

实体肿瘤外周血细胞免疫功能实验室检测 专家共识

中国医师协会检验医师分会 北京医师协会医学检验专科医师(技师)分会 国家癌症中心 国家肿瘤区域医疗中心 国家医学检验临床医学研究中心(中国医科大学附属第一医院)

通信作者:尚红,Email:hongshang100@hotmail.com;崔巍,Email:wendycuiwei@sina.cn

【摘要】 外周血细胞免疫功能检测在实体肿瘤免疫治疗受益者筛选、免疫相关不良反应监测、肿瘤疗效及预后评估等方面受到临床关注。为促进临床有效选择和解读实体肿瘤诊疗相关的外周血细胞免疫功能指标,中国医师协会检验医师分会、北京医师协会医学检验专科医师(技师)分会、国家癌症中心、国家肿瘤区域医疗中心、国家医学检验临床医学研究中心(中国医科大学附属第一医院)组织相关领域的学术专家,对外周血细胞免疫功能指标包括T淋巴细胞亚群精细分型、髓源性抑制细胞和细胞因子的临床应用价值进行了充分总结,并撰写了专家共识,同时对外周血细胞免疫功能实验室检测指标和方案或方法给出了推荐和参考方向,以期为实体肿瘤患者的精准诊疗提供帮助。

【关键词】 肿瘤; 外周血; 细胞免疫功能; 流式细胞术; 免疫治疗; 共识

基金项目:国家自然科学基金(82272435)

Chinese expert consensus on laboratory detection of peripheral blood cellular immune function in solid tumors

Laboratory Medicine Society of Chinese Medical Association, Laboratory Medicine Specialist (Technician) Branch of Beijing Medical Doctor Association, National Cancer Center, National Cancer Regional Medical Center, National Clinical Research Center of Laboratory Medicine (the First Hospital of China Medical University)

Corresponding author: Shang Hong, Email: hongshang100@hotmail.com; Cui Wei, Email: wendycuiwei@sina.cn

【Abstract】 The value of peripheral blood cellular immune function detection has received clinical attention in screening beneficiaries of solid tumor immunotherapy, monitoring immune-related adverse events (irAE), and evaluating tumor efficacy and prognosis. In order to assist in the effective selection and interpretation of peripheral blood cellular immune function indicators to further optimize the diagnosis and treatment of solid tumors, the Laboratory Medicine Society of Chinese Medical Association, the Laboratory Medicine Specialist (Technician) Branch of Beijing Medical Doctor Association, the National Cancer Center/National Cancer Regional Medical Center and the National Clinical Research Center of Laboratory Medicine (The First Hospital of China Medical University) organized several well-known experts in relevant fields. The clinical application value of peripheral blood cellular immune function, including deep phenotyping of T-lymphocyte subpopulations, myeloid-derived suppressor cells (MDSC) and cytokines, were fully discussed, and the expert consensus was written. Meanwhile, recommendations and reference directions have been given for laboratory detection indicators and protocols or methods of peripheral blood cellular

DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20230719-00016

收稿日期 2023-07-19 本文编辑 唐栋

引用本文:中国医师协会检验医师分会,北京医师协会医学检验专科医师(技师)分会,国家癌症中心,等.实体肿瘤外周血细胞免疫功能实验室检测专家共识[J].中华检验医学杂志,2023,46(12):1235-1248.

DOI: 10.3760/cma.j.cn114452-20230719-00016.



immune function, aiming to provide help for precise diagnosis and treatment of solid tumor patients.

【Key words】 Neoplasms; Peripheral blood; Cellular immune function; Flow cytometry; Immunotherapy; Consensus

Fund program: National Natural Science Foundation(82272435)

T细胞介导的细胞免疫应答是宿主抗肿瘤免疫最主要的途径,也是肿瘤发生免疫逃逸形成免疫抑制的关键靶点。肿瘤微环境的局部细胞免疫,以及基于脾脏、淋巴结和血循环的外周细胞免疫的功能状态与肿瘤发生发展和治疗转归密切相关^[1]。基于外周血的细胞免疫功能检测在筛选免疫治疗受益者、监测免疫相关不良反应(immune-related adverse events, irAE)及评估肿瘤疗效和预后方面的作用越来越受到临床关注。如何正确选择和解读实体肿瘤诊疗相关的外周血细胞免疫功能指标,目前国内外尚无统一规范。为此,中国医师协会检验医师分会、北京医师协会医学检验专科医师(技师)分会、国家癌症中心、国家肿瘤区域医疗中心、国家医学检验临床医学研究中心组织在肿瘤免疫监测和流式细胞术分析淋巴细胞亚群领域经验丰富的专家,结合国内外进展,撰写实体肿瘤外周血细胞免疫功能实验室检测的专家共识,旨在帮助临床合理选择免疫指标评估外周血细胞免疫功能,以辅助实体肿瘤的精准诊疗。

鉴于细胞免疫功能在实体肿瘤免疫治疗中的重要价值,共识编写工作组关注细胞免疫应答从启动到发挥效应功能的全过程,针对参与细胞免疫应答的效应细胞、辅助细胞、负向免疫调节细胞等多种细胞亚群和免疫分子进行了临床研究证据的整合,筛选出在肿瘤免疫治疗监测、预后评估中具有指导价值的外周血细胞免疫功能实验室指标,并结合临床检验实践归纳为T淋巴细胞亚群精细分型,髓源性抑制细胞(myeloid-derived suppressor cell, MDSC)亚群分析和细胞因子水平检测三大类,并对这些指标的检测方案和临床应用选择作出了推荐。

共识形成方法

共识发起机构:本共识由中国医师协会检验医师分会、北京医师协会医学检验专科医师(技师)分会、国家癌症中心、国家肿瘤区域医疗中心、国家医学检验临床医学研究中心共同发起。

共识工作组:成立多学科工作组,包括以检验科为主,血液科、肿瘤内科、放疗科等的多学科专家

共61位,来自全国31个省、自治区、直辖市的54家医疗机构,包括执笔人、证据收集人和专家组成员。

共识目标人群:实体肿瘤患者。

共识使用者:检验医师/检验技师;肿瘤相关专业医师。

共识制订目的:指导临床合理选择免疫指标评估外周血细胞免疫功能,以辅助实体肿瘤的精准诊疗包括筛选免疫治疗受益者、监测免疫不良反应、评估疗效和预后等。

问题的收集和遴选:共识工作组组长及执笔人围绕“实体肿瘤外周血细胞免疫功能实验室检测”进行文献调研,并在专家组成员中广泛咨询征集共识的主要内容和核心问题,经研究梳理后确定了5个方面(共识制订的目的、共识使用者、检测标志物、检测方案或方法、临床应用)共10个核心问题。

文献的检索和筛选:共识工作组组长、执笔人及证据收集人聚焦参与细胞免疫应答的效应细胞、辅助细胞、负向免疫调节细胞等多种细胞亚群和免疫分子在实体肿瘤免疫治疗受益者筛选、免疫不良反应监测、疗效和预后评估等方面的临床意义,通过检索Pubmed梳理国内外临床研究证据。文献检索策略和筛选流程见图1。

共识的提出和形成:在充分评价所得国内外证据的基础上,共识工作组组长及执笔人通过共识会议完成了“专家共识讨论稿”。通过函审形式由全体专家组成员对讨论稿的内容提出修改意见和建议,再由执笔人修改形成了“专家共识修改稿”,并提出了10条专家共识。共识编写工作组组长编制了“实体肿瘤外周血细胞免疫功能实验室检测专家共识修改稿的专家评审意见表”,通过函审形式由全体专家组成员进行评审。本共识对证据等级与推荐等级的定义和具体表述见表1、2。参考德尔菲法就推荐意见达成共识。根据评审结果,由执笔人修改形成“专家共识审核稿”,通过函审形式提交给全体专家组成员做最后审核。共识工作组组长及执笔人根据反馈意见和建议完成修改、补充后形成“实体肿瘤外周血细胞免疫功能实验室检测专家共识”,通过共识会议定稿,包含10条专家共识共17项实验室检测指标的临床应用选择建议。共识

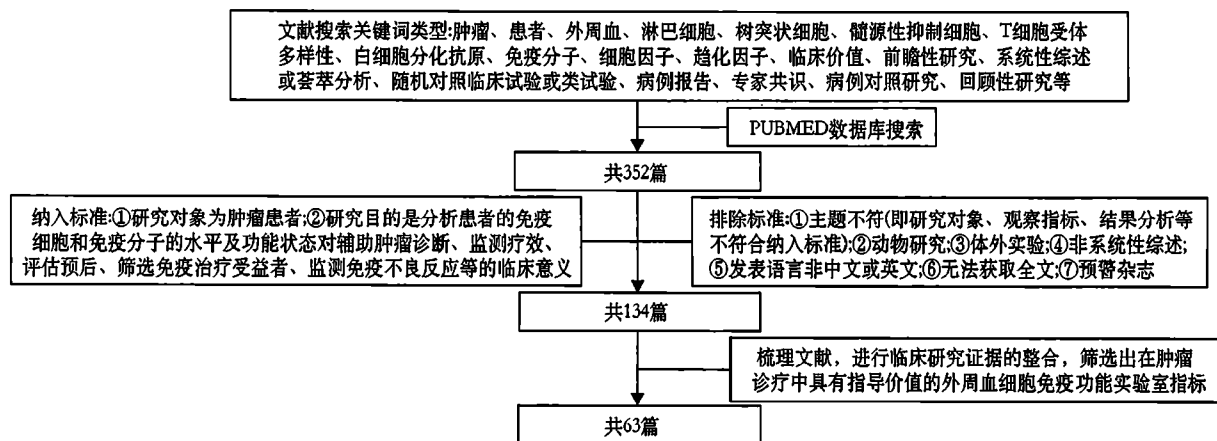


图1 文献检索策略和筛选流程图

已在“国际实践指南注册与透明化”平台完成注册和计划书提交,注册号为PREPARE-2023CN306。

T淋巴细胞亚群精细分型

T淋巴细胞亚群精细分型是指对T细胞功能亚群、分化亚群以及功能表型(如活化表型、增殖表型、衰老表型和耗竭表型等)进行评估。利用流式细胞术检测代表不同亚群和功能表型的特定分子标志物,对其进行定量检测。

一、检测指标

(一)功能亚群

1. 细胞毒性T细胞(cytotoxic T cell, Tc细胞): Tc细胞又名CD8⁺T细胞,是杀伤肿瘤细胞最主要的效应细胞,以CD3⁺CD8⁺为分子标记。

2. 辅助性T细胞(helper T cell, Th细胞): Th细胞又名CD4⁺T细胞,辅助CD8⁺T细胞的活化、增殖和效应功能,以CD3⁺CD4⁺为分子标记;CD4⁺T细胞活化后分化为不同的效应亚群, Th各亚群之间的

平衡有助于抗肿瘤免疫应答强度和免疫稳态的维持,其中Th1亚群产生的细胞因子IL-2对CD8⁺T细胞的活化、增殖和效应功能至关重要。

3. I型NKT细胞(invariant natural killer T cell, iNKT细胞): iNKT细胞通过激活CD8⁺T细胞、促进CD8⁺T和CD4⁺T细胞的免疫记忆、调节免疫抑制细胞如MDSC的功能等促进细胞免疫应答,以CD3⁺CD16⁺CD56⁺Vα24⁺Vβ11⁺或CD3⁺CD16⁺CD56⁺Vα24⁺Jα18⁺为分子标记。

4. 调节性T细胞(regulatory T cell, Treg细胞): Treg细胞是CD4⁺T细胞的免疫负向调节亚群,通过接触性抑制和分泌免疫抑制因子等途径抑制CD4⁺T和CD8⁺T细胞的活化、增殖和效应功能,从而抑制细胞免疫应答,以CD3⁺CD4⁺CD25⁺CD127^{low}或CD3⁺CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺为分子标记。

(二)分化亚群

1. 初始T细胞(naïve T cell, T_N细胞): T_N细胞是未受到抗原刺激的静息细胞,介导初始免疫应答的启动, T_N细胞的比例是反映细胞免疫动员储备能力

表1 本专家共识的证据分级

| 证据级别 | 定义 |
|------|---|
| A级 | 数据来自系统性综述或荟萃分析;质量较高的随机对照临床试验或类试验或前瞻性观察性研究 |
| B级 | 数据来自质量较高的回顾性观察性研究;质量一般的随机对照临床试验或类试验或前瞻性观察性研究 |
| C级 | 数据来自质量较差的随机对照临床试验或类试验或前瞻性观察性研究;质量一般和质量较差的回顾性队列研究;病例对照研究;病例报告;专家共识 |

表2 本专家共识的推荐分级

| 推荐级别 | 定义 |
|------|---|
| 强 | 此条共识有A级证据支持且专家推荐率≥80%;此条共识有B级证据支持且专家推荐率≥90% |
| 中 | 此条共识有A级证据支持且80% > 专家推荐率 ≥ 70%;此条共识有B级证据支持且90% > 专家推荐率 ≥ 80%;此条共识有C级证据支持且专家推荐率 ≥ 90% |
| 弱 | 此条共识有B级证据支持且80% > 专家推荐率 ≥ 70%;此条共识有C级证据支持且90% > 专家推荐率 ≥ 80% |
| 不作推荐 | 此条共识有A、B级证据支持但专家推荐率 < 70%;此条共识有C级证据支持但专家推荐率 < 80% |

的指标,以 CD45RA⁺CCR7⁺CD95⁻ 或 CD45RO⁻CD62L⁺CD95⁻为分子标记。

2. 记忆 T 细胞(memory T cell, T_M 细胞):T_M 细胞介导记忆免疫应答,随着分化进程进一步分为:(1) T 记忆干细胞(T memory stem cell, T_{SCM} 细胞),以 CD45RA⁺CCR7⁺CD95⁺ 或 CD45RO⁻CD62L⁺CD95⁺ 为分子标记;(2) 中央记忆 T 细胞(central memory T cell, T_{CM} 细胞),以 CD45RA⁻CCR7⁺ 或 CD45RO⁺CD62L⁺ 为分子标记;(3) 效应记忆 T 细胞(effector memory T cell, T_{EM} 细胞),以 CD45RA⁻CCR7⁻ 或 CD45RO⁺CD62L⁻ 为分子标记;(4) 终末分化效应记忆 T 细胞(terminally differentiated effector memory T cell, T_{EMRA} 细胞),又称终末分化效应 T 细胞(terminally differentiated effector T cell, T_{TE} 细胞),以 CD45RA⁺CCR7⁻ 或 CD45RO⁻CD62L⁻ 为分子标记。T_{SCM} 细胞、T_{CM} 细胞和早期 T_{EM} 细胞主要介导记忆免疫应答;晚期 T_{EM} 细胞和终末分化的 T_{EMRA} 细胞主要发挥效应功能,但其增殖能力差,存活时间短。T_M 细胞亚群的比例是反映细胞免疫记忆储备能力的指标。

(三)功能表型

1. 活化表型:推荐检测 HLA-DR/CD38, HLA-DR 在 T 细胞活化晚期稳定性表达;CD38 在 T_N 细胞中是组成性表达的,在静息记忆细胞中表达下调,在活化 T 细胞中表达升高。

2. 增殖表型:推荐检测 Ki-67, Ki-67 为一种核蛋白,在细胞分裂中发挥重要调控作用,在 G₁-M 期表达水平升高,但在 G₀ 期不表达或低表达。

3. 衰老表型:推荐检测 CD28/CD27/CD57, CD28 是 T 细胞活化必须的协同刺激分子,CD27 是 T 细胞的一种共刺激分子,CD57 是 T 细胞分化至终末期的标记。在 T 细胞分化中,分化早期阶段 T_N、T_{SCM} 和 T_{CM} 细胞一般表达 CD28 和 CD27,存活时间

长;终末分化阶段 T_{EMRA} 细胞丢失 CD28、CD27 并伴随 CD57 的表达,提示免疫衰老,存活时间短;中晚期分化阶段的 T_{EM} 细胞具有异质性,其中 CD28⁺CD27⁺T_{EM} 细胞生存时间长,主要发挥记忆作用;而 CD28⁻CD27⁺T_{EM} 细胞衰老程度高,存活时间短,偏效应作用。T_N 细胞若缺乏 CD28,将不能启动初始免疫应答,提示 T 细胞无能;T_M 细胞分化过程中,CD28 表达下调,提示 T 细胞衰老。CD28⁺T 细胞的比例是反映细胞免疫储备能力的指标;CD28⁻T 细胞的比例是反映 T 细胞无能和衰老的指标,结合 CD27 和 CD57 用以鉴别衰老 T 细胞,CD28 和 CD27 表达下调、CD57 表达上调提示 T 细胞衰老。

4. 耗竭表型:以高表达抑制性受体且增殖能力、生存能力和效应功能下降为特征,推荐检测的抑制性受体以程序性死亡分子 1(programmed death-1, PD-1)为主,辅以细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4/淋巴细胞激活基因-3/T 细胞免疫球蛋白黏蛋白 3,同时结合活化表型和增殖表型综合评估。

二、检测方案推荐

T 淋巴细胞亚群精细分型涉及的分子标志物数量较多,推荐同时标记多种抗体进行淋巴细胞亚群精细分型分析。结合临床常规开展的 TBNK 淋巴细胞亚群检测,本共识推荐 T 淋巴细胞亚群精细分型检测方案(表 3 和图 2)。

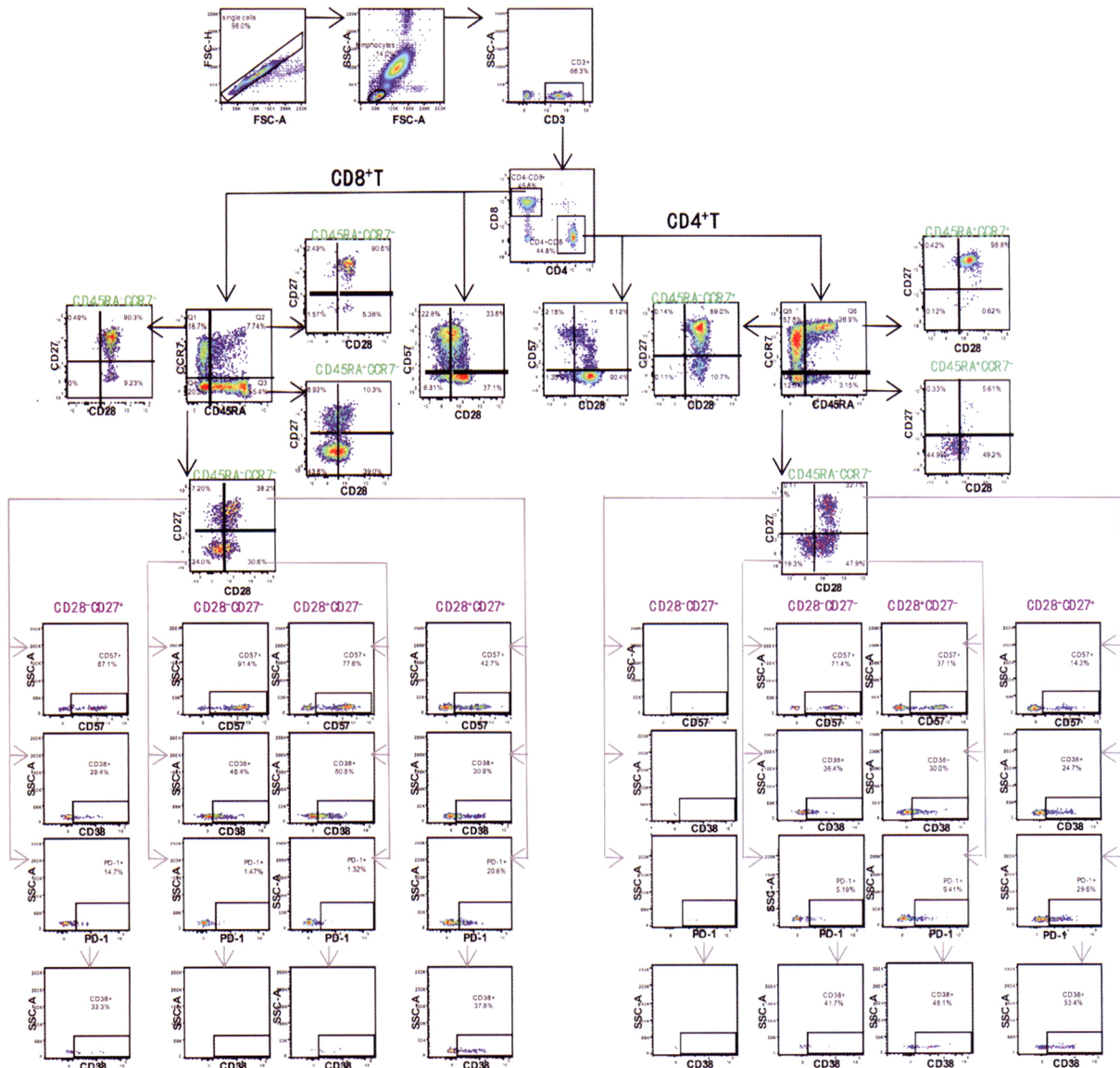
1. 根据标本处理方法不同,每管各司其职:鉴于绝对计数管需要免洗法,而精细亚群检测需要溶血洗涤,建议绝对计数管与多参数精细亚群管分开进行^[2]。

2. 绝对计数法:绝对计数方法可使用单平台或者双平台技术,建议首选单平台技术。单平台方法可以使用体积法或者微球法进行绝对计数。共识推荐使用临床常规开展的 TBNK 淋巴细胞亚群检测管作为绝对计数管,按照 2011 年卫生部指南推

表 3 流式细胞术检测 T 淋巴细胞亚群精细分型标志物组合方案

| 方案 | 试管 | 标志物组合推荐 | | | | | | | | | |
|--------|-----|---------|-----|--------|------|-------------------|-------|--------|-------------------|-------------------|--------------------|
| 10 色组合 | 管 1 | CD45 | CD3 | CD4 | CD25 | CD127 | | | | | |
| | 管 2 | CD45 | CD3 | CD4 | CD8 | CD45RA | CCR7 | CD95 | PD-1 ^a | CD38 | HLA-DR |
| | 管 3 | CD57 | CD3 | CD4 | CD8 | CD45RA | CCR7 | CD28 | CD27 | PD-1 ^a | Ki-67 ^b |
| 8 色组合 | 管 1 | CD45 | CD3 | CD4 | CD25 | CD127 | | | | | |
| | 管 2 | CD4 | CD8 | CD45RA | CCR7 | PD-1 ^a | Ki-67 | CD27 | CD28 | | |
| | 管 3 | CD3 | CD4 | CD45RA | CCR7 | PD-1 ^a | CD8 | HLA-DR | CD38 | | |
| | 管 4 | CD3 | CD4 | CD45RA | CCR7 | CD57 | CD8 | CD95 | CD28 | | |

注:^a动态监测相应免疫治疗患者 T 细胞 PD-1 的表达则应同时使用抗人 IgG₄-Fc 荧光抗体和抗 PD-1 荧光抗体,两种抗体可选用同一荧光标记;^b检测 PD-1⁺T 细胞分化亚群的活化和增殖可选择 Ki-67 或 CD38



注：圈出 CD8⁺T 和 CD4⁺T 细胞后，一方面用 CD28 和 CD57 圈选 CD28⁺、CD28⁻ 和 CD28⁻CD57⁺ 细胞群；一方面用 CD45RA 和 CCR7 初步区分 T 细胞分化亚群，以 CD45RA⁻CCR7⁺T_{EM} 为例，进一步用 CD28 和 CD27 圈选 CD28⁻CD27⁺、CD28⁻CD27⁻、CD28⁺CD27⁻、CD28⁺CD27⁺ 亚群，然后用 PD-1 圈选 PD-1⁺ 细胞群，进一步检测其 CD38 的表达，其他分化亚群参照 T_{EM} 圈门流程

图 2 流式细胞术检测 T 淋巴细胞亚群精细分型 10 色组合管 3 的设门流程

荐^[3]进行操作，可以使用 1 管 6 色方案 (CD45/CD3/CD4/CD8/CD19/CD16+CD56) 或者 2 管 4 色方案 (CD45/CD3/CD4/CD8, CD45/CD3/CD19/CD16+CD56)；精细亚群管所需计数通过比例换算获得^[2]。

3. 精细亚群检测：管 1~3 和管 1~4 分别使用 10 色和 8 色方法进行淋巴细胞亚群的精细分型，推荐首选 10 色组合，也可根据实验室自身条件选择 8 色组合，6 色组合可开展部分精细亚群的检测，6 色以下组合不宜进行精细亚群检测。

4. 荧光素组合：鉴于不同仪器的荧光通道存在差异性，实验室宜根据自身检测系统的配置，合理选择和搭配荧光抗体、进行正确的补偿设置、抗体滴定设置和对照设置，进行方案优化。

5. 对于临床标本的动态监测，要求不同时间点

使用的方案一致，尤其是涉及绝对计数，否则需要做严格的方法学比对。

6. PD-1 动态监测：PD-1 免疫检查点抑制剂治疗后，与细胞表面 PD-1 结合，会干扰抗 PD-1 荧光抗体的染色。为解决这一问题，推荐使用抗人 IgG-Fc 荧光抗体与抗 PD-1 荧光抗体共同检测的方案进行 PD-1 动态监测，其中抗人 IgG-Fc 荧光抗体与 PD-1 免疫检查点抑制剂结合，抗 PD-1 荧光抗体与未被占据的 PD-1 位点结合，从而获得细胞表面 PD-1 的表达水平。抗人 IgG-Fc 荧光抗体针对的 IgG 亚型应与患者所用的 PD-1 免疫检查点抑制剂一致，如常用的 PD-1 免疫检查点抑制剂帕博利珠单抗 (Pembrolizumab) 和纳武利尤单抗 (Nivolumab) 均为 IgG₄ 型别，动态监测相应免疫治疗患者 T 细胞

PD-1 的表达则应同时使用抗人 IgG₄-Fc 荧光抗体和抗 PD-1 荧光抗体, 2 种抗体可选用同一荧光标记(图3)。

7.Ki-67 染色: Ki-67 是核蛋白, 按照胞内染色标准步骤进行操作, 推荐先进行同管其他胞膜分子的染色, 然后固定破膜进行 Ki-67 的染色。

三、临床应用选择

(一) 辅助评价细胞免疫功能状态

实体肿瘤患者的细胞免疫功能往往下降, 在多种实体肿瘤中, 以外周血 CD3⁺T、CD4⁺T、CD8⁺T 细胞绝对数的下降为特征, 而比例的变化不明显^[49]。此外, 在头颈鳞癌、乳腺癌、食管癌等多种实体肿瘤中, 外周血 iNKT 细胞的数量与健康对照相比, 也呈明显下降趋势^[8, 10-11], 但由于 iNKT 细胞在外周血中含量极低, 不作为常规推荐。

共识 1 建议监测实体肿瘤患者基线时外周血 T 细胞功能亚群 CD3⁺T、CD4⁺T、CD8⁺T 细胞的绝对数, 用于辅助评价细胞免疫功能状态(证据级别: B; 推荐级别: 强)。

(二) 评估预后

外周血正向调节细胞免疫应答的 T 细胞功能亚群绝对数与患者预后呈正相关; 免疫负向调节亚群或衰老亚群比例的上升是预后不良的危险因素。在非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 和乳腺癌等实体肿瘤中, CD4⁺T、CD8⁺T 细胞绝对数的降低均与不良预后相关, 基线时 CD4⁺T 细胞的绝对数是独立的预后保护因素^[4-5, 12]。在头颈鳞癌中, 基线时低水平的 iNKT 细胞数量与高死

亡风险相关^[8, 13]。相反, 在胃癌、NSCLC、鼻咽癌等实体肿瘤中, 基线时免疫负向亚群 Treg 细胞或 CD28-CD8⁺T 细胞比例的上升与患者生存呈负相关^[14-18]。

共识 2 建议监测实体肿瘤患者基线时外周血 T 细胞功能亚群尤其是 CD4⁺T、CD8⁺T 细胞的绝对数(证据级别: B; 推荐级别: 强)以及免疫负向调节亚群 Treg 细胞和 CD28⁻CD8⁺T 细胞的比例(证据级别: B; 推荐级别: 中), 用于评估肿瘤患者的预后。

(三) 辅助免疫检查点抑制剂 (immune checkpoint inhibitors, ICI) 疗效监测

1. 外周血 T 细胞分化亚群的水平 and 功能状态检测: (1) 基线水平: 基线时, 外周血 T_N 细胞和 T_M 细胞尤其是 T_{SCM}、T_{EM} 细胞的比例与持续临床获益和预后可呈正相关; 相反, 终末分化阶段的衰老 T 细胞的比例与预后可呈负相关。在黑色素瘤和 NSCLC 中证实, 外周血早期分化阶段 T 细胞尤其是 CD8⁺T_{EM} 或 CD4⁺T_N、CD4⁺T_{SCM} 细胞比例高的患者, 会有持续临床获益和良好预后^[19-22]; 而终末期分化阶段 T 细胞包括 CD8⁺T_{EMRA} 和衰老 CD8⁺T 细胞 (CD28⁻CD57⁺) 比例高的患者, 预后可能不佳^[19, 23]。(2) 治疗过程中的变化趋势: ICI 治疗诱导 T 细胞的活化和增殖, 以 HLA-DR、CD38 和 Ki-67 表达增高为特征^[24]。T 细胞活化增殖程度往往与疗效和预后呈正相关, 而衰老 T 细胞的大量出现提示预后不良。在头颈鳞癌中, ICI 治疗后外周血 CD4⁺T、CD8⁺T 细胞活化分子 CD38 的增加程度与临床获益

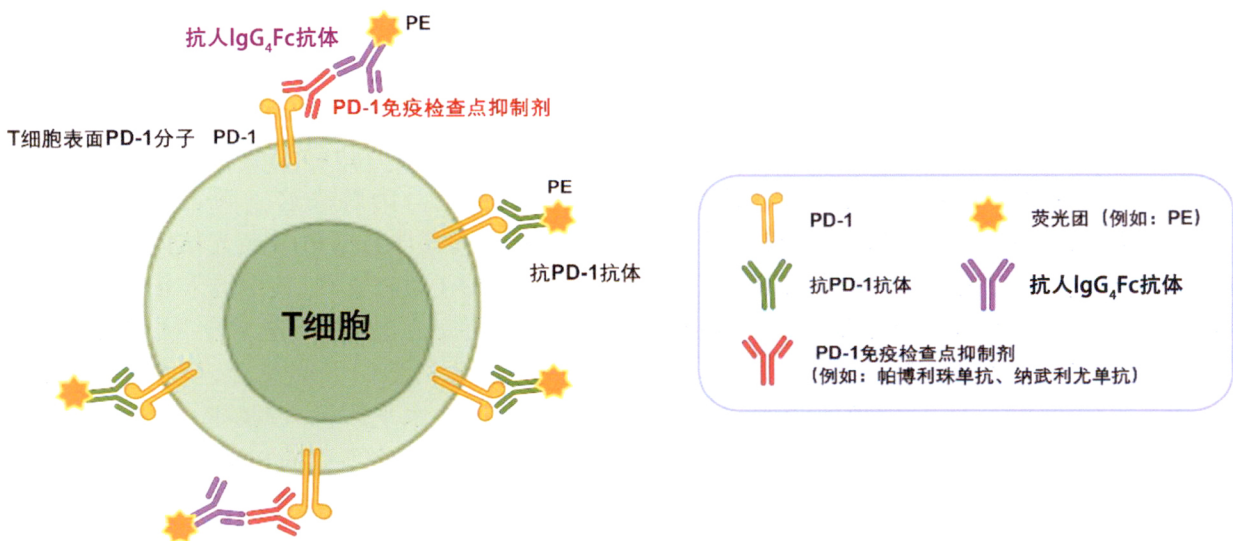


图3 免疫检查点抑制剂治疗后PD-1动态监测方法示意图

可能呈正相关,其中,CD4⁺T_{EMRA}、CD8⁺T_{EMRA} 细胞亚群在疾病进展组与缓解组之间的活化程度差异最为明显^[25]。在 NSCLC 中,ICI 治疗后外周血 CD4⁺T_M 细胞 Ki-67 的增加程度与临床获益和良好预后相关^[26];相反,治疗中 CD28⁻CD4⁺T 细胞的比例大幅增高与免疫治疗超进展和预后不良相关^[27]。

共识 3 对于 ICI 治疗的实体肿瘤患者,推荐动态监测外周血 T 细胞分化亚群的水平和功能状态,尤其是基线时 CD4⁺T、CD8⁺T 细胞分化亚群的比例(证据级别:A;推荐级别:强)及衰老 CD4⁺T、CD8⁺T 细胞的比例(证据级别:B;推荐级别:中)、治疗过程中 CD4⁺T、CD8⁺T 细胞分化亚群的活化和增殖程度(HLA-DR⁺, CD38⁺, Ki-67⁺)及衰老程度(CD28⁻CD57⁺)(证据级别:B;推荐级别:中),用于筛选 ICI 治疗受益者、评估 ICI 治疗的应答程度。

2. PD-1 表达检测:(1)基线水平:基线时,PD-1 在 CD8⁺T、CD4⁺T 细胞分化亚群的表达和相对比例与 ICI 治疗临床获益和预后可能相关。多项研究证实,NSCLC 患者中,基线时外周血 PD-1⁺CD8⁺T、PD-1⁺CD4⁺T 细胞的比例以及 PD-1⁺CD8⁺T 细胞/PD-1⁺CD4⁺T 细胞比值高的患者,ICI 治疗的效果更佳,预后更好^[28-30]。进一步研究发现 PD-1 在不同的 T 细胞分化亚群表达丰度不同,主要表现为 T_M 细胞(T_{CM}、T_{EM})显著增高,并且外周血 PD-1⁺T_M 细胞的相对水平与临床获益和预后呈正相关。NSCLC 队列研究发现,PD-1⁺CD4⁺T_M 细胞水平、PD-1⁺CD27⁻CD28⁺CD8⁺T_{EM} 细胞/PD-1⁺CD8⁺T_{EMRA} 细胞比值及 PD-1⁺CD8⁺T 细胞/PD-1⁺CD4⁺T 细胞比值是预测 ICI 疗效,判断预后的独立指标^[26, 29-31]。(2)治疗过程中的变化趋势:ICI 治疗后 PD-1⁺CD8⁺T 细胞的功能状态变化与临床应答密切相关。在 NSCLC、黑色素瘤等实体肿瘤中,ICI 治疗后外周血 PD-1⁺CD8⁺T 细胞 Ki-67 的水平增高程度与持续临床获益和预后呈正相关^[32-33]。并且,在 NSCLC 中,主要是 CD27⁻CD28⁺PD-1⁺CD8⁺T_{EM} 细胞 Ki-67 水平增高程度与临床获益和预后呈正相关^[31]。

共识 4 对于 ICI 治疗的实体肿瘤患者,推荐监测基线时 PD-1 在外周血 T 细胞分化亚群的表达和相对比例(证据级别:A;推荐级别:强),并动态监测外周血 PD-1⁺T 细胞分化亚群的功能状态,尤其是治疗过程中 PD-1⁺T 细胞分化亚群的活化和增殖程度(CD38⁺, Ki-67⁺)(证据级别:B;推荐级别:中),用于筛选 ICI 治疗受益者、评估 ICI 治疗的应答程度。

(四)辅助监测 irAE 发生

动态监测 T 细胞分化亚群的水平和功能状态,有助于监测 irAE 的发生。不同研究均发现,黑色素瘤基线时或 ICI 治疗过程中,外周血 T_{EM} 细胞尤其是 CD4⁺T_{EM} 细胞的比例与 irAE 发生具有一定相关性,且治疗中 T 细胞特别是 CD4⁺T 细胞出现显著活化(CD38⁺或 HLA-DR⁺)的患者,出现 irAE 的可能性高^[20, 34-35]。此外,在黑色素瘤和 NSCLC 中,基线时外周血 Treg 细胞的比例与 irAE 的发生呈负相关^[36]。

共识 5 对于 ICI 治疗的实体肿瘤患者,建议监测基线时外周血 CD4⁺T、CD8⁺T 细胞分化亚群 T_{EM} 细胞(证据级别:B;推荐级别:中)和 Treg 细胞的比例(证据级别:C;推荐级别:弱),并动态监测治疗过程中外周血 CD4⁺T、CD8⁺T 细胞的活化程度(CD38⁺、HLA-DR⁺)(证据级别:B;推荐级别:中),用于监测 irAE 的发生。

MDSC 亚群分析

一、检测指标和方案推荐

MDSC 是免疫负向调节细胞,通过抑制 CD4⁺T 和 CD8⁺T 细胞的活化和功能、驱动和招募 Treg 细胞等多种机制,抑制宿主的抗肿瘤细胞免疫应答。MDSC 亚群包括多形核髓源性抑制细胞(polymorphonuclear MDSC, PMN-MDSC)、单核样髓源性抑制细胞(monocytic MDSC, M-MDSC)和早期阶段髓源性抑制细胞(early-stage MDSC, e-MDSC)。根据不同亚群特有的表型特征,利用流式细胞术可以进行定性和定量检测。

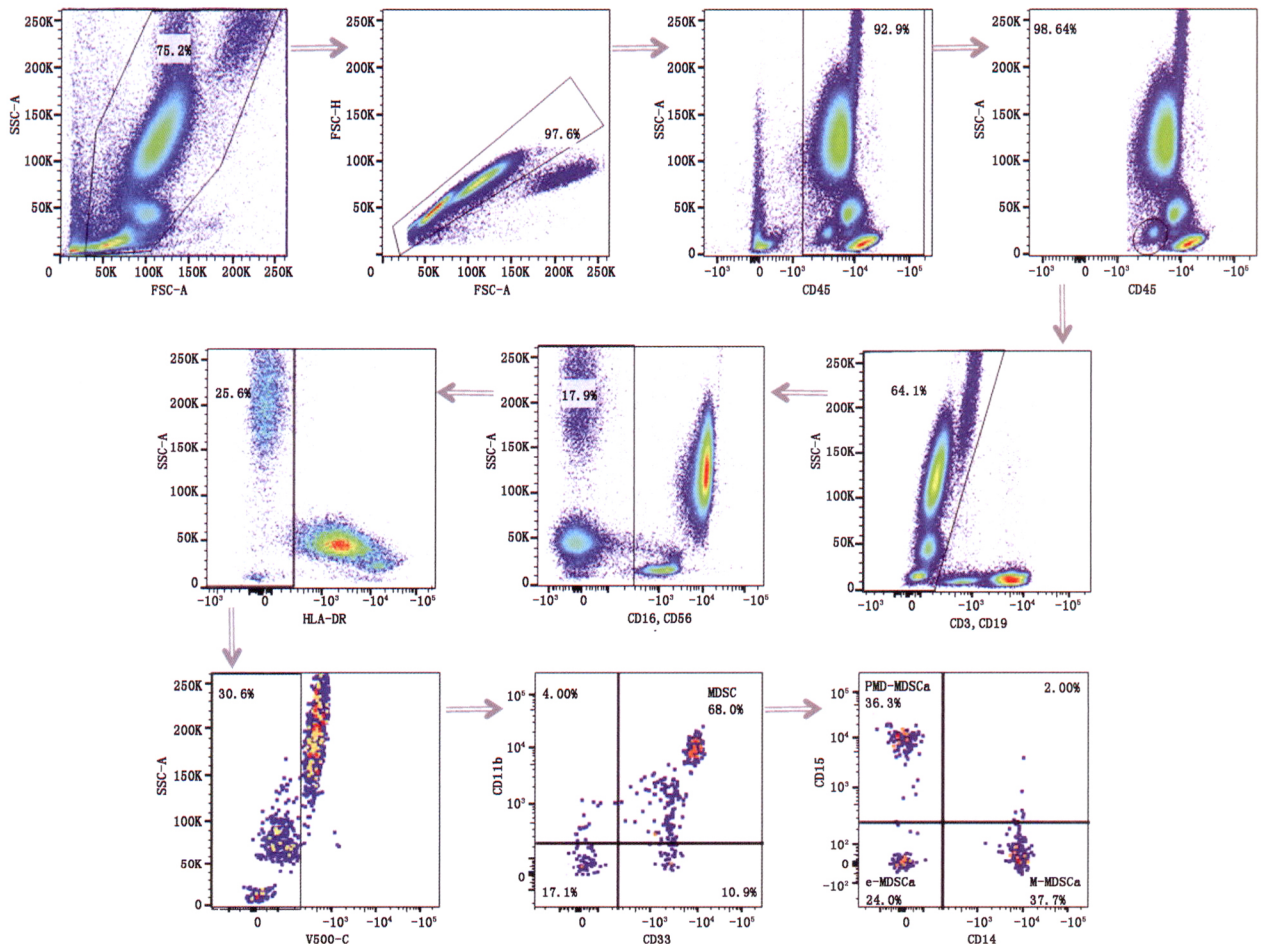
MDSC 是来源于造血干细胞分化的未成熟的髓系细胞,是树突状细胞、巨噬细胞和/或粒细胞的前体,异质性高,在外周血中准确鉴定其表型具有一定难度。目前外周血 MDSC 的检测有两类,一类是分离外周血单个核细胞后检测^[37],该方案流程繁琐,并且容易丢失部分亚群,如 PMN-MDSC,不推荐作为临床常规检测方案;另一类是直接全血检测^[38],更适合临床应用。

MDSC 检测结果受标本类型、分子标志、圈门流程等影响,本共识基于以往文献报道^[38]及临床实践推荐如下基于全血标本的检测方案(表 4 和图 4)。

1. 通过前向角散射(forward scatter, FSC)和侧向角散射(side scatter, SSC)组合设门 1,圈出总细

表 4 流式细胞术鉴定全骨髓源性抑制细胞亚群表型

| 髓源性抑制细胞亚群 | 细胞表型 |
|-------------|---|
| 总髓源性抑制细胞 | CD45 ⁺ CD3 ⁻ CD19 ⁻ CD20 ⁻ CD56 ⁻ CD16 ⁻ HLA-DR ⁻ CD33 ⁺ CD11b ⁺ |
| 多形核髓源性抑制细胞 | CD45 ⁺ CD3 ⁻ CD19 ⁻ CD20 ⁻ CD56 ⁻ CD16 ⁻ HLA-DR ⁻ CD33 ⁺ CD11b ⁺ CD15 ⁺ CD14 ⁻ |
| 单核样髓源性抑制细胞 | CD45 ⁺ CD3 ⁻ CD19 ⁻ CD20 ⁻ CD56 ⁻ CD16 ⁻ HLA-DR ⁻ CD33 ⁺ CD11b ⁺ CD15 ⁻ CD14 ⁺ |
| 早期阶段髓源性抑制细胞 | CD45 ⁺ CD3 ⁻ CD19 ⁻ CD20 ⁻ CD56 ⁻ CD16 ⁻ HLA-DR ⁻ CD33 ⁺ CD11b ⁺ CD15 ⁻ CD14 ⁻ |



注:CD16、CD56在同一荧光检测通道;CD3、CD19和/或CD20在同一荧光检测通道

图 4 流式细胞术鉴定全骨髓源性抑制细胞亚群的设门流程

胞群体,同时去除细胞碎片和死细胞。

2. 门 1 内通过前向角散射面积 (forward scatter-area, FSC-A) 和前向角散射高度 (forward scatter-height, FSC-H) 组合圈出单个细胞群体 (门 2), 去除粘连细胞。

3. 门 2 内利用 CD45 和 SSC, 圈选 CD45⁺ 细胞群。

4. 利用 CD45 和 SSC, 反向设门排除嗜碱性粒细胞。

5. 利用淋巴细胞系标志物 (CD3、CD19 和/或 CD20) 和 SSC 圈选淋巴系标志物阴性细胞群。

6. 利用 CD16、CD56 和 SSC 圈选 CD16⁻CD56⁻ 细胞群, 以排除中性粒细胞及 NK 细胞。

7. 利用 HLA-DR 和 FSC 圈选 HLA-DR⁻ 细胞群。

8. 利用嗜酸性粒细胞的高自发荧光特性 (荧光

通道可选择 V500-C/PE-CF594/PE/PerCP/PE-Cy5.5 等), 结合 SSC 圈选阴性群体, 以排除嗜酸性粒细胞。

9. 利用 CD33 和 CD11b 圈选 CD33⁺CD11b⁺ 细胞群为总 MDSC。

10. 利用 CD14 和 CD15, 圈选 CD14⁻CD15⁺ 细胞群为 PMN-MDSC, CD14⁺CD15⁻ 细胞群为 M-MDSC, CD14⁻CD15⁻ 细胞群为 e-MDSC。

上述方案为首选推荐, CD56 细胞群也可以在第 5 步中和其他淋巴细胞一并排除, 实验室可根据自身条件进行调整, 在荧光通道有限的系统中如八色平台, CD45 抗体的荧光检测通道可与检测嗜酸性粒细胞自发荧光的通道一致, 在步骤 4 利用 CD45 和 SSC, 反向设门同时排除嗜碱性粒细胞和

嗜酸性粒细胞。六色平台实验室可以仅检测总 MDSC 水平。实验室宜根据自身检测系统的配置,合理选择和搭配荧光抗体、进行正确的补偿设置、抗体滴定设置和对照设置,优化方案。

二、临床应用选择

(一)基线水平辅助评价细胞免疫功能状态,评估预后

在多种实体肿瘤中,外周血 MDSC 及其亚群的比例和绝对数显著升高^[38-43],监测外周血 MDSC 的基线水平可辅助评价细胞免疫功能状态,评估预后。不同来源的肿瘤,发生改变的 MDSC 亚群可能不同,如结直肠癌患者外周血以 PMN-MDSC 亚群升高为主^[42],而肝癌以 M-MDSC 亚群升高为主^[38]。外周血 MDSC 及其亚群的水平与多种实体肿瘤的分期、转移或复发呈正相关,可能是实体肿瘤发展的风险因素^[39-41];在 NSCLC、结直肠癌等多种实体肿瘤中与患者的预后呈负相关^[42-45]。此外,外周血 MDSC 及其亚群的基线水平还可作为免疫治疗相关伴随诊断指标,用于辅助筛选免疫治疗的潜在受益者。MDSC 是肿瘤对 ICI 出现抵抗的重要原因,其不仅具有强大的抑制细胞免疫应答的能力,还可以直接促进肿瘤血管生成、诱导缺氧。在使用 ICI 治疗的黑色素瘤、NSCLC 等多种实体肿瘤患者中,基线时外周血低水平的 MDSC,尤其是 M-MDSC 亚群与 ICI 治疗的临床获益和良好预后相关^[46-53]。

共识 6 推荐监测实体肿瘤患者外周血 MDSC 及其亚群的基线水平,用于辅助评价细胞免疫功能状态、评估预后、筛选免疫治疗受益者(证据级别:A;推荐级别:中)。

(二)动态监测辅助判断疗效,评估预后

监测肿瘤患者常规治疗前后 MDSC 及其亚群水平变化的趋势,可以辅助判断疗效,评估预后。在转移性结直肠癌和胃癌中,常规治疗后 MDSC 及其亚群水平降低与临床获益和/或良好预后呈正相关;相反,其水平升高与良好预后呈负相关^[42, 46]。

共识 7 建议监测实体肿瘤患者常规治疗前后外周血 MDSC 及其亚群水平的变化,用于辅助判断疗效、评估预后(证据级别:B;推荐级别:弱)。

细胞因子水平监测

一、检测指标和方法推荐

细胞因子是介导抗肿瘤细胞免疫应答和肿瘤

免疫抑制的重要介质,细胞因子水平监测应涵盖参与不同生物学过程的多类型,包括免疫激活因子如 IL-2、IL-12、干扰素(interferon, IFN)- γ 等、免疫抑制因子如 IL-10、转化生长因子(transforming growth factor, TGF)- β 、IL-8 等、促肿瘤因子如 IL-6、IL-8 和促炎性因子如肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 、IL-1 β 、IL-6 等。由于细胞因子分泌蛋白的特性,利用流式细胞术结合流式微球阵列技术可对外周血细胞因子进行定量检测,也可以根据实验室条件选择其他方法(如化学发光)。由于不同方法的检测结果具有一定差异,在不同时间点对同一患者细胞因子水平进行监测时,建议使用同一方法和同一标本类型。某些细胞因子如 IL-8,在血清标本中容易随着时间的变化出现升高,建议标本类型首选抗凝血浆,并且在离体 4 h 内及时检测或及时分离血浆保存后检测。检测的细胞因子宜包括 IL-2、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12、IL-1 β 、TNF- α 、IFN- γ 、TGF- β 等,推荐多项细胞因子联合监测,综合评估。

二、临床应用选择

(一)辅助评价细胞免疫功能状态,评估预后

多种实体肿瘤患者外周血中免疫抑制细胞因子和促肿瘤细胞因子 IL-6、IL-8、IL-10、TGF- β 等水平增高^[54-56];免疫激活细胞因子如 IL-12 水平下降^[56]。同时,在多种实体肿瘤中,外周血免疫抑制细胞因子和促肿瘤细胞因子如 IL-6、IL-8、IL-10 等的基线水平与肿瘤分期、肿瘤大小、疾病进展等呈正相关,与患者预后呈负相关^[54-57]。

共识 8 推荐联合监测实体肿瘤患者基线时外周血参与不同生物学过程的多类型的细胞因子包括 IL-6、IL-8、IL-10、TGF- β 、IL-12 等的水平,尤其是免疫抑制细胞因子和促肿瘤细胞因子 IL-6、IL-8,用于辅助评价细胞免疫功能状态、评估预后(证据级别:A;推荐级别:强)。

(二)辅助 ICI 疗效监测,评估预后

在 ICI 治疗的多种实体肿瘤中,外周血免疫抑制细胞因子和促肿瘤细胞因子基线水平与预后呈负相关,以 IL-6 为主;同样,治疗过程中免疫抑制细胞因子和促肿瘤细胞因子降低或保持在低水平,与持续临床获益和良好预后相关,以 IL-6、IL-8 为主^[9, 58-60]。

共识 9 对于 ICI 治疗的实体肿瘤患者,推荐动态监测外周血免疫抑制细胞因子和促肿瘤细胞因子的水平,尤其是 IL-6、IL-8,用于辅助筛选免疫治疗潜在受益者、监测疗效、评估预后(证据级别:

A; 推荐级别: 强)。

(三) 辅助监测 irAE 发生

在多种实体肿瘤中, 外周血免疫激活因子如 IL-2、IL-12, 促炎性因子 IL-1 β 等的基线水平与 irAE 的发生呈正相关; 治疗过程中促炎性因子水平升高与 irAE 的发生亦相关, 以 IL-6 为主^[61-64]。细胞因子风暴是一种危及生命的 irAE。IL-6 是发生细胞因子风暴的关键因子, T 细胞过度活化后释放 IFN- γ 和 TNF- α , 促进多种免疫细胞大量释放 IL-6, 同时以正反馈方式继续活化 T 细胞, 从而出现细胞因子 TNF- α 、IFN- γ 、IL-2、IL-1 β 、IL-10 等大量释放, 导致多器官功能障碍。在报道出现细胞因子风暴的 PD-1/PD 配体 1 (PD ligand 1, PD-L1) 抑制剂免疫治疗的肿瘤患者中, 几乎均出现外周血 IL-6 水平的增高, 大多伴随其他细胞因子如 TNF- α 、IFN- γ 、IL-10 等的增高^[65-68]。

共识 10 对于 ICI 治疗的实体肿瘤患者, 推荐动态监测细胞免疫功能相关细胞因子包括 IL-6、IL-2、IL-1 β 、IL-12 等的水平, 用于预测 irAE; 出现 IL-6 水平大幅增高, 并伴有其他细胞因子如 TNF- α 、IFN- γ 、IL-2、IL-1 β 和 IL-10 的增高, 应警惕细胞因子风暴的发生 (证据级别: A; 推荐级别: 强)。

综上, 本共识对外周血细胞免疫功能实验室检测指标在实体肿瘤中的临床应用选择建议见表 5。

结语和展望

宿主细胞免疫功能与实体肿瘤的发生发展和治疗转归密切相关, 但基于外周血的细胞免疫功能评估用于指导肿瘤免疫治疗监测尚处于起步阶段。本共识根据国内外研究数据, 对外周血细胞免疫功能监测在实体肿瘤诊疗中的应用进行了归纳, 提出 T 淋巴细胞亚群精细分型, MDSC 亚群分析和细胞因子水平监测三类指标, 并就其检测标志物、检测方案或方法及临床应用作出推荐, 以期指导临床合理选择免疫指标, 综合评估外周血细胞免疫功能, 辅助实体肿瘤的精确诊疗。但是, 受现有研究规模限制以及各研究间结果差异, 本共识尚不适合推荐统一的参考区间和临界值, 建议实验室建立和/或验证个性化的参考区间及评价体系, 必要时设立与年龄相关的参考区间。随着循证证据的完善和单细胞测序、T 细胞受体测序等检测技术的成熟应

用, 更多的外周血细胞免疫标志物如 T 细胞受体多样性、Th 亚群平衡性等将有望应用于临床。树突状细胞对于细胞免疫应答至关重要, 但其主要通过淋巴导管在淋巴结和肿瘤组织中循环, 外周血含量低, 肿瘤引流淋巴结更适合作为其检测标本。基于外周血细胞免疫功能评估参数的复杂性, 建立外周血细胞免疫功能综合评估模型将具有更好的应用前景。

执笔人: 肖琳 (国家癌症中心/国家肿瘤临床医学研究中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院检验科), 张子宁 (国家医学检验临床医学研究中心/中国医科大学附属第一医院), 王卉 (河北燕达陆道培医院检验科), 王蓓雨 (复旦大学附属中山医院检验科), 褚帅 (南方医科大学南方医院检验医学学科)

证据搜集人: 汪峰 (华中科技大学同济医学院附属同济医院检验科), 于建春 (天津中医药大学第一附属医院肿瘤科)

专家组成员 (按姓氏汉语拼音排序): 阿祥仁 (青海省人民医院/青海省临床检验中心), 陈凯 (苏州大学附属第一医院肿瘤科), 陈曼 (河北燕达陆道培医院检验科), 池沛冬 (中山大学肿瘤防治中心检验科), 褚倩 (华中科技大学同济医学院附属同济医院肿瘤科), 褚帅 (南方医科大学南方医院检验医学学科), 崔巍 (国家癌症中心/国家肿瘤临床医学研究中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院检验科), 丁海涛 (内蒙古自治区人民医院/内蒙古自治区肿瘤医院临床检验医学中心), 高红军 (中国医学科学院肿瘤医院山西医院/山西省肿瘤医院医学检验部), 顾兵 (广东省人民医院检验科), 关明 (复旦大学附属华山医院检验科), 关秀茹 (哈尔滨医科大学附属第一医院检验科), 郭玮 (复旦大学附属中山医院检验科), 胡敏 (中南大学湘雅二医院检验医学学科), 蒋黎 (四川省医学科学院·四川省人民医院/四川省临床检验中心), 李传保 (北京医院检验科/国家老年医学中心/中国医学科学院老年医学研究院), 李敏 (上海交通大学医学院附属仁济医院检验科), 廖正凯 [武汉大学中南医院肺部肿瘤(放疗)科], 刘德林 (江苏省肿瘤医院肿瘤内科), 刘贵建 (中国中医科学院广安门医院), 刘天懿 (解放军总医院第五医学中心肿瘤医学部研究所), 刘向祎 (首都医科大学附属北京同仁医院检验科), 刘雨桃 (国家癌症中心/国家肿瘤临床医学研究中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院内科), 欧启水 (福建医科大学附属第一医院检验科), 欧阳涓 (中山大学附属第一医院医学检验科), 彭明婷 (国家卫生健康委临床检验中心), 齐军 (中国医学科学院肿瘤医院深圳医院检验科), 秦雪 (广西医科大学第一附属医院检验科), 屈晨雪 (北京大学第一医院检验科), 曲秀娟 (中国医科大学附属第一医院肿瘤内科), 任丽 (天津医科大学肿瘤医院检验科), 尚红 (国家医学检验临床医学研究中心/中国医科大学附属第一医院), 沈立松 (上海交通大学医学院附属新华医院检验科), 孙芾 (北京和睦家医院有限公司检验

表 5 外周血细胞免疫功能实验室检测指标在实体肿瘤中的临床应用选择建议

| 临床应用 | 检测指标 | 分子标志物推荐 | 评估时机 | 证据级别 | 推荐级别 |
|--|---|---|--|---------------|------|
| 辅助评价实体肿瘤患者细胞免疫功能状态, 评估预后 | CD3 ⁺ T、CD4 ⁺ T、CD8 ⁺ T 细胞的绝对数 | CD3/CD4/CD8 | 基线 | B | 强 |
| | 调节性 T 细胞的比例 | CD3/CD4/CD25/CD127 | 基线 | B | 中 |
| | CD28 ⁺ CD8 ⁺ T 细胞的比例 | CD3/CD8/CD28 | 基线 | B | 中 |
| | 髓源性抑制细胞及其亚群的水平 | CD45/CD3/CD19 和/或 CD20/CD56/CD16/HLA-DR/CD33/CD11b/CD15/CD14 | 基线 | A | 中 |
| | 髓源性抑制细胞及其亚群水平的变化 | CD45/CD3/CD19 和/或 CD20/CD56/CD16/HLA-DR/CD33/CD11b/CD15/CD14 | 监测治疗过程变化趋势 | B | 弱 |
| | 细胞因子的水平 | 联合监测 IL-6/IL-8/IL-10/TGF-β/IL-12 等 | 基线 | A | 强 |
| 辅助监测实体肿瘤患者免疫检查点抑制剂治疗疗效 | CD4 ⁺ T、CD8 ⁺ T 细胞分化亚群的比例 | CD3/CD4/CD8/CD45RA/CCR7/CD95/CD28/CD27 ^a | 基线 | A | 强 |
| | PD-1 在 CD4 ⁺ T、CD8 ⁺ T 细胞分化亚群的表达和相对比例 | CD3/CD4/CD8/CD45RA/CCR7/PD-1/CD28/CD27 | 基线 | A | 强 |
| | 髓源性抑制细胞及其亚群的水平 | CD45/CD3/CD19 和/或 CD20/CD56/CD16/HLA-DR/CD33/CD11b/CD15/CD14 | 基线 | A | 中 |
| | CD4 ⁺ T、CD8 ⁺ T 细胞分化亚群的活化和增殖程度 | CD3/CD4/CD8/CD45RA/CCR7/CD38/HLA-DR ^b , 和/或 CD3/CD4/CD8/CD45RA/CCR7/ Ki-67 | 监测治疗过程变化趋势 | B | 中 |
| | PD-1 ⁺ T 细胞分化亚群的活化和增殖程度 | CD3/CD4/CD8/CD45RA/CCR7/PD-1/CD28/CD27/Ki-67 ^c | 监测治疗过程变化趋势 | A | 中 |
| | 衰老 CD4 ⁺ T、CD8 ⁺ T 细胞的比例 | CD3/CD4/CD8/CD28/CD57 | 基线和监测治疗过程变化趋势 | B | 中 |
| | 细胞因子的水平 | IL-6/IL-8 | 基线和监测治疗过程变化趋势 | A | 强 |
| | 辅助监测免疫检查点抑制剂治疗的实体肿瘤患者免疫相关不良反应的发生 | 细胞因子的水平 | 联合监测 IL-2、IL-6、IL-10、IL-12、IL-1β、TNF-α、IFN-γ 等 | 基线和监测治疗过程变化趋势 | A |
| CD4 ⁺ T、CD8 ⁺ T 细胞的活化程度 | | CD3/CD4/CD8/CD38/HLA-DR ^b | 监测治疗过程变化趋势 | B | 中 |
| CD4 ⁺ T、CD8 ⁺ T 细胞分化亚群 T _{EM} 的比例 | | CD3/CD4/CD8/CD45RA/CCR7/CD28/CD27 ^a | 基线 | B | 中 |
| 调节性 T 细胞的比例 | | CD3/CD4/CD25/CD127 | 基线 | C | 弱 |

注:^aCD28 和 CD27 不是必须加入, 推荐有条件的实验室加入 CD28 和 CD27 进行更为精细的分化亚群分型;^b在检测 CD4⁺T、CD8⁺T 细胞活化时, 推荐 CD38 和 HLA-DR 同时使用, 在分化标志物 CD45RA/CCR7 存在的情况下, 不满足条件的实验室可以选择 CD38 和 HLA-DR 其中之一, 但注意单独使用 CD38 应尽量跟分化标志物 CD45RA/CCR7 搭配使用;^c首选 Ki-67 检测增殖, 也可更换为活化指标 CD38

科), 唐古生(海军军医大学第一附属医院血液科), 田建辉(上海中医药大学附属市中医医院肿瘤临床医学中心), 王蓓丽(复旦大学附属中山医院检验科), 王昌敏(新疆维吾尔自治区人民医院检验科), 王传新(山东大学第二医院检验医学中心), 汪峰(华中科技大学同济医学院附属同济医院检验科), 王卉(河北燕达陆道培医院检验科), 王伟(贵州医科大学附属医院肿瘤医院医学检验科), 王玮(南方医科大学南方医院放疗科), 吴雨洁(江苏省人民医院血液科), 肖琳(国家癌症中心/国家肿瘤临床医学研究中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院检验科), 许青霞(郑州大学附属肿瘤医院/河南省肿瘤医院检验科), 杨哲(山东第一医科

大学附属省立医院肿瘤放疗科), 应斌武(四川大学华西医院实验医学科), 于建春(天津中医药大学第一附属医院), 岳保红(郑州大学第一附属医院检验科), 张华(贵州省人民医院检验科), 张金艳(河北医科大学第四医院检验科), 张钧(浙江大学医学院附属邵逸夫医院检验科), 张力图(广西医科大学附属肿瘤医院实验研究部), 张新(新疆生产建设兵团医院检验科), 张子宁(国家医学检验临床医学研究中心/中国医科大学附属第一医院), 张义(山东大学齐鲁医院检验科), 郑磊(南方医科大学南方医院检验医学科), 周琳(海军军医大学第二附属医院检验科), 朱杰(大连医科大学附属第二医院流式细胞检测中心), 朱明清(国家血液

系统疾病临床医学研究中心/苏州大学附属第一医院江苏省血液研究所)

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

参 考 文 献

- [1] Hiam-Galvez KJ, Allen BM, Spitzer MH. Systemic immunity in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21(6): 345-359. DOI: 10.1038/s41568-021-00347-z.
- [2] Oras A, Quirant-Sanchez B, Popadic D, et al. Comprehensive flow cytometric reference intervals of leukocyte subsets from six study centers across Europe [J]. *Clin Exp Immunol*, 2020, 202(3): 363-378. DOI: 10.1111/cei.13491.
- [3] 中华人民共和国卫生部. WS/T 360-2011 流式细胞术检测外周血淋巴细胞亚群指南[S].北京:中国标准出版社,2011.
- [4] Xia Y, Li W, Li Y, et al. The clinical value of the changes of peripheral lymphocyte subsets absolute counts in patients with non-small cell lung cancer[J]. *Transl Oncol*, 2020, 13(12):100849. DOI: 10.1016/j.tranon.2020.100849.
- [5] Liu A, Xia Y, Li W, et al. The predictive value of changes in the absolute counts of peripheral lymphocyte subsets for progression and prognosis in breast cancer patients[J]. *Contrast Media Mol Imaging*, 2022, 2022: 3444360. DOI: 10.1155/2022/3444360.
- [6] Zhang L, Chen X, Zu S, et al. Characteristics of circulating adaptive immune cells in patients with colorectal cancer [J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 18166. DOI: 10.1038/s41598-022-23190-0.
- [7] Wang YY, Zhou N, Liu HS, et al. Circulating activated lymphocyte subsets as potential blood biomarkers of cancer progression[J]. *Cancer Med*, 2020, 9(14): 5086-5094. DOI: 10.1002/cam4.3150.
- [8] Molling JW, Langius JA, Langendijk JA, et al. Low levels of circulating invariant natural killer T cells predict poor clinical outcome in patients with head and neck squamous cell carcinoma[J]. *J Clin Oncol*, 2007, 25(7): 862-868. DOI: 10.1200/JCO.2006.08.5787.
- [9] Damuzzo V, Solito S, Pinton L, et al. Clinical implication of tumor-associated and immunological parameters in melanoma patients treated with ipilimumab[J]. *Oncoimmunology*, 2016, 5(12): e1249559. DOI: 10.1080/2162402X.2016.1249559.
- [10] Molling JW, Kölgen W, van der Vliet HJ, et al. Peripheral blood IFN-gamma-secreting Valpha24+Vbeta11+ NKT cell numbers are decreased in cancer patients independent of tumor type or tumor load[J]. *Int J Cancer*, 2005, 116(1): 87-93. DOI: 10.1002/ijc.20998.
- [11] Melo AM, Conroy MJ, Foley EK, et al. CD1d expression and invariant natural killer T-cell numbers are reduced in patients with upper gastrointestinal cancers and are further impaired by commonly used chemotherapies[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2020, 69(6): 969-982. DOI: 10.1007/s00262-020-02514-x.
- [12] Eberst G, Vernerey D, Laheurte C, et al. Prognostic value of CD4+ T lymphopenia in non-small cell lung cancer[J]. *BMC Cancer*, 2022, 22(1): 529. DOI: 10.1186/s12885-022-09628-8.
- [13] Schneiders FL, de Bruin RC, van den Eertwegh AJ, et al. Circulating invariant natural killer T-cell numbers predict outcome in head and neck squamous cell carcinoma: updated analysis with 10-year follow-up[J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(5):567-570. DOI: 10.1200/JCO.2011.38.8819.
- [14] Liu X, Yu H, Yan C, et al. Plasmacytoid dendritic cells and ICOS(+) regulatory T cells predict poor prognosis in gastric cancer: a pilot study[J]. *J Cancer*, 2019, 10(26): 6711-6715. DOI: 10.7150/jca.34826.
- [15] Liu C, Sun B, Hu X, et al. Stereotactic ablative radiation therapy for pulmonary recurrence-based oligometastatic non-small cell lung cancer: survival and prognostic value of regulatory T cells[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2019, 105(5):1055-1064. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2019.08.012.
- [16] Hasegawa T, Suzuki H, Yamaura T, et al. Prognostic value of peripheral and local forkhead box P3(+) regulatory T cells in patients with non-small-cell lung cancer[J]. *Mol Clin Oncol*, 2014, 2(5): 685-694. DOI: 10.3892/mco.2014.299.
- [17] Patil RS, Shah SU, Shrikhande SV, et al. IL17 producing $\gamma\delta$ T cells induce angiogenesis and are associated with poor survival in gallbladder cancer patients[J]. *Int J Cancer*, 2016, 139(4):869-881. DOI: 10.1002/ijc.30134.
- [18] Xu X, Wei F, Xiao L, et al. High proportion of circulating CD8+ CD28- senescent T cells is an independent predictor of distant metastasis in nasopharyngeal carcinoma after radiotherapy[J]. *J Transl Med*, 2023, 21(1):64. DOI: 10.1186/s12967-023-03912-2.
- [19] Wistuba-Hamprecht K, Martens A, Heubach F, et al. Peripheral CD8 effector-memory type 1 T-cells correlate with outcome in ipilimumab-treated stage IV melanoma patients[J]. *Eur J Cancer*, 2017, 73: 61-70. DOI: 10.1016/j.ejca.2016.12.011.
- [20] Reschke R, Gussek P, Boldt A, et al. Distinct immune signatures indicative of treatment response and immune-related adverse events in melanoma patients under immune checkpoint inhibitor therapy[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(15). DOI: 10.3390/ijms22158017.
- [21] Tietze JK, Angelova D, Heppt MV, et al. The proportion of circulating CD45RO(+) CD8(+) memory T cells is correlated with clinical response in melanoma patients treated with ipilimumab[J]. *Eur J Cancer*, 2017, 75: 268-279. DOI: 10.1016/j.ejca.2016.12.031.
- [22] Zhang G, Liu A, Yang Y, et al. Clinical predictive value of naive and memory T cells in advanced NSCLC[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 996348. DOI: 10.3389/fimmu.2022.996348.
- [23] Ferrara R, Naigeon M, Auclin E, et al. Circulating T-cell immunosenescence in patients with advanced non-small cell lung cancer treated with single-agent PD-1/PD-L1 inhibitors or platinum-based chemotherapy[J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(2): 492-503. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-20-1420.
- [24] Luoma AM, Suo S, Wang Y, et al. Tissue-resident memory and circulating T cells are early responders to pre-surgical cancer immunotherapy[J]. *Cell*, 2022, 185(16):2918-2935.e29. DOI: 10.1016/j.cell.2022.06.018.
- [25] Tada H, Takahashi H, Yamada K, et al. Dynamic alterations of circulating T lymphocytes and the clinical response in patients with head and neck squamous cell carcinoma treated with nivolumab[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2022, 71(4):851-863. DOI: 10.1007/s00262-021-03042-y.
- [26] Xia L, Wang H, Sun M, et al. Peripheral CD4(+) T cell

- signatures in predicting the responses to anti-PD-1/PD-L1 monotherapy for Chinese advanced non-small cell lung cancer[J]. *Sci China Life Sci*, 2021,64(10):1590-1601. DOI: 10.1007/s11427-020-1861-5.
- [27] Arasanz H, Zuazo M, Bocanegra A, et al. Early detection of hyperprogressivedisease in non-small cell lung cancer by monitoring of systemic T cell dynamics[J]. *Cancers (Basel)*, 2020,12(2):344. DOI: 10.3390/cancers12020344.
- [28] Mazzaschi G, Facchinetti F, Missale G, et al. The circulating pool of functionally competent NK and CD8+ cells predicts the outcome of anti-PD1 treatment in advanced NSCLC[J]. *Lung Cancer*, 2019,127:153-163. DOI: 10.1016/j.lungcan.2018.11.038.
- [29] Duchemann B, Nageon M, Auclin E, et al. CD8(+)PD-1(+) to CD4(+)PD-1(+) ratio (PERLS) is associated with prognosis of patients with advanced NSCLC treated with PD- (L)1 blockers[J]. *J Immunother Cancer*, 2022, 10(2): e004012. DOI: 10.1136/jitc-2021-004012.
- [30] Inomata M, Kado T, Okazawa S, et al. Peripheral PD1-positive CD4 T-lymphocyte count can predict progression-free survival in patients with non-small cell lung cancer receiving immune checkpoint inhibitor[J]. *Anticancer Res*, 2019,39(12):6887-6893. DOI: 10.21873/anticancer.13908.
- [31] Khanniche A, Yang Y, Zhang J, et al. Early-like differentiation status of systemic PD-1(+)CD8(+) T cells predicts PD-1 blockade outcome in non-small cell lung cancer[J]. *Clin Transl Immunology*, 2022, 11(7): e1406. DOI: 10.1002/cti2.1406.
- [32] Huang AC, Postow MA, Orlowski RJ, et al. T-cell invigoration to tumour burden ratio associated with anti-PD-1 response[J]. *Nature*, 2017, 545(7652): 60-65. DOI: 10.1038/nature22079.
- [33] Kim KH, Cho J, Ku BM, et al. The first-week proliferative response of peripheral blood PD-1(+)CD8(+) T cells predicts the response to anti-PD-1 therapy in solid tumors [J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(7): 2144-2154. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-1449.
- [34] Glehr G, Riquelme P, Yang Zhou J, et al. External validation of biomarkers for immune-related adverse events after immune checkpoint inhibition[J]. *Front Immunol*, 2022, 13:1011040. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1011040.
- [35] Lozano AX, Chaudhuri AA, Nene A, et al. T cell characteristics associated with toxicity to immune checkpoint blockade in patients with melanoma[J]. *Nat Med*, 2022, 28(2): 353-362. DOI: 10.1038/s41591-021-01623-z.
- [36] Dart SJ, Cook AM, Millward MJ, et al. Changes in expression of PD-L1 on peripheral T cells in patients with melanoma and lung cancer treated with PD-1 inhibitors [J]. *Sci Rep*, 2021,11(1):15312. DOI: 10.1038/s41598-021-93479-z.
- [37] Cassetta L, Bruderek K, Skrzeczynska-Moncznik J, et al. Differential expansion of circulating human MDSC subsets in patients with cancer, infection and inflammation[J]. *J Immunother Cancer*, 2020, 8(2): e001223. DOI: 10.1136/jitc-2020-001223.
- [38] Apodaca MC, Wright AE, Riggins AM, et al. Characterization of a whole blood assay for quantifying myeloid-derived suppressor cells[J]. *J Immunother Cancer*, 2019,7(1):230. DOI: 10.1186/s40425-019- 0674-1.
- [39] Diaz-Montero CM, Salem ML, Nishimura MI, et al. Increased circulating myeloid-derived suppressor cells correlate with clinical cancer stage, metastatic tumor burden, and doxorubicin-cyclophosphamide chemotherapy[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2009, 58(1):49-59. DOI: 10.1007/s00262-008-0523-4.
- [40] Zhang B, Wang Z, Wu L, et al. Circulating and tumor-infiltrating myeloid-derived suppressor cells in patients with colorectal carcinoma[J]. *PLoS One*, 2013, 8(2):e57114. DOI: 10.1371/journal.pone.0057114.
- [41] OuYang LY, Wu XJ, Ye SB, et al. Tumor-induced myeloid-derived suppressor cells promote tumor progression through oxidative metabolism in human colorectal cancer[J]. *J Transl Med*, 2015, 13: 47. DOI: 10.1186/s12967-015-0410-7.
- [42] Limagne E, Euvrard R, Thibaudin M, et al. Accumulation of MDSC and Th17 cells in patients with metastatic colorectal cancer predicts the efficacy of a FOLFOX-bevacizumab drug treatment regimen[J]. *Cancer Res*, 2016, 76(18): 5241-5252. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-3164.
- [43] Trovato R, Fiore A, Sartori S, et al. Immunosuppression by monocytic myeloid-derived suppressor cells in patients with pancreatic ductal carcinoma is orchestrated by STAT3[J]. *J Immunother Cancer*, 2019, 7(1): 255. DOI: 10.1186/s40425-019-0734-6.
- [44] Feng PH, Lee KY, Chang YL, et al. CD14(+)S100A9(+) monocytic myeloid-derived suppressor cells and their clinical relevance in non-small cell lung cancer[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2012, 186(10): 1025-1036. DOI: 10.1164/rccm.201204-0636OC.
- [45] Fallah J, Diaz-Montero CM, Rayman P, et al. Myeloid-derived suppressor cells in nonmetastatic urothelial carcinoma of bladder is associated with pathologic complete response and overall survival[J]. *Clin Genitourin Cancer*, 2020, 18(6): 500-508. DOI: 10.1016/j.clgc.2020.03.004.
- [46] Kim HD, Ryu MH, Yoon S, et al. Clinical implications of neutrophil-to-lymphocyte ratio and MDSC kinetics in gastric cancer patients treated with ramucirumab plus paclitaxel[J]. *Chin J Cancer Res*, 2020,32(5):621-630. DOI: 10.21147/j.issn.1000-9604.2020.05.07.
- [47] Santegoets SJ, Stam AG, Loughheed SM, et al. Myeloid derived suppressor and dendritic cell subsets are related to clinical outcome in prostate cancer patients treated with prostate GVAX and ipilimumab[J]. *J Immunother Cancer*, 2014,2:31. DOI: 10.1186/s40425-014-0031-3.
- [48] Martens A, Wistuba-Hamprecht K, GeukesFoppen M, et al. Baseline peripheral blood biomarkers associated with clinical outcome of advanced melanoma patients treated with ipilimumab[J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(12): 2908-2918. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-2412.
- [49] Gebhardt C, Sevko A, Jiang H, et al. Myeloid cells and related chronic inflammatory factors as novel predictive markers in melanoma treatment with ipilimumab[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(24): 5453-5459. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-0676.
- [50] Sade-Feldman M, Kanterman J, Klieger Y, et al. Clinical significance of circulating CD33+CD11b+HLA-DR-myeloid cells in patients with stage IVmelanoma treated with ipilimumab[J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(23):

- 5661-5672. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-3104.
- [51] Meyer C, Cagnon L, Costa-Nunes CM, et al. Frequencies of circulating MDSC correlate with clinical outcome of melanoma patients treated with ipilimumab[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2014, 63(3): 247-257. DOI: 10.1007/s00262-013-1508-5.
- [52] Weber J, Gibney G, Kudchadkar R, et al. Phase I/II study of metastatic melanoma patients treated with nivolumab who had progressed after ipilimumab[J]. *Cancer Immunol Res*, 2016, 4(4): 345-353. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-15-0193.
- [53] Möller M, Turzer S, Ganchev G, et al. Blood immune cell biomarkers in lung cancer patients undergoing treatment with a combination of chemotherapy and immune checkpoint blockade[J]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(15): 3690. DOI: 10.3390/cancers14153690.
- [54] Czajka-Francuz P, Francuz T, Cisoń-Jurek S, et al. Serum cytokine profile as a potential prognostic tool in colorectal cancer patients - one center study[J]. *Rep Pract Oncol Radiother*, 2020, 25(6): 867-875. DOI: 10.1016/j.rpor.2020.08.004.
- [55] Xu J, Ye Y, Zhang H, et al. Diagnostic and prognostic value of serum interleukin-6 in colorectal cancer[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2016, 95(2): e2502. DOI: 10.1097/MD.0000000000002502.
- [56] Lippitz BE. Cytokine patterns in patients with cancer: a systematic review[J]. *Lancet Oncol*, 2013, 14(6): e218-228. DOI: 10.1016/S1470-2045(12)70582-X.
- [57] Abtahi S, Davani F, Mojtahedi Z, et al. Dual association of serum interleukin-10 levels with colorectal cancer[J]. *J Cancer Res Ther*, 2017, 13(2): 252-256. DOI: 10.4103/0973-1482.199448.
- [58] Laino AS, Woods D, Vassallo M, et al. Serum interleukin-6 and C-reactive protein are associated with survival in melanoma patients receiving immune checkpoint inhibition[J]. *J Immunother Cancer*, 2020, 8(1): e000842. DOI: 10.1136/jitc-2020-000842.
- [59] Carril-Ajuria L, Desnoyer A, Meylan M, et al. Baseline circulating unswitched memory B cells and B-cell related soluble factors are associated with overall survival in patients with clear cell renal cell carcinoma treated with nivolumab within the NIVOREN GETUG-AFU 26 study[J]. *J Immunother Cancer*, 2022, 10(5): e004885. DOI: 10.1136/jitc-2022-004885.
- [60] Baldini C, Danlos FX, Varga A, et al. Safety, recommended dose, efficacy and immune correlates for nintedanib in combination with pembrolizumab in patients with advanced cancers[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2022, 41(1): 217. DOI: 10.1186/s13046-022-02423-0.
- [61] Lim SY, Lee JH, Gide TN, et al. Circulating cytokines predict immune-related toxicity in melanoma patients receiving anti-PD-1-based immunotherapy[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(5): 1557-1563. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-2795.
- [62] Kurimoto C, Inaba H, Ariyasu H, et al. Predictive and sensitive biomarkers for thyroid dysfunctions during treatment with immune-checkpoint inhibitors[J]. *Cancer Sci*, 2020, 111(5): 1468-1477. DOI: 10.1111/cas.14363.
- [63] Tanaka R, Okiyama N, Okune M, et al. Serum level of interleukin-6 is increased in nivolumab-associated psoriasisform dermatitis and tumor necrosis factor- α is a biomarker of nivolumab recativity[J]. *J Dermatol Sci*, 2017, 86(1): 71-73. DOI: 10.1016/j.jdermsci.2016.12.019.
- [64] Husain B, Kirchberger MC, Erdmann M, et al. Inflammatory markers in autoimmunity induced by checkpoint inhibitors[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2021, 147(6): 1623-1630. DOI: 10.1007/s00432-021-03550-5.
- [65] Rotz SJ, Leino D, Szabo S, et al. Severe cytokine release syndrome in a patient receiving PD-1-directed therapy[J]. *Pediatr Blood Cancer*, 2017, 64(12): 1-5. DOI: 10.1002/pbc.26642.
- [66] Dimitriou F, Matter AV, Mangana J, et al. Cytokine release syndrome during sequential treatment with immune checkpoint inhibitors and kinase inhibitors for metastatic melanoma[J]. *J Immunother*, 2019, 42(1): 29-32. DOI: 10.1097/CJI.0000000000000236.
- [67] Honjo O, Kubo T, Sugaya F, et al. Severe cytokine release syndrome resulting in purpura fulminans despite successful response to nivolumab therapy in a patient with pleomorphic carcinoma of the lung: a case report[J]. *J Immunother Cancer*, 2019, 7(1): 97. DOI: 10.1186/s40425-019-0582-4.
- [68] Oda H, Ishihara M, Miyahara Y, et al. First case of cytokine release syndrome after nivolumab for gastric cancer[J]. *Case Rep Oncol*, 2019, 12(1): 147-156. DOI: 10.1159/000496933.

更正

中华检验医学杂志 2023 年第 46 卷第 7 期发表的“SLCO1B1 和 ApoE 基因多态性检测与他汀类药物临床应用专家共识”一文内容有误,第 676 页表 7 第 4 行第 4 列(即瑞舒伐他汀的 CPIC)“未提及”改为“A 级”;表注中加入“A 级指有处方推荐意见,换药或改变剂量高度有效安全”。第 678 页表 9 中,第 3 和第 5 行的第 2 列“E2/E2, E3/E3, E2/E4”均改为“E2/E2, E3/E3, E2/E4, E2/E3”。特此更正。

中华检验医学杂志 2023 年第 46 卷第 10 期第 1009 页表 3 中第 7 行第 4 列的 56887.0,应为 5688.7,特此更正。