

免疫环境因子IEF在EGFR-TKIs治疗的EGFR突变阳性晚期非小细胞肺癌中预后价值研究

杨雪¹, 刘根利², 李玲¹, 吴大鹏¹, 王笑荷¹, 陶凤英¹, 袁胜利^{1*}

¹青岛大学附属青岛市立医院, 山东 青岛

²大连医科大学附属青岛大学附属青岛市立医院, 山东 青岛
Email: *a17660445323@163.com

收稿日期: 2021年7月16日; 录用日期: 2021年8月13日; 发布日期: 2021年8月20日

摘要

目的: 表皮生长因子受体-酪氨酸激酶抑制剂(epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitors, EGFR-TKIs)厄洛替尼、吉非替尼、埃克替尼治疗前血清免疫环境因子IEF (immune environment factor)水平对晚期非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)伴有EGFR (epidermal growth factor receptor)基因突变阳性患者预后价值研究。方法: 收集从2015年6月1日至2020年5月1日在青岛大学附属青岛市立医院诊断的73例接受了厄洛替尼, 吉非替尼或者埃克替尼治疗的EGFR突变阳性的晚期非小细胞肺癌患者的临床资料。患者服用TKIs前1~2周完成血常规、肝肾功、凝血功能检测。利用公式 $IEF = \text{Mon}\#(10^9/L)\text{Neu}\#(10^9/L) \times \text{Fibro}\#(10^9/L)/\text{Lym}\#(10^9/L)/\text{ALB}(g/L)$, 其中Mon#、Neu#、Fibro#、Lym#和ALB分别代表单核细胞数目, 中性粒细胞数目, 纤维蛋白原数目, 淋巴细胞数目和血清白蛋白水平, 得出IEF值, IEF的最佳临界值将通过ROC (Receiver Operating Characteristic)曲线确定, 将所有入组患者分为高IEF组和低IEF组。同时, 使用COX比例风险模型(Cox Proportional-Hazards Model)分析患者预后预测因素。通过Kaplan-Meier法分析, 得出高IEF组和低IEF组患者mPFS (median progression free survival), 使用Log-rank检验比较组间差异。结果: 根据ROC分析结果, 以 $IEF = 1.066 \times 10^{17}$ 为临界值。Kaplan-Meier法分析: 低IEF组的mPFS为18.0个月, 而高IEF组的mPFS为8.0个月($P < 0.001$)。应用Cox多因素回归方法分析显示IEF (HR = 5.215, 95%CI: 2.372~11.464; $P = 0.0001$), 年龄, 肿瘤分期, 中性粒细胞计数, 单核细胞计数, 淋巴细胞计数是应用EGFR-TKIs治疗的EGFR突变型晚期NSCLC患者mPFS的独立影响因素, 均 $P < 0.05$ 。同时, COX单因素分析结果显示患者的血清白蛋白, 淋巴细胞计数, IEF值对患者mPFS的影响有意义, 均 $P < 0.01$ 。结论: 治疗前免疫环境因子IEF水平可作为表皮生长因子受体-酪氨酸激酶抑制剂治疗EGFR突变阳性III-IV期NSCLC患者的预后评价指标。

关键词

免疫环境因子IEF, NSCLC, 厄洛替尼, 吉非替尼, 埃克替尼, 预后

*通讯作者。

The Predictive Value of Immune Environment Factors (IEF) for the Prognosis of EGFR Mutations Positive Non-Small Cell Lung Cancer Treated with Epidermal Growth Factor Receptor-Tyrosine Kinase Inhibitors (EGFR-TKIs)

Xue Yang¹, Genli Liu², Ling Li¹, Dapeng Wu¹, Xiaohe Wang¹, Fengying Tao¹, Shengli Yuan^{1*}

¹Department of Oncology, The Affiliated Qingdao Municipal Hospital of Qingdao University Medical College, Qingdao Shandong

²Department of Oncology, The Affiliated Qingdao Municipal Hospital of Dalian Medical University, Qingdao Shandong

Email: *a17660445323@163.com

Received: Jul. 16th, 2021; accepted: Aug. 13th, 2021; published: Aug. 20th, 2021

Abstract

Objectives: To investigate the predictive value of pretreatment immune environmental factors in serum for the prognosis of EGFR mutations positive non-small cell lung cancer (NSCLC) treated with epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitors (EGFR-TKIs). **Methods:** The clinical data of 73 patients with EGFR mutation positive stage IV NSCLC who were treated with erlotinib, gefitinib or icotinib from June 1, 2015 to May 1, 2020 in Qingdao Municipal Hospital were collected. The venous blood samples were taken from patients 1~2 weeks before taking TKIs, and blood routine, liver and kidney function and coagulation function were tested. According to receiver operating characteristic curve (ROC), patients were divided into high and low groups. Meanwhile, Cox proportional hazards model was used to analyze the independent prognostic factors. Kaplan Meier method was used to analyze the progression free survival (mPFS), and log rank test was used to compare the differences between the two groups. **Results:** According to the ROC curve, the appropriate cut-off point of IEF was 1.066×10^{17} . The mPFS in the lower IEF group was longer than mPFS in the high IEF group (18.0 vs. 8.0 months, $P < 0.001$). Cox regression analysis showed that serum albumin, lymphocyte count and IEF value had significant effect on mPFS ($P < 0.01$). Cox multivariate regression analysis showed that IEF (HR = 5.215, 95%CI: 2.372~11.464; $P = 0.0001$) was significantly higher than that of control group; age, tumor stage, neutrophil count, monocyte count and lymphocyte count were independent influencing factors of mPFS ($P < 0.05$). **Conclusions:** Pretreatment serum immune environment factors level can be used as a prognostic index for EGFR TKIs in patients with EGFR mutation positive stage IV NSCLC.

Keywords

Immune Environment Factors, Non-Small Cell Lung Cancer, Gefitinib, Erlotinib, Icotinib, Prognosis

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

肺癌发病率逐年升高,影响人类的寿命和生活质量,占有所有癌种死亡率第一位,其中 NSCLC 占比约 80% [1]。亚洲人的表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)阳性突变率约为 50%,是应用 EGFR-TKIs 天然优势人群。与传统化疗方案相比,EGFR-TKIs 能靶向性杀伤驱动基因阳性 NSCLC 细胞,具有延长肿瘤患者的生存时间和提高生活质量,血液学毒性以及胃肠反应较小,不良反应可耐受,口服给药,更易通过血脑屏障等优点[2] [3]。但是其临床获益率也只有 80%左右,少数患者不能对治疗产生有效反应[4]。临床观察,EGFR-TKIs 的疗效可能与患者临床病理特征有关,因此研究能影响患者 EGFR-TKIs 治疗疗效的综合性临床指标有必要。NEMETH T.等人研究表明,中性粒细胞,单核细胞和淋巴细胞在肿瘤炎症中起关键作用[5] [6] [7]。纤维蛋白原反应凝血情况[8] [9] [10],白蛋白反应肿瘤的营养情况[11]。近年来的研究显示升高的中性粒细胞与淋巴细胞比值和降低的淋巴细胞与单核细胞比值与包括晚期 NSCLC 在内的多种肿瘤的不良预后相关。IEF = 中性粒细胞 * 单核细胞 * 纤维蛋白原/淋巴细胞/白蛋白,它在一定程度上可以反映机体炎症、免疫调节和营养代谢状态。同时,对于 EGFR 突变阳性的晚期 NSCLC,体现人体营养代谢、炎症、免疫调节状况指标 IEF 与 EGFR 突变阳性 NSCLC 患者预后关系目前从未有人研究。本研究旨在探索治疗前 IEF 水平对于 EGFR 突变阳性 III-IV 期 NSCLC 患者的预后预测价值。

2. 资料与方法

EGFR 突变的 NSCLC 患者。入组患者皆为一线厄洛替尼,吉非替尼或者埃克替尼治疗,给予吉非替尼 250 mg po 1 片/qd,埃克替尼 125 mg po 1 片/tid 或厄洛替尼 150 mg po 1 片/qd。本研究获得青岛大学附属青岛市立医院伦理委员会批准,研究患者知情同意。

2.1. 纳入、排除标准

纳入标准:① 病理确诊为: NSCLC,并应用 NGS 法或者 ARMS 法进行检测,EGFR 基因突变阳性;② 根据美国癌症联合委员会 AJCC 制定第八版 TNM 分期标准,划分为 III 或 IV 期肺癌;③ 接受一线厄洛替尼,吉非替尼或者埃克替尼治疗;④ 在厄洛替尼,吉非替尼或埃克替尼治疗前 1~2 周内行血常规等相关检查。

排除标准:① 存在其他原发肿瘤;② 心功能 III-IV 级(NYHA),贫血,肝硬化,肾功能损伤严重;③ 厄洛替尼、吉非替尼、埃克替尼治疗前的 2 周内急、慢性炎性疾病,或自身免疫性疾病,或血液病;④ 未进行规范性治疗以及相关评估;⑤ 因其他疾病或者意外导致死亡。⑥ 治疗前使用过甲强龙等激素,瑞白等升白细胞药物,白蛋白等可能影响血液检测结果的药物。

2.2. 方法及数据收集

采集患者厄洛替尼,吉非替尼或埃克替尼治疗前 1~2 周内的静脉血,以及迈瑞 EXC810 分析仪、罗氏 E601 分析仪以及贝克曼 5800 分析仪分别用于肝肾功,肿瘤标志物以及凝血常规检测。迈瑞 BC-6000 分析仪检测血常规,Wright 或 Mary-Grinewald-Giemsa 技术用于确定差值计数。将一滴血稀薄地铺在玻璃

片上, 风干, 并用 Romanowsky 染色剂染色。使用分馏仪自动评估分化, 手动评估形态异常的玻片。从青岛大学附属青岛市立医院瑞美系统汇总检验结果。TNM 分期根据美国癌症联合委员会第 7 版进行分类。定义: $IEF = \text{Mon}\#(10^9/\text{L}) \times \text{Neu}\#(10^9/\text{L}) \times \text{Fibro}\#(10^9/\text{L})/\text{Lym}\#(10^9/\text{L})/\text{ALB}(\text{g}/\text{L})$, 其中 Mon#、Neu#、Fibro#、Lym# 和 ALB 分别代表单核细胞数目, 中性粒细胞数目, 纤维蛋白原数目, 淋巴细胞数目和血清白蛋白水平。

随访: 治疗后 6 周复查, 此后每 2~3 个月随访 1 次。按照实体瘤疗效评价标准 1.1 (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors 1.1, RECIST 1.1) 评价疗效。PFS 为本研究主要终点, 定义为从患者服用 EGFR-TKIs 药物的第一天开始, 至疾病影像学进展或死亡或末次随访。随访截止到 2020 年 5 月 1 日或患者在随访期间发生死亡。

2.3. 统计分析

为了确定本研究中的 IEF 的临界值, 按照 7:3 比例将所有患者随机分组, 命名为训练集和对照集。采样时间为 12 月。使用 Youden 指数确定训练集中 IEF 的临界点。通过 ROC 确定临界值。我们使用 Youden 指数评估了区分复发的最佳分界点[12] [13]。根据 ROC 曲线计算出 Youden 指数, 公式如下:

$$\text{Youden 指数} = \text{最大灵敏度} (1 - \text{特异性})$$

使用卡方检验评估 IEF 与各变量之间的关系。生存曲线使用 Kaplan-Meier 方法绘制, 各组比较通过 Log-rank 检验进行。单变量 Cox 比例风险模型和多变量 Cox 比例风险模型用于确定与患者的独立预后因素。使用 SPSS 25 版和 GraphPad Prism 5.0 进行软件分析。显著性定义为 $P < 0.05$, 且 95% 置信区间(CI), 不包括 1。

3. 结果

3.1. 临床病理特征

73 例患者, 临床病理特征如下: 临床疗效随访截止 2020 年 05 月 01 日, 其中 73 例患者发生疾病进展, 5 例患者死亡, 68 例患者存活, 失访 0 例。73 例患者中, 中位 mPFS 10.0 个月。性别: 48 例(65.75%) 为女性和 25 例(34.25%) 为男性。靶向药物种类: 28 例(38.36%) 服用吉非替尼和 31 例(42.46%) 服用埃克替尼和 14 例(19.18%) 服用厄洛替尼。血清 ALB 水平: 53 例(72.6%) $\geq 35 \text{ g/L}$ 和 20 例(27.4%) $< 35 \text{ g/L}$ 。外周血 Neu#: 6 例(8.22%) $\geq 6.3 \times 10^9/\text{L}$ 和 67 例(91.78%) $< 6.3 \times 10^9/\text{L}$ 。年龄: 27 例(36.99%) < 65 岁和 46 例(63.01%) ≥ 65 岁。肿瘤分期: 42 例(57.53%) 为 IV 期患者和 31 例(42.47%) 为 III 期患者。外周血 Lym#: 55 例(75.34%) $\geq 1.1 \times 10^9/\text{L}$ 和 18 例(24.66%) $< 1.1 \times 10^9/\text{L}$ (见表 1)。

3.2. IEF 最佳临界值的确定

根据治疗前血常规, 肝功, 肾功, 凝血常规检测结果计算 IEF, 将 IEF 值和患者 mPFS 情况作为 ROC 曲线的分析值。经计算得出: IEF 最佳临界值为 1.066×10^{17} , 灵敏度、特异度分别为 84% 和 77.1%, ROC 曲线下面积为 0.815 (95% CI: 0.704~0.926)。根据最佳临界值将入组患者分为高 IEF 组($IEF > 1.066 \times 10^{17}$)和低 IEF 组($IEF \leq 1.066 \times 10^{17}$)。

3.3. 不同 IEF 组的特征

高 IEF 组 41 例和低 IEF 组 32 例。低 IEF 组比高 IEF 组患者有更好的肿瘤分期($P = 0.01$), 更高的淋巴细胞计数($P = 0.007$)。女性患者更倾向于有低的 IEF 评分($P = 0.001$), 而患者的年龄、中性粒细胞计数、单核细胞计数、纤维蛋白原水平、靶向药物分类在高、低 IEF 组之间, 差异均无统计学意义(见表 1)。

Table 1. Characteristics of the study population with NSCLC
表 1. NSCLC 患者临床病理特征

临床病理特点	低 IEF 组 N = 32 (%)	高 IEF 组 N = 41 (%)	P value
性别			0.001
男	4 (12.5)	21 (51.22)	
女	28 (87.5)	20 (48.78)	
年龄(岁)			0.166
<65	23 (71.875)	23 (56.10)	
≥65	9 (28.125)	18 (43.90)	
肿瘤分期			0.01
III 期	19 (59.375)	12 (29.27)	
IV 期	13 (40.625)	29 (70.73)	
靶向药物			0.012
厄洛替尼	6 (18.75)	8 (19.51)	
吉非替尼	18 (56.25)	10 (24.39)	
埃克替尼	8 (25)	23 (56.10)	
中性粒细胞计数($10^9/L$)			0.588
<6.3	30 (93.75)	37 (90.24)	
≥6.3	2 (6.25)	4 (9.76)	
单核细胞计数($10^9/L$)			0.295
<0.6	28 (87.5)	32 (78.05)	
≥0.6	4 (12.5)	9 (21.95)	
纤维蛋白原(g/L)			0.145
<3.5	12 (37.5)	9 (21.96)	
≥3.5	20 (62.5)	32 (78.04)	
血清白蛋白(g/L)			0.046
<35	5 (15.625)	15 (36.59)	
≥35	27 (84.375)	26 (63.41)	
淋巴细胞计数($10^9/L$)			0.007
<1.1	3 (9.375)	15 (36.59)	
≥1.1	29 (90.625)	26 (63.41)	

3.4. IEF 与应用 EGFR-TKIs 治疗的 NSCLC 患者 mPFS 的关系

中位的随访时间为 23 个月(10~47 个月)。低、高组患者的 IEF 组 mPFS 分别为 18.0、8.0 个月, 高 IEF 组患者的 mPFS 比低 IEF 组患者更差(Log-rank $P < 0.01$)。EGFR-TKIs 治疗的低、高 IEF 组 NSCLC 患者的 PFS 曲线通过 GraphPad Prism5.0 绘制而成, mPFS 组间差异通过应用 Log-rank 法比较(见图 1)。

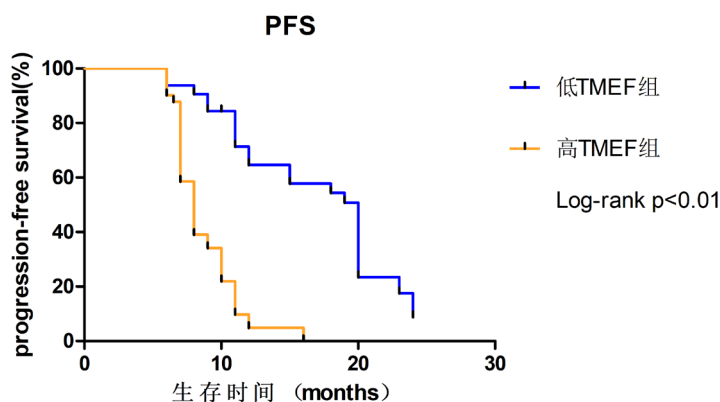


Figure 1. Median progression-free survival
图 1. 中位无进展生存时间

3.5. EGFR-TKIs 治疗的 EGFR 突变型 NSCLC 患者预后影响因素分析

IEF 分组与患者预后的关系: COX 多因素分析结果显示: 外周血中性粒细胞计数(HR = 8.095, 95%CI: 2.379~27.546; P = 0.001)、年龄(HR = 0.345, 95%CI: 0.174~0.684; P = 0.002), 外周血单核细胞计数(HR = 0.304, 95%CI: 0.128~0.725; P = 0.007)、外周血淋巴细胞计数(HR = 0.361, 95%CI: 0.172~0.756; P = 0.007)、IEF (HR = 5.215, 95%CI: 2.372~27.546; P = 0.0001)是应用 EGFR-TKIs 治疗的 EGFR 突变型 III-IV 期 NSCLC 患者 mPFS 的独立预后因素, 同时, 疗前外周血中性粒细胞计数, 年龄 > 65 岁, 外周血单核细胞计数, 外周血淋巴细胞计数及 IEF 值 $\geq 1.066 \times 10^{17}$, 为应用 EGFR-TKIs 治疗的 EGFR 突变型的 III-IV 期 NSCLC 患者 mPFS 的独立危险因素。同时, Cox 单因素回归方法分析提示患者的血清白蛋白, 血液淋巴细胞计数, IEF 值对 EGFR-TKIs 治疗的 EGFR 突变型晚期 NSCLC 患者的 mPFS 有意义, 均 P < 0.01 (见表 2)。

Table 2. Cox univariate and multivariate analysis table

表 2. Cox 单因素、多因素分析表

临床病理特点	单因素			多因素		
	HR	95%CI	P 值	HR	95%CI	P 值
性别						
男	1			1		
女	1.936	1.164~3.220	0.011	0.723	0.305~1.714	0.462
年龄(岁)						
<65	1			1		
≥ 65	1.268	0.774~2.078	0.345	0.345	0.174~0.684	0.002
肿瘤分期						
III 期	1			1		
IV 期	2.051	1.221~3.444	0.007	2.436	1.178~5.039	0.016
靶向药物						
埃克替尼	1			1		
厄洛替尼	1			1		
吉非替尼	1.191	0.843~1.684	0.322	0.652	0.421~1.011	0.652

Continued

中性粒细胞计数($10^9/L$)							
<6.3	1				1		
≥ 6.3	2.772	1.156~6.646	0.022	8.095	2.379~27.546	0.001	
单核细胞计数($10^9/L$)							
<0.6	0.642	0.335~1.231	0.182	0.304	0.128~0.725	0.007	
≥ 0.6	1			1			
纤维蛋白原(g/L)							
<3.5	0.877	0.522~1.473	0.621	0.448	0.236~0.849	0.014	
≥ 3.5	1			1			
血清白蛋白(g/L)							
<35	0.448	0.262~0.764	0.003	0.355	0.148~0.852	0.020	
≥ 35	1			1			
淋巴细胞计数($10^9/L$)							
<1.1	0.395	0.220~0.710	0.002	0.361	0.172~0.756	0.007	
≥ 1.1	1			1			
IEF							
$<1.066 \times 10^{17}$	1			1			
$\geq 1.066 \times 10^{17}$	5.249	2.804~9.825	<0.001	5.215	2.372~27.546	<0.001	

4. 讨论

本研究回顾性分析了青岛大学附属青岛市立医院 73 例应用厄洛替尼、吉非替尼、埃克替尼治疗的晚期 NSCLC 患者的数据, COX 回归分析显示治疗前血液中 IEF 水平, 患者年龄, 肿瘤分期, 中性粒细胞、单核细胞和淋巴细胞计数可以影响 NSCLC 患者的预后。同时, 免疫环境因子 IEF 可以预测 EGFR-TKIs 治疗的 III-IV 期 EGFR 突变阳性 NSCLC 患者靶向治疗的预后。

CHEN X.等人研究显示: 炎症反应与多数癌症患者不良预后有关[14] [15] [16]。MANDALIYA H.等人研究表明, 外周血中单核细胞与淋巴细胞比值, 中性粒细胞与淋巴细胞比值, CRP 等血液学指标与 EGFR 突变阳性 NSCLC 预后相关。本研究使用的指标: 中性粒细胞是血液循环中数量最多的白细胞, 在不同阶段肿瘤的发生发展中是一把双刃剑, 可以作为人体天然防御系统的一部分, 同时调节适应性免疫, 也可以加重肿瘤的炎性反应, 释放细胞因子, 重塑细胞外基质, 影响肿瘤的侵袭和增殖能力。XIAO Y.等人研究显示, 在肿瘤微环境中, 肿瘤相关中性粒细胞(TANs)在 TGF- β , IL-8, IL-6, IL-17 等细胞因子的作用下可以由抗肿瘤的 N1 细胞极化为促肿瘤 N2 细胞, 并通过促进血管生成, 肿瘤浸润等途径, 导致患者不良预后[17] [18] [19]。此外, RAPOPORT B.L.等人研究表明, 外周血中性粒细胞计数升高与患者疾病的局部控制率降低等不良临床预后相关[18]。所以中性粒细胞是肿瘤患者血象分析重要一部分。来源于单核细胞的巨噬细胞在肿瘤免疫中发挥重要作用。CHOI S.H.等研究发现, 肿瘤相关巨噬细胞(TAMs)在肿瘤微环境免疫细胞中占有最大比例, 在细胞因子 CSF-1、IL-4、IL-10、TGF- β 等的作用下, 可以由抗肿瘤的 M1 细胞转化为 M2 细胞, 它们通过分泌基质金属蛋白酶(MMPs)影响肿瘤微环境, 并通过分泌 PDGF, VEGF 和转化生长因子(TGF- β)来诱导血管形成[20], 同时抑制 T 细胞免疫应答[21] [22] [23]。这可能在一定程度上解释了单核细胞对肿瘤预后的影响。淋巴细胞是人体特异性免疫重要组成部分, JOSHI K.等人研究证实, 细胞毒性 T 细胞(CTL)可以产生穿孔素, 颗粒酶等细胞因子, 促使肿瘤细胞凋亡, 辅助

性 T 细胞参与激活 CTL 过程[24] [25]。INOMATA M 等人研究表明, 与周围正常组织相比, 肺癌组织中帮助肿瘤细胞逃逸的调节性 CD4+T 细胞(Tregs)的数量高, 而靶向杀伤肿瘤细胞的 CD8+CTL [25]的数量较低[26]。有研究表明, 纤维蛋白原与肿瘤组织内血管内皮生长因子(VEGF)以及缺氧诱导因子-1 α 的表达密切相关, 反应肿瘤的血管生成状况, 不容忽视。IEF 较高的患者有较高的淋巴细胞、中性粒细胞数量以及纤维蛋白原水平, 较低的白蛋白水平以及淋巴细胞数量, 这可能是 IEF 成为接受 EGFR-TKI 治疗 IV 期 NSCLC 患者预后因子的部分原因。

这项研究有一些局限性, 首先是治疗前 1~2 周进行血液检查。检测指标可能会根据个人的身体状况变化。其次, 本研究为小样本单中心非随机回顾性研究, 可能会存在以选择偏倚为主的统计误差。IEF 临界值无国际标准, ROC 曲线由于利用曲线下面积, 得出假阳性和假阴性都最小的一点, 所以用于 IEF 的临界值确定中, 相关国际标准, 尚在讨论。

基金项目

国家自然科学基金支持: 项目号 grant No. 82003997 项目负责人: 吴大鹏。

参考文献

- [1] Arbour, K.C. and Riely, G.J. (2019) Systemic Therapy for Locally Advanced and Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer A Review. *JAMA—Journal of the American Medical Association*, **322**, 764-774. <https://doi.org/10.1001/jama.2019.11058>
- [2] Bartholomew, C., Eastlake, L., Dunn, P., et al. (2017) EGFR Targeted Therapy in Lung Cancer: An Evolving Story. *Respiratory Medicine Case Reports*, **20**, 137-140.
- [3] Maemondo, M. (2020) Potential of Combination Therapy in EGFR Mutated Lung Cancer. *Annals of Translational Medicine*, **8**, 518. <https://doi.org/10.21037/atm.2020.03.76>
- [4] Ettinger, D.S., Wood, D.E., Aggarwal, C., et al. (2019) Non-Small Cell Lung Cancer, Version 1.2020 Featured Updates to the NCCN Guidelines. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, **17**, 1464-1472. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2019.0059>
- [5] Nemeth, T., Sperandio, M. and Mocsai, A. (2020) Neutrophils as Emerging Therapeutic Targets. *Nature Reviews Drug Discovery*, **19**, 253-275. <https://doi.org/10.1038/s41573-019-0054-z>
- [6] Ren, W.H., Hou, J.F., Yang, C.G., et al. (2019) Extracellular Vesicles Secreted by Hypoxia Pre-Challenged Mesenchymal Stem Cells Promote Non-Small Cell Lung Cancer Cell Growth and Mobility as Well as Macrophage M2 Polarization via miR-21-5p Delivery. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, **38**, 62.
- [7] Tanizaki, J., Haratani, K., Hayashi, H., et al. (2018) Peripheral Blood Biomarkers Associated with Clinical Outcome in Non-Small Cell Lung Cancer Patients Treated with Nivolumab. *Journal of Thoracic Oncology*, **13**, 97-105. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2017.10.030>
- [8] Sheng, L., Luo, M., Sun, X., et al. (2013) Serum Fibrinogen Is an Independent Prognostic Factor in Operable Nonsmall Cell Lung Cancer. *International Journal of Cancer*, **133**, 2720-2725. <https://doi.org/10.1002/ijc.28284>
- [9] Wang, H., Zhao, J., Zhang, M., et al. (2018) The Combination of Plasma Fibrinogen and Neutrophil Lymphocyte Ratio (F-NLR) Is a Predictive Factor in Patients with Resectable Non Small Cell Lung Cancer. *Journal of Cellular Physiology*, **233**, 4216-4224. <https://doi.org/10.1002/jcp.26239>
- [10] Wang, M., Zhang, G., Zhang, Y., et al. (2020) Fibrinogen Alpha Chain Knockout Promotes Tumor Growth and Metastasis through Integrin-AKT Signaling Pathway in Lung Cancer. *Molecular Cancer Research*, **18**, 943-954.
- [11] Li, J., Wang, Y., Wu, Y., et al. (2021) Prognostic Value of Pretreatment Albumin to Globulin Ratio in Lung Cancer: A Meta-Analysis. *Nutrition and Cancer*, **73**, 75-82. <https://doi.org/10.1080/01635581.2020.1737155>
- [12] Karageorgou, E. and Samanidou, V. (2014) Youden Test Application in Robustness Assays during Method Validation. *Journal of Chromatography A*, **1353**, 131-139.
- [13] Schisterman, E.F., Perkins, N.J., Liu, A., et al. (2005) Optimal Cut-Point and Its Corresponding Youden Index to Discriminate Individuals Using Pooled Blood Samples. *Epidemiology*, **16**, 73-81. <https://doi.org/10.1097/01.ede.0000147512.81966.ba>
- [14] Chen, X., Zhang, L. and Liu, X. (2018) Association of Systemic Inflammation with Survival in EGFR Wild-Type Lung Cancer. *Annals of Oncology*, **29**, IX155.

-
- [15] Serresi, M., Gargiulo, G., Proost, N., *et al.* (2016) Polycomb Repressive Complex 2 Is a Barrier to KRAS-Driven Inflammation and Epithelial-Mesenchymal Transition in Non-Small-Cell Lung Cancer. *Cancer Cell*, **29**, 17-31. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2015.12.006>
- [16] Shiels, M.S., Pfeiffer, R.M., Hildesheim, A., *et al.* (2013) Circulating Inflammation Markers and Prospective Risk for Lung Cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, **105**, 1871-1880. <https://doi.org/10.1093/jnci/djt309>
- [17] Amaral, S.R., Casal Moura, M., Carvalho, J., *et al.* (2019) Prognostic Significance of Neutrophil-To-Lymphocyte Ratio (NLR) and Platelet-To-Lymphocyte Ratio (PLR) in Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Treated with Immune Checkpoint Inhibitors. *Annals of Oncology*, **30**, I3.
- [18] Rapoport, B.L., Vorobiof, D.A., Langenhoven, L., *et al.* (2019) Prognostic Significance of Neutrophil/Lymphocyte ratio in Patients Undergoing Treatment with Nivolumab for Recurrent Non-Small Cell Lung Cancer. *Annals of Oncology*, **30**, II61.
- [19] Xiao, Y., Cong, M., Li, J., *et al.* (2021) Cathepsin C Promotes Breast Cancer Lung Metastasis by Modulating Neutrophil Infiltration and Neutrophil Extracellular Trap Formation. *Cancer Cell*, **39**, 423-437.
- [20] Choi, S.H., Kim, A.R., Nam, J.K., *et al.* (2018) Tumour-Vasculature Development via Endothelial-To-Mesenchymal Transition after Radiotherapy Controls CD44v6⁺ Cancer Cell and Macrophage Polarization. *Nature Communications*, **9**, Article No. 5108. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07470-w>
- [21] Chen, Y.B., Song, Y.C., Du, W., *et al.* (2019) Tumor-Associated Macrophages: An Accomplice in Solid Tumor Progression. *Journal of Biomedical Science*, **26**, 78.
- [22] Ruffell, B. and Coussens, L.M. (2015) Macrophages and Therapeutic Resistance in Cancer. *Cancer Cell*, **27**, 462-472. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2015.02.015>
- [23] Wang, J., Li, D., Cang, H., *et al.* (2019) Crosstalk between Cancer and Immune Cells: Role of Tumor-Associated Macrophages in the Tumor Microenvironment. *Cancer Medicine*, **8**, 4709-4721. <https://doi.org/10.1002/cam4.2327>
- [24] Joshi, K., De Massy, M.R., Ismail, M., *et al.* (2019) Spatial Heterogeneity of the T Cell Receptor Repertoire Reflects the Mutational Landscape in Lung Cancer. *Nature Medicine*, **25**, 1549-1559. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0592-2>
- [25] Lu, Y., Xue, J., Deng, T., *et al.* (2020) Safety and Feasibility of CRISPR-Edited T Cells in Patients with Refractory Non-Small-Cell Lung Cancer. *Nature Medicine*, **26**, 732-740. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0840-5>
- [26] Inomata, M., Kado, T., Okazawa, S., *et al.* (2019) Peripheral PD1-Positive CD4 T-Lymphocyte Count Can Predict Progression-Free Survival in Patients With Non-Small Cell Lung Cancer Receiving Immune Checkpoint Inhibitor. *Anticancer Research*, **39**, 6887-6893.