

EB 病毒相关鼻咽癌 PD-L1 表达与预后相关性研究

许婷婷^{1,2,3}, 邢 星^{1,2,3}, 管西寅³, 王孝深^{1,2}, 胡超苏^{1,2,3}

(1. 复旦大学附属肿瘤医院, 上海 200032; 2. 复旦大学上海医学院肿瘤学系, 上海 200032; 3. 上海市质子重离子医院, 上海 201321)

摘要: [目的] 探讨鼻咽癌中 EB 病毒及细胞程序性死亡配体-1 (programmed cell death ligand 1, PD-L1) 表达及对预后的预测价值。[方法] 87 例接受根治性放化疗的初治非转移性鼻咽癌患者的病理切片, 分别采用原位杂交法 (in situ hybridization, ISH) 和免疫组化法 (immunohistochemistry, IHC) 行 EB 病毒编码小 RNA (EBV-encoded RNAs, EBER) 和 PD-L1 表达的检测, 并将 EB 病毒状态和 PD-L1 表达水平与患者近期疗效及长期预后行相关性分析, 主要研究终点包括缓解率 (response rates, RR) 和总生存率 (overall survival, OS)。[结果] 87 例鼻咽癌原发灶病理组织切片中, 8 例 (9.2%) EBER 表达阴性, 79 例 (90.8%) 阳性; 1 例 (1.1%) PD-L1 表达阴性, 50 例 (57.5%) 低表达, 36 例 (41.4%) 高表达。EBER 阳性患者中, PD-L1 高表达者较多, 但差异无统计学意义 ($P=0.062$)。PD-L1 高表达与患者较好的预后呈正相关。亚组分析显示在 EBER 阳性组中, PD-L1 高表达与阴性/低表达者的 5 年无复发生存率 (91.8% vs 78.5%, $P=0.039$, HR=0.382, 95%CI: 0.142~1.027) 和 5 年无进展生存率 (82.5% vs 68.0%, $P=0.036$, HR=0.363, 95%CI: 0.135~0.974) 差异显著, 而在 EBER 阴性组中, PD-L1 表达与预后无明显相关性。[结论] PD-L1 高表达与 EBV 相关鼻咽癌的局部复发和疾病进展相关, 深入探讨鼻咽癌的免疫微环境将有助于筛选出免疫治疗的潜在获益人群。

关键词: 鼻咽肿瘤; EB 病毒; PD-L1; 预后

中图分类号: R739.63 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X (2020) 10-0849-07

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2020.10.B001

Correlation between PD-L1 Expression and Prognosis in Epstein-Barr Virus-Associated Nasopharyngeal Carcinoma

XU Ting-ting^{1,2,3}, XING Xing^{1,2,3}, GUAN Xi-yin³, WANG Xiao-sheng^{1,2}, HU Chao-su^{1,2,3}

(1. Fudan University Shanghai Cancer Center, Shanghai 200032, China; 2. Department of Oncology, Shanghai Medical College, Shanghai 200032, China; 3. Shanghai Proton and Heavy Ion Center, Fudan University Cancer Hospital, Shanghai 201321, China)

Abstract: [Objective] To explore the prognostic value of programmed cell death ligand 1 (PD-L1) expression in Epstein-Barr virus (EBV)-related nasopharyngeal carcinoma (NPC). [Methods] A total of 87 patients with non-metastatic NPC received radical chemoradiotherapy were enrolled. The presence of EBER (EBV-encoded RNAs) in tumor cells was confirmed by in situ hybridization (ISH), and the expression of PD-L1 was detected by immunohistochemistry (IHC). The impact of EBV status and PD-L1 expression on short-term efficiency and long-term survivals were analyzed. The primary endpoints were response rates (RR) and overall survival (OS). [Results] The negative and positive EBER was detected in 8 (9.2%) and 79 (90.8%) samples, respectively; and negative, low and high expression of PD-L1 was detected in 1 (1.1%), 50 (57.5%) and 36 (41.4%) samples, respectively. EBER positive patients had a trend of high expression of PD-L1, but it was not significant ($P=0.062$). In EBV positive group, patients with high PD-L1 expression had higher 5-year RFS rate (91.8% vs 78.5%, HR=0.382, 95%CI: 0.142~1.027, $P=0.039$) and 5-year PFS rate (82.5% vs 68.0%, $P=0.036$, HR=0.363, 95%CI: 0.135~0.974) compared to those with lower PD-L1 expression. [Conclusion] High expression of PD-L1 is associated with local recurrence and disease progression in EBV associated NPC. Exploring the immune microenvironment of NPC will help to screen out potential benefit of immunotherapy.

Subject words: nasopharyngeal carcinoma; EBV; PD-L1; prognosis

基金项目: 国家重大慢性非传染性疾病防控专项 (2018YFC313204); 上海市卫生和计划生育委员会科研课题 (20164Y0254)

通信作者: 胡超苏, 副主任, 主任医师, 博士; 复旦大学附属肿瘤医院放射治疗中心, 上海市徐汇区东安路 270 号 (200032); E-mail: hucsu62@163.com

收稿日期: 2020-03-15; **修回日期:** 2020-06-26

EB 病毒 (Epstein-Barr virus, EBV) 慢性感染是鼻咽癌重要致病因素之一^[1-2], 与人乳头状瘤病毒 (human papillomavirus, HPV) 在口咽癌中的地位相似, EBV 在鼻咽癌诊断及治疗策略的选择中起着至关重要的作用^[3-4]。众所周知, HPV 相关口咽癌可以选择性地通过降低放射治疗剂量或化疗强度来达到减少治疗毒性、改善生活质量的目的^[5], 而鼻咽癌中至今仍无基于 EBV 状态或肿瘤局部免疫微环境特征而开展的减毒/增效的前瞻性研究。从既往研究结果来看, 我们有理由推测 EBV 相关鼻咽癌可能具有特殊的免疫微环境。

细胞程序性死亡配体-1 (programmed cell death ligand 1, PD-L1) 可以表达于肿瘤细胞 (tumor cell, TC) 和肿瘤浸润淋巴细胞 (tumor-infiltrating lymphocytes, TILs) 表面, 与其受体——细胞程序性死亡 1 (programmed cell death 1, PD-1) 结合后可以通过关闭 T 细胞功能来负性调节免疫应答, 从而逃避免疫监视^[6-8]。在鼻咽癌中, 曾有研究初步显示通过免疫组化法检测到 TC 表面 PD-L1 的高表达是不良预后因素^[9-10], 然而亦有研究持相反观点, 作者发现 PD-L1 高表达提示更好的预后^[11]。上述矛盾的结论使我们产生了进一步深入探究 PD-L1 在鼻咽癌中确切价值的想法。

近期, 研究显示由病毒感染诱发致病的恶性肿瘤常常伴随较高的肿瘤突变负荷及高 PD-L1 表达^[12-15]。在 KEYNOTE-028 研究中^[16], T 细胞炎症基因表达谱 (T-cell-inflamed gene-expression profile, GEP)、PD-L1 表达及肿瘤突变负荷 (tumor mutational burden, TMB) 是预测抗 PD-1 治疗疗效的关键因子, 在研究纳入的 20 种实体瘤中, 鼻咽癌的缓解率仅次于小细胞肺癌和食管癌, 位居第 3, 提示免疫微环境在鼻咽癌免疫检查点抑制剂治疗中起到关键作用。

过去, 免疫抑制性微环境往往被认为是大部分肿瘤预后不良的因素, 然而在鼻咽癌中, 可以看到不同研究的结论明显不同^[9-11, 17-18], 究其原因, 我们认为可能与研究未将患者根据 EBV 感染状态进行分层有关, 是否伴有 EBV 感染决定了其免疫微环境的不同。本研究基于上述观点, 将不同 EBV 表达状态的鼻咽癌人群分别进行 PD-L1 表达检测并分析对预后的影响。

1 材料与方法

1.1 一般资料

收集 2007 年 9 月至 2014 年 12 月复旦大学附属肿瘤医院放射治疗中心收治的 120 例初治非转移性鼻咽非角化性鳞癌患者的活检组织蜡块, 通过系统地病例资料调阅, 共 87 例具有完整的年龄、性别、TNM 分期、治疗方案和随访资料的患者被纳入研究, KPS $\geq$ 80。所有患者均接受了根治性治疗——调强放射治疗 (intensity-modulated radiation therapy, IMRT) 联合基于铂类的化疗方案, 处方剂量对 T₁₋₂ 原发灶为 66Gy/30F, T₃₋₄ 原发灶为 70.4Gy/32F^[19]。

1.2 原位杂交法 (ISH) 检测 EBER

在厚度为 4 μ m、经福尔马林固定石蜡包埋的病理切片上采用 ISH 检测 EBER 表达, 根据商业化 EBER 试剂盒 (triplex international biosciences) 说明进行扩增。采用蛋白酶 K 消化后, 加入 25 μ l EBER 探针, 切片 55 $^{\circ}$ C 孵育 60~90min, 随后放入 37 $^{\circ}$ C 加湿箱 4~16h, 加入鼠抗 Dig 抗体、聚合物增强剂和 HRP 鼠抗 IgG 进行信号放大, DAB 显色, 最后 PBS 洗 3 遍, 显微镜下读片, 阳性表达为深棕色核染色。EBER 阴性和阳性染色分别定义为 EBV+鼻咽癌和 EBV-鼻咽癌。

1.3 免疫组化法 (IHC) 检测 PD-L1

采用 Dako 公司商业化抗体 (22C3) 进行 PD-L1 检测, 2 位病理科专家独立读片, 将肿瘤细胞 (tumor cells, TCs) 和免疫细胞 (immune cells, ICs) 上表达的 PD-L1 总数计作总 PD-L1 表达, PD-L1 阳性判读参考 Al-Shibli 等^[20]标准, 以细胞浆或细胞膜出现黄至棕褐色显色作为阳性, 结合染色强度和阳性细胞百分比进一步评定表达水平 (免疫反应评分 immunoreactive score, IRS)。其中肿瘤细胞及间质 PD-L1 阳性染色强度 (staining intensity, SI) 分为 0~3 级: 无着色 0 分, 淡黄色 1 分, 棕黄色 2 分, 棕褐色 3 分。PD-L1 阳性细胞数 (positive cells, PP): 0=无细胞染色, 1=0~10% 细胞染色, 2=10%~50% 细胞染色, 3=50~100% 细胞染色。最终的 IHC 评分采用半定量法 H 评分 (H-score), H-score=PP $\times$ SI。本研究定义 H-score=0 为阴性表达, 0<H-score<3 分为低表达, H-score $\geq$ 3 为高表达。

1.4 研究终点和统计学处理

研究采用 RECIST 标准 (response evaluation cri-

terial in solid tumors)v1.1 评价肿瘤缓解率,总生存率(overall survival,OS)定义为治疗开始时间(放疗或诱导化疗开始时间)至任何原因引起的死亡时间或末次随访时间;无复发生存率(relapse-free survival,RFS)和无转移生存率(metastasis-free survival,MFS)定义为治疗开始时间至首次复发/远处转移出现的时间,无进展生存率(progression-free survival,PFS)定义为治疗开始时间至疾病进展出现的时间。数据统计及生存分析采用 SPSS 20.0 软件,生存曲线采用 Prism 7.0 绘制。生存率比较采用 Kaplan-Meier 法和 Log-rank(Mantel-Cox)检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 鼻咽癌组织中 PD-L1 和 EBER 表达

87 例鼻咽癌原发病灶病理组织切片中,8 例(9.2%)EBER 表达阴性,79 例(90.8%)阳性;1 例(1.1%)PD-L1 表达阴性,50 例(57.5%)低表达,36 例(41.4%)高表达(Figure 1)。EBER 阳性患者亚组中,PD-L1 高表达较 EBER 阴性者多,但差异无统计学意义($P=0.062$)(Table 1)。

2.2 EBER 及 PD-L1 表达与鼻咽癌临床病理因素相关性

EBER 及 PD-L1 的表达水平在不同年龄、性别、吸烟史、T 分期、N 分期及 TMN 分期组间差异均无统计学意义(Table 2),但观察到 EBER 阳性表达组

既往吸烟者较少(36.8% vs 54.0%, $P=0.059$)。EBER 及 PD-L1 表达水平与近期疗效(放疗结束时/后 3 个月肿瘤缓解率)也无关联(Table 3)。

2.3 PD-L1 表达在不同 EBV 状态鼻咽癌生存中的预测价值

通过电话、就诊记录、书信等方式对 87 例患者进行随访,中位随访时间为 65.2 个月(5.2~134.9 个月),在全组患者中仅观察到 PD-L1 高表达者具有临界的生存获益(Figure 2,Table 4)。进一步将患者根据 EBV 状态进行分层,发现在 EBV+组,PD-L1 高表达是 5 年 RFS (91.8% vs 78.5%, $P=0.039$) 和 5 年 PFS (82.5% vs 68.0%, $P=0.036$)的预后因子;同时两组的 5 年 MFS (89.9% vs 81.6%, $P=0.149$)和 5 年 OS (92.7% vs 85.9%, $P=0.129$)差异无统计学意义(Figure 3)。而在 EBV-组 PD-L1 的表达高低与预后无明显相关性。

3 讨论

近年来,关于免疫检查点抑制剂的研究正在火热开展,也获得了相当令人惊喜的结果,在包括头颈部肿瘤在内的众多难治性实体瘤中显示出较好的临床缓解率^[21-23],在复发/转移性鼻咽癌中无论是单药还是联合用药应答率高^[16,24-25]。然而新的问题随之产生,由于总体有效率仅约 20%,且药物价格昂贵,如何在治疗前预测免疫检查点抑制剂的疗效,选择合适的患者用药成为亟待明确的问题。因此对于鼻咽癌患者肿瘤组织中免疫微环境的研究以及对可能存在的免疫治疗靶点的探索有着重要意义。

本研究发现在 EBV 相关鼻咽癌中,PD-L1 高表达是预后正相关因子,对于肿瘤局部复发以及疾病

Table 1 Correlations of EBER and PD-L1 expression

EBER	PD-L1		P
	(-)/low (%)	High (%)	
-	7(8.0)	1(1.1)	0.062
+	44(50.6)	35(40.2)	

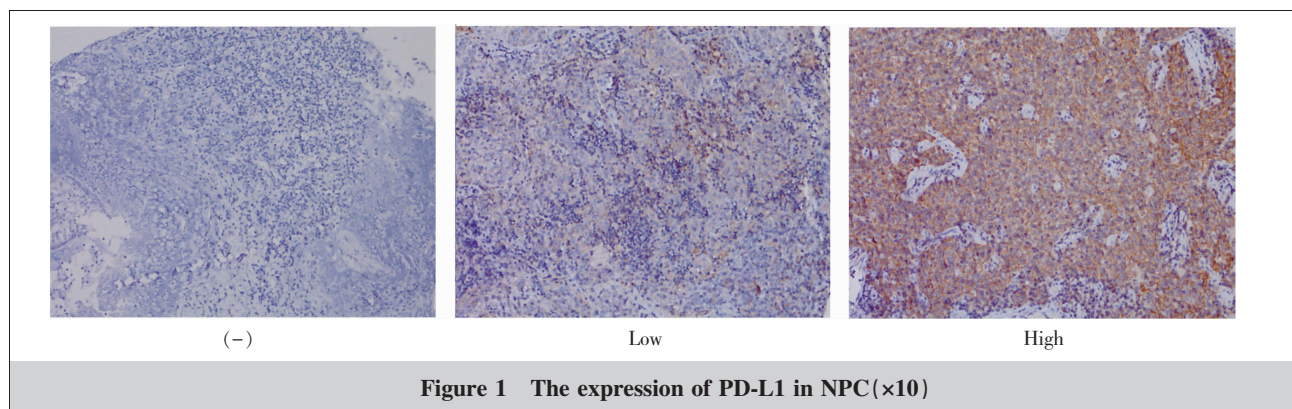


Figure 1 The expression of PD-L1 in NPC($\times 10$)

Table 2 The relationship of EBER and PD-L1 expression with clinicopathological features

Features	EBER			PD-L1 level		
	(-)(%)	(+)(%)	P	(-)/low(%)	High(%)	P
Age(years)	44.5	48.0	0.991	47.0	49.0	0.348
Gender			0.031			0.726
Male	8(9.2)	58(66.7)		38(43.7)	28(32.2)	
Female	0(0)	21(24.1)		13(14.9)	8(9.2)	
KPS			1.000			1.000
80~100	8(9.2)	79(90.8)		51(58.6)	36(41.4)	
≤70	0(0)	0(0)		0(0)	0(0)	
Smoke			0.059			0.751
Yes	6(6.9)	32(36.8)		23(26.4)	15(17.2)	
No	2(2.3)	47(54.0)		28(32.2)	21(24.2)	
T stage			0.396			0.411
T ₁	4(4.6)	20(23.0)		13(14.9)	11(12.6)	
T ₂	1(1.1)	29(33.3)		16(18.4)	14(16.1)	
T ₃	2(2.2)	18(20.7)		15(17.2)	5(5.8)	
T ₄	1(1.1)	12(13.8)		7(8.1)	6(6.9)	
N stage			0.689			0.101
N ₀	0(0)	6(6.9)		6(6.9)	0(0)	
N ₁	3(3.5)	23(26.4)		17(19.5)	9(10.4)	
N ₂	4(4.6)	36(41.4)		21(24.1)	19(21.8)	
N ₃	1(1.1)	14(16.1)		7(8.1)	8(9.2)	
Stage			0.908			0.654
II	1(1.1)	12(13.8)		9(10.3)	4(4.6)	
III	5(5.8)	43(49.4)		28(32.2)	20(23.0)	
IV a	2(2.3)	24(27.6)		14(16.1)	12(13.8)	

Table 3 Correlations of EBER and PD-L1 expression with response rates

Index	RR at the end of treatment			RR at 3 months		
	CR	Non-CR	P	CR	Non-CR	P
EBER						
-	6(6.9)	2(2.3)	0.984	8(9.2)	0(0)	0.235
+	59(67.8)	20(23.0)		72(82.8)	7(8.0)	
PD-L1						
-/low	37(42.5)	14(16.1)	0.581	47(54.0)	4(4.6)	0.934
High	28(32.2)	8(9.2)		33(37.9)	3(3.5)	

Note: CR, complete response

Table 4 5-year survivals according to PD-L1 levels

Index	All patients				EBV (+) patients			
	PD-L1 (-)/low(%)	PD-L1 high	χ^2	P	PD-L1 (-)/low(%)	PD-L1 high	χ^2	P
OS	85.8	88.9	1.943	0.163	85.9	92.7	2.309	0.129
PFS	65.7	80.0	3.723	0.054	68.0	82.5	4.406	0.036
RFS	79.3	88.8	2.593	0.107	78.5	91.8	4.196	0.039
MFS	77.3	87.2	1.768	0.184	81.6	89.9	2.077	0.149

进展有重要的预测价值,而在 EBV-患者中则无显著相关性,初步提示 PD-L1 在不同 EBV 状态下的鼻咽癌患者中可能存在不同的作用,换言之,不同 EBV 状态的鼻咽癌患者的免疫微环境可能不尽相同,因而抗 PD-L/PD-L1 免疫检查点抑制剂治疗可能并不适用所有鼻咽癌患者。Fang 等^[9]的体外研究与本研究结果类似,他们发现在 EBV 阳性鼻咽癌细胞株中有 PD-L1 高表达现象,此外,在其他病毒感染相关的恶性肿瘤,如 EBV 感染相关胃癌^[26]、EBV 感染相关胃霍奇金淋巴瘤^[27]、HBV 相关肝细胞肝癌^[28]及 HPV 相关头颈部鳞癌^[29]亦观察到 PD-L1 高表达。

Le 等^[12]研究表明结直肠癌中突变相关新抗原是抗肿瘤免疫产生反应的重要原因,而病毒感染相关肿瘤亦已知伴有高频率突变^[30-31],因而推测可能从免疫检查点抑制剂治疗中得到更多获益。尽管 PD-L1 被认为介导的是免疫抑制通路,但并不意味着其就一定是预后不良的信号,本研究即发现在 EBV+患者中 PD-L1 高表达者生存期更长、预后更好,但在 EBV-患者中无显著相关性。事实上,之前已有学者在其他实体瘤中有类似发现^[32-34]。然而在鼻咽癌中的研究结论却不一致,Jiang 等^[35]发现 PD-L1 高表达在 IV 期非转移性鼻咽癌中提示较差的局控率及较低的生存率,而 Lee 等^[11]发现在接受根治性放射治疗的非转移性鼻咽癌中 PD-L1 IHC 2+的患者局部区域无复发和无进展生存率更高。Wang 等^[17]也提出在 TMN 分期的基础上增加包括 PD-L1 在内的 8 个免疫相关因子可以更好地构建预后预测系统。究其原因我们认为,产生上述看似相反的结论可能是由于这些学者没有纳入 EBV 状态作为重要的分层因素,因此结论存在差异。

研究 PD-L1 表达对于疾病致病过程的影响及与预后的相关性将为预测抗 PD-1/PD-L1 免疫检查点抑制剂的疗效提供重要的理论基础。T 细胞耗竭在病毒感染相关性肿瘤中并不罕见,并可以导致 T 细胞功能丧失和免疫逃逸。在病毒慢性感染过程中,Th1、

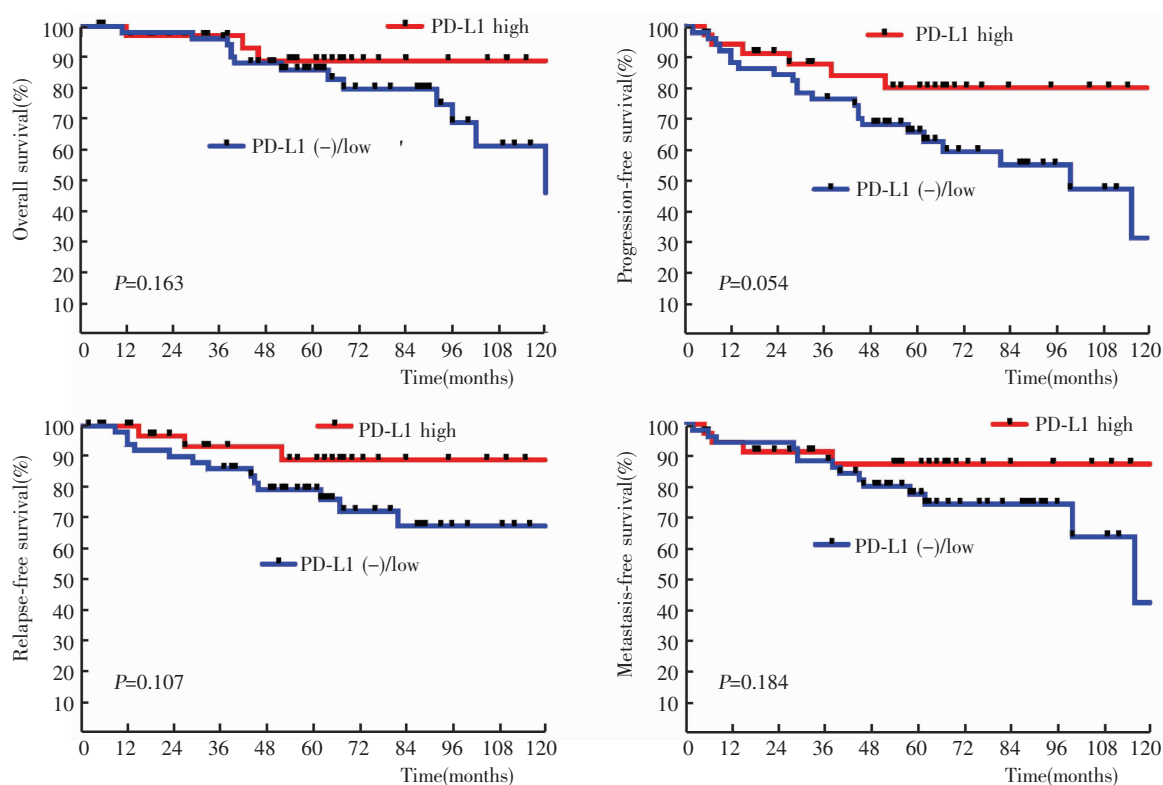


Figure 2 The survival of patients with different PD-L1 expression levels

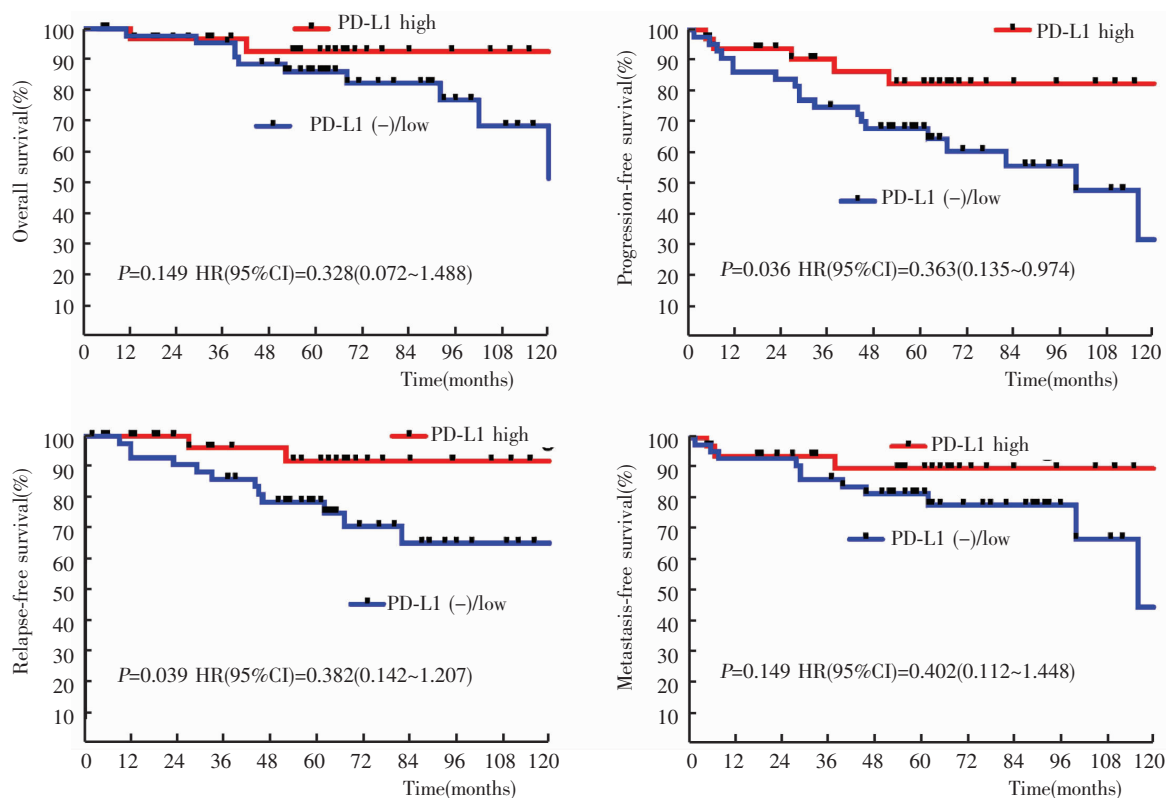


Figure 3 The survival of EBV+NPC patients with different PD-L1 expression levels

NK 和 CD8⁺T 淋巴细胞会释放大量的干扰素- γ ，并介导 JAK/STAT 信号通路直接诱导 PD-L1 表达^[36-38]，在 EB 病毒感染所致的鼻咽癌中同样如此，因而 PD-L1 的高表达可能是由病毒/肿瘤效应 T 细胞所诱导释放的干扰素- γ 的效应性表达，揭示 PD-L1 的表达反应了 T 细胞的浸润和肿瘤的免疫逃逸状态。

众所周知，放射治疗除了能够产生放射野内的局部效应外，还能通过重塑肿瘤微环境引起非照射区的远端效应，称为“异位效应”^[39]，该理论认为耗竭免疫功能的再激活能够与放射治疗产生协同作用。而放射治疗±化疗是鼻咽癌的根治性治疗手段，我们认为上述观点可以用来解释本研究中所发现的高 PD-L1 表达患者可能是具有较高的放疗敏感性，从而预后更佳。

综上所述，本研究初步发现不同 EBV 状态的鼻咽癌是两种具有不同免疫微环境和生物学行为的恶性肿瘤，因而抗 PD-1/PD-L1 免疫检查点抑制剂治疗可能对其产生不同的效应，仍需要开展更深入的研究来协助筛选出真正能从免疫治疗中获益的人群。

参考文献：

- [1] Parkin DM. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002 [J]. *Int J Cancer*, 2006, 118(12): 3030-3044.
- [2] Lo KW, To KF, Huang DP. Focus on nasopharyngeal carcinoma[J]. *Cancer Cell*, 2004, 5(5): 423-428.
- [3] Raab-Traub N. Nasopharyngeal carcinoma: an evolving role for the Epstein-Barr Virus[J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2015, 390(Pt 1): 339-363.
- [4] Raghupathy R, Hui EP, Chan AT. Epstein-Barr virus as a paradigm in nasopharyngeal cancer: from lab to clinic [J]. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*, 2014, 149-153.
- [5] Mirghani H, Amen F, Blanchard P, et al. Treatment de-escalation in HPV-positive oropharyngeal carcinoma: ongoing trials, critical issues and perspectives[J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(7): 1494-1503.
- [6] Nishimura H, Okazaki T, Tanaka Y, et al. Autoimmune dilated cardiomyopathy in PD-1 receptor-deficient mice [J]. *Science*, 2001, 291(5502): 319-322.
- [7] Chen L. Co-inhibitory molecules of the B7-CD28 family in the control of T-cell immunity [J]. *Nat Rev Immunol*, 2004, 4(5): 336-347.
- [8] Nishimura H, Nose M, Hiai H, et al. Development of lupus-like autoimmune diseases by disruption of the PD-1 gene encoding an ITIM motif-carrying immunoreceptor[J]. *Immunity*, 1999, 11(2): 141-151.
- [9] Fang W, Zhang J, Hong S, et al. EBV-driven LMP1 and IFN- γ up-regulate PD-L1 in nasopharyngeal carcinoma-implications for oncotargeted therapy[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(23): 12189-12202.
- [10] Zhang J, Fang W, Qin T, et al. Co-expression of PD-1 and PD-L1 predicts poor outcome in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Med Oncol*, 2015, 32(3): 86.
- [11] Lee VH, Lo AW, Leung CY, et al. Correlation of PD-L1 expression of tumor cells with survival outcomes after radical intensity-modulated radiation therapy for non-metastatic nasopharyngeal carcinoma [J]. *PLoS One*, 2016, 11(6): e0157969.
- [12] Le DT, Durham JN, Smith KN, et al. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade [J]. *Science*, 2017, 357(6349): 409-413.
- [13] Lipson EJ, Vincent JG, Loyo M, et al. PD-L1 expression in the Merkel cell carcinoma microenvironment: association with inflammation, Merkel cell polyomavirus and overall survival [J]. *Cancer Immunol Res*, 2013, 1(1): 54-63.
- [14] Arzumanyan A, Reis HM, Feitelson MA. Pathogenic mechanisms in HBV- and HCV-associated hepatocellular carcinoma [J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(2): 123-135.
- [15] Schumacher TN, Schreiber RD. Neoantigens in cancer immunotherapy[J]. *Science*, 2015, 348(6230): 69-74.
- [16] Ott PA, Bang YJ, Piha-Paul SA, et al. T-cell-inflamed gene-expression profile, programmed death ligand 1 expression, and tumor mutational burden predict efficacy in patients treated with pembrolizumab across 20 cancers: KEYNOTE-028[J]. *J Clin Oncol*, 2019, 37(4): 318-327.
- [17] Wang YQ, Zhang Y, Jiang W, et al. Development and validation of an immune checkpoint-based signature to predict prognosis in nasopharyngeal carcinoma using computational pathology analysis [J]. *J Immunother Cancer*, 2019, 7(1): 298.
- [18] Liu YJ, Tsang NM, Hsueh C, et al. Low PD-L1 expression strongly correlates with local recurrence in Epstein-Barr Virus-positive nasopharyngeal carcinoma after radiation-based therapy[J]. *Cancers (Basel)*, 2018, 10(10): 374.
- [19] Xu T, Liu Y, Dou S, et al. Weekly cetuximab concurrent with IMRT aggravated radiation-induced oral mucositis in locally advanced nasopharyngeal carcinoma-Results of a randomized phase II study[J]. *Oral Oncol*, 2015, 51(9): 875-879.
- [20] Al-Shibli K, Al-Saad S, Donnem T, et al. The prognostic

- value of intraepithelial and stromal innate immune system cells in non-small cell lung carcinoma [J]. *Histopathology*, 2009, 55(3):301–312.
- [21] Chow LQ, Haddad R, Gupta S, et al. Antitumor activity of pembrolizumab in biomarker-unselected patients with recurrent and/or metastatic head and neck squamous cell carcinoma; results from the phase Ib KEYNOTE-012 expansion cohort [J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34(32):3838–3845.
- [22] Herbst RS, Baas P, Kim DW, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial [J]. *Lancet*, 2016, 387(10027):1540–1550.
- [23] Weber JS, D'Angelo SP, Minor D, et al. Nivolumab versus chemotherapy in patients with advanced melanoma who progressed after anti-CTLA-4 treatment (CheckMate 037): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2015, 16(4):375–384.
- [24] Fang W, Yang Y, Ma Y, et al. Camrelizumab (SHR-1210) alone or in combination with gemcitabine plus cisplatin for nasopharyngeal carcinoma; results from two single-arm, phase 1 trials [J]. *Lancet Oncol*, 2018, 19(10):1338–1350.
- [25] Ma BBY, Lim WT, Goh BC, et al. Antitumor activity of nivolumab in recurrent and metastatic nasopharyngeal carcinoma; an international, multicenter study of the mayo clinic phase 2 consortium (NCI-9742) [J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(14):1412–1418.
- [26] Derks S, Liao X, Chiaravalli AM, et al. Abundant PD-L1 expression in Epstein-Barr virus-infected gastric cancers [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(22):32925–32932.
- [27] Green MR, Rodig S, Juszczynski P, et al. Constitutive AP-1 activity and EBV infection induce PD-L1 in Hodgkin lymphomas and posttransplant lymphoproliferative disorders; implications for targeted therapy [J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(6):1611–1618.
- [28] Wang BJ, Bao JJ, Wang JZ, et al. Immunostaining of PD-1/PD-Ls in liver tissues of patients with hepatitis and hepatocellular carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2011, 17(28):3322–3329.
- [29] Lyford-Pike S, Peng S, Young GD, et al. Evidence for a role of the PD-1:PD-L1 pathway in immune resistance of HPV associated head and neck squamous cell carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2013, 73(6):1733–1741.
- [30] McFadden K, Luftig MA. Interplay between DNA tumor viruses and the host DNA damage response [J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2013, 371:229–257.
- [31] Mesri EA, Feitelson MA, Munger K. Human viral oncogenesis; a cancer hallmarks analysis [J]. *Cell Host Microbe*, 2014, 15(3):266–282.
- [32] Badoual C, Hans S, Merillon N, et al. PD-1-expressing tumor-infiltrating T cells are a favorable prognostic biomarker in HPV-associated head and neck cancer [J]. *Cancer Res*, 2013, 73(1):128–138.
- [33] Ning XH, Gong YQ, He SM, et al. Higher programmed cell death 1 ligand 1 (PD-L1) mRNA level in clear cell renal cell carcinomas is associated with a favorable outcome due to the active immune responses in tumor tissues [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(2):3355–3363.
- [34] Kim WY, Jung HY, Nam SJ, et al. Expression of programmed cell death ligand 1 (PD-L1) in advanced stage EBV-associated extranodal NK/T cell lymphoma is associated with better prognosis [J]. *Virchows Arch*, 2016, 469(5):581–590.
- [35] Jiang F, Yu W, Zeng F, et al. PD-1 high expression predicts lower local disease control in stage IV M0 nasopharyngeal carcinoma [J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1):503.
- [36] Chen BJ, Chapuy B, Ouyang J, et al. PD-L1 expression is characteristic of a subset of aggressive B-cell lymphomas and virus-associated malignancies [J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(13):3462–3473.
- [37] Blank C, Brown I, Peterson AC, et al. PD-L1/B7H-1 inhibits the effector phase of tumor rejection by T cell receptor (TCR) transgenic CD8+T cells [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(3):1140–1145.
- [38] Mandai M, Hamanishi J, Abiko K, et al. Dual faces of IFN-gamma in cancer progression; a role of PD-L1 induction in the determination of pro- and anti-tumor immunity [J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(10):2329–2334.
- [39] Herrera FG, Bourhis J, Coukos G. Radiotherapy combination opportunities leveraging immunity for the next oncology practice [J]. *CA Cancer J Clin*, 2017, 67(1):65–85.