

# 免疫细胞在直肠癌放化疗中预测价值的研究进展

陈虹, 宝莹娜, 赵建国

(内蒙古医科大学附属医院, 内蒙古 呼和浩特, 010050)

**摘要:** 新辅助放化疗(NCRT)是局部晚期直肠癌(LARC)的标准治疗策略。患者对NCRT的反应性不同,故临床预后差异较大。建立敏感的生物标记物在NCRT前预测患者对治疗的反应性至关重要。肿瘤微环境(TME)中免疫细胞与LARC患者NCRT疗效密切相关。本文综述了细胞毒性T细胞、程序性细胞死亡-配体1(PD-L1)、肿瘤相关巨噬细胞(TAMs)、调节性T细胞(Treg)、中性粒细胞与淋巴细胞比值(NLR)与放化疗敏感性关系的研究进展,阐明了这些免疫细胞在预测直肠癌放化疗反应中的潜力及其各自的局限性,为今后研究提供可行方向。

**关键词:** 直肠肿瘤; 新辅助放化疗; 免疫细胞; 生物标记物; 肿瘤微环境

中图分类号: R 735.3; R 446.6; R 967 文献标志码: A 文章编号: 1672-2353(2024)01-133-06 DOI: 10.7619/jcmp.20233071

## Research progress on predictive value of immune cells in chemoradiotherapy for rectal cancer

CHEN Hong, BAO Yingna, ZHAO Jianguo

(the Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia, 010050)

**Abstract:** Neoadjuvant chemoradiotherapy (NCRT) is the standard therapeutic strategy for locally advanced rectal cancer (LARC). Due to the different responses of patients to NCRT, the clinical prognosis of patients varies greatly. Therefore, it is important to establish sensitive biomarkers to predict the response of patients to treatments before NCRT. Immune cells in the tumor microenvironment (TME) were closely related to the efficacy of NCRT in patients with LARC. This paper reviewed the research progress on the relationships of cytotoxic T cells, programmed death-ligand 1 (PD-L1), tumor-associated macrophages (TAMs), regulatory T cells (Treg) and neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) with chemoradiotherapy sensitivity in rectal cancer, illustrated the potential and limitations of these immune cells in predicting chemoradiotherapy response in rectal cancer, and provided a feasible direction for future researches.

**Key words:** rectal cancer; neoadjuvant chemoradiotherapy; immune cells; biomarkers; tumor microenvironment

新辅助放化疗(NCRT)可以实现肿瘤降期,降低肿瘤局部复发率,是局部晚期直肠癌(LARC)的标准治疗策略<sup>[1]</sup>。研究<sup>[2]</sup>表明,约21%的LARC患者在NCRT后可达病理完全缓解(PCR)。这部分患者通常能够获得较长的生存期,并且其后续治疗采取观察等待策略,就可以获得与根治性手术相同的疗效<sup>[3]</sup>。此外,一项全程新辅助治疗与标准NCRT疗效对比荟萃分析<sup>[4]</sup>显示,全程新辅助治疗有助于提高LARC患者的PCR率,增加无病生存期和总生存期。因此对于

NCRT反应较差的患者,选择强化的术前治疗策略有助于改善疗效。但是,不管是观察等待策略,还是全程新辅助治疗,均需敏感的生物标记物。在LARC患者行NCRT前预测其对治疗的敏感性,筛选出最可能获益的患者,这对患者后续行个体化治疗至关重要。

肿瘤微环境(TME)是肿瘤细胞赖以生存的微环境,其内免疫细胞可通过与肿瘤细胞以及其他细胞相互作用,影响结直肠癌的进展和转移,并介导其对放化疗的反应<sup>[5-6]</sup>。近年来,许多研

究<sup>[7-9]</sup>对 TME 中可能具有预测作用的免疫细胞进行了报道,如细胞毒性 T 细胞、程序性细胞死亡-配体 1 (PD-L1)、肿瘤相关巨噬细胞 (TAMs)、调节性 T 细胞 (Treg) 和中性粒细胞与淋巴细胞比值 (NLR) 等,但目前关于这些指标在直肠癌患者 NCRT 疗效中的预测价值尚未达成共识。本文就以上免疫细胞在直肠癌 NCRT 中预测作用的研究进展予以综述,探讨这些免疫细胞作为预测直肠癌 NCRT 疗效生物标记物的可行性,为开展后续临床研究提供依据。

## 1 细胞毒性 T 细胞与免疫检查点 PD-L1

TME 中免疫细胞在直肠癌治疗中的作用是一个有前景的研究领域。近年来,随着免疫治疗,特别是免疫检查点阻断疗法,一种通过抑制程序性细胞死亡受体-1 (PD-1)/PD-L1 轴来增强 CD8<sup>+</sup> T 细胞介导的抗肿瘤免疫应答的治疗方法在临床上取得了巨大进展,人们越来越认识到肿瘤微环境中免疫特征如 CD8<sup>+</sup> T 细胞和 PD-L1 可以预测患者临床治疗结果。

### 1.1 细胞毒性 T 细胞在直肠癌 NCRT 中的预测价值

细胞毒性 T 细胞,通常称为 CD8<sup>+</sup> T 细胞,是适应性免疫反应的主要效应细胞,具有细胞溶解能力,可以特异性识别和杀伤肿瘤细胞,是抗肿瘤免疫的重要组成部分。CD8<sup>+</sup> T 细胞最初被发现与结直肠癌的预后密切相关,在 GALON J 等<sup>[10]</sup> 研究中,通过测定 415 例结直肠癌样本中心和侵袭边缘 2 个区域的总 T 淋巴细胞 (CD3)、CD8<sup>+</sup> T 细胞及其相关的细胞毒性分子 (GZMB) 和记忆 T 细胞 (CD45RO) 的浸润密度,发现无复发患者适应性免疫细胞浸润密度高于复发患者,同时高密度的免疫浸润也与较好的无病生存期和总生存期相关。免疫评分是基于 CD3<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 细胞浸润水平建立的,是一种对肿瘤预后进行判断的检测方法,其原理是测定肿瘤核心和侵袭边缘 CD8<sup>+</sup> 和 CD3<sup>+</sup> T 细胞的浸润密度,在 2 个区域 2 种细胞浸润高为高分,反之则为低评分<sup>[11]</sup>。MLECNIK B 等<sup>[12]</sup> 首先在结直肠癌中证实了免疫评分对肿瘤预后的预测价值要优于 TNM 分期。随后 ANITEI M G 等<sup>[13]</sup> 在研究中进一步证实了该发现,并在 55 例进行 NCRT 的直肠癌患者治疗前活检中发现, CD8<sup>+</sup> 和 CD3<sup>+</sup> T 细胞高浸润与 NCRT 后肿瘤分期降低有关,说明治疗前取活检

对免疫细胞浸润密度进行测定有助于预测患者对 NCRT 反应性。这种利用直肠癌患者 NCRT 前活检标本进行免疫评分的方式,即为活检适应性免疫评分,是对结肠癌手术标本进行标准化免疫评分的改进。SISSY C E 等<sup>[14]</sup> 为进一步评估活检适应性免疫评分对 LARC 患者 NCRT 敏感性的预测价值。通过对 322 例 LARC 患者治疗前活检标本进行 CD3<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 细胞免疫染色,并确定其活检适应性免疫评分,发现评分高的患者局部复发率低,对新辅助治疗更为敏感,并且那些评分高的患者,在观察等待策略中获益最大。该研究证实了活检适应性免疫评分对 LARC 患者 NCRT 疗效的预测价值,有助于为直肠癌患者提供个体化的治疗选择。

目前,基于综合测定 CD3<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 细胞浸润密度的免疫评分的预测价值已在多项研究中得到验证。此外, CD8<sup>+</sup> T 细胞的独立预测价值也同样得到肯定。例如, MATSUTANI S 等<sup>[15]</sup> 研究表明, LARC 患者 NCRT 后手术切除标本中 CD8<sup>+</sup> T 细胞密度较治疗前活检标本显著升高,且治疗前后活检样本中 CD8<sup>+</sup> T 细胞的低密度与对 NCRT 反应较差有关。另外,在一项系统综述和荟萃分析中<sup>[16]</sup> 发现,相比于治疗前 CD8<sup>+</sup> T 细胞密度低的患者, CD8<sup>+</sup> T 密度高的患者获得 PCR 的可能性更大。结合以上研究可以看出, CD8<sup>+</sup> T 细胞浸润密度与 NCRT 治疗疗效呈正相关。其原因可能为细胞毒性药物和辐射可通过杀伤肿瘤细胞,促使肿瘤细胞释放新抗原,在肿瘤内原有 CD8<sup>+</sup> T 细胞浸润密度的基础上,进一步增加 CD8<sup>+</sup> T 细胞的募集,提高了局部抗肿瘤免疫反应。两者协同作用得以产生更好的治疗效果。因此, CD8<sup>+</sup> T 细胞作为预测 LARC 患者 NCRT 疗效的生物标记物极具前景。但目前不管是活检适应性免疫评分,还是通过测定患者治疗前活检中 CD8<sup>+</sup> T 细胞浸润水平以预测患者治疗反应,均缺乏大样本量的临床研究,实现临床应用还面临许多阻碍。未来还需在更大的患者队列中进行回顾性和前瞻性验证,以使其早日应用于直肠癌。

### 1.2 PD-L1 在直肠癌 NCRT 中的预测价值

PD-L1 全称为程序性细胞死亡-配体 1,可以在 T 细胞、B 细胞、巨噬细胞和树突状细胞中表达,并在干扰素的作用下上调。通过与 PD-1 结合,抑制 T 细胞的增殖和细胞因子的产生,在肿瘤免疫耐受和免疫逃逸中起着关键作用<sup>[17]</sup>。目

前,靶向 PD-1/PD-L1 轴的免疫检查点阻断疗法,已在多种实体肿瘤中得到应用,并且取得了临床获益<sup>[18]</sup>。但在结直肠癌中,仅有少数患者可以从免疫治疗中获益<sup>[19]</sup>。

为探索 PD-L1 表达水平与直肠癌预后以及 NCRT 反应之间的相关性,近年来开展了一系列的研究。SAIGUSA S 等<sup>[20]</sup>研究发现,PD-L1 高表达患者较 PD-L1 低表达患者更容易发生血管侵犯和肿瘤复发,并且 PD-L1 的高表达还与较差的无复发生存率和总生存率显著相关。此外,该研究还发现 PD-L1 高表达患者中 CD8<sup>+</sup> T 细胞的浸润数量显著低于 PD-L1 低表达患者,证明了 PD-L1 表达与 CD8<sup>+</sup> T 细胞的浸润密度呈负相关。而 CD8<sup>+</sup> T 细胞浸润通常与较好的治疗反应有关,这提示 PD-L1 的表达水平可能与 NCRT 疗效存在一定的相关性,控制 PD-L1 的表达可能有助于提高直肠癌患者 NCRT 疗效。尽管有许多发现,但这项研究的局限性在于存在两种术前放疗方案,且 NCRT 与手术间隔时间也不同。在纳入的 90 例直肠癌患者中,43 例接受了短疗程放疗,而其余 47 例行长程放疗,并分别于治疗后 2~3 周和 4~6 周后行根治性手术。人体内单核细胞通常包括经典单核细胞、中间单核细胞和非经典单核细胞 3 类,其中非经典单核细胞因其主要在血管中迁移,寻找有害微粒或受损内皮细胞,并对其进行清除来维持血管稳态,又被称为巡逻单核细胞<sup>[21]</sup>。TOJO M 等<sup>[22]</sup>首次报道了循环单核细胞中 PD-L1 表达与肿瘤对 NCRT 反应之间的相关性,证明了 PD-L1 在巡逻单核细胞上的表达与 LARC 患者对 NCRT 的反应呈负相关,是 NCRT 疗效的独立预测因素。之后, TAKAHASHI H 等<sup>[23]</sup>通过研究 109 例 LARC 患者 PD-L1 和 PD-1,以及核  $\beta$ -catenin 几种免疫学相关标记物和 NCRT 抵抗之间的关系,发现基质内高水平的 PD-L1 阳性免疫细胞浸润和肿瘤内核  $\beta$ -catenin 的高表达与 NCRT 治疗反应较差相关,可作为预测 LARC 患者对 NCRT 治疗抵抗的指标。以上研究均表明,PD-L1 的低表达与较好的治疗反应相关。与上述研究结果相反的是, ZHANG S Y 等<sup>[24]</sup>研究显示,新辅助治疗前后 PD-L1 高表达的患者可能获得良好的治疗反应。目前 PD-L1 表达的高低与 NCRT 疗效的相关性仍存在争议。评价病理反应的标准不同和评估 PD-L1 表达高低的临界值的非标准化是导致研究结果产生差异的重要原

因。因此,未来为进一步探索 PD-L1 和 NCRT 反应之间的潜在作用机制,明确其预测价值,不仅需要继续开展更多的临床试验,还需要在今后的研究中尽量遵循相同的病理反应评价标准,并对 LARC 患者 PD-L1 检验临界值进行确定。

## 2 TAMs 在直肠癌 NCRT 中的预测价值

TAMs 是 TME 的重要组成部分,起源于循环系统中的单核细胞或组织内的巨噬细胞,并在 TME 的刺激下分化为 TAMs。作为其来源的巨噬细胞在生理微环境的刺激下通常可以分化成为 2 种表型。一种为经典激活巨噬细胞,即 M1 型巨噬细胞。另一种是替代激活巨噬细胞,即 M2 型巨噬细胞。在结直肠肿瘤细胞的生长过程中分别具有促肿瘤和抗肿瘤的作用<sup>[25]</sup>。研究<sup>[26]</sup>表明,TAMs 通常具有 M2 型巨噬细胞的表型和功能,可通过分泌多种细胞因子或借助外泌体促进肿瘤细胞增殖、刺激肿瘤相关血管生成、抑制抗肿瘤免疫反应,促进肿瘤的进展和转移,并且还和结直肠肿瘤治疗耐药相关。一项体外实验证实, M2 型 TAMs 可通过释放 CCL22,激活 PI3K/AKT 通路以抵消 5-氟尿嘧啶的抗肿瘤作用,从而导致化疗耐药<sup>[27]</sup>。为探索 TAMs 细胞在 LARC 患者 NCRT 疗效中的预测价值, LIU X 等<sup>[28]</sup>通过使用免疫组化对 191 例 LARC 患者 NCRT 前后收集的肿瘤样本进行分析,发现 TME 中较高密度的 TAMs 浸润与 LARC 患者较差的预后密切相关。随后基于 NCRT 前活检样本中巨噬细胞相关生物标志物 CD163、CD68、MCSF 和 CCL2 表达水平建立了用于预测 LARC 患者预后和 NCRT 反应的风险评分模型,发现巨噬细胞相关生物标志物的高表达与非 PCR 密切相关,高分患者通常对 NCRT 反应较差,在 NCRT 之后可以考虑更强化的辅助治疗以提高疗效。之后, YANG Y Q 等<sup>[9]</sup>为探索免疫细胞浸润密度与治疗反应之间的相关性,纳入了 76 例 LARC 患者。检测患者 NCRT 前活检样本中免疫细胞浸润情况,之后对患者免疫特征与临床治疗反应行单因素和多因素分析,发现高水平的 TAMs 与非 PCR 密切相关。可以看出,肿瘤内 TAMs 的高密度常与 NCRT 疗效较差有关,有成为预测 NCRT 疗效的生物标志物的潜力。但目前有关 TAMs 预测 LARC 患者 NCRT 疗效的研究较少,且多为回顾性研究。因此,为使 TAMs 未来有助于患者临床治疗方案的选择,需要进行大规模

的前瞻性临床试验来证实之前的研究结果。

### 3 Treg 在直肠癌 NCRT 中的预测价值

Treg 是一类以 CD25 和叉头状/翼状螺旋转录因子 3 (Foxp3) 表达为主的免疫抑制细胞,可通过抑制抗原提呈细胞的成熟、竞争性耗竭 IL-2、分泌免疫抑制性细胞因子、表达颗粒酶和穿孔素杀死效应 T 细胞等方式发挥其免疫抑制功能<sup>[29]</sup>。Treg 在多种肿瘤中已被证明与预后不良相关<sup>[30]</sup>。但在结直肠癌中,调节性 T 细胞对预后的影响是有争议的。例如,JI D B 等<sup>[31]</sup>研究证实,Treg 的浸润密度与 LARC 患者预后呈负相关。而在其他研究中,Treg 则被证明密度的增加与结直肠癌预后良好相关<sup>[32-33]</sup>。目前,有关 Treg 浸润与 NCRT 敏感性的部分研究结果存在矛盾。SHINTO E 等<sup>[34]</sup>通过对 93 例直肠癌患者 NCRT 前后的活检标本进行 CD8 和 Foxp3 免疫染色,发现在治疗前活检中,CD8<sup>+</sup>/Foxp3<sup>+</sup> 高比值与肿瘤消退相关。而 MCCOY M J 等<sup>[35]</sup>研究则证明 NCRT 前 TME 中 Foxp3<sup>+</sup> Tregs 浸润密度与 LARC 患者肿瘤消退无关。2 项研究结果之间缺乏一致性,可能是因为 SHINTO E 等研究中患者接受的 NCRT 均为短程放疗(20 Gy/5f, 4 Gy/f; 尿嘧啶 7 d),而 MCCOY M J 等研究中患者接受的术前治疗为长程放疗(50.4 Gy/28f, 1.8 Gy/f; 5-氟尿嘧啶),相较于长程放疗,短程放疗后 PCR 率较低<sup>[36]</sup>,因此短程放疗与长程放疗研究结果可能存在差异。此外,MCCOY M J 等<sup>[37]</sup>进行的另一项研究通过评估 128 例直肠癌患者 NCRT 后手术切除样本中 T 细胞亚群与临床结果的相关性,发现治疗后 Foxp3<sup>+</sup> Treg 的低密度与更高的 PCR 率有关。此后,SEKIZAWA K 等<sup>[38]</sup>通过对 65 例接受新辅助化疗后行根治性切除的直肠癌患者手术切除标本行免疫组化分析,同样发现新辅助化疗后低密度的 Foxp3<sup>+</sup> Treg 浸润与 LARC 的肿瘤退缩相关。基于以上研究结果,目前治疗前 Foxp3<sup>+</sup> Treg 浸润是否与 LARC 对 NCRT 敏感性有关仍有争议,未来仍需继续开展大规模临床研究证实 Foxp3<sup>+</sup> Treg 的预测作用。而治疗后低密度的 Foxp3<sup>+</sup> Treg 浸润被证明与肿瘤消退有关,说明 Foxp3<sup>+</sup> Treg 可能通过其免疫抑制功能抑制患者对 NCRT 的反应。一项临床前小鼠实验<sup>[31]</sup>表明,放疗联合耗竭的 Treg 的治疗策略可增强直肠癌治疗疗效,并可产生远隔效应。因此,在

LARC 患者 NCRT 治疗过程中,通过减少 Treg 肿瘤内浸润密度,以改善治疗反应,有望成为直肠癌的一个治疗靶点。

### 4 NLR 在直肠癌 NCRT 中的预测价值

NLR 是一种有效的系统性炎症标志物,可参与肿瘤的进展。多项研究<sup>[39-40]</sup>表明,NLR 的高比值通常与结直肠癌患者的预后不良有关。此外,NLR 还被证明可作为预测直肠癌放疗反应的生物标志物。在一项评估 NLR 预测价值的研究中,KIM I Y 等<sup>[41]</sup>通过分析 102 例直肠癌患者 NLR 值和病理反应的相关性,发现放疗前 NLR 升高( $\geq 3$ )可作为 NCRT 反应性差的预测指标。因为当 NLR 升高时,中性粒细胞的促肿瘤作用占优势或是淋巴细胞的抗肿瘤免疫反应降低,可能导致患者对 NCRT 的反应性较差。在 2019 年发表的 2 项血液学生物标志物对 LARC 患者 NCRT 反应预测价值的研究中同样表明,治疗前较高的 NLR 与 LARC 患者 NCRT 后较差的病理反应相关<sup>[42-43]</sup>。但 2 项研究 NLR 临界值差异较大,分别为 1.78 和 4.06。还有研究将 4.50 作为 NLR 的临界值来预测 LARC 患者对 NCRT 的反应性。ANDRAS D 等<sup>[44]</sup>研究发现当 NLR < 4.5 时,患者表现为治疗后部分或完全病理缓解。而 NLR > 4.5,则提示治疗反应差或无反应,其预测患者对放疗反应性差的准确性为 0.85,敏感性和特异性均为 83.3%。许宁等<sup>[45]</sup>通过分析 148 例 LARC 患者治疗前 NLR 和治疗反应的相关性,发现较高的 NLR(> 3.88)与较差的治疗反应相关。以上研究可以看出,虽然 NLR 水平与患者对 NCRT 反应性具有一定的相关性,但目前 NLR 尚无统一的临界值来预测患者对 NCRT 反应。未来需要对不同的临界值进行验证,选取最具敏感性和特异性的 NLR 值作为最佳临界值,从而更精准地预测放疗疗效。

令人遗憾的是,虽然目前已有相当一部分研究证明了 NLR 与 LARC 患者 NCRT 疗效有关,但仍有部分研究结果与之相反。例如,LINO-SILVA L S 等<sup>[46]</sup>研究发现,NLR 值与 LARC 患者对 NCRT 的反应性无关。此外,一项大型回顾性研究<sup>[47]</sup>结果显示,NLR 并非 PCR 的独立预测因素,同样证明了 NLR 与 LARC 患者的治疗反应无关。因此,NLR 的预测价值尚未明确,但因 NLR 具有获取简单且经济有效的特点,将其与影像、肿瘤标

记物等预测指标相结合预测患者 NCRT 疗效,可能有助于提高当前临床评估方法的准确性,也可以使患者获益。

## 5 小 结

预测 LARC 患者对 NCRT 的反应性至关重要,其反应性的高低对后续治疗具有指导意义。对于反应良好者,可以选择观察等待策略,避免手术带来的副作用,并提高生活质量;对于反应较差者,可选择全程新辅助放化疗,通过强化新辅助治疗以优化患者治疗结果;或尽快尝试其他治疗方法,以避免延误治疗时机。目前,利用 TME 中免疫细胞来预测 LARC 患者 NCRT 疗效尚未应用于临床。因为目前研究多为回顾性研究,且样本量较小。在各项研究中不同患者之间放疗剂量、新辅助放化疗与手术间隔时间、化疗药物使用等存在差异,这些临床差异可能会导致患者对 NCRT 的反应性不同,从而导致研究结果的可信度不高。此外,一些免疫细胞在 LARC 患者 NCRT 疗效中的预测价值存在争议。因此,仍需继续深入探索研究,在更大规模的队列研究和前瞻性临床试验中验证这些免疫细胞的预测价值,尝试采取联合多种生物标记物的方式提高预测的准确性,从而使得更多的患者受益。

## 参考文献

- [1] 薛珂,宗丹,詹梦娜,等.局部晚期直肠癌新辅助放化疗研究进展[J].中国肿瘤外科杂志,2022,14(2):190-194.
- [2] 王陈宇,曹勤洪,姚学权.直肠癌新辅助放化疗后病理完全缓解的相关因素分析[J].临床肿瘤学杂志,2023,28(3):249-252.
- [3] 高树全,武雪亮,薛军,等.中低位局部进展期直肠癌行新辅助放化疗后临床完全缓解患者采取等待观察策略的预后及影响因素分析[J].实用医学杂志,2022,38(21):2691-2696.
- [4] LIU S, JIANG T, XIAO L, *et al.* Total neoadjuvant therapy (TNT) versus standard neoadjuvant chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. *Oncologist*, 2021, 26(9): e1555 - e1566.
- [5] CHANDRA R, KARALIS J D, LIU C, *et al.* The colorectal cancer tumor microenvironment and its impact on liver and lung metastasis[J]. *Cancers*, 2021, 13(24): 6206.
- [6] CORRÒ C, DUTOIT V, KOESSLER T. Emerging trends for radio-immunotherapy in rectal cancer[J]. *Cancers*, 2021, 13(6): 1374.
- [7] 顾昕,可飞,吴晋蓉,等.肿瘤浸润T淋巴细胞预测局部晚期直肠癌新辅助放化疗反应的临床观察[J].临床肿瘤学杂志,2022,27(10):865-871.
- [8] LI M Y, XIAO Q Y, VENKATACHALAM N, *et al.* Predicting response to neoadjuvant chemoradiotherapy in rectal cancer: from biomarkers to tumor models[J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2022, 14: 17588359221077972.
- [9] YANG Y Q, TIAN W J, SU L Q, *et al.* Tumor-infiltrating cytotoxic T cells and tumor-associated macrophages correlate with the outcomes of neoadjuvant chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer[J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 743540.
- [10] GALON J, COSTES A, SANCHEZ-CABO F, *et al.* Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome [J]. *Science*, 2006, 313(5795): 1960-1964.
- [11] 沈璞,韩振国,张玉龙,等.免疫评分系统在结直肠癌中应用的研究进展[J].中华老年多器官疾病杂志,2023,22(1):76-80.
- [12] MLECNIK B, TOSOLINI M, KIRILOVSKY A, *et al.* Histopathologic-based prognostic factors of colorectal cancers are associated with the state of the local immune reaction [J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(6): 610-618.
- [13] ANITEI M G, ZETIOUN G, MLECNIK B, *et al.* Prognostic and predictive values of the immunoscore in patients with rectal cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(7): 1891-1899.
- [14] SISSY C E, KIRILOVSKY A, VAN DEN EYNDE M, *et al.* A diagnostic biopsy-adapted immunoscore predicts response to neoadjuvant treatment and selects patients with rectal cancer eligible for a watch-and-wait strategy [J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(19): 5198-5207.
- [15] MATSUTANI S, SHIBUTANI M, MAEDA K, *et al.* Significance of tumor-infiltrating lymphocytes before and after neoadjuvant therapy for rectal cancer [J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(4): 966-979.
- [16] ORHAN A, KHESRAWI F, TVILLING MADSEN M, *et al.* Tumor-infiltrating lymphocytes as biomarkers of treatment response and long-term survival in patients with rectal cancer: a systematic review and meta-analysis [J]. *Cancers*, 2022, 14(3): 636.
- [17] HAN Y Y, LIU D D, LI L H. PD-1/PD-L1 pathway: current researches in cancer [J]. *Am J Cancer Res*, 2020, 10(3): 727-742.
- [18] 张奥伦,殷婷,张西志.肿瘤突变负荷对结直肠癌患者免疫治疗疗效的预测价值[J].实用临床医药杂志,2020,24(8):128-132.
- [19] ANDRÉ T, SHIU K K, KIM T W, *et al.* Pembrolizumab in microsatellite-instability-high advanced colorectal cancer [J]. *N Engl J Med*, 2020, 383(23): 2207-2218.
- [20] SAIGUSA S, TOIYAMA Y, TANAKA K, *et al.* Implication of programmed cell death ligand 1 expression in tumor recurrence and prognosis in rectal cancer with neoadjuvant chemoradiotherapy [J]. *Int J Clin Oncol*, 2016, 21(5): 946-952.
- [21] AUFRAY C, FOGG D, GARFA M, *et al.* Monitoring of blood vessels and tissues by a population of monocytes with patrolling

- behavior[J]. *Science*, 2007, 317(5838): 666-670.
- [22] TOJO M, HORIE H, KOINUMA K, *et al.* Programmed cell death ligand 1 expression on monocytes is inversely correlated with tumour response to preoperative chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer[J]. *Colorectal Dis*, 2022, 24(10): 1140-1149.
- [23] TAKAHASHI H, WATANABE H, HASHIMURA M, *et al.* A combination of stromal PD-L1 and tumoral nuclear  $\beta$ -catenin expression as an indicator of colorectal carcinoma progression and resistance to chemoradiotherapy in locally advanced rectal carcinoma[J]. *J Pathol Clin Res*, 2022, 8(5): 458-469.
- [24] ZHANG S Y, BAI W Q, TONG X N, *et al.* Correlation between tumor microenvironment-associated factors and the efficacy and prognosis of neoadjuvant therapy for rectal cancer[J]. *Oncol Lett*, 2019, 17(1): 1062-1070.
- [25] LEE Y S, SONG S J, HONG H K, *et al.* The FBW7-MCL-1 axis is key in M1 and M2 macrophage-related colon cancer cell progression: validating the immunotherapeutic value of targeting PI3K $\gamma$ [J]. *Exp Mol Med*, 2020, 52(5): 815-831.
- [26] 李佳鑫, 孙燕. 结直肠癌免疫微环境中肿瘤相关巨噬细胞的作用[J]. *中国肿瘤临床*, 2020, 47(17): 890-896.
- [27] WEI C, YANG C G, WANG S Y, *et al.* M2 macrophages confer resistance to 5-fluorouracil in colorectal cancer through the activation of CCL22/PI3K/AKT signaling[J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 3051-3063.
- [28] LIU X, ZHENG S P, PENG Y, *et al.* Construction of the prediction model for locally advanced rectal cancer following neoadjuvant chemoradiotherapy based on pretreatment tumor-infiltrating macrophage-associated biomarkers[J]. *Onco Targets Ther*, 2021, 14: 2599-2610.
- [29] SAKAGUCHI S, MIYARA M, COSTANTINO C M, *et al.* FOXP3<sup>+</sup> regulatory T cells in the human immune system[J]. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10(7): 490-500.
- [30] SHANG B, LIU Y, JIANG S J, *et al.* Prognostic value of tumor-infiltrating FoxP3<sup>+</sup> regulatory T cells in cancers: a systematic review and meta-analysis[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 15179.
- [31] JI D B, SONG C, LI Y H, *et al.* Combination of radiotherapy and suppression of Tregs enhances abscopal antitumor effect and inhibits metastasis in rectal cancer[J]. *J Immunother Cancer*, 2020, 8(2): e000826.
- [32] SAITO T, NISHIKAWA H, WADA H, *et al.* Two FOXP3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> T cell subpopulations distinctly control the prognosis of colorectal cancers[J]. *Nat Med*, 2016, 22(6): 679-684.
- [33] SIDERAS K, GALJART B, VASATURO A, *et al.* Prognostic value of intra-tumoral CD8<sup>+</sup>/FoxP3<sup>+</sup> lymphocyte ratio in patients with resected colorectal cancer liver metastasis[J]. *J Surg Oncol*, 2018, 118(1): 68-76.
- [34] SHINTO E, HASE, HASHIGUCHI Y, *et al.* CD8<sup>+</sup> and FOXP3<sup>+</sup> tumor-infiltrating T cells before and after chemoradiotherapy for rectal cancer[J]. *Ann Surg Oncol*, 2014, 21(Suppl 3): S414-S421.
- [35] MCCOY M J, HEMMINGS C, ANYAEGBU C C, *et al.* Tumour-infiltrating regulatory T cell density before neoadjuvant chemoradiotherapy for rectal cancer does not predict treatment response[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(12): 19803-19813.
- [36] ORONSKY B, REID T, LARSON C, *et al.* Locally advanced rectal cancer: the past, present, and future[J]. *Semin Oncol*, 2020, 47(1): 85-92.
- [37] MCCOY M J, HEMMINGS C, MILLER T J, *et al.* Low stromal Foxp3<sup>+</sup> regulatory T-cell density is associated with complete response to neoadjuvant chemoradiotherapy in rectal cancer[J]. *Br J Cancer*, 2015, 113(12): 1677-1686.
- [38] SEKIZAWA K, NAKAGAWA K, ICHIKAWA Y, *et al.* Relationship between stromal regulatory T cells and the response to neoadjuvant chemotherapy for locally advanced rectal cancer[J]. *Surg Today*, 2022, 52(2): 198-206.
- [39] 姚青林, 王景杰, 李欢, 等. 中性粒细胞/淋巴细胞比率、C反应蛋白/白蛋白比率、血小板/淋巴细胞比率与结直肠癌患者预后的关系[J]. *疑难病杂志*, 2020, 19(6): 595-598, 616.
- [40] 钱程程, 袁海花, 姜斌. 中性粒细胞/淋巴细胞比值和循环肿瘤细胞计数联合预测结直肠癌患者预后[J]. *现代肿瘤医学*, 2023, 31(3): 476-480.
- [41] KIM I Y, YOU S H, KIM Y W. Neutrophil-lymphocyte ratio predicts pathologic tumor response and survival after preoperative chemoradiation for rectal cancer[J]. *BMC Surg*, 2014, 14: 94.
- [42] LI A J, HE K W, GUO D, *et al.* Pretreatment blood biomarkers predict pathologic responses to neo-CRT in patients with locally advanced rectal cancer[J]. *Future Oncol*, 2019, 15(28): 3233-3242.
- [43] BRAUN L H, BAUMANN D, ZWIRNER K, *et al.* Neutrophil-to-lymphocyte ratio in rectal cancer-novel biomarker of tumor immunogenicity during radiotherapy or confounding variable[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(10): 2448.
- [44] ANDRAS D, CRISAN D, CRACIUN R, *et al.* Neutrophil-to-lymphocyte ratio: a hidden gem in predicting neoadjuvant treatment response in locally advanced rectal cancer[J]. *J BUON*, 2020, 25(3): 1436-1442.
- [45] 许宁, 李文亮, 殷亮, 等. 中性粒细胞与淋巴细胞比值在预测局部进展期直肠癌同期新辅助放疗化疗效果中的价值[J]. *中华普通外科杂志*, 2021, 36(2): 86-89.
- [46] LINO-SILVA L S, SALCEDO-HERNÁNDEZ R A, RUIZ-GARCÍA E B, *et al.* Pre-operative neutrophils/lymphocyte ratio in rectal cancer patients with preoperative chemoradiotherapy[J]. *Med Arch*, 2016, 70(4): 256-260.
- [47] DUDANI S, MARGINEAN H, TANG P A, *et al.* Neutrophil-to-lymphocyte and platelet-to-lymphocyte ratios as predictive and prognostic markers in patients with locally advanced rectal cancer treated with neoadjuvant chemoradiation[J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 664.