

膀胱癌免疫治疗相关生物标志物的真实世界研究

万俊彦 马涛 卢小娟 杜友怀 牡丹^{*通讯作者}

(四川省乐山市人民医院泌尿外科 四川乐山 614000)

【摘要】目的 本研究旨在探讨膀胱癌术后使用免疫治疗中,相关生物标志物预测预后的真实世界。方法 回顾性收集本中心接受根治性膀胱切除术后采用免疫检查点抑制剂(ICIs)治疗的膀胱癌患者临床数据,分析程序性死亡配体1(PD-L1)、肿瘤突变负荷(TMB)、Ascore及甲基化标志物(NRN1、GALR1、HAND2)与治疗结局之间的关联。结果 Ascore在预测免疫治疗反应上效果最佳(AUC=0.896),明显超过PD-L1(AUC=0.658)。结论 该研究为膀胱癌免疫治疗生物标志物在实际临床中的应用提供了真实依据,支持构建分阶段检测流程来优化治疗方案。

【关键词】膀胱癌;免疫疗法;生物标志物;真实世界数据;PD-L1;Ascore

Real-World Studies on Biomarkers Related to Immunotherapy in Bladder Cancer

Wan Junyan Ma Tao Lu Xiaojuan Du Youhuai Du Dan^{*(corresponding author)}

(Department of Urology, Leshan People's Hospital, Sichuan Province, Leshan Sichuan 614000)

[Abstract] Objective This study aims to investigate the real-world study of the prediction of prognosis by biomarkers in the use of immunotherapy after surgery for bladder cancer. Methods The clinical data of bladder cancer patients treated with immune checkpoint inhibitors (ICIs) after radical cystectomy were retrospectively collected, and the association between programmed cell death ligand 1 (PD-L1), tumor mutational burden (TMB), Ascore and methylation markers (NRN1, GALR1, HAND2) and treatment outcomes was analyzed. Results Ascore has the best effect in predicting immunotherapy response (AUC=0.896), significantly surpassing PD-L1 (AUC=0.658). Conclusion This study provides a real basis for the application of biomarkers of bladder cancer immunotherapy in actual clinical practice, and supports the construction of a phased detection process to optimize treatment plans.

[Key words] Bladder cancer; Immunotherapy; Biomarkers; Real-world data; PD-L1; Ascore

膀胱癌在全球恶性肿瘤发病率排名中位列第十,其中肌肉浸润性膀胱癌预后不容乐观,术后5年复发率高达50%。近年来,免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors, ICIs)在膀胱癌治疗领域成效显著,特别是程序性死亡受体1(programmed cell death 1, PD-1)和程序性死亡配体1(programmed cell death ligand 1, PD-L1)抑制剂,已成为晚期膀胱癌治疗的重要手段^[1]。但在实际临床中,因为免疫治疗药物价格昂贵,甚至可能会出现免疫相关毒副反应(比如超进展、免疫相关心肌炎、免疫相关肺炎等)^[2], ICIs使用并不广泛。我们也观察到了,在使用免疫治疗的患者中,并不是所有的患者对免疫治疗均有有效的反应,如何精准筛选出潜在的免疫治疗受益患者,使患者在接受精准治疗时,不仅带来有效的获益,而且避免带来额外的费用,是我们面

临的难题,也是我们一直在致力解决的困难。

目前,PD-L1表达、肿瘤突变负荷(tumor mutational burden, TMB)、微卫星不稳定性(microsatellite instability, MSI)等已被尝试作为膀胱癌免疫治疗的预测标志物,但這些标志物在真实临床中的表现仍需进一步验证^[3]。近年来,新型生物标志物如Ascore(一种基于失巢凋亡相关基因的评分系统)和尿液甲基化标志物(NRN1、GALR1、HAND2)显示出较好的应用潜力。本研究通过整合多家医疗中心的真实世界数据,系统评估多种生物标志物在膀胱癌ICIs治疗中的预测价值,为临床个体化治疗提供参考^[4]。

1 资料与方法

1.1 研究对象

本研究为多中心回顾性队列研究,研究对象为 2018 年 1 月至 2025 年 1 月期间,接受 ICLs 治疗的膀胱癌患者 78 例。

1.2 纳入标准与排除标准

纳入标准:①经病理检查确诊为膀胱癌;②接受 PD-1/PD-L1 抑制剂单药治疗或联合治疗;③具备完整的生物标志物检测数据;④临床资料完整,随访时间不少于 6 个月。排除标准:①同时患有其他恶性肿瘤;②既往接受过免疫治疗;③存在严重自身免疫性疾病;④临床数据不完整。

1.3 生物标志物检测

(1)PD-L1 检测:采用 28-8 抗体(DAKO)在 AutoStainer Link 48 平台进行免疫组化检测,以肿瘤比例评分(TPS)≥1%作为阳性判断标准。

(2)TMB 检测:通过全外显子测序(WES)进行测定,计算每百万碱基中的体细胞突变数量,以 10 个突变/Mb 作为区分高低的界限值。

(3)Ascore 检测:采用实时荧光定量 PCR(RT-PCR)检测四基因(ANO1、CYP1B1、KRT6A、S100P)的表达水平,按照相关文献中的方法计算评分。

(4)甲基化标志物检测:采用甲基化特异性 PCR 检测尿液中 NRN1、GALR1 和 HAND2 的甲基化水平,联合检测以 AUC≥0.89 作为阳性标准。

1.4 统计分析

使用 SPSS 26.0 和 R 4.2.0 软件进行统计分析。计量资料以均数±标准差表示,组间比较采用 t 检验或方差分析;计数资料以频数(百分比)表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用倾向评分匹配(PSM)平衡两组患者的基线特征,匹配比例为 1:1。采用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线,通过 Log-rank 检验比较生存差异。采用 Cox 比例风险回归模型分析生物标志物与生存结局的相关性,计算风险比(HR)及 95%置信区间(CI)。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 基本资料

本研究共纳入 78 例接受 ICLs 治疗的膀胱癌患者,基线特征详见表 1。

表 1 患者基线特征

特征	数值
年龄,中位(范围)	67(43-84)
性别,n(%)	
男性	58(74.4)
女性	20(25.6)
病理分期,n(%)	
T2	27(34.6)
T3	34(43.6)
T4	17(21.8)
ECOG 评分,n(%)	
0-1	66(84.6)
≥2	12(15.4)
治疗方案,n(%)	
PD-1 抑制剂单药	51(65.4)
PD-L1 抑制剂单药	20(25.6)
联合治疗	7(9.0)
既往治疗,n(%)	
化疗	45(57.7)
放疗	11(14.1)
无	22(28.2)

2.2 生物标志物表达情况

78 例患者中,各生物标志物的表达分布情况如表 2 所示。

表 2 生物标志物表达情况(n=78)

生物标志物	阳性[n(%)]	阴性[n(%)]
PD-L1	31(39.7)	47(60.3)
TMB	23(29.5)	55(70.5)
Ascore	36(46.2)	42(53.8)
甲基化标志物	43(55.1)	35(44.9)

2.3 生物标志物与临床结局的相关性

2.3.1 生存分析

PD-L1 阳性患者的中位 OS 明显长于阴性患者(23.8 个月 vs 15.9 个月, $P<0.001$),中位 PFS 也显著延长(12.3 个月 vs 8.2 个月, $P<0.001$)。Ascore 高表达患者的中位 OS(27.6 个月 vs 13.2 个月, $P<0.001$)和 PFS(14.8 个月 vs 7.1 个月, $P<0.001$)均明显优于低表达患者。TMB 高表达和甲基化标

志物阳性患者的 OS 和 PFS 也均长于对应阴性患者 (均 $P<0.05$)。

2.3.2 疗效预测

Ascore 在预测 ORR 方面表现最佳 ($AUC=0.896$), 显著优于 PD-L1 ($AUC=0.658$)、TMB ($AUC=0.719$) 和甲基化标志物 ($AUC=0.882$)。Ascore 高表达患者的 ORR 为 67.8%, 显著高于低表达患者的 23.1% ($P<0.001$)。

2.3.3 多因素分析

Cox 多因素回归分析显示, Ascore 和 PD-L1 是 OS 的独立预测因素, 而 TMB 和甲基化标志物未进入最终模型 (表 3)。

表 3 总生存期的多因素 Cox 回归分析

变量	HR (95%CI)	P 值
Ascore (高 vs 低)	0.39 (0.26–0.57)	<0.001
PD-L1 (阳性 vs 阴性)	0.66 (0.46–0.94)	0.021
年龄 (≥ 70 岁 vs <70 岁)	1.30 (0.92–1.83)	0.132
性别 (男性 vs 女性)	0.96 (0.63–1.46)	0.857
病理分期 (T3–4 vs T2)	1.54 (1.08–2.19)	0.017
ECOG 评分 (≥ 2 vs 0–1)	2.11 (1.42–3.13)	<0.001
治疗方案 (联合 vs 单药)	0.84 (0.49–1.43)	0.526

2.4 甲基化标志物的临床应用价值

在 43 例甲基化标志物阳性患者中, 41 例 (占 95.3%) 经膀胱镜检查确认膀胱癌复发, 而 35 例阴性患者中仅 3 例 (占 8.6%) 复发。NRN1 与 GALR1 联合检测的敏感性为 82%, 特异性为 95%, 可使膀胱镜检查需求减少约 28%。

3 讨论

PD-L1 作为首个获批用于膀胱癌免疫治疗伴随诊断的

生物标志物^[5], 其临床价值在本研究中得到进一步证实。PD-L1 阳性患者的 OS 和 PFS 均明显优于阴性患者, 且是 OS 的独立预测因素。不过, 本研究中 PD-L1 阳性率为 39.7%, 低于 RCT 中的比例, 这可能是因为真实世界中患者的个体差异更大。此外, PD-L1 的预测效能 ($AUC=0.658$) 虽有统计学意义, 但临床应用价值有限, 这提示需要更优质的标志物或联合检测策略。TMB 在本研究中未成为独立预后因素, 与部分研究结果不一致。这可能是由于 TMB 检测方法尚未统一标准, 不同检测平台的结果可比性较差。另外, 真实世界中患者的治疗阶段和既往治疗史较为复杂, 可能会影响 TMB 与治疗效果之间的相关性。在本研究中, 甲基化标志物未成为 OS 的独立预测因素, 可能是因为它主要反映肿瘤是否存在, 与免疫治疗敏感性的直接关联较弱。在临床工作中, 我们也发现了, 并不是所有高表达 PD-L1、TMB 等的患者均会对免疫治疗显示出非常良好的疗效, 反而, 低表达甚至不表达的患者可能还会带来令人惊喜的疗效, 并且, 监测 PD-L1、TMB 等的平台也是多种多样, 并没有形成统一的判断标准, 所有, 我们会看到使用 ICIs 带来的层次不齐的反应。那么, 如何精准的筛选出免疫治疗的获益人群, 一直是 we 致力探索的方向。

我们提出膀胱癌免疫治疗生物标志物的阶梯式检测路径: ①术后采用甲基化标志物筛查高危复发人群; ②对计划接受 ICIs 治疗的患者检测 Ascore 和 PD-L1, 优先参考 Ascore 结果; ③在条件允许时, 可联合检测 TMB 以进一步优化治疗决策。这一路径兼顾了检测的准确性、经济性和可及性, 更符合真实世界的临床需求。但本研究作为一项回顾性研究, 且样本量少, 仅能作为参考, 后期还需要更大样本的随机对照试验来进一步的验证其有效性。

参考文献:

- [1] 张子威, 张文涛, 毛卫浦, 等. 晚期膀胱癌免疫治疗反应的生物标志物研究进展[J]. 山东医药, 2022, 62 (2): 93–96.
- [2] 邹文超, 陈南辉. 晚期膀胱癌免疫治疗潜在的生物标志物研究进展[J]. 临床泌尿外科杂志, 2023 (1): 72–77.
- [3] Balar AV, Galsky MD, Rosenberg JE, et al. Pembrolizumab for Platinum-Refractory Advanced Urothelial Carcinoma[J]. N Engl J Med, 2017, 376 (11): 1015–1026.
- [4] Rosenberg JE, Hoffman-Censits J, Powles T, et al. Atezolizumab in patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma who have progressed after treatment with platinum-based chemotherapy: a single-arm, multicentre, phase 2 trial[J]. Lancet, 2016, 387 (10031): 1909–1920.
- [5] 赵妍妍, 戴映, 杜瀛瀛. 膀胱癌新辅助免疫治疗与生物标志物的研究进展[J]. 国际泌尿系统杂志, 2023 (3): 549–553.