44(5): 973-988[2021-08-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4932896/>. DOI:10.1016/j.immuni.2016.04.020.
- [27] HU F J, GE M H, LI P, et al. Unfavorable clinical implications of circulating CD44⁺ lymphocytes in patients with nasopharyngeal carcinoma undergoing radiochemotherapy[J]. *Clin Chim Acta*, 2012, 413(1/2): 213-218. DOI:10.1016/j.cca.2011.09.026.
- [28] 陶盼盼. 放疗早期对口腔颌面部肿瘤患者免疫功能影响的临床研究[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2018, 25(S1): 27-28. DOI:10.16073/j.cnki.cjcp.20181102.038.
- [29] APETOH L, GHIRINGHELLI F, TESNIERE A, et al. Toll-like receptor 4-dependent contribution of the immune system to anticancer chemotherapy and radiotherapy[J]. *Nat Med*, 2007, 13(9): 1050-1059. DOI:10.1038/nm1622.

[收稿日期] 2021-08-27

[修回日期] 2021-12-26

[本文编辑] 王润蓓, 黄静怡