

局部进展期直肠癌新辅助短程放化疗联合免疫治疗后区域淋巴结的转归

谢福平^{①②} 高昱^② 林振宇^③ 肖帆^{①②} 蔡耀元^{①②} 邱兴烽^{①②}

摘要 **目的:**探讨局部进展期直肠癌 (locally advanced rectal cancer, LARC) 新辅助短程放化疗联合免疫治疗后区域淋巴结的转归。**方法:**回顾性分析 2021 年 1 月至 2022 年 12 月厦门大学附属中山医院 (32 例) 和华中科技大学同济医学院附属协和医院 (8 例) 收治的 40 例 LARC 患者的临床资料,以接受新辅助短程放化疗联合卡瑞利珠单抗治疗后行腹腔镜手术的 20 例患者为试验组,以直接行腹腔镜手术治疗的 20 例患者为对照组。比较两组患者术后淋巴结检出情况,以及比较试验组原发肿瘤和区域淋巴结的病理完全缓解率等。**结果:**与对照组相比,试验组 N 降期患者例数显著增多 (18 例 vs. 7 例, $P<0.001$), 淋巴结转移阳性率显著降低 (1.4% vs. 19.1%, $P<0.001$), 阳性淋巴结患者例数显著减少 (4 例 vs. 16 例, $P<0.001$)。试验组淋巴结检出数略低于对照组 [(18.3±8.7) 枚 vs. (20.4±6.5) 枚, $P=0.392$]。此外,试验组中区域淋巴结的病理缓解率显著高于原发肿瘤 (80% vs. 30%, $P=0.001$)。**结论:**LARC 患者经新辅助短程放化疗联合免疫治疗后阳性淋巴结的病理缓解效果显著,并推测直肠肿瘤区域淋巴结的病理缓解具有“空间效应”。

关键词 直肠癌 新辅助短程放化疗 免疫治疗 区域淋巴结 空间效应

doi:10.12354/j.issn.1000-8179.2023.20231033

Regional lymph node regression following neoadjuvant short-course chemoradiotherapy combined with immunotherapy in locally advanced rectal cancer

Fuping Xie^{1,2}, Yu Gao², Zhenyu Lin³, Fan Xiao^{1,2}, Yaoyuan Cai^{1,2}, Xingfeng Qiu^{1,2}

Correspondence to: Xingfeng Qiu; E-mail: qxixingfeng1@163.com

¹The School of Clinical Medicine, Fujian Medical University, Fuzhou 350122, China; ²Department of Gastrointestinal Surgery, Zhongshan Hospital Affiliated to Xiamen University, Xiamen 361004, China; ³Department of Cancer Center, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China

Abstract **Objective:** To investigate the regression of regional lymph nodes after administering neoadjuvant short-course chemoradiotherapy combined with immunotherapy in patients with locally advanced rectal cancer (LARC). **Methods:** This retrospective study analyzed the clinical data of 40 patients with LARC admitted to Zhongshan Hospital Affiliated to Xiamen University (32 cases) and the Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology (8 cases) between January 2021 and December 2022. The control and experimental groups consisted of 20 patients who underwent direct laparoscopic surgery and neoadjuvant short-course chemoradiotherapy combined with immunotherapy prior to the laparoscopic surgery, respectively. The detection of the postoperative lymph node was compared between the two groups. In addition, the pathologic complete response (pCR) rate of the primary tumor and regional lymph nodes in the experimental group was assessed. **Results:** The number of patients with N downstaging (18 vs. 7, $P<0.001$) significantly increased, whereas the positive lymph node metastasis rate (1.4% vs. 19.1%, $P<0.001$) and number of patients with positive lymph nodes (4 vs. 16, $P<0.001$) significantly decreased in the experimental group compared to those in the control group. Although the number of detected lymph nodes in the experimental group was slightly lower compared to that in the control group (18.3±8.7 vs. 20.4±6.5, $P=0.392$), it was not statistically different. Furthermore, the pCR rate of the regional lymph nodes was significantly higher than that of the primary tumor in the experimental group (80% vs. 30%, $P=0.001$). **Conclusions:** Neoadjuvant short-course chemoradiotherapy combined with immunotherapy caused significant pathological remission of positive lymph nodes in patients with LARC. This study hypothesizes that a “spatial effect” contributes to the pathological remission of regional lymph nodes in rectal tumors.

Keywords: rectal cancer, neoadjuvant short-course chemoradiotherapy, immunotherapy, regional lymph node, spatial effect

结直肠癌是消化道最常见的恶性肿瘤之一,根据国际癌症研究机构(IARC)统计数据显示^[1],在 2020 年全球新发癌症病例中,结直肠癌居最常见恶性肿瘤的第 3 位,死亡率居第 2 位。目前,局部进展期直肠

癌(locally advanced rectal cancer, LARC)的标准治疗模式为新辅助放化疗联合全直肠系膜切除术(total mesorectal excision, TME)及辅助化疗的综合治疗。近年来,针对程序性细胞死亡蛋白-1(programmed cell

作者单位:①福建医科大学临床医学部(福州市 350122);②厦门大学附属中山医院胃肠外科;③华中科技大学同济医学院附属协和医院肿瘤中心

通信作者:邱兴烽 Email: qxixingfeng1@163.com

death protein-1, PD-1)/程序性细胞死亡蛋白配体-1 (programmed cell death protein- ligand 1, PD-L1)信号通路的免疫检查点抑制剂(PD-1/PD-L1 单抗)已逐渐成为肿瘤免疫治疗的焦点^[2]。术前新辅助放化疗联合免疫检查点抑制剂为 LARC 的治疗开辟了新途径,促使原发肿瘤和区域淋巴结产生良好的退缩反应,进一步提高了病理完全缓解(pathologic complete response, pCR)率^[3]。

通常大多数关于直肠癌治疗后的肿瘤消退评估集中在原发肿瘤,而忽视了区域淋巴结的变化情况。区域淋巴结是距离肿瘤组织最近的免疫器官,是进行免疫监视和抗肿瘤反应的重要场所^[4]。直肠原发肿瘤与区域淋巴结作为两个不同的空间区域,两者在新辅助治疗过程中产生的退缩反应存在显著性差异。Hughes 等^[5]的研究表明,在局部晚期的直肠癌患者中,原发肿瘤的 pCR 并不能预测直肠周围淋巴结的缓解。当前,对于 LARC 患者新辅助治疗后区域淋巴结的变化情况研究相对较少。本研究旨在分析 LARC 患者经短程放化疗联合免疫治疗后区域淋巴结变化情况,并进一步探讨其可能存在的机制,以期为直肠癌的治疗提供更多思路。

1 材料与方法

1.1 临床资料

回顾性收集 2021 年 1 月至 2022 年 12 月厦门大学附属中山医院(32 例)和华中科技大学同济医学院附属协和医院(8 例)收治的 40 例 LARC 患者临床资料,以接受新辅助短程放化疗联合免疫治疗后手术的 20 例患者为试验组,以直接行腹腔镜手术治疗的 20 例患者为对照组。纳入标准:1)年龄 18~70 岁;2)术前组织学诊断为直肠癌;3)术前经盆腔增强 CT 或 MRI 等影像学检查提示肿瘤分期为 cT1-4N+M0;4)肿瘤位置(肿瘤下缘距肛缘)≤10 cm;5)美国东部肿瘤协作组(ECOG)评分≤1 分;6)无严重的血液、心、肺、肝、肾功能异常或自身免疫系统疾病。排除标准:1)术前全身检查提示有远处转移;2)既往有结直肠癌手术史或因其它疾病接受放疗、化疗以及其他抗肿瘤病史;3)近 5 年内合并其它恶性肿瘤病史;4)既往接受过抗 PD-1、抗 PD-L1 等免疫检查点抑制剂治疗的患者。本研究获得厦门大学附属中山医院伦理委员会(批号: xzmzsyky No.2023-121)和华中科技大学同济医学院附属协和医院伦理委员会[批号: 2019 伦审字(S1172)]批准且全部患者均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 治疗方案 试验组所有患者均完成第 1 阶段的新辅助短程放疗和第 2 阶段的新辅助化疗和免疫治疗。第 1 阶段为短程放疗:总放射剂量为 25 Gy/5 f,

即每次 5 Gy,共计 5 次,时间为 1 周。放疗完成后休息 1 周。第 2 阶段为化疗联合卡瑞利珠单抗(PD-1 抗体):化疗方案采用 CapeOX 方案(奥沙利铂 130 mg/m², 静脉滴注,第 1 天;卡培他滨 1 000 mg/m²,口服,每日 2 次,第 1~14 天),同时联合卡瑞利珠单抗(200 mg, 静脉滴注,第 1 天)。以 21 天为 1 个周期,共治疗 2 个周期。第 2 阶段完成后继续休息 1 周。上述 2 个治疗阶段完成后,评估患者全身各项机能指标及临床治疗效果,并评估手术治疗。对照组未行新辅助治疗而直接行手术治疗。

1.2.2 手术及病理方法 试验组患者根据相关影像、肠镜、病理结果等资料进行术前新辅助治疗后的退缩反应评估,所有患者根据自身具体情况行腹腔镜直肠癌根治术,严格按照 TME 原则施行手术,并保证完整清扫病灶周围引流区域淋巴结。术后标本立即浸泡于福尔马林液中固定,并由经验丰富的病理医师进行病理学检查。

1.2.3 观察指标 观察两组患者的年龄、性别、肿瘤位置、临床 N(淋巴结)分期(cN)、N 降期患者数、淋巴结检出数、淋巴结转移阳性率和阳性淋巴结患者数,以及计算试验组原发肿瘤和区域淋巴结的 pCR 率。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 25.0 软件进行统计学分析。正态分布或是近似正态分布的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验。计数资料以频数及百分率表示,组间、组内比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法。以 *P*<0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 患者临床资料

试验组患者 20 例,平均年龄(55.6±8.1)岁,平均肿瘤位置(6.7±2.15)cm,其中男性 13 例,女性 7 例;N1 期 9 例,N2 期 11 例。对照组患者 20 例,平均年龄(58.2±7.2)岁,平均肿瘤位置(6.8±2.4)cm,其中男性 12 例,女性 8 例;N1 期 10 例,N2 期 10 例。两组患者的年龄、性别、肿瘤位置、临床 N 分期(cN)的差异均无统计学意义(*P*>0.05),见表 1。

表1 两组直肠癌患者临床资料比较

临床资料	试验组(n=20)	对照组(n=20)	χ^2	<i>P</i>
性别			0.107	0.744
男	13(65)	12(60)		
女	7(35)	8(40)		
临床N分期(期)			0.100	0.752
N ₁	9(45)	10(50)		
N ₂	11(55)	10(50)		

()内单位为%

2.2 病理结果

与对照组相比, 试验组 N 降期患者较多(18 例 vs. 7 例, $P<0.001$), 淋巴结转移阳性率较低(1.4% vs. 19.1%, $P<0.001$), 阳性淋巴结患者较少(4 例 vs. 16 例, $P<0.001$)。试验组淋巴结检出数略低于对照组 [(18.3±8.7) vs. (20.4±6.5), $P=0.392$]。见表 2。

表2 两组直肠癌患者术后病理资料比较

术后病理资料	试验组 (n=20)	对照组 (n=20)	χ^2	P
N降期患者数(例)	18(90)	7(35)	12.907	<0.001
淋巴结检出数(枚)	18.3±8.7	20.4±6.5	0.865	0.392
淋巴结转移阳性率	5/366(1.4)	78/408(19.1)	63.503	<0.001
阳性淋巴结患者数(例)	4(20)	16(80)	14.400	<0.001

()内单位为%

在试验组中, 4 例患者达 pCR(ypt0N0M0), 18 例(90%)患者出现 N 降期, 16 例(80%)患者区域淋巴结达 pCR(yptN0), 6 例(30%)患者原发肿瘤达 pCR(ypt0)。4 例患者术后淋巴结阳性, 淋巴结检出数分别为 1、1、1、2 枚, 其余均为阴性, 而其中 2 例阳性淋巴结患者术后病理分期为 ypt0N1M0 TRG 0 级。此外, 在试验组中, 16 例(80%)患者区域淋巴结达 pCR, 6 例(30%)患者原发肿瘤达 pCR, 区域淋巴结的 pCR 率显著高于原发肿瘤(80% vs. 30%, $P=0.001$)。

3 讨论

目前, 新辅助放化疗联合 TME 及辅助化疗的综合治疗作为 LARC 患者的标准治疗模式。此模式虽能降低肿瘤分期以及肿瘤局部复发率, 但 pCR 率为 15%~30% 且总生存期并未获益。一项前瞻性 II 期临床研究显示^[6], 联合免疫检查点抑制剂的新辅助短程放疗治疗 LARC 患者 pCR 率达 48.1%, 且治疗效果显著。另一项前瞻性临床研究中直肠癌患者 pCR 率显著提高的同时淋巴结阴性率也高达 70.4%^[7]。区域淋巴结状态是术后病理 TNM 分期的重要组成部分, 且与患者预后密切相关^[8]。因此, 进一步探究该治疗模式下 LARC 患者区域淋巴结的变化及其可能存在的机制具有重要意义。

有研究表明, 新辅助放化疗可刺激肿瘤微环境中 CD8⁺T 细胞活性^[9], 增强肿瘤免疫细胞浸润, 提高机体的抗肿瘤免疫反应, 与免疫检查点抑制剂结合共同发挥协同作用^[10]。Fransen 等^[11]研究证实, 经 PD-1 抗体的免疫治疗后, 肿瘤引流淋巴结(tumor-draining lymph node, TDLN)内活化的 CD8⁺T 淋巴细胞明显高于非引流淋巴结(non-draining lymph node, NDLN), 这也为免疫治疗联合新辅助放化疗提供理论基础。本研究中, 试验组术后淋巴结检出数略低于对照组 ($\chi^2=0.865$, $P=0.392$), 差异无统计学意义。这与 Ye-

gen 等^[12]的研究结论一致。分析其原因可能与新辅助放化疗后淋巴结萎缩导致难以识别, 从而引起淋巴结检出率下降相关。但试验组术后阳性淋巴结检出数与对照组相比平均减少 3.65 枚, 明显高于 Mechera 等^[13]所报道的未联合免疫检查点抑制剂的新辅助放化疗后 LARC 患者术后阳性淋巴结检出数平均减少 0.7 枚。此外, 本研究结果显示试验组中 18 例(90%)患者出现 N 降期, 16 例(80%)患者区域淋巴结达 pCR, 术后淋巴结转移阳性率和阳性淋巴结患者数均低于对照组, 充分说明在该治疗模式下阳性淋巴结的 pCR 效果显著。

与肿瘤消退分级(tumor regression grading, TRG)一样, 淋巴结消退分级(lymph node regression grading, LRG)在评估新辅助放化疗后直肠癌患者的预后中同样具有重要的临床意义^[14]。有研究发现, 虽 LRG 与 TRG 存在相关性, 但两者相关系数较小, 临床中不能将原发肿瘤的退缩用于判断区域淋巴结的消退变化^[15]。其原因可能存在以下机制: 首先, 运用抗 PD-1 抗体阻断 PD-1/PD-L1 信号通路, 促使 TDLN 内的 CD8⁺CTLs 重新增殖活化, 消除肿瘤免疫逃逸并逆转肿瘤抑制性微环境, 重新恢复机体免疫系统的抗肿瘤效应。一项研究表明, TDLN 来源的肿瘤特异性记忆细胞(TDLN-derived tumor-specific memory cells, TDLN-TTSM)是 PD-1/PD-L1 抑制剂的真正免疫应答者^[16]。基于此, 进一步提出了关于 PD-1/PD-L1 免疫抑制剂发挥抗肿瘤作用的“时空流程”假说, 但缺乏临床数据验证。结合本研究发现, 试验组区域淋巴结的 pCR 率显著高于原发肿瘤($\chi^2=10.101$, $P=0.001$), 这在一定程度上验证了“时空流程”假说。其次, 在肿瘤微环境中, 各空间区域的免疫细胞在组成、分布和功能状态上均存在显著差异, 该差异与肿瘤的进展和治疗反应密切相关, 从而构成肿瘤微环境的空间异质性^[17]。区域淋巴结与原发肿瘤作为不同的空间区域, 两者组成成分也存在较大差异。在淋巴结内富集大量的免疫细胞和成熟的成纤维网状细胞(fibroblastic reticular cells, FRCs), 两者共同参与一系列抗肿瘤免疫反应^[18]。而肿瘤间质中存在的癌症相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblasts, CAFs)则分泌多种细胞因子促使肿瘤细胞增殖和产生肿瘤耐药^[19]。Nicolas 等^[20]研究进一步发现炎症性癌症成纤维细胞(inflammatory CAFs, iCAFs)在直肠癌新辅助治疗过程中可通过 IL-1 通路抵抗新辅助治疗。由此推测, LARC 患者区域淋巴结内产生的抗癌反应较原发肿瘤更为彻底, 并且在空间上可能先于原发肿瘤达到 pCR, 即具有“空间效应”。

本研究是双中心回顾性研究, 但研究样本量较小, 可能存在选择偏倚。此外, 本研究试验组 20 例中存

在 2 例患者(即 ypT0N1M0 TRG 0 级)的原发肿瘤较区域淋巴结先达到 pCR,其原因可能与区域淋巴结的放疗剂量低于原发肿瘤或肿瘤复发有关。因此,未来需要更大规模的前瞻性随机对照研究进一步验证。

综上所述,LARC 患者经短程放疗联合免疫治疗后阳性淋巴结病理缓解效果显著,并推测直肠肿瘤区域淋巴结的病理缓解具有“空间效应”。这为术前提示盆腔区域淋巴结转移的 LARC 患者提供了新的治疗选择,通过该治疗模式可促使肿瘤周围区域的阳性淋巴结显著转阴,从而缩小手术清扫范围和减少手术创伤,进一步保护脏器功能,提高患者预后,使患者获益。

本文无影响其科学性与可信度的经济利益冲突。

参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3):209-249.
- [2] Jiang YS, Chen M, Nie H, et al. PD-1 and PD-L1 in cancer immunotherapy: clinical implications and future considerations[J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2019, 15(5):1111-1122.
- [3] Bando H, Tsukada Y, Inamori K, et al. Preoperative chemoradiotherapy plus nivolumab before surgery in patients with microsatellite stable and microsatellite instability-high locally advanced rectal cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2022, 28(6):1136-1146.
- [4] du Bois H, Heim TA, Lund AW. Tumor-draining lymph nodes: At the crossroads of metastasis and immunity[J]. *Sci Immunol*, 2021, 6(63):eabg3551.
- [5] Hughes R, Glynn-Jones R, Grainger J, et al. Can pathological complete response in the primary tumour following pre-operative pelvic chemoradiotherapy for T3-T4 rectal cancer predict for sterilisation of pelvic lymph nodes, a low risk of local recurrence and the appropriateness of local excision[J]? *Int J Colorectal Dis*, 2006, 21(1):11-17.
- [6] Lin ZY, Cai M, Zhang P, et al. Phase II, single-arm trial of preoperative short-course radiotherapy followed by chemotherapy and camrelizumab in locally advanced rectal cancer[J]. *J Immunother Cancer*, 2021, 9(11):e003554.
- [7] 张鹏,刘伟圳,陈鑫,等.短程放疗序贯化疗联合抗 PD-1 抗体治疗后腹腔镜手术对局部进展期直肠癌短期疗效的前瞻性研究[J]. *中华消化外科杂志*,2022,21(6):766-772.
- [8] Fernández-Aceñero MJ, Granja M, Sastre J, et al. Prognostic significance of tumor regression in lymph nodes after neoadjuvant therapy for rectal carcinoma[J]. *Virchows Arch*, 2016, 468(4):425-430.
- [9] Lhuillier C, Rudqvist NP, Elemento O, et al. Radiation therapy and anti-tumor immunity: exposing immunogenic mutations to the immune system[J]. *Genome Med*, 2019, 11(1):40.
- [10] Gong J, Le TQ, Massarelli E, et al. Radiation therapy and PD-1/PD-L1 blockade: the clinical development of an evolving anticancer combination[J]. *J Immunother Cancer*, 2018, 6(1):46.
- [11] Fransen MF, Schoonderwoerd M, Knopf P, et al. Tumor-draining lymph nodes are pivotal in PD-1/PD-L1 checkpoint therapy[J]. *JCI Insight*, 2018, 3(23):e124507.
- [12] Yegen G, Keskin M, Büyük M, et al. The effect of neoadjuvant therapy on the size, number, and distribution of mesorectal lymph nodes[J]. *Ann Diagn Pathol*, 2016, 20:29-35.
- [13] Mechera R, Schuster T, Rosenberg R, et al. Lymph node yield after rectal resection in patients treated with neoadjuvant radiation for rectal cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. *Eur J Cancer*, 2017, 72:84-94.
- [14] He L, Xiao J, Zheng P, et al. Lymph node regression grading of locally advanced rectal cancer treated with neoadjuvant chemoradiotherapy[J]. *World J Gastrointest Oncol*, 2022, 14(8):1429-1445.
- [15] 赵权权,傅传刚,于恩达,等.直肠癌原发肿瘤消退分级与淋巴结消退分级关系的研究[J]. *中华胃肠外科杂志*,2017,20(9):1050-1054.
- [16] Huang QZ, Wu X, Wang ZM, et al. The primordial differentiation of tumor-specific memory CD8⁺ T cells as bona fide responders to PD-1/PD-L1 blockade in draining lymph nodes[J]. *Cell*, 2022, 185(22):4049-4066.
- [17] Binnewies M, Roberts EW, Kersten K, et al. Understanding the tumor immune microenvironment (TIME) for effective therapy[J]. *Nat Med*, 2018, 24:541-550.
- [18] Li LS, Wu J, Abdi R, et al. Lymph node fibroblastic reticular cells steer immune responses[J]. *Trends Immunol*, 2021, 42(8):723-734.
- [19] Kobayashi H, Enomoto A, Woods SL, et al. Cancer-associated fibroblasts in gastrointestinal cancer[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, 16(5):282-295.
- [20] Nicolas AM, Pesic M, Engel E, et al. Inflammatory fibroblasts mediate resistance to neoadjuvant therapy in rectal cancer[J]. *Cancer Cell*, 2022, 40(2):168-184.

(2023-10-19 收稿)

(编辑:武斌 校对:孙喜佳)

作者简介

谢福平 专业方向为胃肠肿瘤的诊断与治疗。

E-mail: 1572162175@qq.com

