

微卫星稳定或错配修复正常结直肠癌的新辅助免疫治疗

张剑威 邓艳红

中山大学附属第六医院肿瘤内科, 广州 510655

通信作者: 邓艳红, Email: dengyanh@mail.sysu.edu.cn

【摘要】 免疫治疗已成为微卫星高度不稳定(MSI-H)或错配修复缺陷(dMMR)结直肠癌的重要治疗方案,从晚期疾病的后线治疗到一线治疗,甚至在早期结直肠癌的新辅助治疗,均展现出优异的疗效。在微卫星稳定(MSS)或错配修复正常(pMMR)结直肠癌中,新辅助免疫治疗的研究探索也是未曾中断。本文重点评述近年来MSS或pMMR结直肠癌新辅助免疫治疗相关研究成果:单纯新辅助免疫治疗在小部分患者中,呈现了较好的病理应答;新辅助放疗前或放疗后引入免疫治疗,或者在放疗期间同步免疫治疗,显示了较标准放疗更高的病理完全缓解率。放疗后序贯双免疫联合治疗,以及免疫联合靶向新辅助治疗的研究均在开展进行中。但目前多为小样本探索性研究,仍有待更多的研究结果及长期的随访,来证明新辅助免疫治疗在MSS或pMMR结直肠癌中的疗效。

【关键词】 微卫星稳定; 错配修复正常; 免疫治疗; 新辅助治疗; 联合治疗

基金项目: 国家自然科学基金(81974369、82102952);广州市科技计划(202102020122)

Neoadjuvant immunotherapy in microsatellite stability or mismatch repair proficient colorectal cancer

Zhang Jianwei, Deng Yanhong

Department of Medical Oncology, The Sixth Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510655, China

Corresponding author: Deng Yanhong, Email: dengyanh@mail.sysu.edu.cn

【Abstract】 Immunotherapy has become an important treatment option for microsatellite instability-high (MSI-H) and mismatch repair deficient (dMMR) colorectal cancer. From late-line to first-line treatment, and even in neoadjuvant setting for early stage colorectal cancer, promising efficacy was observed with immunotherapy. In microsatellite stability (MSS) or mismatch repair proficient (pMMR) colorectal cancer, the researches of neoadjuvant immunotherapy have been conducted constantly. This paper focuses on the recent researches and progress of neoadjuvant immunotherapy for MSS or pMMR colorectal cancer. Neoadjuvant immunotherapy alone led to a good pathological response in a subset of patients. Studies of induction or consolidation immunotherapy before or after neoadjuvant chemoradiotherapy or concurrent immunotherapy during radiotherapy showed higher pathological complete remission (pCR) rates as compared to standard chemoradiotherapy. Studies on sequential dual immunotherapy after radiochemotherapy and targeted therapy combined with neoadjuvant immunotherapy are ongoing. At present, most of these are pilot studies with small sample size. More researches and long-term follow-up are needed to prove the efficacy of neoadjuvant immunotherapy in MSS or pMMR colorectal cancer.

DOI: 10.3760/cma.j.cn441530-20211217-00505

收稿日期 2021-12-17 本文编辑 万晓梅

引用本文:张剑威,邓艳红.微卫星稳定或错配修复正常结直肠癌的新辅助免疫治疗[J].中华胃肠外科杂志,2022,25(3):193-198. DOI:10.3760/cma.j.cn441530-20211217-00505.



【Key words】 Microsatellite stability; Mismatch repair proficient; Immunotherapy; Neoadjuvant treatment; Combination treatment

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81974369,82102952); Science and Technology Program of Guangzhou (202102020122)

肿瘤的治疗已进入免疫治疗时代,与传统的化疗和靶向治疗不同,免疫治疗并不直接攻击肿瘤细胞,而是通过激活人体自身免疫系统来杀灭肿瘤细胞。因此,免疫治疗可以在各种类型的肿瘤中均起到一定效果,甚至能达到长期控制或治愈。2015年,美国霍普金斯医院 Le 等^[1]在 ASCO 年会上首次公布了 KEYNOTE-016 研究,确定了微卫星高度不稳定(microsatellite instability-high, MSI-H)或错配修复缺陷(mismatch repair deficient, dMMR)是转移性结直肠癌免疫治疗的分子标志物,从此开启了结直肠癌免疫治疗新纪元。

对免疫治疗敏感的 MSI-H 或 dMMR 人群属于“热肿瘤”,免疫治疗已从后线治疗前移到一线治疗,并成为新的一线治疗标准^[2]。同时, MSI-H 或 dMMR 人群在新辅助治疗领域也取得了惊人的疗效^[3-4]。但是 MSI-H 或 dMMR 类型在转移性结直肠癌中仅占 5%,在早期结直肠癌中约占 10%,更大部分的患者属于微卫星稳定(microsatellite stability, MSS)或错配修复正常(mismatch repair proficient, pMMR)类型。MSS 或 pMMR 结直肠癌虽然是属于对免疫治疗不敏感的“冷肿瘤”,但为了让免疫治疗能惠及更多的结直肠癌患者,多项研究开展探索免疫联合治疗在 MSS 或 pMMR 结直肠癌中的疗效,尤其在早期结直肠癌中, T 细胞功能受损较少,新辅助免疫治疗或许能更好地诱导 T 细胞增殖^[5]。因此, MSS 或 pMMR 结直肠癌新辅助免疫治疗研究方兴未艾,本文将对此做一详细阐述,同时探讨未来新辅助免疫治疗研究发展方向。

一、单纯新辅助免疫治疗

鉴于单纯新辅助免疫治疗在 MSS 或 pMMR 结直肠癌中新辅助治疗疗效的不确定性,为确保这类患者的手术顺利进行,避免在新辅助治疗期间出现肿瘤进展导致不可手术的情况出现,该类研究多选择在可手术切除的早期结肠癌患者中进行探索,而且对新辅助治疗的时长也多控制在 1 个月内。

1. 双免疫联合新辅助治疗:来自荷兰的 NICHE 研究,针对早期结肠癌患者,术前接受双免疫联合新辅助治疗, CTLA-4 单抗伊匹木单抗(第 1 天)和 PD-1

单抗纳武利尤单抗(第 1、15 天),随后在 6 周内进行手术,主要研究终点为安全性和可行性^[3]。NICHE 研究同时纳入了 dMMR 和 pMMR 患者,结果显示:新辅助免疫治疗安全性良好,未出现手术延迟; 20 例 dMMR 患者均有病理应答,其中 19 例(95%)达到术后病理检查残留活性癌细胞 < 10% 的病理重大缓解(major pathological response, MPR), 12 例(60%)达到病理完全缓解(pathological complete response, pCR)^[3]。在 NICHE 研究的 15 例 pMMR 患者中,也同样观察到 4 例(27%)显示出病理应答,其中 3 例达到 MPR。后续的转化研究分析发现, CD8⁺ 且 PD-1 阳性的 T 细胞浸润是 pMMR 患者免疫治疗应答的疗效预测因素。NICHE 研究成果的报道,相当于开启了结直肠癌新辅助免疫治疗的大门。

2. PD-1 单抗单药新辅助免疫治疗:另一项来自意大利的纳武利尤单抗新辅助治疗局部进展期结肠癌的 NICOLE 研究(NCT04123925),纳入未经选择 MMR 状态的 cT₃₋₄ 可切除结肠癌患者接受纳武利尤单抗新辅助治疗 2 次,在治疗开始后 5 周内手术,主要研究终点是评估免疫治疗术前应用的可行性及确定病理退缩程度^[6]。纳入的 22 例患者均行根治性手术切除,未发生手术延迟及术后并发症,超过 70% 的患者术后明显降期,在 2 例 MSS 且 pMMR (其中 1 例达 pCR)和 1 例 MSI-H 且 pMMR 患者的病理检查中观察到了 MPR。此外,与直接手术组比较,接受新辅助免疫治疗后,术后标本肿瘤和肿瘤浸润性边缘区域 CD3⁺、CD8⁺ 淋巴细胞密度更高,免疫评分更高。

因此,虽然 MSS 或 pMMR 结肠癌并不是免疫治疗优势人群,但仍有小部分 MSS 或 pMMR 患者对单纯免疫新辅助治疗是较为敏感的,而初步的转化分析结果显示, CD8⁺ 淋巴细胞浸润是潜在的疗效预测生物标记物,而且 CTLA-4 单抗和 PD-1 单抗双免疫联合治疗的疗效似乎也优于单纯 PD-1 单抗新辅助治疗。目前,这些研究均为小样本的探索性研究,仍有待大样本、长期生存随访数据的研究来验证单纯新辅助免疫治疗是否有望成为新的标准治疗。

二、免疫联合放疗新辅助治疗

对于局部进展期直肠癌,当前的标准治疗仍是新辅助放化疗。近年来,已有多项临床前或临床研究表明,放疗与免疫治疗存在协同作用,肿瘤在接受放疗后能释放出更多的新生抗原激活免疫细胞,与免疫治疗联合后,可潜在进一步提高免疫治疗疗效^[7]。因此,在局部进展期直肠癌免疫联合放疗新辅助治疗的研究中,有部分研究是在长程或短程新辅助放疗前后增加免疫治疗诱导或巩固,也有部分研究是在长程放疗期间同步增加免疫检测点抑制剂新辅助治疗。

1. 新辅助免疫诱导治疗后放化疗:诱导治疗后放化疗是局部进展期直肠癌全程新辅助治疗的一种模式,李英杰等^[8]针对中低位高危局部进展期直肠癌免疫联合全程新辅助放化疗的研究,在诱导治疗期间采用 CapeOx 方案(卡培他滨、奥沙利铂)联合信迪利单抗治疗 3 个周期后再进行长程放化疗,放疗结束后再增加 2 个周期 CapeOx 方案的巩固治疗,随后进行肿瘤评估,采取手术切除或等待观察的策略。该研究共纳入 24 例 pMMR 患者,其中 20 例接受了手术切除,pCR 率为 30%;4 例未行手术的患者中,3 例因肿瘤评估为临床完全缓解(clinical complete response, cCR)而选择等待观察,1 例因肿瘤保持稳定而拒绝手术^[8]。这种全程新辅助治疗模式显示了较好的安全性,由于放疗前后均有 CapeOx 化疗诱导和巩固,因此 pCR 率的提高有多少是来自于免疫治疗,仍需随机对照研究进一步比较验证。

2. 新辅助放疗后免疫治疗巩固治疗:来自日本的 Voltage 研究(NCT02948348),在标准的新辅助放化疗结束后至等待手术的期间增加 5 次纳武利尤单抗的巩固治疗,主要研究终点是 MSS 患者的 pCR 率^[9]。该研究共纳入 39 例 MSS 型局部进展期直肠癌患者,其中 30 例为临床分期 II 期患者,对 37 例连续的患者进行主要研究终点的分析,11 例(29.7%)患者术后病理达到 pCR。后续的分子标志物分析发现,肿瘤浸润淋巴细胞中 CD8⁺的淋巴细胞与 CD45RA⁻FoxP3⁺的效应 T 调节细胞(eTreg)比值(CD8/eTreg \geq 2),且 PD-L1 表达 $>1\%$ 的 6 例患者中,5 例达到 pCR,另外 1 例达到 cCR 未行手术。该研究结果与既往单纯氟尿嘧啶(5-FU)为基础的标准新辅助放化疗 pCR 率(10%~20%)相比,免疫联合放疗新辅助治疗的 pCR 率确实有所提高,但该研究纳入的大部分为 II 期患者,而且结果与目前临床实践中已在应用的

全程新辅助治疗模式,尤其是巩固治疗的模式比较,pCR 率仍是相当的^[10]。2021 年欧洲肿瘤学年会上报道的另一项类似研究,在新辅助放疗期间及放疗结束后共加入 4 次阿替利珠单抗免疫治疗研究(R-IMMUNE)的中期分析结果显示,纳入的 25 例患者接受手术,pCR 率为 24%^[11]。

另一项来自中国的单中心二期研究,针对距肛缘 <10 cm 的局部进展期直肠癌,采用 5 Gy \times 5 短程放疗后延期手术,增加 2 个周期的 CapeOx 方案联合卡瑞利珠单抗巩固治疗,主要研究终点为 pCR 率^[12]。该研究有 27 例患者接受了免疫新辅助治疗,其中仅 1 例为 dMMR 患者,27 例患者均行根治性手术切除,术后 pCR 率高达 48.1%,在 pMMR 患者中,pCR 率也达到 46.1%;有 4 例患者出现术后并发症,包括 3 例感染和 1 例出血;而主要的免疫相关不良反应是 1~2 级的反应性毛细血管增生症,发生率为 81.5%,另有 70.0% 的患者出现放射性肠炎^[12]。总体上,这一治疗策略是安全的,而且初步的结果显示了极高的 pCR 率,该模式的三期随机对照研究也正在开展中。

3. 新辅助放疗同步免疫治疗:另一种免疫新辅助治疗模式是在放疗期间同步进行免疫治疗。一项来自意大利 GONO 协作组的新辅助治疗研究(AVANA)探索了这一模式,该研究纳入局部进展期直肠癌患者,在新辅助放化疗期间及放疗后,引入阿维鲁单抗每 2 周 1 次,共进行 6 个周期的新辅助治疗,主要研究终点是 pCR 率^[13]。该研究共纳入 101 例患者,仅 1 例患者拒绝手术,接受手术的 100 例患者 pCR 率为 23%,免疫相关不良反应总体发生率为 18%, ≥ 3 级的免疫相关不良反应发生率为 4%^[13]。另一项来自美国的开放标签、二期随机对照研究(NRG-GI002),纳入的是高危 II~III 期直肠癌患者,采用全程新辅助治疗模式,入组患者按 1:1 随机分成两组,先接受 4 个月的 FOLFOX 方案(5-FU、亚叶酸钙、奥沙利铂)诱导化疗,随后一组接受卡培他滨联合放疗,另一组在放化疗基础上同步加上最多 6 次的帕博利珠单抗免疫治疗,主要研究终点是两组的新辅助直肠(neoadjuvant rectal, NAR)评分^[14]。NRG-GI002 研究共纳入 185 例患者,最后可进行新辅助直肠评分评估的为 137 例,其中帕博利珠单抗免疫治疗组 69 例,安慰剂组 68 例;帕博利珠单抗组平均的 NAR 评分低于安慰剂组(11.53 分比 14.08 分);pCR 率高于安慰剂组(31.9% 比 29.4%),但差异均未达统计学意

义(均 $P > 0.05$)^[9]。虽然在全程新辅助治疗模式的放疗期间增加免疫治疗未影响安全性,但从主要研究终点 NAR 评分的结果看,并不支持开展这种模式进一步的研究比较。

对于免疫治疗联合长程放疗与短程放疗,孰优孰劣,目前尚无定论,来自英国的一项多中心开放二期研究(NCT04621370)尝试探索新辅助免疫治疗联合长程与短程放疗的疗效,短程放疗组在放疗前1周开始使用德瓦鲁单抗(每4周1次,共使用4次),第2周行5 Gy×5短程放疗,放疗后予6个疗程FOLFOX方案巩固化疗,根据疗效评估采取手术或等待观察;长程放疗组同样在放疗前1周开始使用德瓦鲁单抗(每4周1次,共使用4次),第2周开始行长程放疗50 Gy/25 F,放疗后行4个疗程FOLFOX方案巩固化疗,随后根据疗效评估结果采取手术或等待观察^[15]。研究主要目的是评估新辅助放化疗联合免疫治疗是否可以改善肿瘤微环境,提高完全缓解率和患者无造口生存率,也更好地去验证比较哪类放疗模式与免疫治疗的联合更能提高疗效。

4. 新辅助放化疗序贯双免联合治疗:双免疫联合治疗存在协同作用,阻断CTLA-4的活性,可促进T细胞活化,启动肿瘤免疫反应;而阻断PD-L1,避免T细胞被抑制,因此,双免联合治疗较单纯用PD-1单抗或CTLA-4单抗在疗效上显示出一定优势。放疗或化疗可诱导免疫原性细胞死亡,并清除髓样来源的抑制细胞,对抗肿瘤免疫反应的产生存在积极的影响。已有研究在晚期MSS、RAS突变的转移性结直肠癌中探索了FOLFOX方案联合Durvalumab和Tremelimumab一线治疗的疗效,结果在25%的患者中看到了完全缓解,但是在早期结直肠癌中应用双免疫联合治疗是否能进一步提高疗效,目前尚无结果。另一项来自法国的正在进行的随机对照二期CHINOREC研究(NCT04124601),针对局部进展期直肠癌,对照组采用标准新辅助放化疗(卡培他滨联合长程放疗),试验组在放化疗基础上序贯双免疫联合治疗(伊匹木单抗第7天及纳武利尤单抗第14、28、42天),放疗结束后10~12周内手术,主要研究终点为治疗相关紧急不良事件的发生率^[16]。在确保安全性的前提下,这类放化疗联合双免疫治疗的模式,是否能在MSS或pMMR直肠癌中取得突破,仍有待进一步的研究结果。而且目前仍有多项免疫联合放疗新辅助治疗局部进展期直肠癌的临床研究仍在进行中。

三、免疫联合靶向药物新辅助治疗

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)影响了肿瘤免疫循环的多个步骤,可导致肿瘤免疫逃逸^[17]。抗血管生成靶向药物可使血管正常化,降低组织间压力,改善药物的运送,同时可降低抑制性Treg细胞的活性,改善免疫微环境,免疫治疗联合抗血管生成类靶向药物,在肝癌及胃癌等肿瘤中显示出良好的协同作用^[18-20]。瑞戈非尼联合纳武利尤单抗后线治疗转移性胃癌和结直肠癌的I B期研究(REGONIVO研究)显示,在MSS或pMMR的转移性结直肠癌中,免疫联合靶向药物后线治疗的有效率达33.3%,中位PFS为7.9个月^[21]。虽然后续类似的研究未能重复出同样的有效率,但仍然有部分患者能从这种联合治疗中获益。因此,也有研究探索免疫联合靶向药物在局部进展期结直肠癌新辅助治疗中是否有进一步提高的疗效。比利时开展的一项多中心单臂二期研究(REGINA研究),针对中危II~III期直肠癌,采用瑞戈非尼(第1~14天,第28~49天)联合纳武利尤单抗(第1、14、28、42、56天)及短程放疗(第21~25天)新辅助治疗,拟纳入60例患者,主要研究终点是pCR率,仍有待该研究结果证明免疫联合靶向治疗在新辅助领域的作用^[22]。

四、MSS或pMMR结直肠癌免疫治疗疗效预测标记物的探索

MSI-H和dMMR是目前结直肠癌免疫治疗最重要的疗效预测生物标记物,在MSS或pMMR结直肠癌患者中,也有一些潜在的标记物可预测免疫治疗疗效,包括POLE或POLD1基因突变、肿瘤突变负荷高(tumor mutation burden-high, TMB-H)、免疫评分或者肠道菌群等。首先,POLE或POLD1是DDR通路的关键基因,POLE或POLD1突变在结直肠癌发生率约7.4%,可能引起DNA损伤修复系统功能障碍,对DNA复制的保真度产生重要影响,导致TMB较高和相关新抗原增加^[23]。因此,POLE或POLD1突变与MSI-H类似,均有较高的TMB,潜在可成为MSS或pMMR结直肠癌的疗效预测标记物;肿瘤浸润的淋巴细胞是重要的免疫评分指标,也是免疫治疗能起效的重要条件之一。此外,已有多项研究报告,肠道菌群对多种肿瘤免疫治疗的疗效有很大影响,目前已证实假长双歧杆菌、黏泥杆菌、约氏乳杆菌和欧氏菌可为提高免疫治疗的抗肿瘤效果提供参考,但肠道菌群调节宿主抗肿瘤免疫反应的机制有待进一步研究^[24]。

五、总结

综上所述,针对 MSS 或 pMMR 结直肠癌,在单纯免疫新辅助治疗,免疫治疗联合放化疗或靶向治疗中均可看到部分患者获得了较好的病理应答,而且改变了肿瘤免疫微环境,这些转变是否能转化为长期生存的获益,仍有待长期的随访。目前的探索性研究,短期病理应答的疗效仍差强人意,亟待基础研究的突破,寻找新的生物标记物或者新的联合治疗方式,例如溶瘤病毒、双特异性抗体或肿瘤疫苗等,使免疫治疗能令更广泛的肿瘤人群获益。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] 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. DOI:10.1126/science.aan6733.
- [2] André T, Shiu KK, Kim TW, et al. Pembrolizumab in microsatellite instability-high advanced colorectal cancer [J]. *N Engl J Med*, 2020, 383(23):2207-2218. DOI:10.1056/NEJMoa2017699.
- [3] Chalabi M, Fanchi LF, Dijkstra KK, et al. Neoadjuvant immunotherapy leads to pathological responses in MMR-proficient and MMR-deficient early-stage colon cancers [J]. *Nat Med*, 2020, 26(4):566-576. DOI:10.1038/s41591-020-0805-8.
- [4] Hu H, Kang L, Zhang J, et al. Neoadjuvant PD-1 blockade with toripalimab, with or without celecoxib, in mismatch repair-deficient or microsatellite instability-high, locally advanced, colorectal cancer (PICC): a single-centre, parallel-group, non-comparative, randomised, phase 2 trial [J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2022, 7(1):38-48. DOI:10.1016/S2468-1253(21)00348-4.
- [5] Versluis JM, Long GV, Blank CU. Learning from clinical trials of neoadjuvant checkpoint blockade [J]. *Nat Med*, 2020, 26(4):475-484. DOI:10.1038/s41591-020-0829-0.
- [6] Avallone A, Stefano AD, Pace U, et al. Neoadjuvant nivolumab in early stage colorectal cancer [J]. *Ann Oncol*, 2020, 31(Suppl 4):S449. DOI:10.1016/j.annonc.2020.08.602.
- [7] Theelen W, Peulen H, Lalezari F, et al. Effect of pembrolizumab after stereotactic body radiotherapy vs pembrolizumab alone on tumor response in patients with advanced non-small cell lung cancer: results of the PEMBRO-RT phase 2 randomized clinical trial [J]. *JAMA Oncol*, 2019, 5(9):1276-1282. DOI:10.1001/jamaoncol.2019.1478.
- [8] 李英杰,张丽,董秋石,等.程序性细胞死亡蛋白1抗体联合全程新辅助放化疗治疗高风险局部进展期中低位直肠癌患者的近期结局 [J]. *中华胃肠外科杂志*, 2021, 24(11):998-1007. DOI:10.3760/cma.j.cn441530-20210927-00386.
- [9] Yuki S, Bando H, Tsukada Y, et al. Short-term results of VOLTAGE-A: Nivolumab monotherapy and subsequent radical surgery following preoperative chemoradiotherapy in patients with microsatellite stability and microsatellite instability-high, locally advanced rectal cancer (EPOC 1504) [J]. *Ann Oncol*, 2020, 31(Suppl 3):S230-S231. DOI:10.1016/j.annonc.2020.04.052.
- [10] Fokas E, Allgäuer M, Polat B, et al. Randomized phase II trial of chemoradiotherapy plus induction or consolidation chemotherapy as total neoadjuvant therapy for locally advanced rectal cancer: CAO/ARO/AIO-12 [J]. *J Clin Oncol*, 2019, 37(34):3212-3222. DOI:10.1200/JCO.19.00308.
- [11] Carrasco J, Schröder D, Sinapi I, et al. R-IMMUNE interim analysis: a phase Ib/II study to evaluate safety and efficacy of atezolizumab combined with radio-chemotherapy in a preoperative setting for patients with localized rectal cancer [J]. *Ann Oncol*, 2021, 32(Suppl 5):S537. DOI:10.1016/j.annonc.2021.08.919.
- [12] Lin Z, 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. DOI:10.1136/jitc-2021-003554.
- [13] Salvatore L, Bensi M, Corallo S, et al. Phase II study of preoperative (PREOP) chemoradiotherapy (CTRT) plus avelumab (AVE) in patients (PTS) with locally advanced rectal cancer (LARC): the AVANA study [J]. *J Clin Oncol*, 2021, 39(Suppl 15):abstr3511. DOI:10.1200/JCO.2021.39.15_suppl.3511.
- [14] Rahma OE, Yothers G, Hong TS, et al. Use of total neoadjuvant therapy for locally advanced rectal cancer: Initial results from the pembrolizumab arm of a phase 2 randomized clinical trial [J]. *JAMA Oncol*, 2021, 7(8):1225-1230. DOI:10.1001/jamaoncol.2021.1683.
- [15] Hanna CR, O'Cathail SM, Graham JS, et al. Durvalumab (MEDI 4736) in combination with extended neoadjuvant regimens in rectal cancer: a study protocol of a randomised phase II trial (PRIME-RT) [J]. *Radiat Oncol*, 2021, 16(1):163. DOI:10.1186/s13014-021-01888-1.
- [16] Johannes Laengle IKDP, Matthias Monschein, Peter Razek, et al. Neoadjuvant chemoradiotherapy with sequential ipilimumab and nivolumab in rectal cancer (CHINOREC): A prospective randomized, open-label, multicenter, phase II clinical trial [J]. *J Clin Oncol*, 2021, 39(Suppl 15):S3623. DOI:10.1200/JCO.2021.39.15_suppl.TPS3623.
- [17] Chen DS, Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle [J]. *Immunity*, 2013, 39(1):1-10. DOI:10.1016/j.immuni.2013.07.012.
- [18] Fukumura D, Kloepper J, Amoozgar Z, et al. Enhancing cancer immunotherapy using antiangiogenics: opportunities and challenges [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(5):325-340. DOI:10.1038/nrclinonc.2018.29.
- [19] Kawazoe A, Fukuoka S, Nakamura Y, et al. Lenvatinib plus pembrolizumab in patients with advanced gastric cancer in the

- first-line or second-line setting (EPOC1706) : an open-label, single-arm, phase 2 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2020, 21(8) : 1057-1065. DOI:10.1016/S1470-2045(20)30271-0.
- [20] Finn RS, Qin S, Ikeda M, et al. Atezolizumab plus bevacizumab in unresectable hepatocellular carcinoma [J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(20) : 1894-1905. DOI:10.1056/NEJMoa1915745.
- [21] Fukuoka S, Hara H, Takahashi N, et al. Regorafenib plus Nivolumab in patients with advanced gastric or colorectal cancer: an open-label, dose-escalation, and dose-expansion phase Ib trial (REGONIVO, EPOC1603)[J]. *J Clin Oncol*, 2020, 38(18) : 2053-2061. DOI:10.1200/JCO.19.03296.
- [22] Bregni G, Senti C, Reina AE, et al. REGINA : a phase II trial of neoadjuvant regorafenib (rego) in combination with nivolumab (nivo) and short-course radiotherapy (SCRT) in intermediate-risk, stage II-III rectal cancer (RC) [J]. *Ann Oncol*, 2021, 32 (Suppl 5) : S579. DOI:10.1016/j.annonc.2021.08.1024.
- [23] Wang F, Zhao Q, Wang YN, et al. Evaluation of POLE and POLD1 mutations as biomarkers for immunotherapy outcomes across multiple cancer types [J]. *JAMA Oncol*, 2019, 5 (10) : 1504-1506. DOI:10.1001/jamaoncol.2019.2963.
- [24] Baruch EN, Youngster I, Ben-Betzalel G, et al. Fecal microbiota transplant promotes response in immunotherapy - refractory melanoma patients[J]. *Science*, 2021, 371(6529) : 602-609. DOI: 10.1126/science.abb5920.