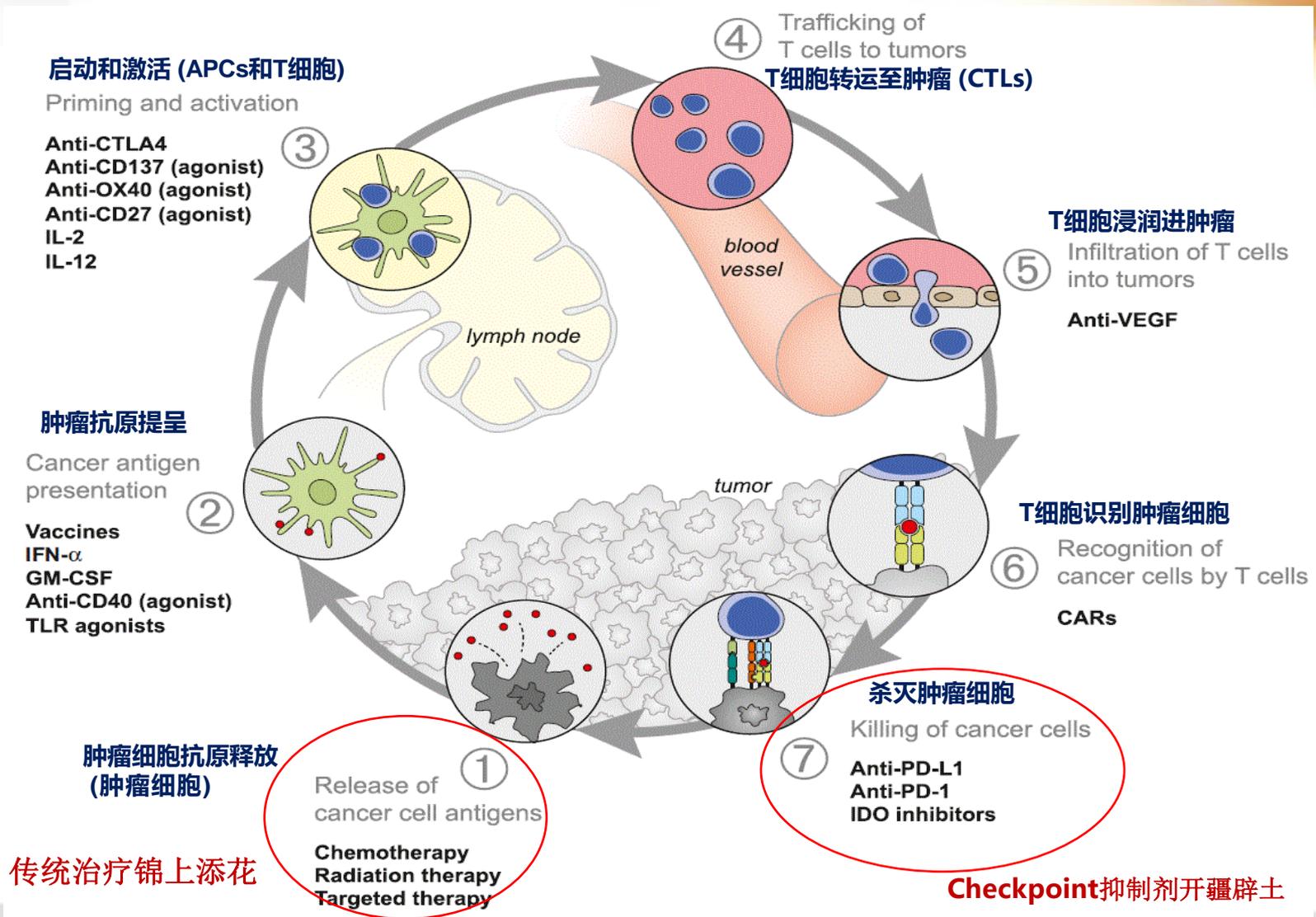


PD-1/PDL-1单抗的临床应用

刘军清

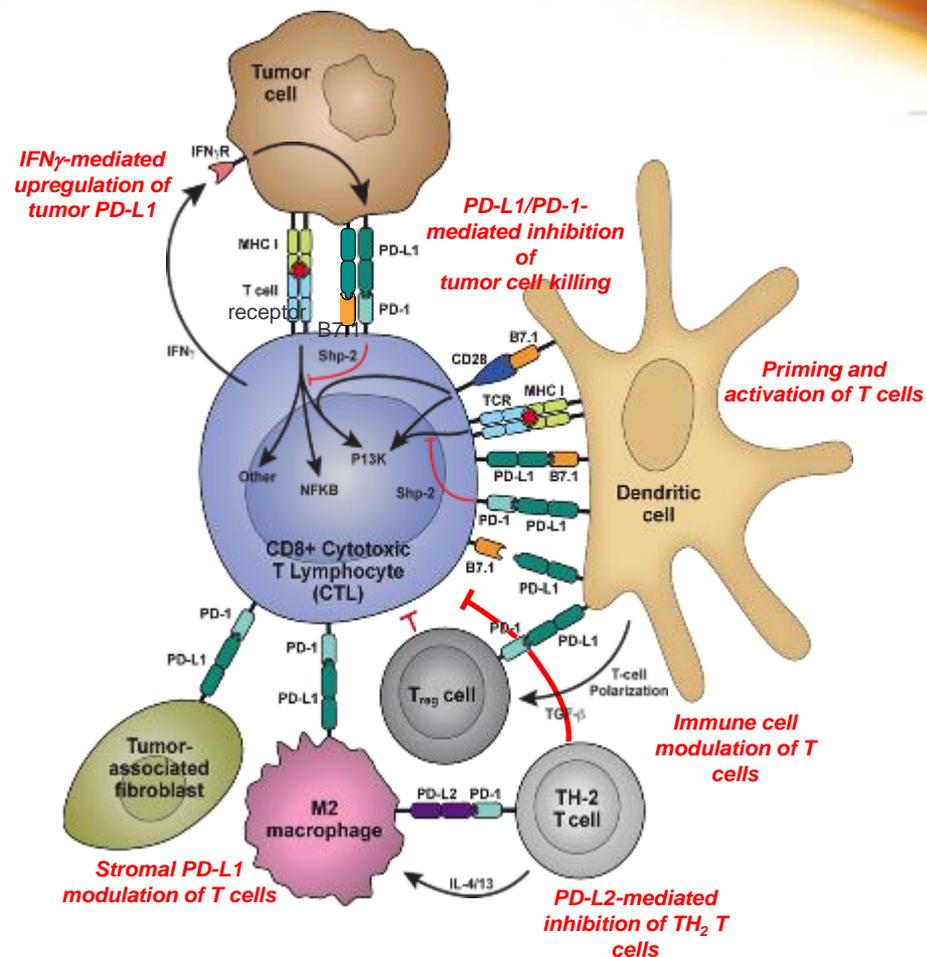
安阳地区医院

复杂的肿瘤：免疫系统

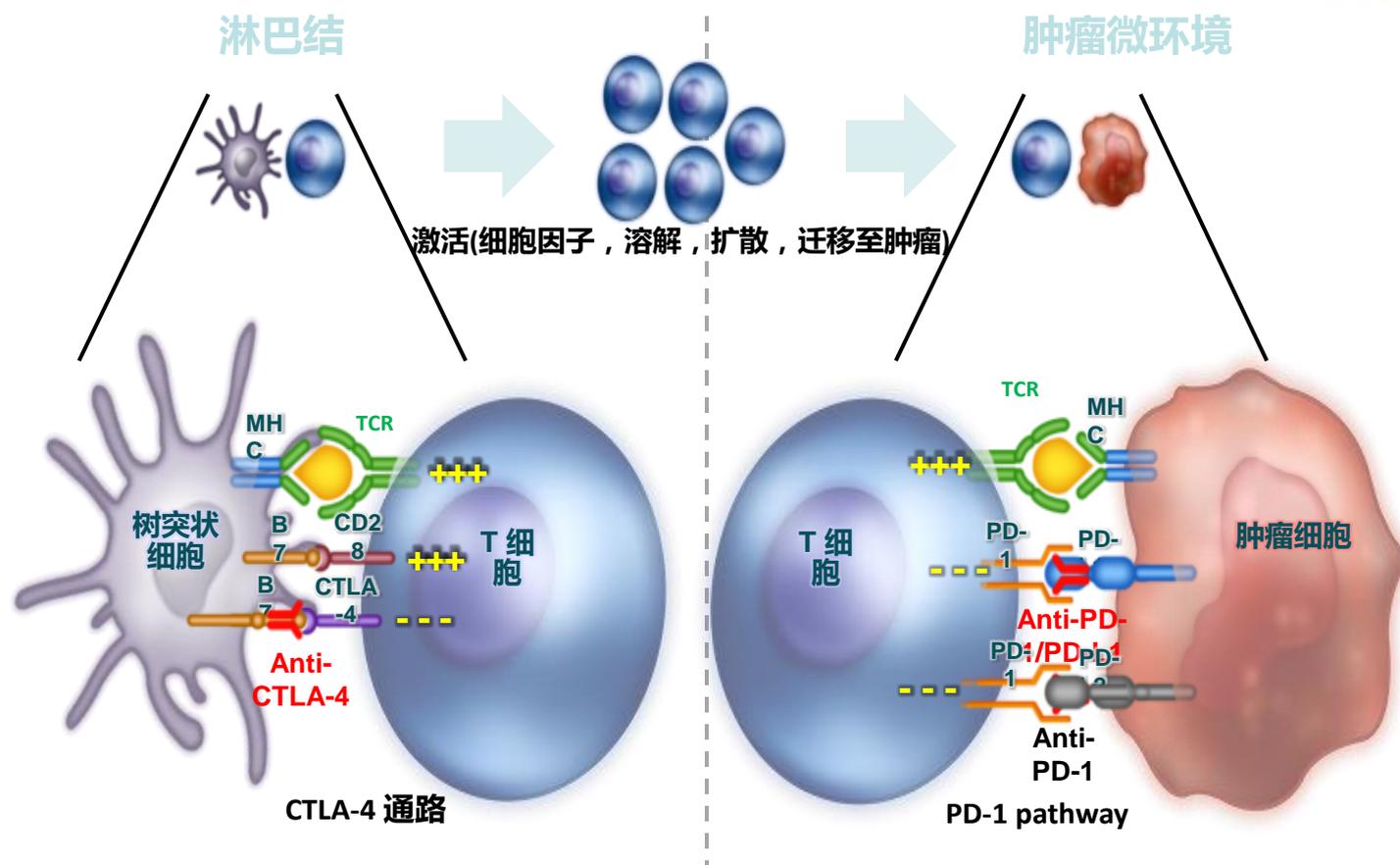


肿瘤通过多种机制发生免疫逃逸

- 肿瘤抗原表达下调
- 与免疫细胞Cross-talk导致微环境中的免疫抑制增强
- 免疫抑制性细胞因子水平升高
- 免疫检查点蛋白(checkpoint protein)过表达, 如PD-1/PD-L1



免疫检查点抑制剂可有效治疗肿瘤



CTLA-4是一种白细胞分化抗原，也是T细胞上的一种跨膜受体，与CD28共同享有B7分子配体。CTLA-4对移植排斥反应及各种自身免疫性疾病有显著的治疗作用，是目前被认为较有希望的新的免疫抑制药物。

绪论

- 肿瘤逃逸是目前肿瘤免疫治疗公认的障碍。患者肿瘤细胞自身的缺陷和免疫系统的功能障碍一起作用促进了肿瘤的疯狂生长。T细胞在免疫治疗肿瘤的过程中处于中心地位，如果能调动体内的杀伤武器，那将是最有效的也是最安全的治疗肿瘤的途径。
。
- 肿瘤的免疫逃逸机制与机体对肿瘤的免疫应答之间存在着极为复杂的关系。肿瘤免疫治疗的过程中早期肿瘤特异性的CD8+T细胞是激活的，随着肿瘤生长到后期失去了杀伤的功能；IFN- γ 的分泌功能持续增强，肿瘤产生抵抗力。总而言之，无论是通过调节因子还是免疫细胞的修饰都是为了极大限度的提高病人自身的免疫系统反应。不但要在体内激活原有自身的免疫系统反应，还要让已经调动的反应持续增强才是免疫治疗肿瘤的策略。
- T细胞的活化除了需要通过APC递呈MHC-抗原肽给抗原特异性T细胞提供第一信号外，还需要一系列协同刺激分子提供第二信号，进而才能使T细胞达到生理活化阈值产生正常的免疫应答，这在理论上更好地解释了免疫系统对自身和非自身抗原产生免疫学应答时精确而微妙的调节机制。如果缺少共刺激分子提供的第二信号，将会导致T细胞的无反应性或特异性免疫耐受甚至进入凋亡，因此，正性和负性协同刺激信号的调节及两者之间的平衡在机体免疫应答的整个过程中起着重要的调节作用。

PD-1/PD-L1简介

- 程序性死亡分子PD-1及其配体/PD-L1：是一对负性免疫共刺激分子，正常情况下，组织细胞表面的PD-L1与淋巴细胞表面的PD-1结合后，可抑制淋巴细胞功能，诱导活化的淋巴细胞凋亡，从而在自身免疫耐受及防止自身免疫性疾病中发挥重要作用。
-
- PD-1主要表达于活化的T淋巴细胞、B淋巴细胞和巨噬细胞表面。多种肿瘤细胞表面表达PD-L1,可与肿瘤浸润淋巴细胞表面的PD-1分子结合，抑制CD4和CD8T淋巴细胞的功能及细胞分子的释放，并诱导淋巴细胞凋亡，从而抵抗淋巴细胞的杀伤作用，最终导致肿瘤发生免疫逃逸。

- PD-L1(B7-H1)属于B7家族，具有IgV和IgC样区、跨膜区及胞浆区尾部，PD-L1与其T细胞上的受体PD1相互作用，在免疫应答的负性调控方面发挥着重要作用；该分子具有广泛的组织表达谱，在一些肿瘤细胞系上有较高的表达，许多研究均表明其与肿瘤的免疫逃逸机制相关。肿瘤部位的微环境可诱导肿瘤细胞上的PD-L1的表达，且表达广泛，表达的PD-L1有利于肿瘤的发生和生长，诱导抗肿瘤T细胞的凋亡。转染PD-L1基因的P815肿瘤细胞系在体外可抵制特异性CTL的裂解，将其接种小鼠体内后具有更强的致瘤性和侵袭性。这些生物学特性均可通过阻断PD-L1而逆转。敲除PD1基因的小鼠，阻断PD-L1/PD-1通路，则接种肿瘤细胞不能形成肿瘤。
- 通过阻断PD-L1/PD-1信号通路可有效抑制肿瘤生长，可根据此设计新的对肿瘤免疫逃逸的治疗方案，来加强T细胞对肿瘤的杀伤作用。

- PD1 (programmed death-1) 最初是在凋亡的T细胞杂交瘤中得到的，由于其和细胞凋亡相关而被命名为程序性死亡-1受体。
- 目前，PD-1的配体被证实有两个，分别是PD-L1(B7-H1)和PD-L2(B7-DC).PD-L1蛋白广泛表达于抗原提呈细胞（APCs）、活化T、B细胞、巨噬细胞、胎盘滋养层、心肌内皮和胸腺皮质上皮细胞。在许多人类肿瘤组织中均可检测到PD-L1蛋白的表达，且许多癌组织较正常组织中的PD-L1表达水平明显上调。应用免疫组织化学方法，已先后在乳腺癌、肺癌、胃癌、肠癌、食管癌、卵巢癌、宫颈癌、肾癌、膀胱癌、胰腺癌、神经胶质瘤、黑素瘤等人类肿瘤组织中检测到PD-L1蛋白的表达，且PDL1的表达水平和患者的临床及预后紧密相关。

PD1/PDL1在肿瘤免疫治疗中的作用

- 在抗肿瘤免疫中，通常遵循肿瘤特异性T细胞活化、T细胞增值、肿瘤浸润和T细胞记忆应答加强的步骤。研究表明，肿瘤细胞以及肿瘤微环境中的APCs表达的PD-L1均可经PD-1/PD-L1信号通路抑制肿瘤抗原特异性T细胞的活化，下调T细胞介导的肿瘤免疫应答。因此，干预PD-1/PD-L1信号有望成为肿瘤免疫治疗的新策略。
- PD-L1单抗能有效抑制局部肿瘤生长；
- 阻断PD-1/PD-L1信号可以促进肿瘤抗原特异性T细胞的增值，发挥杀伤肿瘤细胞的作用；
- 阻断肿瘤细胞上相关PD-L1信号可上调浸润CD8T细胞IFN- γ 的分泌，表明PD-1/PD-L1信号通路的阻断在以诱导免疫应答为目的的肿瘤免疫应答中发挥作用；
- 选择抗PD-L1单抗配合肿瘤疫苗进行肿瘤免疫治疗可有效加强肿瘤疫苗的免疫激活作用，减弱肿瘤微环境对疗效的影响；

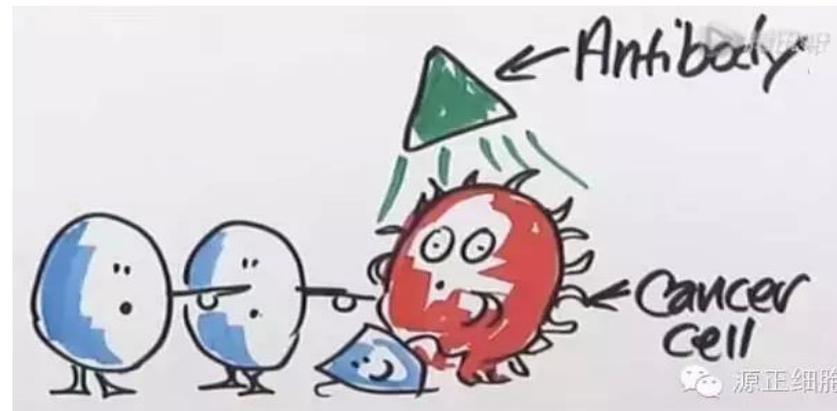
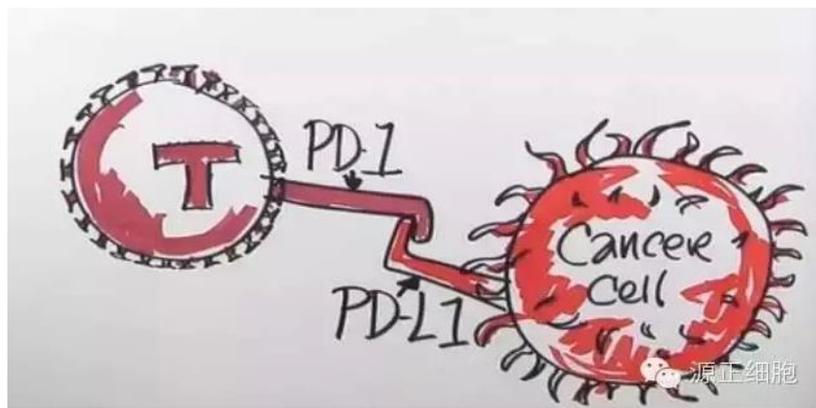
- 随着对该通路在肿瘤免疫逃逸现象中所起作用的深入研究，该信号通路在免疫细胞中的作用逐渐被了解。通过阻断T淋巴细胞表面的PD-1蛋白与肿瘤细胞表面的PD-L1蛋白的结合，从而激发免疫系统清除肿瘤细胞的潜力，对肿瘤细胞发起攻击的治疗方法。现已取得一定的临床疗效。

PD-1或PDL-1抗体治疗肿瘤其特应性、安全性更高。

PD-1/PDL1单抗作用机制

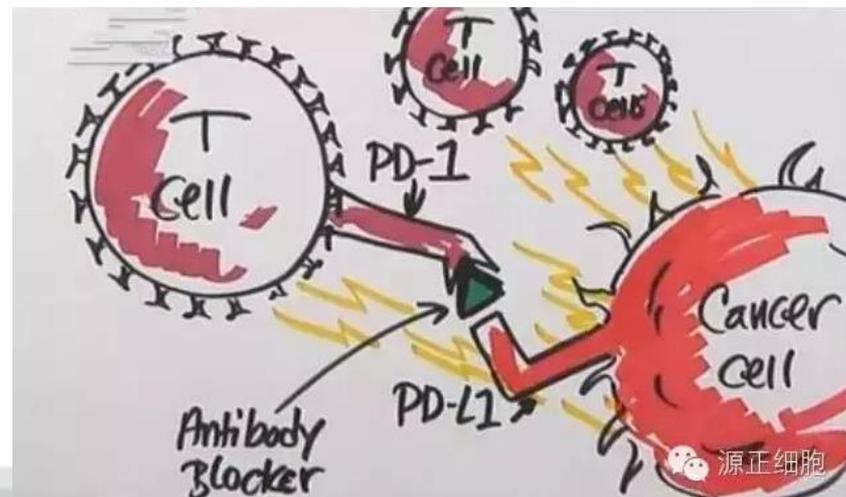
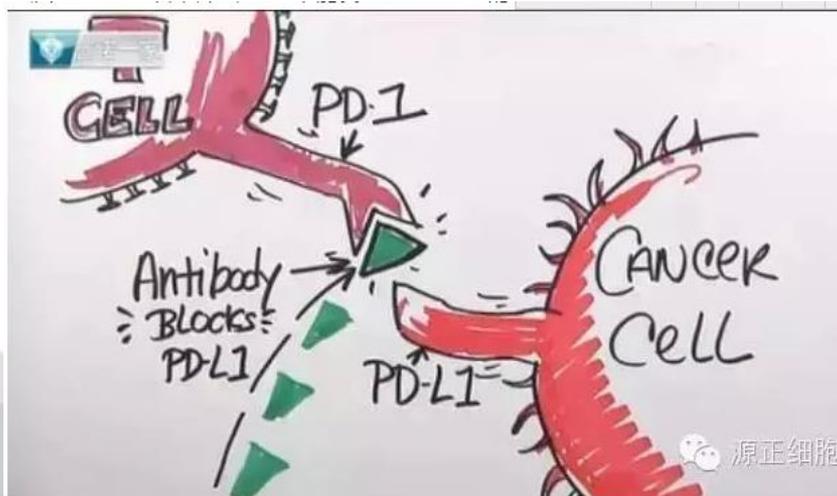
T细胞表面PD-1和肿瘤细胞表面PDL1结合，导致肿瘤免疫逃逸。

有了这些单抗，T细胞即可识别肿瘤细胞



PD-1单抗和T细胞表面PD-1结合

T细胞消灭肿瘤细胞



FDA批准的用于治疗肿瘤的PD-1单抗

- 百时美施贵宝PD-1抑制Opdivo (Nivolumab) 作为末线药物治疗黑色素瘤、非小细胞肺癌。
- 并且在日本、美国、欧洲均获得批文。



- 默沙东的Keytruda（pembrolizumab）用于治疗不再对其它药物响应的晚期或无法切除的黑色素瘤患者。
- 罗氏公布atezolizumab治疗膀胱癌关键的性数据，有望加快FDA批准。



- PD-1抑制剂是抗癌药的突破性机理，除了黑色素瘤之外，在肾癌、肺癌、头颈癌、膀胱癌、乳腺癌、霍奇金淋巴瘤等多个适应症显示疗效。业界认为，黑色素瘤适应症的市场潜力有限，PD-1/PD-L1免疫疗法的前景仍依赖于其它肿瘤，如非小细胞肺癌（NSCLC）。



NIH Public Access

Author Manuscript

N Engl J Med. Author manuscript; available in PMC 2013 January 14.

Published in final edited form as:

N Engl J Med. 2012 June 28; 366(26): 2443–2454. doi:10.1056/NEJMoal200690.

Safety, Activity, and Immune Correlates of Anti-PD-1 Antibody in Cancer

方法

- BMS-936558是2012年6月百时美推出的一种PD-1单克隆抗体，可阻断活化的T细胞表面的程序性死亡PD-1受体。通过抑制PD-1和PD-L1通路可挽救耗竭的T细胞，增强抗肿瘤免疫力。
- 本文招募了296例接受1-5个疗程治疗后出现疾病进展的转移性黑色素瘤（104例）、结直肠癌（19例）、非小细胞癌（122例）、前列腺癌（17例）或肾癌（34例）等患者，对其每2周注射0.1、0.3、1.0、3.0或10.0mg/Kg体重的BSM-936558（每3-6个病人用一个剂量，每8周评估一次疗效，（2008.10-2012.2））。
- 病例特征：大于18岁，预计生存期大于12周，47%的病人接受了三个以上疗程治疗包括化疗、放疗、生物治疗等。
- 对以上病人进行免疫组化、药代动力学和药效分析、安全性评估、生存期等分析。

结果（1）安全性分析

- 在所有296例患者中，41例（14%）观察到严重的副作用，最常见的不良事件为疲劳、食欲减退、气喘、痢疾、恶心、皮疹、皮肤瘙痒、发热。3-4级治疗相关性不良事件包括肺炎、白斑病、结肠炎、肝炎、垂体炎、甲状腺炎等。
- 296例患者中，15例（5%）患者由于副作用而中断治疗。9例（3%）发生治疗性相关肺炎，尽管采取了早期识别，积极治疗等措施，仍有3例患者因肺炎死亡，2例非小细胞肺癌，1例结肠癌。
- 在这项研究中62例患者死亡，疾病进展是主要的死亡原因。

结果（1）临床有效性分析

- 1.所有的剂量试验中都观察到抗肿瘤活性。表2中列出了黑色素瘤（104）、非小细胞肺癌（122）、肾癌（34）的客观有效率。但在结肠癌（19）和前列腺癌（17）中未观察到客观有效反应。
- 2.在94例在黑色素瘤患者（0.1-10mg/Kg)剂量中有26例有客观反应，客观反应率28%，其中3.0mg/Kg体重，客观有效率达41%，疾病稳定24周以上占6%（6/94），24周生存率40%。

Clinical Activity of Anti-PD-1 Antibody in the Efficacy Population.*

Dose of Anti-PD-1 Antibody	Objective Response [†]	Objective-Response Rate [‡]	Duration of Response [§]	Stable Disease ≥24 wk		Progression-free Survival Rate at 24 wk [¶]
	<i>no. of patients/total no. of patients</i>	<i>% (95% CI)</i>	<i>mo</i>	<i>no. of patients/total no. of patients</i>	<i>% (95% CI)</i>	<i>% (95% CI)</i>
Melanoma						
0.1 mg/kg	4/14	29 (8–58)	7.5+, 5.6+, 5.6, 5.6	1/14	7 (0.2–34)	40 (13–66)
0.3 mg/kg	3/16	19 (4–46)	3.8+, 2.1+, 1.9+	1/16	6 (0.2–30)	31 (9–54)
1.0 mg/kg	8/27	30 (14–50)	24.9+, 22.9, 20.3+, 19.3+, 18.4+, 7.6+, 5.6+, 5.3+	3/27	11 (2–29)	45 (26–65)
3.0 mg/kg	7/17	41 (18–67) //	22.4+, 18.3+, 15.2+, 12.9, 11.1, 9.3, 9.2+	1/17	6 (0.1–29)	55 (30–80)
10.0 mg/kg	4/20	20 (6–44)	24.6+, 23.9+, 18.0+, 17.0	0/20	0	30 (9–51)
All doses	26/94	28 (19–38)		6/94	6 (2–13)	41 (30–51)
Non-small-cell lung cancer						
Squamous						
1.0 mg/kg	0/5	0		0/5	0	0
3.0 mg/kg	3/6	50 (12–88)	ND	0/6	0	50 (10–90)
10.0 mg/kg	3/7	43 (10–82)	ND	0/7	0	43 (6–80)
All doses	6/18	33 (13–59)	ND	0/18	0	33 (12–55)
Nonsquamous						
1.0 mg/kg	0/12	0		1/12	8 (0.2–39)	14 (0–37)
3.0 mg/kg	3/13	23 (5–54)	ND	2/13	15 (2–45)	37 (10–64)
10.0 mg/kg	4/31	13 (4–30)	ND	2/31	6 (0.8–21)	21 (6–36)
All doses	7/56	12 (5–24)	ND	5/56	9 (3–20)	22 (11–34)
Unknown type						
1.0 mg/kg	1/1	NA	ND	0/1	0	NA
10.0 mg/kg	0/1	0		0/1	0	0
All types						
1.0 mg/kg	1/18	6 (0.1–27)	9.2+	1/18	6 (0.1–27)	16 (0–34)

- 3. 在76例肺癌患者中14例有客观反应，的客观应答率为18%，鳞状细胞肿瘤应答率为33%，而对非鳞状细胞肿瘤的应答率为12%。疾病稳定24周以上占7%（6/94），24周生存率26%。
- 4. 33例肾细胞癌患者中9例观察到客观反应，客观反映率为27%，其中1.0mg/Kg组为24%，10mg/Kg组为31%。27%的患者疾病稳定期超过24周，24周生存率为56%。

Dose of Anti-PD-1 Antibody	Objective Response [†]	Objective-Response Rate [‡]	Duration of Response [§]	Stable Disease ≥24 wk	Progression-free Survival Rate at 24 wk [¶]
	<i>no. of patients/total no. of patients</i>	<i>% (95% CI)</i>	<i>mo</i>	<i>no. of patients/total no. of patients</i>	<i>% (95% CI)</i>
3.0 mg/kg	6/19	32 (13–57)	30.8+, 7.6+, 5.5+, 3.7+, 1.9+, NA **	2/19	11 (1–33)
10.0 mg/kg	7/39	18 (8–34)	14.8+, 7.6+, 7.3+, 6.7, 4.2, 3.7+, 3.7	2/39	5 (0.6–17)
All doses	14/76	18 (11–29)		5/76	7 (2–15)
Renal-cell cancer					
1.0 mg/kg	4/17	24 (7–50)	17.5+, 9.2+, 9.2, 5.6+	4/17	24 (7–50)
10.0 mg/kg	5/16	31 (11–59) //	22.3+, 21.7+, 12.9, 12.0, 8.4	5/16	31 (11–59)
All doses	9/33	27 (13–46)		9/33	27 (13–46)

* The efficacy population consisted of patients in whom the response could be evaluated, whose treatment was initiated by July 1, 2011, and who had measurable disease at baseline with one of the following: at least one scan obtained during treatment, clinical evidence of disease progression, or death. NA denotes not applicable, and ND not determined.

[†] Responses were adjudicated according to the Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST), version 1.0, with modification (see Methods S1 in the Supplementary Appendix and the protocol).

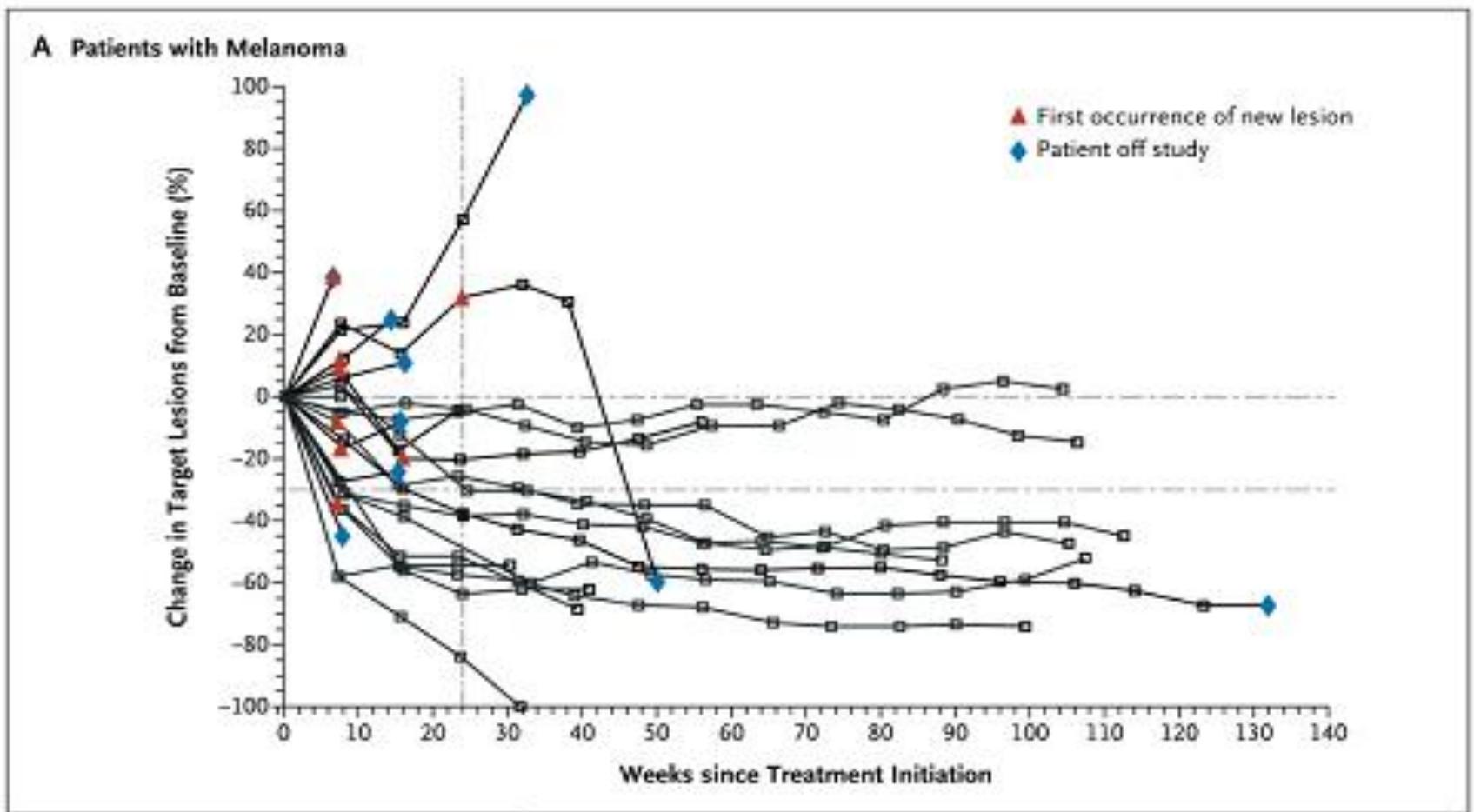
[‡] Objective response rate = [(complete responses + partial responses) ÷ total no. of patients] × 100. Rates were calculated on the basis of confirmed responses, with confidence intervals calculated with the use of the Clopper–Pearson method.

[§] Duration of response was defined as the time from the first response to the time of documented progression, death, or, for censored data (denoted by a plus sign), the most recent tumor assessment.

[¶] The progression-free survival rate is the proportion of patients without disease progression who were alive at 24 weeks; the rate was calculated according to the Kaplan–Meier method, with confidence intervals calculated with the use of the Greenwood method.

// Two patients (one with melanoma who received 3.0 mg of anti-PD-1 antibody per kilogram and one with renal-cell cancer who received 10.0 mg per kilogram) had a complete response.

** One patient continued to receive treatment after an initial detection of progressive disease in preexisting lesions and subsequently had a partial response; this patient was classified as having had a response for the purposes of calculating response rates according to RECIST version 1.0 but was not included in the calculation of duration of response.



27例黑色素瘤患者接受1.0mg/Kg PD-1单抗治疗后，大部分患者显示客观有效。

B Patient with Renal-Cell Cancer
Before Treatment



6 Months



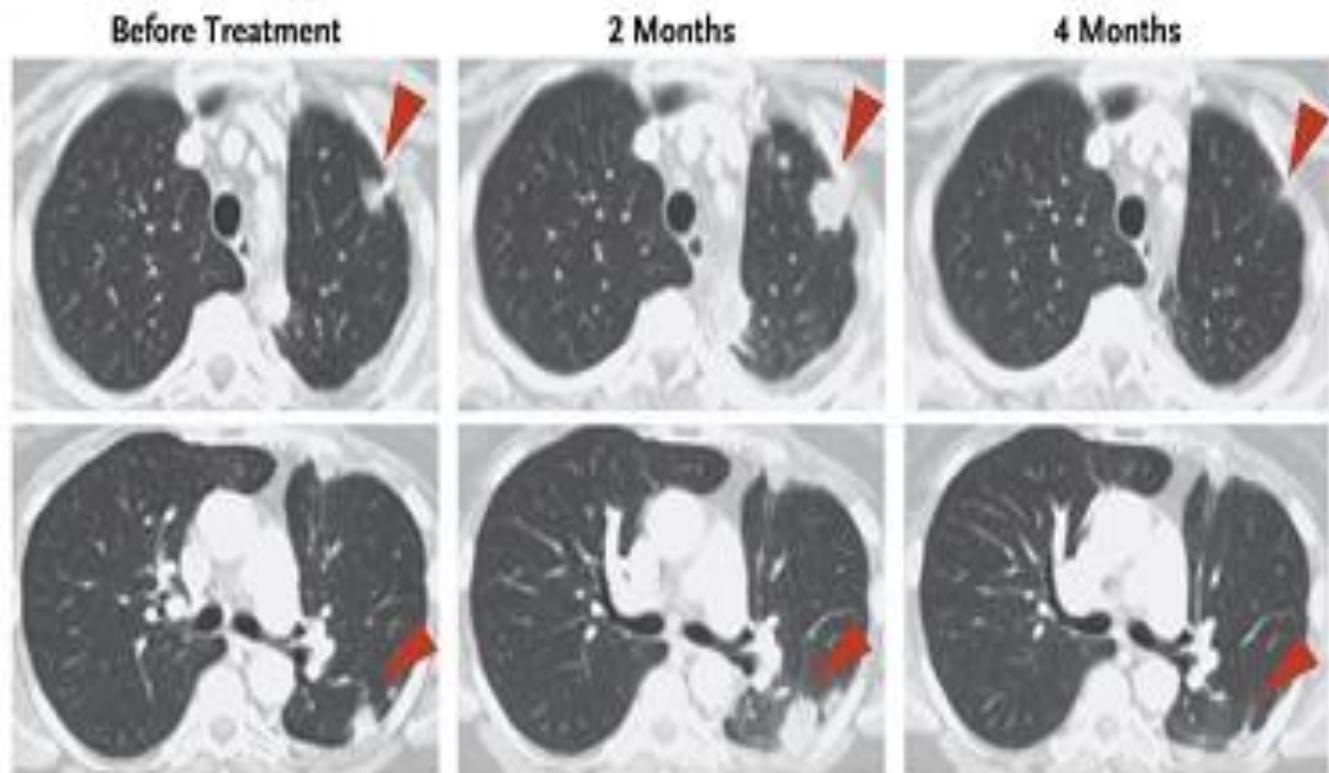
C Patient with Melanoma



B图57岁肾细胞癌患者接受
1.0mg/Kg PD-1治疗6个月后肿
瘤负荷缩小。

C图显示62岁转移性黑色素瘤治疗后出
现白斑病，但黑色素瘤细胞减少。

D Patient with Non-Small-Cell Lung Cancer



转移性非小细胞肺癌患者接受10mg/Kg PD-1单抗治疗后2个月显示肺部损害加重，4个月后显示肺部损害消退

药代动力学及药效分析

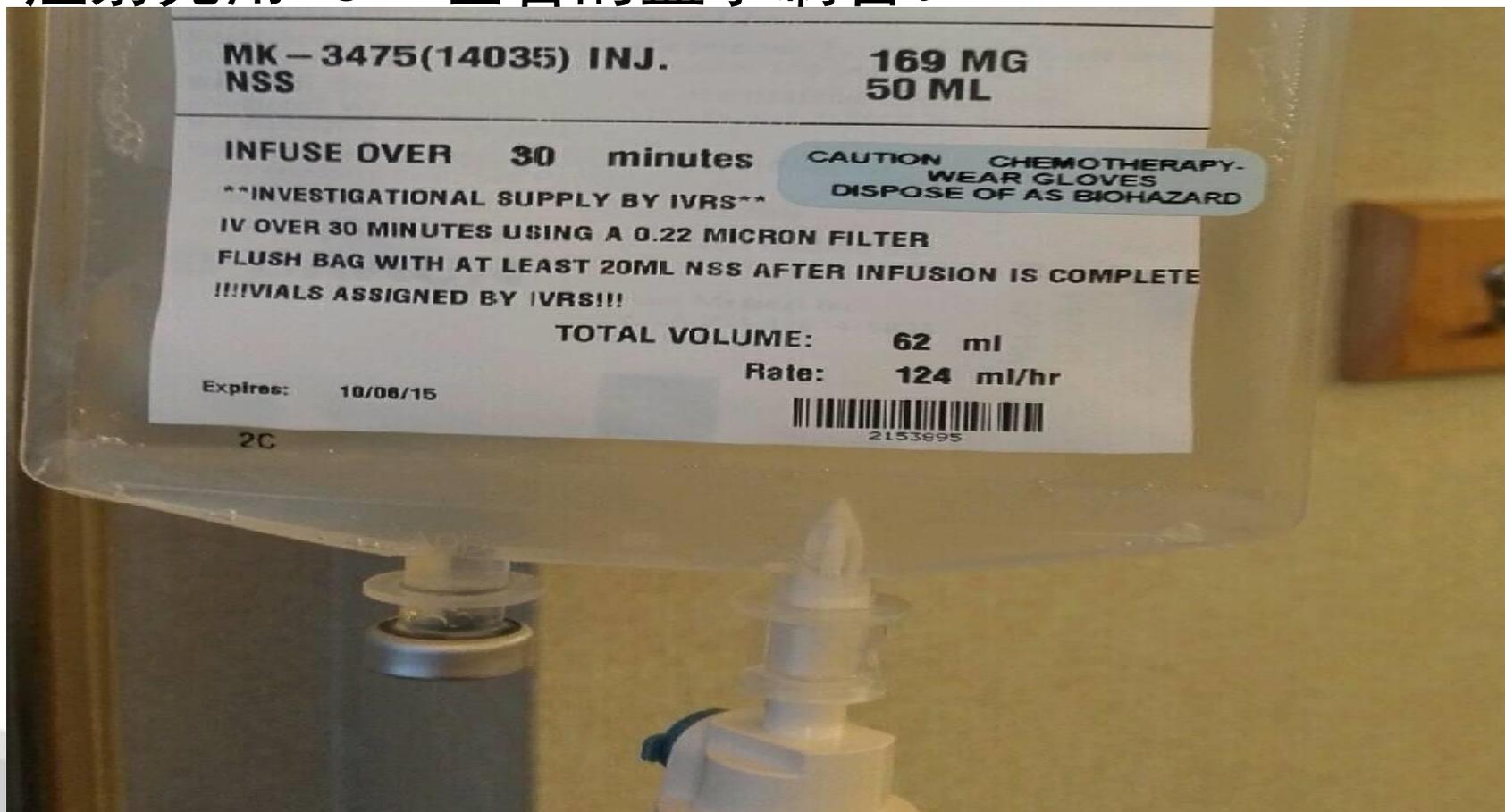
- PD-1单抗的中位峰值出现在注射后的1-4小时。PD-1单抗的药效分析以PD-1受体占有率的CD3+T细胞来评估，在65位接受一个疗程各个剂量PD-1单抗的PBMC中，中位的单抗占有率为64%-70%。

用法

- 1.注射部位：打胳膊弯里，化疗也是如此，更加要深埋静脉港，避免静脉炎。



- 2. 配置浓度：最终浓度范围从1mg/mL至10 mg/mL，浓度过低，蛋白质与蛋白质之间的水化层不能相互吸附，形成稳定状态，容易被输液管吸附。100mg的O药溶解在50ml的盐水为最佳，注射完用25ml左右的盐水刷管。

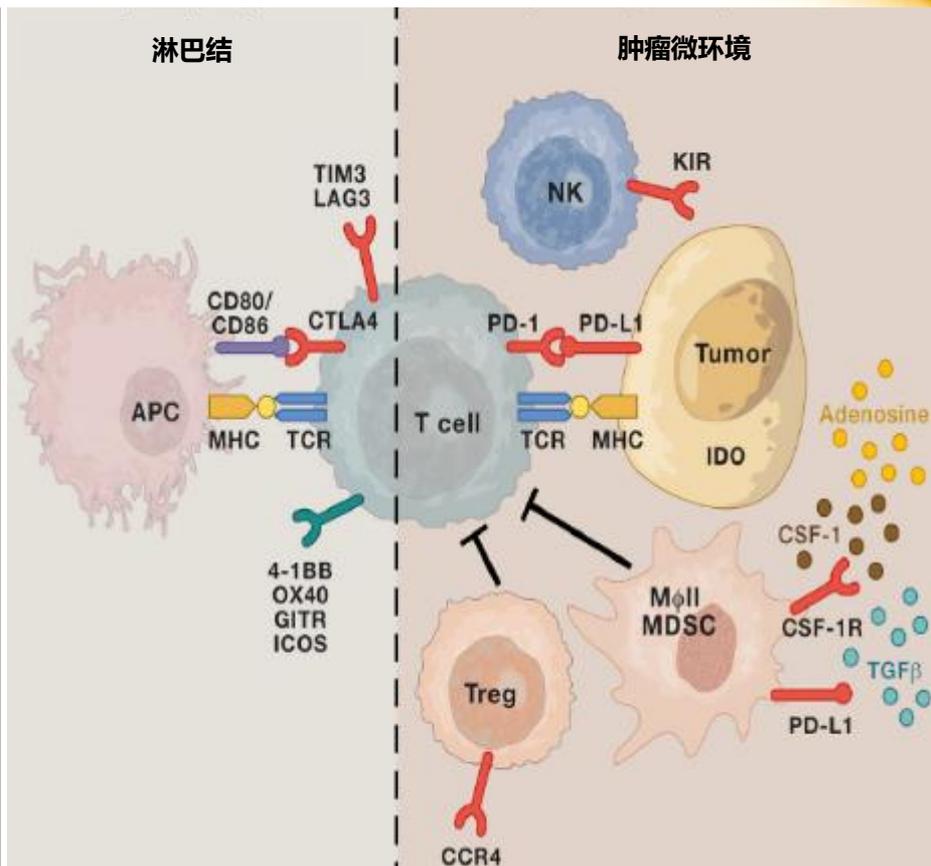
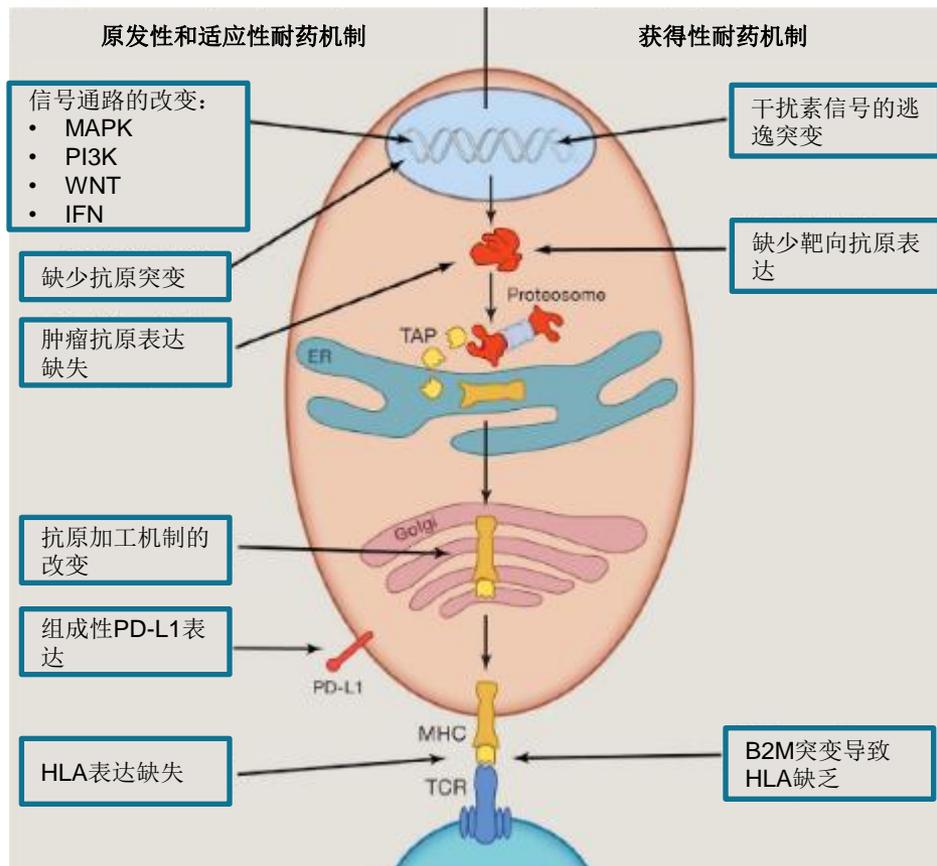


- 图为100mg的K药溶解于50ml的盐水中，总体积为62ml。
- 3.图中的滴注速度为124ml/h，也就是说大概半个多小时，O药说明书中的推荐的滴注时间为一个小时，K药说明书要求超过30分钟，不过说明书中的时间是忽略剂量的，所以可以考虑折中。
- 4.配置：
 - 抽吸需要容积的OPDIVO和转移至静脉容器。
 - 用或0.9%氯化钠注射液，USP或或5%葡萄糖注射液，USP稀释OPDIVO以制备一个输注有最终浓度范围从1 mg/mL至10 mg/mL。
 - 轻轻倒置混合稀释溶液。不要摇动。

免疫治疗的耐药机制

肿瘤细胞内在机制

肿瘤细胞外在机制



联合治疗能否克服耐药？

小结

- 基于基因分型富集的免疫治疗时代的到来：
- 2015年5月30日在免疫治疗专场口头报告的来自约翰霍普金斯医院的基于MMR（基因错配修复）状态的晚期癌症抗PD-1（Keytruda）免疫治疗的研究，尽管只是一个41例的单臂、II期研究，尽管它没有登上全体大会的讲台。
- 在ASCO大会进行口头报告的同一天，全球最顶尖的医学杂志《新英格兰医学杂志》（NEJM）就在线同步发表了这个研究的全文。
- 在NEJM的历史上，这是很罕见的，NEJM的举动已经很明显地将该研究定位为免疫治疗的一个重要里程碑。



THANK YOU!