肿瘤免疫治疗中日益增长的伴随诊断需求

Alex Vadas

中国的肿瘤免疫伴随诊断市场方兴未艾，受到资本和药企的广泛关注，并在近年陆续取得很多成果。肿瘤免疫治疗对伴随诊断的需求巨大，在肿瘤免疫治疗中，伴随诊断手段能够帮助确定最有可能对治疗产生响应的患者群体。然而目前的伴随诊断方法的效果并不尽如人意，这在很大程度上是因为驱使患者对治疗产生应答的生物机制十分复杂。因此，生物制药行业正在探索更多新兴的伴随诊断方法，包括与肿瘤、免疫和微生物相关的生物信号通路和生物标志物。本文主要总结了目前肿瘤免疫伴随诊断的研发热点和未来发展趋势。

肿瘤免疫治疗是肿瘤治疗方式的范式改变。第一批 PD-1/PD-L1 抑制剂，如欧狄沃（百时美施贵宝公司的纳武利尤单抗）和可瑞达（默克公司的帕博利珠单抗）的诞生，为某些转移性肿瘤（如非小细胞肺癌和黑色素瘤）患者提供了有治愈效果的药物选择。

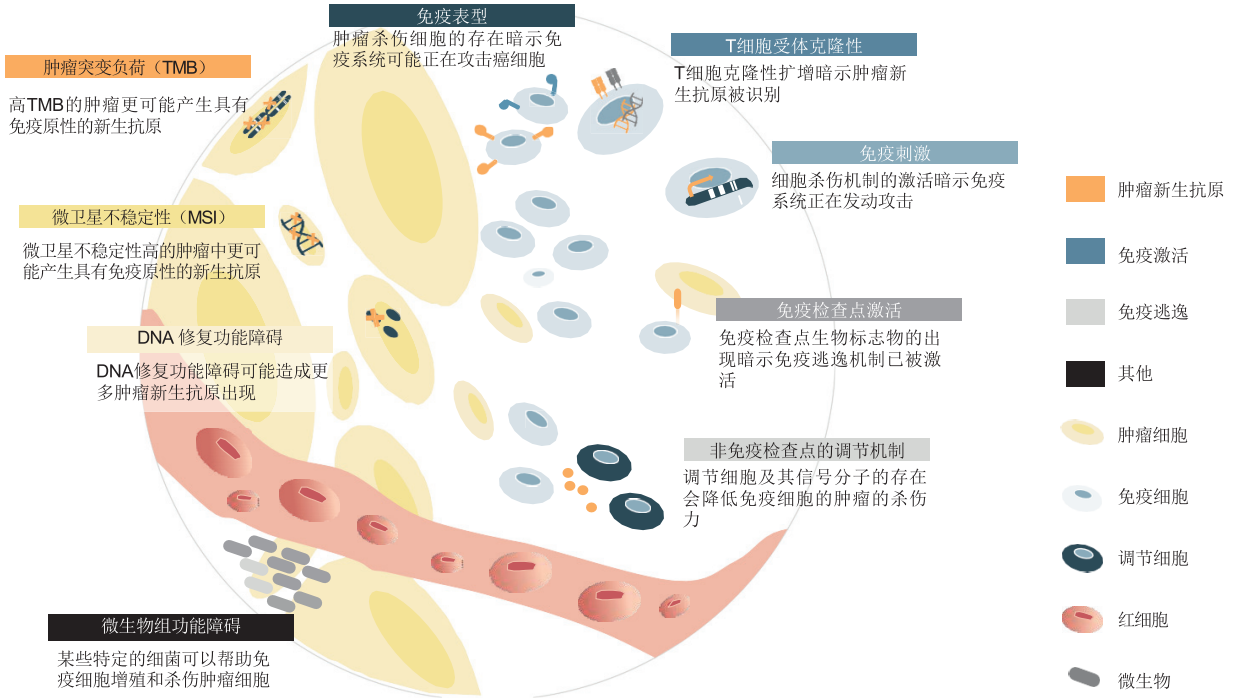
卓越的疗效促进了检查点抑制剂市场的飞速增长。分析人士预计，到 2022 年，这类药物的全球市场规模将高达 290 亿美元。检查点抑制剂为之前只能接受姑息治疗的转移性肿瘤患者带来了希望。

检查点抑制剂的疗效显著，但也有缺点。比如肿瘤患者的应答率仍然只达到平均 20%-30% 的水平（虽然已发表的学术文章显示患者对不同肿瘤类型的应答率有显著差异），患者的应答时间还有可能会推迟，这对于晚期转移性肿瘤患者而言非常不利。

检查点抑制剂也有明显的副作用，尤其是在与其他药物（例如 CTLA-4 抗体）联合用药时，而这种联合用药的做法在行业中十分普遍。检查点抑制剂的成本（美国单药治疗每年的费用高达 15 万美元）也为医疗体系和医保支付方带来了重大经济负担。此外，接受过检查点抑制剂治疗的患者可能会失去参加其他肿瘤免疫治疗的临床试验的机会。

目前，PD-1/PD-L1 免疫组化检测（IHC）可作为许多已获批适应症的伴随诊断或补充诊断，但在多数情况下，PD-1/PD-L1 免疫组化检测对患者的应答的预测能力非常有限。尽管 PD-1/PD-L1 免疫组化检测广泛地为医师所采纳，但是医生使用检查点抑制剂往往是由于缺乏其他有效的治疗手段以及患者的主动要求。因此，更优的伴随诊断方案亟待开发，以便更好地预测和监测患者对于检查点

Alex Vadas, L.E.K. 生物制药和生命科学业务的董事总经理兼合伙人。



图表 1　正在探索中的肿瘤免疫通路

资料来源：L.E.K. 分析科研文献 – Ma et al. (2016), Gulley et al. (2017)

抑制剂的应答情况以及支持患者的持续用药。

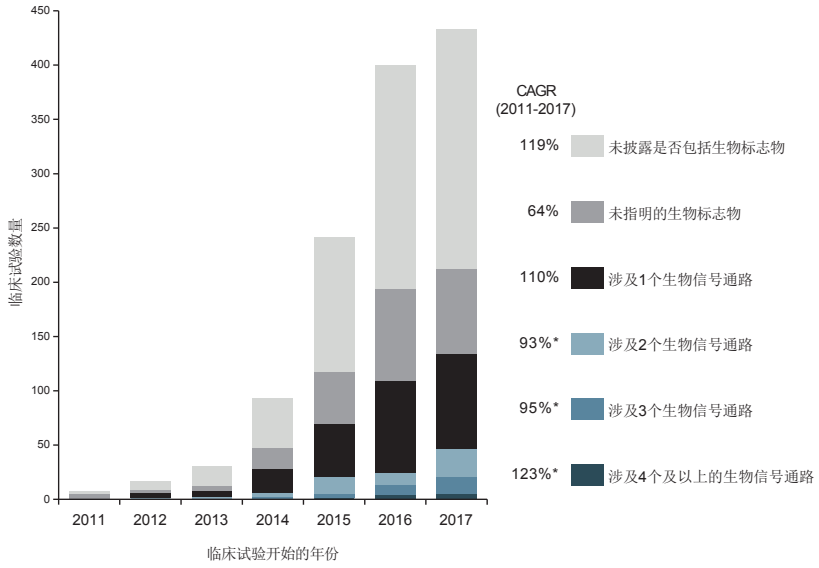
复杂的生物学机制

癌症的发生机制本身已经很复杂，再加上宿主的免疫系统和潜在的微生物组的影响，其复杂性更是大幅增加。此外，鉴于肿瘤和免疫细胞本身的异质性，我们可能需要从单个细胞的层面来理解其生物学机制。

通过对检查点抑制剂临床试验的系统性回顾，我们发现自 2011 年以来，总共有 1200 多个检查点抑制剂临床试验正在进行或已经完成。我们汇总了这些试验方案中所涉及的生物标志物水平，并对生物制药公司和学术赞助商正在探索的生物信号通路和生物标志物进行了深入研究，以生成相关洞见。

基于此项研究，实体肿瘤中的肿瘤免疫生物标志物大致被分为四类：肿瘤新生抗原——肿瘤细胞由于基因改变而产生新生抗原，这些新生抗原被免疫细胞（通过 T 细胞受体）识别，从而导致免疫细胞激活；免疫激活——识别肿瘤细胞产生的新生抗原，导致免疫细胞增殖和免疫信号通路激活；免疫逃逸——肿瘤能够通过多种机制逃避机体免疫系统的识别和攻击，如 PD-1/PD-L1 检查点机制，并招募调节细胞来抑制免疫细胞的杀伤能力；微生物组——新的证据表明微生物组也会影响肿瘤患者对检查点抑制剂的应答效果，但这些研究还处于非常早期的阶段。

目前业界正在探索多种多样的生物标志物和生物信号通路。关于肿瘤新生



注释：*涉及2、3和4个及以上的生物学路的临床试验数量的复合年增长率分别根据2012-2017和2014-2017年的数据计算

资料来源：L.E.K. 分析（clinicaltrials.gov、 AACT、Pharmaprojects）

图表 2　检查点抑制剂相关的临床试验中评估的信号通路的数量

抗原的临床试验主要侧重于肿瘤突变负荷（TMB）、微卫星不稳定性（MSI）和DNA 修复功能障碍。这三种方法都基于一个前提，即肿瘤的突变越多或基因不稳定程度越高，其被免疫系统的识别出来的可能性越大。通过学术界和临床诊断实验室（如 Foundation Medicine Inc.）的共同合作，TMB 作为可以预测患者对检查点抑制剂的应答反应的生物标志物很快获得了广泛研发关注和投资。

免疫激活类标志物的研究主要集中在对杀伤肿瘤的免疫细胞（如 CD8+T 细胞等）及其克隆性扩增的检测。免疫激活的出现暗示免疫系统已经识别出并准备攻击肿瘤。过去，免疫杀伤细胞的识别依赖于以细胞表面标记物为主要基础的免疫表型分析。最近的研究表明，人类白细胞抗原（HLA）的基因型也和机体对于检查点抑制剂的应答反应相关。除此以外，与免疫激活通路相关的生物标志物如 INF-γ 的表达也正在被探索，它们的出现表示机体正在进行免疫介导的癌细胞杀伤活动。

癌症的伪装机制促使我们开始研究免疫逃逸相关的生物标志物，当前与之相关的研究主要集中于检查点激活。目前癌症免疫治疗的热点是阻断 PD-1/PD-L1 的相互作用，而 PD-1 或 PD-L1 的表达水平往往与病人对于检查点抑制剂的应答水平相关。业界也开始着手研究通过微生物组来预测患者对 PD-1/PD-L1 抑制剂治疗的应答，这可能是基于微生物组学的伴随诊断的一个重要应用。

临床试验中对多生物标志物的评估正在增加

近年来，肿瘤相关的临床试验的数量正在快速增长，同时，另一个重要的趋势是每个试验中评估的生物标志物 / 生物学通路的数量越来越多（见图 2）。

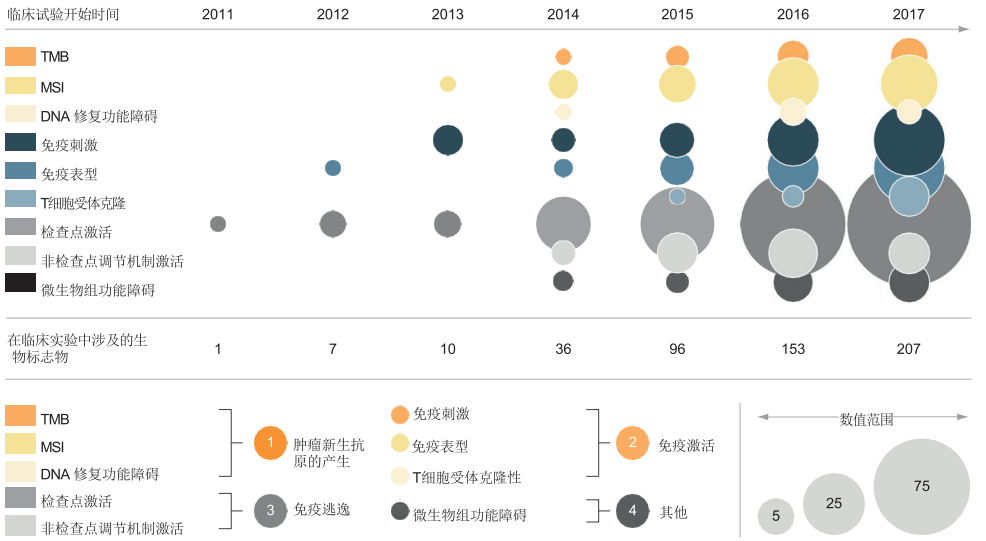
自 2015 年以来，测量 2 个或更多生物学通路的临床试验显著增加。并且这

一趋势似乎正在加速，一些试验会涉及 4 个甚至更多的通路。值得注意的是，许多试验尽管可能并没有指明研究何种生物标志物，但也要求患者提供肿瘤生物样本作为病人入组的标准。这表明无论是否指明，研究者都可以对生物标志物 / 通路进行研究，甚至将其提交给监管部门。另外需要指出的是，在临床试验中对特定通路或生物标志物进行研究，并不一定意味着该生物标志物最终将出现在药品标签上。

检查点激活的生物标志物（PD-1/PD-L1）与检查点抑制剂的治疗作用机制有直接关联，因此与之相关的研究持续增加。同时，业界也在积极探索其他的通路和生物标志物。研究免疫激活生物标志物的临床试验中包括免疫刺激、免疫表型分型（包括肿瘤浸润淋巴细胞计数）和 TCR（T 细胞受体）克隆性扩增。这些试验自 2015 年以来呈爆炸式增长。而在 2017 年启动的涉及生物标志物试验中，有 40% 都在进行相关的探索。

自 2015 年以来，肿瘤新生抗原生成的生物标志物也显著增加，主要包括 MSI 和 TMB。MSI 是两者间研究较多的生物标志物，同时也是一个更成熟的生物标志物，据此 Merck & co. 研发出首个以生物标志物定义适应症的药物。而 2015 年刚刚发现的 TMB，也已经成为多家医药公司临床试验中探索的生物标志物，包括罗氏公司和百时美施贵宝。

对非检查点调节机制相关的生物标志物的研究自 2015 年之后也有所上升，如 IDO 和 FOXP3（占 2017 年开始的临床试验的 8%）。医药界对微生物组在检查点抑制剂治疗中的作用也很感兴趣，但是目前相关临床试验占比（2017 年开展的试验中，比例 <3%）仍然较低（参见图 3）。



注释：*计算复合年增长率时采用的起始年份是2011到2014年不等，但终止年份都是2017年；**不包括13项没有起始日期的回顾性研究；如果试验中涉及的通路超过1个，则进行重复计数

资料来源：L.E.K. 分析（clinicaltrials.gov, AACT）

图表 3　不同年份开始的检查点抑制剂临床试验中评估的生物信号通路

从生物标志物临床试验的不同阶段来看，检查点激活的生物标志物是临床III期试验中研究最多的标志物，而大部分其他生物标志物则遍布各个阶段（参见图4）。

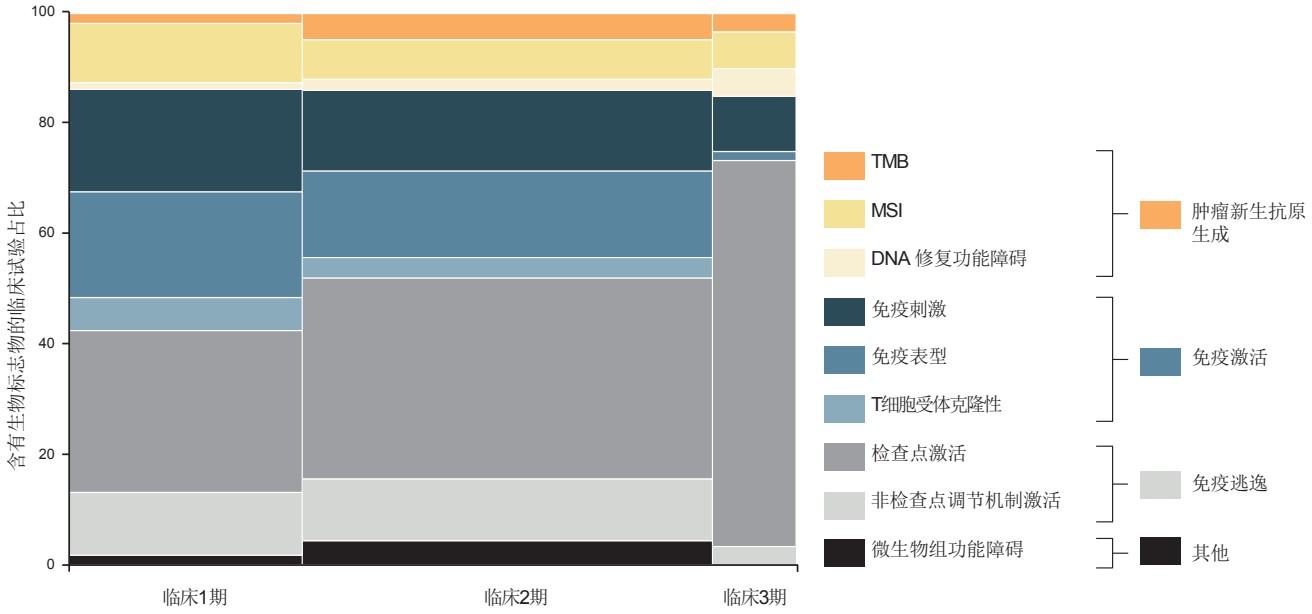
生物标志物的临床试验主要集中在非小细胞肺癌和黑色素瘤中，因为首轮获批的检查点抑制剂就是针对这两种适应症。其他有生物标志物的临床试验包括实体肿瘤如乳腺癌、头颈癌、肾癌、结直肠癌、膀胱癌和血液肿瘤。有意思的是，尽管所有的肿瘤类型中都有在研的肿瘤标志物，结直肠癌与其他肿瘤相比在研的生物标志物更多（因为结直肠癌和MSI之间的关联已得到证实），而肝细胞癌、胰腺癌和胃癌的在研生物标志物则较少。

看上去，除了少数例外，大多数肿瘤治疗都将受益于检查点抑制剂的生物标志物分析。即便如此，业界仍需要通过当前的研发浪潮来了解不同肿瘤类型和适应症中哪种生物标志物最有效（见图5）。

未来可能出现的结果是，无论哪种肿瘤都需要研究多种通路和生物标志物，并通过了解肿瘤的生物学特征、宿主免疫系统、甚至微生物组以制定因人而异的肿瘤免疫治疗方案。

二代测序和大数据正在加速生物标志物的创新周期

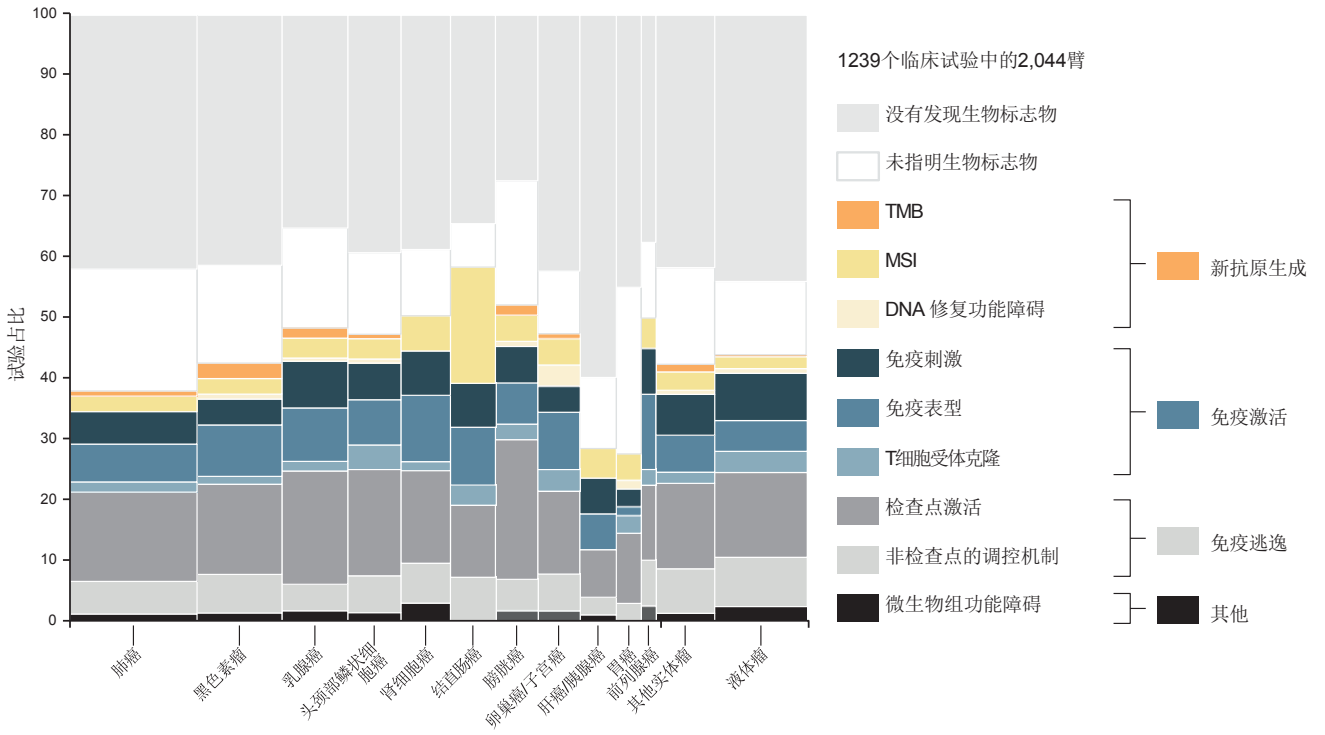
鉴于生物标志物（DNA、RNA、蛋白质）的数量和类型众多，临床中也正在探索多样的诊断模式，包括二代测序（NGS）、实时荧光定量PCR（qPCR）、NanoString Technologies Inc. 的 nCounter



注释：排除2项利用真实世界证据的生物标志物的临床试验；如果试验中涉及的通路超过1个，则进行重复计数

资料来源：L.E.K. 研究与分析（clinicaltrials.gov、AACT）

图表 4　不同阶段的检查点抑制剂临床试验中评估的生物信号通路



注释：液体肿瘤包括淋巴瘤、白血病、骨髓瘤等液体肿瘤；*如果试验中涉及的通路超过1个，则进行重复计数

资料来源：L.E.K. 研究与分析（clinicaltrials.gov、AACT）

图表 5　不同肿瘤类型的检查点抑制剂临床实验中评估的生物信号通路

技术、免疫组化（IHC）和流式细胞术。NGS（包括 DNA 和 RNA 测序）可以用于大多数肿瘤免疫方面的机制和通路，其在转移性肿瘤分析中日益突出的应用可能使这项技术成为肿瘤免疫诊断领域的领跑者。然而，高参数流式细胞术和免疫组化也能在单细胞水平检测蛋白的表达，从长远来看，这两者也有望成为重要的肿瘤免疫诊断工具（见图 6）。

肿瘤免疫诊断领域另一个值得注意的地方是多参数 RNA 表达和单细胞测序的出现。多参数表达分析的优势是可以涵盖肿瘤免疫治疗中免疫激活和逃逸机制的多数通路。由于肿瘤和免疫系统都具有细胞异质性（由于肿瘤具有遗传不稳定性和免疫系统对环境的适应性），单细胞测序的研发也越发重要。

虽然与大多数用于单一靶向治疗的伴随诊断相比，用多个生物标志物来预测检查点抑制剂的治疗效果的成本不可同日而语，但对检查点抑制剂特定用途的开发使其临床和经济上带来的需求可以令这些成本得到大体消化。

需要关注的是，许多诊断提供商，包括平台公司如 Illumina Inc., Thermo Fisher Scientific Inc., HTG Molecular

生物学通路		生物系统	分析项目		生物标志物举例	关键诊断方法	
1.肿瘤新生抗原	TMB	肿瘤细胞	体细胞突变密度	DNA	TMB	NGS	
	MSI		短串联重复序列		DNA错配修复状态	NGS qPCR	
	DNA 修复功能障碍		DNA修复功能相关基因的突变		同源重组修复缺陷, POLE突变	NGS qPCR	
2.免疫激活	免疫刺激	免疫细胞	免疫细胞激活标志物的表达	RNA，蛋白质	IFNg，TNFa,，CRP，细胞因子	NGS qPCR nCounter	IHC Flow
	免疫表型				CD8，CD4，CD3，CD25，HLA	NGS qPCR nCounter	IHC Flow
	T细胞受体克隆		可变区域的克隆群体分析	DNA	T细胞受体区域	NGS	
3.免疫逃逸	检查点激活	肿瘤和免疫细胞	免疫逃逸标志物的表达	RNA，蛋白质	肿瘤细胞靶点：PD-L1，PD-L2，TAA，Ki67 免疫细胞靶点：CTLA-4，PD-1，LAG-3	NGS qPCR nCounter	IHC Flow
	非检查点调节机制激活				肿瘤细胞靶点：IDO 免疫细胞靶点：FOXP3	NGS qPCR nCounter	IHC Flow
4.其他	微生物组失调	粪便	微生物组的构成及其遗传多样性	rRNA	16s rRNA	NGS	

注释：NGS （二代测序）, qPCR（荧光实时定量PCR）、nCounter（Nanostring Technologies）、IHC（免疫组化）、Flow （流式细胞术）

资料来源： L.E.K. 研究与分析（ clinicaltrials.gov、AACT and Pharmaprojects）

图表 6　肿瘤免疫诊断的生物标志物和诊断模式总览

Diagnostics Inc. 和 NanoStrin 等，以及临床诊断实验室如 Foundation Medicine, OmniSeq LLC 和 Caris Life Sciences 等，都在积极与制药公司合作开发跨多个通路的肿瘤免疫治疗诊断手段（见图 7）。罗斯威尔帕克癌症研究所（Roswell Park Cancer Institute）下属的一家临床实验室 OmniSeq 可提供免疫报告卡（Immune Report Card），这种免疫报告卡可以体现病人的肿瘤新生抗原生成、免疫激活和免疫逃逸等状况。OmniSeq 最近与 Laboratory Corp. of America Holdings 建立了商业合作关系，在 LabCorp 广泛渠道的帮助下，这种报告卡的使用量将有可能巨幅增加。

NGS 可以对肿瘤进行全面的基因组检测，这加速了生物标志物的创新周期。目前美国有 10%–20% 的转移性肿瘤患者接受了 NGS 检测。根据 L.E.K. 的研究，这个数字预计在未来 3–5 年内会增加 2–3

倍，这意味着每年有数十万例患者会接受NGS检测。

许多NGS供应商正在构建包含基因组学、临床和治疗数据的大型数据库，这使得研究者可直接从真实的临床病例中发现和回顾性验证新的生物标志物。大量的真实病例不仅可以帮助验证新的生物标志物的临床价值（这是传统的临床试验所无法比拟的），还可以加速生物标志物纳入治疗指南和临床应用的进程，这体现了大数据在精准基因组医学中的应用。

但正如前面所强调的，这已经不再仅仅是一个概念。TMB的迅速崛起代表了肿瘤治疗的彻底转变。TMB甚至不是传统意义上的基因组生物标志物，它与特定的基因或通路无关，TMB是一种现象：肿瘤突变负荷相对较高的肿瘤（高TMB）往往对检查点抑制剂的反应更好（可能是由于肿瘤新生抗原的增加）。有趣的是，TMB还使制药和伴随诊断的先后顺序发生了倒置。传统靶向治疗模式通常是先由制药企业领导试验、开发靶点，然后生物标志物以及相关的补充/伴随诊断才能得到验证。而现在，TMB作为伴随诊断的临床研究在前，而相应的药物临床研究在后。

TMB还创造了一个良性的循环，可

		检测平台供应商						特殊实验室			
		Roche	illumina	ThermoFisher SCIENTIFIC	QIAGEN	nanoString	HTG Molecular	CARIS LIFE SCIENCES	FOUNDATION MEDICINE	halio dx	OmniSeq
公司概况	使用的检测平台	NGS, qPCR, IHC	NGS	NGS, qPCR, Flow	NGS, qPCR	nCounter	NGS	NGS, IHC, ISH	NGS	nCounter, IHC	NGS, qPCR, IHC
1.肿瘤新生抗原生成	TMB	✓	✓	✓	✓	×	✓	✓	✓	×	✓
	MSI	✓	✓	✓	✓	×	✓	✓	✓	×	✓
	DNA 修复功能障碍	×	×	✓	×	×	×	✓	✓	×	×
2.免疫激活	免疫刺激	✓	✓	✓	✓	✓	✓	×	×	✓	✓
	免疫表型	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	×	✓	✓
	T细胞受体克隆	✓	✓	✓	✓	×	×	×	×	×	×
3.免疫逃逸	检查点激活	✓	×	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	非检查点调节机制	×	×	×	×	✓	✓	×	×	✓	✓
4.其他	微生物组功能障碍	×	✓	✓	✓	×	×	×	×	×	×

注释：NGS（二代测序）、qPCR（荧光实时定量PCR）、nCounter（Nanostring Technologies）、ISH（原位杂交）、IHC（免疫组化）

资料来源：公司网址、L.E.K. 研究与分析

图表7　领先的免疫肿瘤诊断公司

能促进未来发现新的、更精细的生物标志物。测量 TMB 需要利用 NGS，随着 TMB 检测的常规化，NGS 也会因此而被更为广泛地采用。此外，NGS 测序的基因位点组合还在继续增加，而 Flatiron Health Inc. 和 COTA Inc. 等公司对医疗数据的数字化正在创造大量可挖掘的数据集。

肿瘤免疫治疗的基础是肿瘤细胞增殖和免疫系统之间的生物学原理，这意味着从长远来看，更全面的生物标志物诊断策略可能会占上风，但其发展仍需要时间。

未来行业需要推动标准化进程

肿瘤免疫的伴随诊断离成熟还有很长的距离，而在这一过程中，正如前面所讨论的，还需要科学发展和更多临床试验证据的支持。肿瘤免疫诊断未来发展方向有很多，未来的肿瘤免疫诊断是会采用极简策略，依赖少数但高度可预测的生物标志物，还是会采用更全面的策略，分析尽可能多的通路？肿瘤免疫治疗的基础是肿瘤细胞增殖和免疫系统之间的生物学原理，这意味着从长远来看，更全面的生物标志物诊断策略可能会占上风，但其发展仍需要时间。

此外，行业需要推动标准化进程，不仅是在评估通路和生物标志物方面，还包括对评估结果的解读，比如确定生物标志物升高 / 阳性结果的阈值。还需要制定评估的样本之间的标准化和一致性，包括了解细胞异质性（肿瘤细胞和免疫细胞）以及细胞组织样本与生物体液样本之间的异质性（包括循环肿瘤细胞、外周血免疫细胞、无细胞组分、外泌体等）。

行业内也希望最终建立统一的测试标准，而不是每种治疗方案都各自使用不同的测试。要实现这个目标，整个行业必须进行协作。参考其他诊断市场来看，预计将会有 3–5 个主要竞争者成为行业的领头羊。

另外业界还需扩大这些新诊断方法的可及性。如今，许多新兴的肿瘤免疫诊断测试需要专门的仪器和操作人员花费数周的时间来处理和分析，且不能进行医保报销。但随着行业规模的扩大，这种状况需要改变，以便将肿瘤免疫诊断更好地整合进临床治疗决策和医疗经济体系中。

生物制药公司需要适应这种高速的生物标志物的发展模式。制药公司如果想要跟上发展态势，就不能只是被动等待生物标志物批准，否则公司很可能会陷入无休止的追赶模式。

可取的策略是在一开始就积极评估多种通路和生物标志物，利用篮式试验争取附条件的快速审批，根据患者独特的（且不断变化的）生物标志物来匹配治疗方案。生物制药公司还需要在公司组织架构上进行调整，将生物标志物 / 诊断小组嵌入在临床开发和商业部门中，并和专业诊断公司建立广泛的合作，将创建行业标准统一的诊断解决方案作为最终目标。生物标志物的发展会影响肿瘤免疫诊断和治疗的定价和保险报销，因此公司也需要积极考虑生物标志物的市场准入和定价策略。

就像人体免疫系统一样，监管机构也需具备前瞻思维，根据外界变化进行调整，这样才能使肿瘤免疫治疗和伴随诊断充分发挥其潜力。