

盆腔肿瘤患者同步放化疗对外周血淋巴细胞、细胞因子和肠道菌群的影响

吕卓纯^{1,2} 陈晓慧² 秦琛² 鞠芳²

(1 青岛大学医学部, 山东 青岛 266071; 2 青岛大学附属青岛市中心医院, 青岛市肿瘤医院肿瘤科)

[摘要] **目的** 探讨盆腔肿瘤患者同步放化疗对机体免疫功能、炎症状态和肠道微生态的影响。**方法** 收集 2021 年 7 月—2022 年 12 月青岛市中心医院收治的 60 例盆腔肿瘤患者同步放化疗前后的血液和粪便样本, 采用流式细胞术检测外周血淋巴细胞亚群、细胞因子水平, 采用实时荧光定量 PCR 方法(RT-qPCR)检测粪便中具核梭杆菌、双歧杆菌、嗜酸乳杆菌和链球菌的数量, 比较各项指标同步放化疗前后的变化, 并与疗效进行相关性分析。**结果** 与治疗前相比, 同步放化疗后盆腔肿瘤患者外周血 CD3⁺CD8⁺ 细胞百分比、CD3⁻CD19⁺ 细胞百分比、IL-10 水平显著降低($t=2.571\sim 2.995, P<0.05$), CD3⁺ 细胞百分比、CD3⁺CD4⁺ 细胞百分比、CD4⁺/CD8⁺ 比值及 IL-1 β 、IL-2、IL-6、IFN- γ 、TNF- α 水平显著升高($t=-4.321\sim -2.638, P<0.05$); 粪便具核梭杆菌、双歧杆菌和嗜酸乳杆菌数量显著减少($t=3.128\sim 3.954, P<0.05$)。且治疗后外周血 CD3⁺ 细胞百分比、CD3⁺CD4⁺ 细胞百分比、粪便双歧杆菌、嗜酸乳杆菌数量与疗效呈正相关($r_s=0.440\sim 0.540, P<0.05$)。外周血 IL-6、TNF- α 水平及粪便具核梭杆菌数量与疗效呈负相关($r_s=-0.685\sim -0.377, P<0.05$)。**结论** 盆腔同步放化疗可激活机体抗肿瘤免疫功能, 促进炎症反应发生, 导致肠道致病菌和益生菌减少, 造成肠道菌群紊乱。盆腔同步放化疗后外周血 CD3⁺ 细胞百分比、CD4⁺ 细胞百分比、IL-6、TNF- α 水平, 粪便双歧杆菌、嗜酸乳杆菌和具核梭杆菌数量与疗效密切相关。

[关键词] 盆腔肿瘤; 宫颈肿瘤; 直肠癌; 化疗; 细胞因子类; 淋巴细胞亚群; 胃肠道微生物组; 治疗结果

[中图分类号] R737.33; R735.37

[文献标志码] A

EFFECT OF CONCURRENT CHEMORADIOTHERAPY ON PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES, CYTOKINES, AND GUT MICROBIOTA IN PATIENTS WITH PELVIC TUMOR

LYU Zhuochun, CHEN Xiaohui, QIN Chen, JU Fang (Faculty of

Medicine, Qingdao University, Qingdao 266071, China)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effect of concurrent chemoradiotherapy on immune function, inflammatory state, and gut microbiota in patients with pelvic tumor. **Methods** Peripheral blood and stool samples were collected before and after concurrent chemoradiotherapy from 60 patients with pelvic tumor who were treated in Qingdao Central Hospital from July 2021 to December 2022. Flow cytometry was used to measure the levels of peripheral blood lymphocyte subsets and cytokines, and quantitative real-time PCR was used to measure the number of *Fusobacterium nucleatum*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus*, and *Streptococcus* in stool. Each index was compared in terms of change before and after concurrent chemoradiotherapy, and their correlation with treatment outcome was analyzed. **Results** After concurrent chemoradiotherapy, the patients with pelvic tumor had significant reductions in the percentages of peripheral blood CD3⁺CD8⁺ and CD3⁻CD19⁺ cells and the level of interleukin-10 ($t=2.571-2.995, P<0.05$) and significant increases in the percentages of CD3⁺ and CD3⁺CD4⁺ cells, CD4⁺/CD8⁺ ratio, and the levels of interleukin-1 β , interleukin-2, interleukin-6 (IL-6), interferon gamma, and tumor necrosis factor- α (TNF- α) ($t=-4.321--2.638, P<0.05$), as well as significant reductions in the number of *Fusobacterium nucleatum*, *Bifidobacterium*, and *Lactobacillus acidophilus* ($t=3.128-3.954, P<0.05$). The percentages of CD3⁺ and CD3⁺CD4⁺ cells and the number of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus acidophilus* were positively correlated with treatment outcome ($r_s=0.440-0.540, P<0.05$), while the levels of IL-6 and TNF- α and the number of *Fusobacterium nucleatum* were negatively correlated with treatment outcome ($r_s=-0.685--0.377, P<0.05$). **Conclusion** Concurrent chemoradiotherapy for patients with pelvic tumor can activate the anti-tumor immune function of the body, promote inflammatory response, and lead to the reductions in intestinal pathogenic bacteria and probiotics, thereby causing gut microbiota disturbance. The percentages of CD3⁺ and CD4⁺ cells, the levels of IL-6 and TNF- α , and the number of *Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus*, and *Fusobacterium nucleatum* are closely associated with treatment outcome.

[KEY WORDS] Pelvic neoplasms; Uterine cervical neoplasms; Rectal neoplasms; Chemoradiotherapy; Cytokines; Lymphocyte subsets; Gastrointestinal microbiome; Treatment outcome

宫颈癌和直肠癌是常见的盆腔肿瘤, 同步放化

疗是很多局部晚期盆腔肿瘤患者的首选治疗方案, 也是盆腔肿瘤多学科综合治疗的重要部分^[1-2]。近年来, 关于宫颈癌、直肠癌患者放化疗对机体影响的研究, 多以全身免疫炎症指数及外周血中性粒细胞

[收稿日期] 2023-02-10; [修订日期] 2023-03-29

[基金项目] 青岛市卫生科技计划项目(2018-WJZD055)

[通讯作者] 鞠芳, Email: jufangjufang@sina.com

与淋巴细胞比值作为检测指标^[3],没有进一步分析这些指标具体的影响机制,而且对肠道微生态与疗效相关性的研究报道也比较少。本研究选择宫颈鳞癌及直肠癌患者作为研究对象,分析患者同步放化疗前后外周血中淋巴细胞、细胞因子和粪便中肠道菌群的变化,并进一步分析有显著变化的指标与疗效的关系,为探讨盆腔肿瘤同步放化疗对机体免疫功能、炎症状态和肠道微生态的影响及其机制提供参考依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选择 2021 年 7 月—2022 年 12 月青岛市中心医院收治的病理确诊为宫颈鳞癌或直肠癌的患者 60 例,其中宫颈鳞癌 30 例,直肠癌 30 例。纳入标准:①年龄 18~75 岁者;②体力活动状态(PS)评分 0~2 分者;③宫颈鳞癌患者均符合美国国家癌症网(NCCN)诊疗指南根治性同步放化疗指征,直肠癌患者均符合中国临床肿瘤学会(CSCO)诊疗指南新辅助同步放化疗指征^[4]。排除标准:①治疗前 2 个月内接受过系统性抗菌药物或者益生菌治疗者,2 周内接受过任何质子泵抑制剂治疗者;②治疗前 6 个月内接受过腹盆腔放疗及系统性化疗者;③合并炎症性肠病或者肠易激惹综合征等肠炎疾病者;④合并有自身免疫性疾病者;⑤合并严重的心血管、肝脏、肾脏等疾病,即存在放化疗禁忌证者;⑥同步放化疗过程中出现不良反应需行粒细胞集落刺激因子或激素治疗者。

1.2 同步放化疗方案

宫颈鳞癌患者采用容积弧形调强技术盆腔照射 50.4 Gy/28 F,5 次/周,腔内照射治疗 A 点剂量为 6 Gy/F,1 次/周,共 4~5 次,同步顺铂 25 mg/m²,静脉滴注,1 次/周。直肠癌患者采用容积弧形调强放疗技术盆腔照射 50 Gy/25 F,5 次/周,同步卡培他滨 825 mg/m²,每天 2 次,口服,5 次/周。

1.3 样本采集

分别于盆腔放疗开始前 3 d 内和结束后 3 d 内,采集患者清晨空腹状态外周静脉血 4 mL,用乙二胺四乙酸抗凝处理,6 h 内进行外周血指标检测;同期收集患者清晨粪便标本 1 管(1.0~2.0 g),2 h 内置于-80℃冰箱保存待测。

1.4 观察指标的检测

1.4.1 外周血淋巴细胞亚群检测 使用 Cytomics FC500 流式细胞仪(美国 BECKMAN COULTER

公司)和淋巴细胞亚群检测试剂盒(美国 BD Biosciences 公司),以荧光激活细胞分选法检测外周血中 B 细胞(CD3⁻CD19⁺)、CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD3⁺、自然杀伤细胞(CD3⁻CD16⁺CD56⁺),并计算细胞百分比。

1.4.2 外周血细胞因子检测 使用 BriCyte E6 流式细胞分析仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司)和细胞因子检测试剂盒(青岛瑞斯凯尔生物科技有限公司),通过荧光激活细胞分选法检测患者外周血中白细胞介素 1 β (IL-1 β)、IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12p70、 γ 干扰素(IFN- γ)以及肿瘤坏死因子 α (TNF- α)水平。

1.4.3 粪便肠道菌群检测 使用 E.Z.N.A.[®] Mag-Bind Stool DNA Kit(200)DNA 提取盒(美国 Omega Bio-Tek 公司),根据试剂盒上的指示进行操作。提取 DNA 之后使用 SMA4000 超微量紫外可见核酸蛋白分析仪(北京美林恒通仪器有限公司)测量 DNA 的浓度,DNA 吸光度(A)值满足 $A_{260}/A_{280} \approx 1.7 \sim 1.9$ 。设计具核梭杆菌、嗜酸乳杆菌、双歧杆菌、链球菌引物序列^[5-7],引物名称及其序列见表 1,由 Invitrogen 公司合成。使用各目标菌的质粒(北京擎科生物科技股份有限公司)作为标准品,将各目标菌的标准品分别进行 6 次 10 倍稀释,获得 $10^{-1} \sim 10^{-6}$ 共 6 个浓度梯度的标准品。以不同浓度的标准品作为模板进行实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测,以模板数的对数值为横坐标,Ct 值为纵坐标绘制标准曲线。使用 TransStart[®] Top Green qPCR SuperMix(北京全式金生物技术股份有限公司)配制反应体系:2 \times TransStart[®] Top Green qPCR SuperMix 10 μ L,上游引物 0.4 μ L,下游引物 0.4 μ L,DNA 模板 2 μ L,去离子水 7.2 μ L。RT-qPCR 反应程序:94℃预热 30 s;94℃变性 5 s,60℃延伸 30 s,共循环 45 次,每次延伸阶段采集荧光信号,反应结束后进行溶解曲线分析。记录 CT 值及溶解曲线,将 CT 值代入标准曲线公式,得出每克粪便样品中待测细菌基因拷贝数的对数值。

1.5 疗效评价

首次同步放化疗前 14 d 内及同步放化疗结束后(30 \pm 3)d 内行盆腔 MRI 检查,根据实体瘤疗效评价标准 1.1 版本^[8]进行客观疗效评价,包括完全缓解(CR)、部分缓解(PR)、疾病稳定(SD)和疾病进展(PD)4 种疗效等级。将影像学评估达到 CR 和 PR 的患者纳入疗效较好组,达到 SD 和 PD 的患者纳入疗效较差组。

表 1 引物名称及其序列

引物名称	序列	长度 (bp)
具核梭杆菌	F:5'-CTTAGGAATGAGACAGAGATG-3'	21
	R:5'-TGATGGTAACATACGAAAGG-3'	20
双歧杆菌	F:5'-GCGTGCTTAACACATGCAAGTC-3'	22
	R:5'-CACCCGTTTCCAGGAGCTATT-3'	21
嗜酸乳杆菌	F:5'-AGCAGTAGGGAATCTTCCA-3'	19
	R:5'-CACCGCTACACATGGAG-3'	19
链球菌	F:5'-CCCTTATTGTTAGTTGCCATCATT-3'	24
	R:5'-ACTCGTTGTACTIONTCCCATTTGT-3'	21

1.6 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件进行数据处理, 计量资料经检验均符合或近似正态分布, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组内比较使用配对样本 t 检验, 采用 Pearson 相关系数法进行指标相关性分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有

表 2 患者同步放化疗前后外周血淋巴细胞亚群变化 ($\chi/\%$, $n=60, \bar{x} \pm s$)

时间	CD3 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺	CD3 ⁺ CD8 ⁺	CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	CD3 ⁻ CD19 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺ 比值
治疗前	70.64 ± 8.42	40.02 ± 9.91	26.60 ± 10.94	16.23 ± 8.56	9.71 ± 6.38	1.95 ± 1.38
治疗后	74.95 ± 9.86	46.74 ± 10.36	22.55 ± 9.82	16.97 ± 8.14	6.57 ± 4.92	2.76 ± 2.44

表 3 患者同步放化疗前后外周血细胞因子变化 ($\rho/\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$, $n=60, \bar{x} \pm s$)

时间	IL-1 β	IL-2	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10	IL-12p70	IFN- γ	TNF- α
治疗前	1.23 ± 1.59	1.39 ± 1.26	1.07 ± 0.60	3.94 ± 3.16	1.92 ± 3.49	1.99 ± 1.27	1.19 ± 0.97	4.16 ± 4.11	1.07 ± 1.45
治疗后	2.90 ± 3.94	2.05 ± 2.03	1.56 ± 2.08	5.59 ± 5.10	3.55 ± 12.22	1.66 ± 1.14	1.46 ± 1.30	6.38 ± 6.45	2.76 ± 4.96

2.3 患者同步放化疗前后粪便肠道菌群变化

患者同步放化疗后粪便具核梭杆菌、双歧杆菌和嗜酸乳杆菌数量较治疗前显著减少 ($t = 3.128 \sim 3.954, P < 0.05$)。见表 4。

表 4 患者同步放化疗前后粪便中肠道菌群的变化 (Log copies/g, $n=60, \bar{x} \pm s$)

时间	具核梭杆菌	双歧杆菌	嗜酸乳杆菌	链球菌
治疗前	4.99 ± 1.52	6.38 ± 1.23	5.83 ± 1.19	5.27 ± 1.23
治疗后	4.31 ± 1.70	6.02 ± 1.18	5.23 ± 1.30	4.85 ± 1.03

2.4 患者同步放化疗后外周血淋巴细胞亚群、细胞因子和粪便肠道菌群与疗效的相关性

本研究结果显示, 疗效较好组 47 例, 疗效较差组 13 例。将患者治疗前后存在差异变化的外周血淋巴细胞亚群、细胞因子和粪便肠道菌群指标与疗效进行相关性分析, 结果显示患者外周血 CD3⁺ 细胞百分比、CD3⁺CD4⁺ 细胞百分比和粪便双歧杆菌、嗜酸乳杆菌数量与疗效呈正相关 ($r_s = 0.440 \sim 0.540, P < 0.05$); 外周血 IL-6、TNF- α 水平和粪便具核梭杆菌数量与疗效呈负相关 ($r_s = -0.685 \sim -0.377, P < 0.05$)。

统计学意义。

2 结 果

2.1 患者同步放化疗前后外周血淋巴细胞亚群变化

患者进行同步放化疗以后外周血 CD3⁺CD8⁺ 和 CD3⁻CD19⁺ 细胞百分比治疗前均显著性降低 ($t = 2.995, 2.779, P < 0.05$), CD3⁺、CD3⁺CD4⁺ 细胞百分比以及 CD4⁺/CD8⁺ 比值较治疗前均显著升高 ($t = -4.321 \sim -2.638, P < 0.05$)。见表 2。

2.2 患者同步放化疗前后外周血细胞因子变化

患者同步放化疗后外周血中 IL-1 β 、IL-2、IL-6、IFN- γ 、TNF- α 水平相较于治疗前均显著升高 ($t = -3.422 \sim -2.678, P < 0.05$), IL-10 水平较治疗前显著降低 ($t = 2.571, P < 0.05$)。见表 3。

3 讨 论

宫颈癌和直肠癌作为常见的盆腔肿瘤, 其早期临床症状常较为隐匿, 很多患者确诊时已发展为中晚期^[9]。同步放化疗是局部晚期宫颈癌和直肠癌患者的重要治疗手段, 同步放化疗较单纯放疗、化疗有效率更高。新辅助同步放化疗可降低直肠癌患者术后复发率, 根治性同步放化疗可显著延长不可切除的宫颈癌患者生存期。近年来研究发现, 机体免疫功能、炎症状态和肠道微生态在肿瘤的发生、发展中有重要地位, 且与肿瘤的疗效密切相关^[10-12]。而盆腔同步放化疗对机体免疫功能、炎症状态和肠道菌群是否产生影响, 以及是否进一步影响疗效, 还有待进一步研究。

淋巴细胞及细胞因子是机体免疫和炎症反应的重要组成部分, 参与肿瘤的发生发展^[13], 并可能与疗效相关。淋巴细胞具有免疫识别功能, 根据其表型和生物学功能, 分为 CD3⁺CD8⁺ 细胞毒性 T 细胞 (CTLs)、CD3⁺CD4⁺ 辅助性 T 细胞 (Th)、B 细胞和自然杀伤细胞^[14]。其中 CTLs 通过直接或间接杀伤肿瘤细胞发挥细胞免疫功能; Th 可分为 Th1 和

Th2, Th1 分泌的 IL-2 和 IFN- γ 可诱导 T 细胞增殖、激活自然杀伤细胞, 主要参与机体细胞免疫, 能促进炎症反应的发生, 同时有研究发现肿瘤患者的 IL-2 低水平与预后不良相关。Th2 分泌的 IL-4 和 IL-10 可促进 B 细胞分泌抗体, 主要参与机体体液免疫, 能同时抑制 Th1 所介导的免疫反应和由活性氧代谢产物所介导的炎症反应^[15-16]; B 细胞通过分泌抗体发挥调节体液免疫功能, 自然杀伤细胞通过分泌促炎因子和趋化因子参与机体的抗肿瘤、抗病毒过程。而促炎因子 IL-1 β 、IL-6、IL-8、TNF- α 可通过它们各自受体诱导的信号传导参与机体炎症反应, 促进肿瘤的发生、进展以及转移^[17-18]。有研究发现 CD4⁺/CD8⁺ 比值能反映机体免疫功能, 该比值下降则提示机体的免疫功能降低。肿瘤患者外周血中 CD3⁺、CD3⁺CD4⁺、CD3⁻CD19⁺ 细胞百分比以及 CD4⁺/CD8⁺ 比值均较健康人群低, 提示肿瘤患者机体免疫功能受到了抑制^[19]。

本研究结果显示, 盆腔同步放化疗后患者外周血 CD3⁺、CD3⁺CD4⁺ 细胞百分比和 CD4⁺/CD8⁺ 比值显著增高, 外周血 CD3⁺CD8⁺ 及 CD3⁻CD19⁺ 细胞百分比显著降低; 同时外周血促炎因子 IL-1 β 、IL-2、IL-6、IFN- γ 、TNF- α 水平显著增高, 外周血抗炎因子 IL-10 水平显著降低。提示盆腔同步放化疗可能激活机体抗肿瘤免疫功能, 减轻机体免疫抑制状态, 促进机体炎症反应的发生。结合淋巴细胞亚群变化和细胞因子变化分析, 同步放化疗后 Th 百分比以及由 Th1 分泌的 IL-2、IFN- γ 水平升高, 提示同步放化疗可能激活机体细胞免疫; 而 B 细胞百分比以及由 Th2 分泌的 IL-4、IL-10 水平均降低, 提示同步放化疗可能抑制 B 细胞介导的体液免疫。在同步放化疗时可以通过监测淋巴细胞亚群及细胞因子变化, 更好地了解盆腔肿瘤患者机体免疫功能及炎症状态的变化。

肠道菌群是微生物在人体等宿主的肠道内共同进化形成的一个复杂的生态系统^[20]。由于肠道处于缺氧环境, 具核梭杆菌、双歧杆菌等厌氧菌及嗜酸乳杆菌等兼性厌氧菌在肠道中起主导作用。研究发现具核梭杆菌可以促进炎症反应、刺激癌细胞生长, 可能参与结直肠癌、宫颈癌等多种肿瘤的发生^[21-23]。同时有研究发现双歧杆菌、嗜酸乳杆菌和链球菌等益生菌能降低盆腔放疗、化疗或同步放化疗所致的腹泻发生率, 并且可能与疗效相关^[24]。本研究采用能针对特定细菌进行准确检测的 RT-qPCR 技术, 选择具核梭杆菌、双歧杆菌、嗜酸乳杆菌以及链球菌

4 种前期研究显示可能与肿瘤发生发展、疗效相关的肠道细菌作为检测对象, 发现盆腔同步放化疗后患者粪便具核梭杆菌、双歧杆菌和嗜酸乳杆菌数量显著减少。提示盆腔同步放化疗可能造成致病菌和益生菌减少, 出现肠道菌群紊乱。

将治疗前后有差异的观察指标与疗效进行相关性分析发现, 盆腔肿瘤患者治疗后外周血中 CD3⁺、CD4⁺ 细胞百分比高水平 and 粪便双歧杆菌、嗜酸乳杆菌高表达与疗效较好相关, 外周血 IL-6、TNF- α 的高水平和粪便具核梭杆菌高表达与疗效较差相关。提示机体免疫功能、炎症状态和肠道菌群与疗效有一定的相关性。因此, 可望通过检测上述指标的变化预测患者疗效, 并有可能通过调节机体免疫炎症状态调控放化疗疗效, 值得临床进一步研究。

综上所述, 本研究发现盆腔肿瘤患者同步放化疗可激活机体抗肿瘤免疫功能, 减轻机体免疫抑制状态, 促进机体炎症反应的发生。另外, 盆腔同步放化疗可导致肠道益生菌和致病菌减少, 造成肠道菌群紊乱、改变肠道微生态。同时, 盆腔同步放化疗后外周血中 CD3⁺CD4⁺ 细胞百分比和粪便双歧杆菌、嗜酸乳杆菌数量与疗效呈正相关, 而外周血 IL-6、TNF- α 水平和粪便具核梭杆菌数量与疗效呈负相关。但本研究纳入的病例数较少, 今后将扩大样本量进一步研究, 并观察上述指标与不良反应的发生之间的关系, 探讨其具体作用机制。

伦理批准和知情同意: 本研究涉及的所有试验均已通过青岛大学附属青岛市中心医院医学伦理委员会的审核批准(文件号 KY202110-601)。所有试验过程均遵照《涉及人的生物医学研究伦理审查办法》(2016)的条例进行。受试对象或其亲属已经签署知情同意书。

作者声明: 吕卓纯、鞠芳、陈晓慧参与了研究设计; 吕卓纯、鞠芳、秦琛参与了论文的写作和修改。所有作者均阅读并同意发表该论文。所有作者均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] LI Y, WANG J, MA X W, et al. A review of neoadjuvant chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer[J]. Int J Biol Sci, 2016, 12(8):1022-1031.
- [2] FU J X, WANG W P, WANG Y D, et al. The role of squamous cell carcinoma antigen (SCC Ag) in outcome prediction after concurrent chemoradiotherapy and treatment decisions for patients with cervical cancer[J]. Radiat Oncol, 2019, 14(1):146.
- [3] ZHANG Y Y, LIU X, XU M F, et al. Prognostic value of pretreatment systemic inflammatory markers in patients with locally advanced rectal cancer following neoadjuvant chemoradiotherapy[J]. Sci Rep, 2020, 10(1):8017.

- [4] 中国临床肿瘤学会指南工作委员会组织. 中国临床肿瘤学会 (CSCO) 结直肠癌诊疗指南-2021[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2021;141.
- [5] FUKUGAITI M H, IGNACIO A, FERNANDES M R, et al. High occurrence of *Fusobacterium nucleatum* and *Clostridium difficile* in the intestinal microbiota of colorectal carcinoma patients[J]. *Braz J Microbiol*, 2015,46(4):1135-1140.
- [6] JENKE A C, POSTBERG J, MARIEL B, et al. S100A12 and hBD2 correlate with the composition of the fecal microflora in ELBW infants and expansion of *E. coli* is associated with NEC [J]. *Biomed Res Int*, 2013, 2013;150372.
- [7] RINTTILÄ T, KASSINEN A, MALINEN E, et al. Development of an extensive set of 16S rDNA-targeted primers for quantification of pathogenic and indigenous bacteria in faecal samples by real-time PCR[J]. *J Appl Microbiol*, 2004,97(6): 1166-1177.
- [8] 石远凯, 孙燕主编. 临床肿瘤内科手册(第 6 版)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2014;938.
- [9] XIA C F, DONG X S, LI H, et al. Cancer statistics in China and United States, 2022: Profiles, trends, and determinants [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2022,135(5):584-590.
- [10] WANG Q, LI S B, QIAO S M, et al. Changes in T lymphocyte subsets in different tumors before and after radiotherapy: A meta-analysis[J]. *Front Immunol*, 2021,12:648652.
- [11] SERNA G, RUIZ-PACE F, HERNANDO J, et al. *Fusobacterium nucleatum* persistence and risk of recurrence after preoperative treatment in locally advanced rectal cancer[J]. *Ann Oncol*, 2020,31(10):1366-1375.
- [12] YUN J W, LEE S, KIM H M, et al. A novel type of blood biomarker: Distinct changes of cytokine-induced STAT phosphorylation in blood T cells between colorectal cancer patients and healthy individuals[J]. *Cancers (Basel)*, 2019,11(8):1157.
- [13] LOO S W, PUI T S. Cytokine and cancer biomarkers detection: The dawn of electrochemical paper-based biosensor[J]. *Sensors (Basel)*, 2020, 20(7):1854.
- [14] FU T, DAI L J, WU S Y, et al. Spatial architecture of the immune microenvironment orchestrates tumor immunity and therapeutic response[J]. *J Hematol Oncol*, 2021,14(1):98.
- [15] ZHOU J Y, ALVAREZ C A, COBB B A. Integration of IL-2 and IL-4 signals coordinates divergent regulatory T cell responses and drives therapeutic efficacy[J]. *eLife*, 2021, 10: e57417.
- [16] 张慧秋, 刘丽, 刘玲, 等. 严重多发伤患者外周血 Th1/Th2 细胞因子水平变化及其对医院感染的预测价值分析[J]. *中国感染与化疗杂志*, 2022,22(4):418-424.
- [17] MANTOVANI A, BARAJON I, GARLANDA C. IL-1 and IL-1 regulatory pathways in cancer progression and therapy [J]. *Immunol Rev*, 2018, 281(1):57-61.
- [18] RAY A L, BERGGREN K L, RESTREPO CRUZ S, et al. Inhibition of MK2 suppresses IL-1 β , IL-6, and TNF- α -dependent colorectal cancer growth[J]. *Int J Cancer*, 2018,142(8): 1702-1711.
- [19] 慕莹, 魏晓芳, 王晔, 等. 恶性肿瘤患者治疗前后外周血淋巴细胞亚群的变化分析[J]. *生物医学工程与临床*, 2018,22(2): 191-195.
- [20] SOMMER F, ANDERSON J M, BHARTI R, et al. The resilience of the intestinal microbiota influences health and disease [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2017,15(10):630-638.
- [21] BRENNAN C A, GARRETT W S. *Fusobacterium nucleatum*—Symbiont, opportunist and oncobacterium [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2019,17(3):156-166.
- [22] KOSTIC A D, CHUN E, ROBERTSON L, et al. *Fusobacterium nucleatum* potentiates intestinal tumorigenesis and modulates the tumor-immune microenvironment[J]. *Cell Host Microbe*, 2013,14(2):207-215.
- [23] RUBINSTEIN M R, WANG X W, LIU W, et al. *Fusobacterium nucleatum* promotes colorectal carcinogenesis by modulating E-cadherin/ β -catenin signaling via its FadA adhesin [J]. *Cell Host Microbe*, 2013,14(2):195-206.
- [24] LIN S, SHEN Y F. The efficacy and safety of probiotics for prevention of chemoradiotherapy-induced diarrhea in people with abdominal and pelvic cancer: A systematic review and meta-analysis based on 23 randomized studies[J]. *Int J Surg*, 2020,84:69-77. (本文编辑 耿波 厉建强)

(上接第 148 页)

- [16] OJA M, MARAN U. Quantitative structure-permeability relationships at various pH values for acidic and basic drugs and drug-like compounds[J]. *SAR QSAR Environ Res*, 2015,26 (7-9):701-719.
- [17] KERNS E H, DI L, PETUSKY S, et al. Combined application of parallel artificial membrane permeability assay and Caco-2 permeability assays in drug discovery[J]. *J Pharm Sci*, 2004,93(6):1440-1453.
- [18] MIYAKE M, KOGA T, KONDO S, et al. Prediction of drug intestinal absorption in human using the Ussing chamber system: A comparison of intestinal tissues from animals and humans[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2017,96:373-380.
- [19] ZUO Z, ZHANG L, ZHOU L M, et al. Intestinal absorption of hawthorn flavonoids: In vitro, in situ and in vivo correlations[J]. *Life Sci*, 2006,79(26):2455-2462.
- [20] TAUB M E, PODILA L, ELY D, et al. Functional assessment of multiple P-glycoprotein (P-gp) probe substrates: Influence of cell line and modulator concentration on P-gp activity[J]. *Drug Metab Dispos*, 2005,33(11):1679-1687.
- [21] WANG Q, RAGER J D, WEINSTEIN K, et al. Evaluation of the MDR-MDCK cell line as a permeability screen for the blood-brain barrier[J]. *Int J Pharm*, 2005,288(2):349-359.
- [22] HUBATSCH I, RAGNARSSON E G E, ARTURSSON P. Determination of drug permeability and prediction of drug absorption in Caco-2 monolayers[J]. *Nat Protoc*, 2007,2(9): 2111-2119. (本文编辑 耿波 厉建强)