

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.02.002

· 专家论坛 ·

三级淋巴结构：肿瘤免疫治疗的预后因素与新兴靶点

侯云晶^a, 杨鑫鑫^a, 孟宏学^{ab} (哈尔滨医科大学附属肿瘤医院 a. 病理科; b. 精准医学中心, 黑龙江 哈尔滨 150081)



孟宏学 医学博士、教授、主任医师、博士生导师。哈尔滨医科大学附属肿瘤医院病理科主任、病理学科带头人, 黑龙江省精准医学中心主任, 黑龙江省肿瘤病理学重点实验室主任。主要从事肿瘤分子病理临床、科研和教学工作。中国抗癌协会青年理事会常务理事、肿瘤病理专委会常委、基因诊断专委会常委、病理分会肺癌学组副组长, 中华医学会病理学分会消化学组委员、病理学分会分子病理学组委员, 黑龙江省抗癌协会基因诊断专委会主任委员, 黑龙江省药理学学会药物监测专委会副主任委员。《Dis Markers》、《Curr Pharm Biotechnol》、《中华病理学》杂志编委。近3年主持国家自然科学基金、黑龙江省重点研发项目等十余项课题, 发表SCI论文50余篇。获首届“龙江工匠”、黑龙江省青年科技奖及黑龙江省医疗新技术一等奖。E-mail: menghongxue@hrbmu.edu.cn

[摘要] 三级淋巴结构(TLS)是指非生理条件下由于长期发生炎症而形成的异位淋巴组织,是架构在成纤维细胞网络上的淋巴细胞聚集区,包含两个重要的结构区域——T细胞区和滤泡B细胞区。TLS在肿瘤中以不同的成熟状态存在,最终形成生发中心,其内含有T滤泡辅助细胞和滤泡树突状细胞,并且与B细胞紧密联系。近年研究明确了新生的TLS的关键特征、相关的生物标志物及检测手段,进一步阐述了TLS通过刺激相关的肿瘤抗原调控淋巴细胞的浸润,以增强抗肿瘤免疫效应的作用机制。对TLS与肿瘤患者临床获益之间的相关性研究结果表明,TLS可作为包括免疫治疗在内的生物治疗的良好预后和预测因素。目前,研究者正在开发诱导TLS形成的技术,包括使用趋化因子、细胞因子、抗体、抗原提呈细胞或合成支架等。在“冷肿瘤”和“热肿瘤”中诱导TLS新生联合抑制炎症性环境的治疗剂或免疫检查点抑制剂的方案,代表了肿瘤治疗的新希望。

[关键词] 三级淋巴结构;免疫治疗;生物治疗;生发中心;新兴靶点

[中图分类号] R730.21;R730.51 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2024)02-0121-07

Tertiary lymphoid structures: prognostic factors and emerging targets for tumor immunotherapy

HOU Yunjing^a, YANG Xinxin^a, MENG Hongxue^{ab} (a. Department of Pathology; b. Center for Precision Medicine, Cancer Hospital Affiliated to Harbin Medical University, Harbin 150081, Heilongjiang, China)

[Abstract] Tertiary lymphoid structure (TLS) refers to ectopic lymphoid tissue formed at long-term inflammatory sites in non-physiological conditions. It is a lymphocyte aggregate constructed on the fibroblast network and contains two important structural regions—the T cell region and the follicular B cell region. TLS exists in different mature states in tumors, and finally forms germinal centers. Germinal centers contain T follicular helper cells and follicular dendritic cells, and are closely related to B cells. Recent studies have identified the main features, biomarkers and detection methods of newborn TLS, further expounding the mechanism that TLSs can enhance the effect of anti-tumor immune response by stimulating related tumor antigens and regulating lymphocyte infiltration. Studies on the relevance between TLSs and clinical benefits of cancer patients show that TLSs can be used as a good prognosis and predictive factor for biotherapies including immunotherapy. Several methods to induce TLS formation are currently being developed, including the use of chemokines, cytokines, antibodies, antigen presenting cells or synthetic scaffolds. The regimen of inducing TLS neogenesis in cold tumors and hot tumors in combination with therapeutic agents for inflammatory environment suppression or immune checkpoint

[基金项目] 国家自然科学基金(No.82072985);吴阶平医学基金项目(No.320.6750.19089-22, No.320.6750.19089-48);北京医学奖基金(No.YXJL-2019-1416-0069);北京精鉴病理学发展基金(No. JJTS2020-002);黑龙江省自然科学基金(No.LH2022H065);黑龙江省创新基地奖励(No.JD2023SJ03);黑龙江省省级高校基础研究基金(No.2021-KYYWF-0253);哈尔滨医科大学附属肿瘤医院N10基金(No.2017-03);哈尔滨医科大学附属肿瘤医院海燕青年基金(No.JJQN2021-02)

[作者简介] 侯云晶(1996—),女,硕士生,主要从事肿瘤病理与分子病理靶向机制研究。E-mail:2019021463@hrbmu.edu.cn

[通信作者] 孟宏学, E-mail: menghongxue@hrbmu.edu.cn

inhibitors, represents a new hope for cancer treatment.

[Key words] tertiary lymphoid structure (TLS); immunotherapy; biotherapy; germinal centers; emerging target

[Chin J Cancer Biother, 2024, 31(2): 121-127. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2024.02.002]

淋巴结是一种复杂的、战略性的器官,通过幼稚的B细胞和T细胞与抗原提呈细胞之间的相互作用来促进对病原体的免疫反应。在长时间的炎症条件下,如自身免疫性疾病、慢性感染和肿瘤,非淋巴组织的间质细胞获得淋巴样特性,驱动形成免疫细胞聚集物,称为三级淋巴组织(tertiary lymphoid structure, TLS)。TLS又被称为免疫相关淋巴组织,包括黏膜相关淋巴组织、皮肤相关淋巴组织等。TLS外部缺乏完整的纤维包膜将其与周围组织环境分隔,因此其细胞成分能够直接进入周围组织,迅速产生免疫反应;也可使TLS中驻留的免疫细胞暴露于炎症微环境中,产生免疫抑制效应。除少数病例外,在大多数实体恶性肿瘤中TLS的存在与良好的预后相关,但肿瘤中TLS形成的驱动因素以及这些结构对瘤内免疫反应的作用尚不明确。本文在阐述肿瘤中TLS形成的基础上,总结TLS在抗肿瘤免疫反应中的功能及它作为肿瘤治疗干预靶点的潜力。

1 肿瘤中 TLS 的形成机制与结构

在肿瘤的慢性炎症条件的持续刺激下,淋巴组织会发生结外播种并在炎症部位形成TLS。免疫系统从不同组织中采集抗原并将免疫细胞聚集于TLS,进而诱导适应性免疫反应。

1.1 TLS 形成的驱动机制

目前,对推动TLS形成的细胞和分子过程的了解主要来自对感染及自身免疫性疾病模型的研究,而对TLS在肿瘤中的形成过程认识尚不充分。在解剖学上,TLS与次级淋巴结构具有类似的结构,淋巴组织诱导(lymphoid tissue-inducer, LTi)细胞、淋巴毒素 $\alpha 1\beta 2$ (LT $\alpha 1\beta 2$)在驱动次级淋巴结的形成中起关键作用,但在TLS形成之初,是否也由LTi细胞来启动局部间充质积累、局部聚集的免疫细胞能否替代LTi细胞,仍不明确。有研究^[1]发现,Th17、ILC3细胞与经典LTi细胞类似,能够表达ROR γt 转录因子;CTL、NK、B细胞和M1极化的巨噬细胞都可能是LTi细胞的替代者。同时,TLS的形成也可以不依赖淋巴途径中LT $\alpha 1\beta 2$ 的诱导,有证据^[2]显示,IL-17可以在微生物感染的情况下诱导肺泡基质细胞表达CCL19、CXCL13,促进肺泡相关淋巴组织(TLS的一种)的形成。虽然CXCL12、CXCL13、CCL19、CCL21都可以促进TLS的形成,但是它们诱导形成的TLS结构并不相同。例如,CXCL13的组织特异性表达诱导了缺乏滤泡树突状细胞(follicular dendritic cell, FDC)网络

的B细胞聚集^[3];TNF和CXCL12的表达诱导了以B细胞为主,辅以少量T细胞以及DC的TLS^[4-5];CCL19和CCL21可以诱导相似组成的聚集体,而CCL21表达诱导的结构更大^[4]。这也表明,TLS的不同成熟阶段也会由不同的信号路径驱动。

1.2 TLS 的构成及其异质性

TLS是独特的淋巴细胞聚集域,主要表现为CD3⁺T细胞包围CD20⁺B细胞形成的淋巴滤泡结构。在疾病进展的不同时期,TLS的具体组成可能不同,但通常情况下T细胞群中的主要亚群为CD4⁺T滤泡辅助(T follicular helper, TFH)细胞,也存在CD8⁺CTL、CD4⁺Th1细胞和Treg细胞^[6-10]。TLS相关的免疫细胞主要为B细胞和T细胞群,以及不同的DC群。例如,CD83⁺成熟DC主要定位于T细胞区,也被称为DC溶酶体相关膜蛋白(DC-LAMP⁺)DC^[6-7]。滤泡中含有分散的CD68⁺巨噬细胞,用于清除凋亡细胞,而外周淋巴结阳性的高内皮小静脉为TLS提供了特殊的脉管系统,介导淋巴细胞募集^[11]。在成熟的肿瘤TLS中,B细胞克隆被选择性激活和扩增,并经历抗体类型转换和体细胞突变,由B细胞克隆分化的浆细胞产生IgG抗体,靶向肿瘤相关抗原;在未成熟的肿瘤TLS中,B细胞会转化为产生免疫抑制细胞因子的调节细胞。

事实上,不同的肿瘤在TLS数量和B细胞含量上有很大差异,而免疫治疗对具有成熟TLS、高密度B细胞和浆细胞的肿瘤通常有较好的疗效^[9, 12-15]。不同癌种中TLS的构成成分也有巨大差异,如在非小细胞肺癌(NSCLC)的TLS中有大量的(DC-LAMP⁺)DC,但在其他肿瘤类型中含量较少;TFH细胞主要存在于乳腺癌的TLS中^[16]。然而,针对肿瘤的TLS异质性,尚缺乏大规模的分析参数和严格的评估系统。

特定类型的异质性特征与TLS成熟程度有关。在NSCLC、肝细胞癌和结直肠癌中,已能够对TLS的三个成熟阶段做详尽分类:初级结构中,组织程度最小表现为免疫细胞的大量聚集,不存在FDC,并且缺乏真正TLS特征(分离的T和B细胞区);初级滤泡样TLS含有FDC,但缺乏生发中心反应;完全成熟的次级滤泡样TLS具有活跃的生发中心和完整的淋巴免疫功能。

1.3 肿瘤中 TLS 的检测

首先应评估肿瘤组织中是否存在TLS,最常见的检测手段即H-E染色,其为组织病理学的临床诊断标准;既往也有研究^[7]表明IHC染色比H-E染色的检测更为准确;利用多重免疫组织化学或免疫荧光技术

也可对免疫细胞谱系标志物进行组织染色,通过分析CD20、CD3、CD23等标志物的组合来检测成熟TLS即生发中心内的FDC特征。然而,多重成像的成本高、复杂性高和视野小的劣势限制了其应用。

基于TLS组成的特殊性,用于常规定位TLS位置的方法为检测被CD3⁺T细胞区包围的CD20⁺B细胞滤泡。在肿瘤浸润边缘或间质部位的TLS比肿瘤核心更丰富,因此,选择最大肿瘤间质浸润的肿瘤全切片是检测TLS的可靠方法。成熟的TLS是有组织的淋巴结构聚集体,由T细胞区和B细胞区组成,包含生发中心并被T细胞区包围,在H-E染色下呈现明显的淋巴样滤泡,包含具有生发中心的致密的团状聚集物;即使分化程度较低的结构(如无淋巴样聚集物和生发中心的淋巴样滤泡)也可被检测到^[17-19]。国际上推荐选取连续的肿瘤切片或多重标记技术和数字病理软件来定量评估扫描图像上的TLS密度、大小和细胞含量^[20-21]。

2 TLS在肿瘤中的预后价值及其机制

2.1 TLS在肿瘤中的良好预后价值

在大部分实体瘤中,TLS数量与患者生存率呈正相关关系。以一项在口腔鳞状细胞癌患者中进行的研究^[22]为例,T1和T2期肿瘤的TLS数量明显多于T3和T4期,表明TLS具有良好的预后作用。有研究^[23-24]对肝细胞癌的术后病理结果进行分析,结果显示,位于肿瘤中央部位的TLS成熟度与肝癌早期的复发风险呈显著的负相关,有良好的预后价值,但在晚期肝癌中无明显的相关性。在乳腺癌中,肿瘤中浸润的TLS与淋巴细胞浸润密切相关,与较高的无病生存率密切相关,TLS的空间位置和密度可作为衡量预后价值的关键因素;在HER2阳性的乳腺癌中,当TLS位于肿瘤周边时,病理淋巴结分期和淋巴结受累程度明显增加,且高级别肿瘤具有TLS的概率是低级别肿瘤的2倍^[25-27]。另外,原发肿瘤周围的淋巴样聚集物中大量的FOXP3⁺Treg细胞增加了复发和死亡的风险,而TLS中Treg细胞耗竭后DC共刺激配体表达和T细胞增殖水平升高,能够促进T细胞对肿瘤的抑制效应^[28-29]。在肿瘤转移部位的TLS具有与原发部位相同的特征,它们的密度与肿瘤中较高的T细胞浸润相关,如Th1细胞和CTL^[30-33]。研究^[9]发现,在发生大网膜转移的高级别浆液性卵巢癌中,TLS高的患者表现出更好的无进展生存期。这可能是因为,位于TLS内的记忆B细胞比非肿瘤B细胞具有更高的克隆性和体细胞高突变率,且B细胞的密度与这些肿瘤间质中成熟的(DC-LAMP⁺)DC的密度相关;在TLS中的浆细胞和肿瘤细胞上

都发现了IgG、IgM和IgA沉积;具有异常记忆表型CD27⁺CD20⁺B细胞与表达高水平的抗原提呈分子CD8⁺T细胞共定位,PD1^{hi}的CD8⁺T细胞和CD4⁺TFH细胞以及稀缺的(DC-LAMP⁺)DC存在于TLS的滤泡B细胞区,患者生存率也显著升高^[34-35]。

在少数实体瘤中,TLS的存在与较高的肿瘤分级、分期和TIL密度相关,如与非浸润性膀胱癌相比,TLS在高级别浸润性膀胱癌中更为常见^[36]。这可能是因为TLS中的Treg细胞或髓源性抑制细胞会抑制TLS产生效应淋巴细胞和记忆淋巴细胞的能力。综上,TLS在不同实体瘤中的预后价值趋势存在差异,因此仅关注其空间位置或细胞含量无法准确评估其预后作用,相关的机制也尚需进一步研究。

2.2 TLS数量影响肿瘤预后的相关机制

通常,TLS的密度与患者的生存期正相关,但与TNM分期无关^[11, 37-39]。研究^[40]证明,TLS密度及TFH细胞、滤泡B细胞、成熟的(DC-LAMP⁺)DC、高内皮小静脉等与肿瘤患者的存活率相关。在肿瘤组织中,TLS的密度与CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞的数量显著相关,进而影响全身抗肿瘤效应与良好的预后。与TLS^{low}肿瘤相比,TLS^{hi}肿瘤中一组具有T细胞活化、T细胞趋化和T细胞毒性特征的基因水平显著升高,CD38⁺和CD69⁺激活的T细胞比例上调。对NSCLC中TLS的分析结果^[8, 41]显示,TLS标志物DC-LAMP的表达与上述一组基因之间有很强的相关性,表明TLS协调了极化的TH1细胞和CD8⁺T细胞的瘤内免疫应答。另外,若存在DC-LAMP^{low}CD8⁺T细胞亚组,患者生存的可能性降低,这表明TLS中的DC对于诱导有效的抗肿瘤CD8⁺T细胞反应必不可少^[8, 42-44]。成熟的DC可向TLS的T细胞区内的CD4⁺T细胞提呈抗原,而在转移的卵巢癌生发中心也能检测到(DC-LAMP⁺)DC,这提示TLS可能还参与了向B细胞提呈抗原的过程。在胃癌中,采用TLS密度联合TNM分期进行预后预测,较传统单用TNM分期具有更高的预后准确性。TLS的特征状态与炎症程度及免疫相关途径的激活水平总体上呈正相关的趋势,这提示在胃癌中富集的TLS增强了对肿瘤的免疫反应。CD3⁺、CD8⁺和CD20⁺细胞的浸润程度随TLS密度的增加而显著升高,但CD68⁺细胞的浸润较低^[21, 45-46]。TLS的空间组织也支持T细胞依赖的B细胞对蛋白抗原反应的发展。在TLS的B细胞中能够检测到AID和Bcl-6的表达,说明体细胞超突变和同型转换机制被激活,使效应B细胞分化为浆细胞和记忆B细胞、产生抗体^[12, 47];同时,TLS中的B细胞也可以向T细胞提呈抗原,包括向CD8⁺T细胞提呈^[9, 21, 48-50]。

3 基于 TLS 的抗肿瘤免疫疗法研究

3.1 TLS 模型的构建

目前,大量研究聚焦于 TLS 模型的模拟构建,探索重新编程肿瘤微环境(TME)的策略,研究者正开发一系列的方法,利用趋化因子、细胞因子、抗体、抗原提呈细胞或合成药物来促进肿瘤中 TLS 的形成。如通过人工佐剂载体细胞(artificial adjuvant vector cell, aAVC)疗法改善 DC 功能,治疗后能够建立 TLS、编程局部免疫反应,促进特异性表达 V β 的抗肿瘤 T 细胞增殖,导致长期记忆 T 细胞的形成^[51]。还有研究^[52]将表达 T 细胞特异性 T box 转录因子 T-bet 的 DC 合并到生物相容性支架材料后转移到小鼠 MCA205 肉瘤中发现,其能够促进淋巴细胞浸润和 TLS 的形成,减缓肿瘤生长。

3.2 诱导 TLS 的形成来增强抗肿瘤免疫反应

通过使用免疫检查点抑制剂(ICI)、治疗性的细胞、调控相关信号通路、肿瘤疫苗、生物材料等都可驱动 TLS 的产生,从而在肿瘤治疗中产生更好的抗肿瘤免疫应答。ICI 可以在 TME 中诱导抗肿瘤的 TLS 形成,例如,新生 TLS 在对 ICI 治疗无反应患者的标本中缺失或罕见;而在 20 例接受新辅助尼鲁单抗(抗 PD-1) II 期临床试验治疗的 NSCLC 患者肿瘤组织中存在大量的 TLS^[53-54]。除了作为肿瘤治疗性免疫反应的标志物外,肿瘤中诱导 TLS 可能促进淋巴细胞的招募和控制肿瘤的进展。因此,当与 ICI 或抗炎剂联合使用时,诱导 TLS 可用于低免疫肿瘤或高免疫肿瘤的治疗^[55]。免疫治疗诱导 TLS 在治疗两周后将“非免疫原性”肿瘤转化为“免疫原性”肿瘤,进一步证明免疫治疗可以协调浸润 T 细胞形成 TLS,进而有助于抗肿瘤微环境的形成^[56]。诱导肿瘤 TLS 新生可以促使瘤内 T 细胞和 B 细胞转化为可识别肿瘤的效应细胞和记忆细胞。生物材料如聚酰胺纤维制剂、胶原蛋白海绵生物基质等也可用于诱导 TLS 形成^[19,57-59]。一项针对宫颈上皮内瘤变(CIN2/3)患者的研究^[60]表明,使用 HPV16 和 HPV18 的 E6 和 E7 蛋白肌肉注射治疗性疫苗,可诱导肿瘤病变内克隆性 T 细胞的局部扩张,同时在基质中形成成熟的 TLS,而未接种疫苗患者的基质淋巴细胞浸润是弥漫性的,很少组织成 TLS。胰腺癌患者接种同种异体 GM-CSF 分泌型胰腺肿瘤疫苗也可以诱导 TLS 的形成^[61]。这些研究结果表明,肿瘤疫苗可以诱导肿瘤内 TLS,同时增加免疫效应器功能,最终趋于有利的临床结果。

3.3 靶向 TLS 抗肿瘤策略的挑战及展望

TLS 极大地增强肿瘤特异性免疫反应。然而,该现象产生的原因是 TLS 中产生的 T 细胞反应的增强,

或是新 T 和 B 细胞抗肿瘤反应性优化,仍需继续探索。TLS 在多种肿瘤中的预后预测价值毋庸置疑,但还缺乏一致的标志物来定义和表征 TLS,尚需开发更多基于细胞组成、位置、成熟度、功能等方面的表征手段,更全面地标准定义“TLS 状态谱”,从而最大限度地发挥 TLS 作为潜在生物标志物的价值,这将成为该领域未来需要关注的一个方向。

未来几年的一个主要挑战将是使用非侵入性技术评估 TLS 生物标志物,这对于检测疾病复发或进展尤其重要。在这方面,多模式技术的出现 B 细胞受体(BCR)测序可以识别与临床结果相关的新型血液生物标志物^[62-66]。高通量分析与肿瘤内 TLS 和 B 细胞群相关的循环趋化因子和细胞因子,以及它们与治疗反应的相关性,可以作为生物标志物检测的补充。

通过治疗干预诱导 TLS 也被视为新兴的研究领域,可以通过“经典”疗法或通过肿瘤靶向输送参与 TLS 形成和 B 细胞成熟的趋化因子和细胞因子的选择性诱导来实现,如 LT α 、LIGHT 和 CXCL13 等^[67]。从长远来看, TLS 可能通过生物材料的组织工程在体外构建,再与其他免疫疗法同时植入患者体内。

诱导或增强 TLS 功能的同时,也可能增强其他组织部位的自身反应性 T 和 B 细胞反应,且已发现 TLS 在许多自身免疫性疾病中支持局部炎症过程^[68],而自身免疫反应是 ICI 治疗的主要不良反应,因此提高 TLS 数量或 TLS 功能的方法也可能增加 ICI 诱导的自身免疫相关毒性。尽管目前关于 TLS 在免疫相关不良事件中作用的数据很少,但已有报道^[69-70]称 TLS 形成与 PD-1 阻断后的自身免疫性肌病之间存在关联。因此,未来的临床应用需要仔细评估这些方法的风险效益比。

4 结 语

TLS 是抗肿瘤免疫反应的主要参与者,而其所协调的抗肿瘤免疫反应,以及它们在肿瘤进展过程中的相互关系和各自的动力学仍有待破译。TLS 的存在及数量通常与良好的临床结果相关,能够预测肿瘤治疗后的治疗反应。将 ICI 治疗与肿瘤疫苗、靶向药物和化疗等治疗手段联合使用,可以提高“冷肿瘤”对免疫治疗的敏感性。相反,在 TME 紊乱并伴有强烈慢性炎症、血管生成和纤维化间质的“热肿瘤”中,使用抗血管生成和免疫抑制剂有助于免疫微环境正常化,有利于 TLS 的形成和对 ICI 的治疗反应。

[参 考 文 献]

- [1] SCHUMACHER T N, THOMMEN D S. Tertiary lymphoid structures in cancer[J/OL]. *Science*, 2022, 375(6576): eabf9419

- [2024-01-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34990248/>. DOI: 10.1126/science.abf9419.
- [2] RANDALL T D. Bronchus-associated lymphoid tissue (BALT) structure and function[J]. *Adv Immunol*, 2010, 107: 187-241. DOI: 10.1016/B978-0-12-381300-8.00007-1.
- [3] LUTHER S A, LOPEZ T, BAI W, *et al.* BLC expression in pancreatic islets causes B cell recruitment and lymphotoxin-dependent lymphoid neogenesis[J]. *Immunity*, 2000, 12(5): 471-481. DOI: 10.1016/S1074-7613(00)80199-5.
- [4] LUTHER S A, BIDGOL A, HARGREAVES D C, *et al.* Differing activities of homeostatic chemokines CCL19, CCL21, and CXCL12 in lymphocyte and dendritic cell recruitment and lymphoid neogenesis[J]. *J Immunol*, 2002, 169(1): 424-433. DOI: 10.4049/jimmunol.169.1.424.
- [5] FURTADO G C, PACER M E, BONGERS G, *et al.* TNF α -dependent development of lymphoid tissue in the absence of ROR γ ^t lymphoid tissue inducer cells[J]. *Mucosal Immunol*, 2014, 7(3): 602-614. DOI: 10.1038/mi.2013.79.
- [6] SAUTÈS-FRIDMAN C, LAWAND M, GIRALDO N A, *et al.* Tertiary lymphoid structures in cancers: prognostic value, regulation, and manipulation for therapeutic intervention[J/OL]. *Front Immunol*, 2016, 7: 407[2024-01-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27752258/>. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00407.
- [7] SAUTÈS-FRIDMAN C, PETITPREZ F, CALDERARO J, *et al.* Tertiary lymphoid structures in the era of cancer immunotherapy[J]. *Nat Rev Cancer*, 2019, 19: 307-325. DOI: 10.1038/s41568-019-0144-6.
- [8] GOC J, GERMAIN C, VO-BOURGAIS T K, *et al.* Dendritic cells in tumor-associated tertiary lymphoid structures signal a Th1 cytotoxic immune contexture and license the positive prognostic value of infiltrating CD8⁺ T cells[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(3): 705-715. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-1342.
- [9] KROEGER D R, MILNE K, NELSON B H. Tumor-infiltrating plasma cells are associated with tertiary lymphoid structures, cytolytic T-cell responses, and superior prognosis in ovarian cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(12): 3005-3015. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-2762.
- [10] HENNEQUIN A, DERANGÈRE V, BOIDOT R, *et al.* Tumor infiltration by Tbet⁺ effector T cells and CD20⁺ B cells is associated with survival in gastric cancer patients[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2015, 5(2): e1054598[2024-01-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27057426/>. DOI: 10.1080/2162402X.2015.1054598.
- [11] DI CARO G, BERGOMAS F, GRIZZI F, *et al.* Occurrence of tertiary lymphoid tissue is associated with T-cell infiltration and predicts better prognosis in early-stage colorectal cancers[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(8): 2147-2158. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-2590.
- [12] GERMAIN C, GNJATIC S, TAMZALIT F, *et al.* Presence of B cells in tertiary lymphoid structures is associated with a protective immunity in patients with lung cancer[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2014, 189(7): 832-844. DOI: 10.1164/rccm.201309-1611oc.
- [13] DE VISSER K E, KORETS L V, COUSSENS L M. De novo carcinogenesis promoted by chronic inflammation is B lymphocyte dependent[J]. *Cancer Cell*, 2005, 7(5): 411-423. DOI: 10.1016/j.ccr.2005.04.014.
- [14] MONTFORT A, PEARCE O, MANIATI E, *et al.* A strong B-cell response is part of the immune landscape in human high-grade serous ovarian metastases[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(1): 250-262. DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-16-0081.
- [15] BISWAS S, MANDAL G, PAYNE K K, *et al.* IgA transcytosis and antigen recognition govern ovarian cancer immunity[J]. *Nature*, 2021, 591(7850): 464-470. DOI: 10.1038/s41586-020-03144-0.
- [16] GARAUD S, BUISSERET L, SOLINAS C, *et al.* Tumor infiltrating B-cells signal functional humoral immune responses in breast cancer[J/OL]. *JCI Insight*, 2019, 5(18): e129641 [2024-01-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31408436/>. DOI: 10.1172/jci.insight.129641.
- [17] XU W H, LU J H, LIU W R, *et al.* Heterogeneity in tertiary lymphoid structures predicts distinct prognosis and immune microenvironment characterizations of clear cell renal cell carcinoma[J/OL]. *J Immunother Cancer*, 2023, 11(12): e006667 [2024-01-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38040418/>. DOI: 10.1136/jitc-2023-006667.
- [18] VANHERSECKE L, BOUGOUIN A, CROMBÉ A, *et al.* Standardized pathology screening of mature tertiary lymphoid structures in cancers [J/OL]. *Lab Invest*, 2023, 103(5): 100063 [2024-01-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36801637/>. DOI: 10.1016/j.labinv.2023.100063.
- [19] YANG M, CHE Y R, LI K Z, *et al.* Detection and quantitative analysis of tumor-associated tertiary lymphoid structures[J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2023, 24(9): 779-795. DOI: 10.1631/jzus.B2200605.
- [20] LI Z, JIANG Y M, LI B L, *et al.* Development and validation of a machine learning model for detection and classification of tertiary lymphoid structures in gastrointestinal cancers[J/OL]. *JAMA Netw Open*, 2023, 6(1): e2252553[2024-01-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36692877/>. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2022.52553.
- [21] JIA L Z, WANG T Q, ZHAO Y C, *et al.* Single-cell profiling of infiltrating B cells and tertiary lymphoid structures in the TME of gastric adenocarcinomas[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2021, 10(1): 1969767 [2024-01-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34513317/>. DOI: 10.1080/2162402X.2021.1969767.
- [22] WANG C, HUANG Z X, ZHANG M, *et al.* Prognostic value of tertiary lymphoid structures in early clinical stage oral tongue squamous cell carcinoma[J]. *J Oral Pathol Med*, 2021, 50(8): 776-784. DOI: 10.1111/jop.13215.
- [23] CALDERARO J, PETITPREZ F, BECHT E, *et al.* Intra-tumoral tertiary lymphoid structures are associated with a low risk of early recurrence of hepatocellular carcinoma[J]. *J Hepatol*, 2019, 70(1): 58-65. DOI: 10.1016/j.jhep.2018.09.003.
- [24] JIA W L, YAO Q Y, WANG Y F, *et al.* Protective effect of tertiary lymphoid structures against hepatocellular carcinoma: new findings from a genetic perspective[J/OL]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1007426[2024-01-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36189217/>. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1007426.
- [25] JOHANSSON-PERCIVAL A, GANSS R. Therapeutic induction of tertiary lymphoid structures in cancer through stromal remodeling [J/OL]. *Front Immunol*, 2021, 12: 674375[2024-01-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34122434/>. DOI: 10.3389/fimmu.2021.674375.
- [26] ANDERSSON A, LARSSON L, STENBECK L, *et al.* Spatial deconvolution of HER2-positive breast cancer delineates tumor-

- associated cell type interactions[J/OL]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 6012 [2024-01-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34650042/>. DOI: 10.1038/s41467-021-26271-2.
- [27] LIU X T, KOU Z Y, ZHANG H S, *et al.* Somatic mutation profiling, tumor-infiltrating leukocytes, tertiary lymphoid structures and PD-L1 protein expression in HER2-amplified colorectal cancer[J/OL]. *PeerJ*, 2023, 11: e15261[2024-01-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37151285/>. DOI: 10.7717/peerj.15261.
- [28] FREIER C P, KUHN C, ENDRES S, *et al.* FOXP3⁺ cells recruited by CCL22 into breast cancer correlates with less tumor nodal infiltration[J]. *Anticancer Res*, 2016, 36(6): 3139-3145.
- [29] JOSHI N S, AKAMA-GARREN E H, LU Y S, *et al.* Regulatory T cells in tumor-associated tertiary lymphoid structures suppress anti-tumor T cell responses[J]. *Immunity*, 2015, 43(3): 579-590. DOI: 10.1016/j.immuni.2015.08.006.
- [30] GIRALDO N A, BECHT E, PAGÈS F, *et al.* Orchestration and prognostic significance of immune checkpoints in the microenvironment of primary and metastatic renal cell cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(13): 3031-3040. DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-14-2926.
- [31] COLBECK E J, JONES E, HINDLEY J P, *et al.* Treg depletion licenses T cell-driven HEV *Neogenesis* and promotes tumor destruction[J]. *Cancer Immunol Res*, 2017, 5(11): 1005-1015. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-17-0131.
- [32] KENNEDY C L, NAJDOVSKA M, JONES G W, *et al.* The molecular pathogenesis of STAT3-driven gastric tumorigenesis in mice is independent of IL-17[J]. *J Pathol*, 2011, 225(2): 255-264. DOI: 10.1002/path.2933.
- [33] BARONE F, NAYAR S, CAMPOS J, *et al.* IL-22 regulates lymphoid chemokine production and assembly of tertiary lymphoid organs[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(35): 11024-11029. DOI: 10.1073/pnas.1503315112.
- [34] TRUXOVA I, KASIKOVA L, HENSLER M, *et al.* Mature dendritic cells correlate with favorable immune infiltrate and improved prognosis in ovarian carcinoma patients[J/OL]. *J Immunother Cancer*, 2018, 6(1): 139 [2024-01-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30526667/>. DOI: 10.1186/s40425-018-0446-3.
- [35] LI H, ZHU S W, ZHOU J J, *et al.* Tertiary lymphoid structure raises survival and immunotherapy in HPV⁻ HNSCC[J]. *J Dent Res*, 2023, 102(6): 678-688. DOI: 10.1177/00220345231151685.
- [36] HAMADE A, LI D Y, TYRYSHKIN K, *et al.* Sex differences in the aging murine urinary bladder and influence on the tumor immune microenvironment of a carcinogen-induced model of bladder cancer [J/OL]. *Biol Sex Differ*, 2022, 13(1): 19[2024-01-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35505436/>. DOI: 10.1186/s13293-022-00428-0.
- [37] BARMPOUTIS P, DI CAPITE M, KAYHANIAN H, *et al.* Tertiary lymphoid structures (TLS) identification and density assessment on H&E-stained digital slides of lung cancer[J/OL]. *PLoS One*, 2021, 16(9): e0256907[2024-01-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34555057/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0256907.
- [38] WANG J, JIANG D B, ZHENG X Q, *et al.* Tertiary lymphoid structure and decreased CD8⁺ T cell infiltration in minimally invasive adenocarcinoma[J/OL]. *iScience*, 2022, 25(3): 103883[2024-01-12]. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.103883>. DOI: 10.1016/j.isci.2022.103883.
- [39] PETERS A, PITCHER L A, SULLIVAN J M, *et al.* Th17 cells induce ectopic lymphoid follicles in central nervous system tissue inflammation[J]. *Immunity*, 2011, 35(6): 986-996. DOI: 10.1016/j.immuni.2011.10.015.
- [40] CABRITA R, LAUSS M, SANNA A, *et al.* Tertiary lymphoid structures improve immunotherapy and survival in melanoma[J]. *Nature*, 2020, 577(7791): 561-565. DOI: 10.1038/s41586-019-1914-8.
- [41] DIEU-NOSJEAN M C, ANTOINE M, DANIEL C, *et al.* Long-term survival for patients with non-small-cell lung cancer with intratumoral lymphoid structures[J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(27): 4410-4417. DOI: 10.1200/jco.2007.15.0284.
- [42] LEE H J, KIM J Y, PARK I A, *et al.* Prognostic significance of tumor-infiltrating lymphocytes and the tertiary lymphoid structures in HER2-positive breast cancer treated with adjuvant trastuzumab [J]. *Am J Clin Pathol*, 2015, 144(2): 278-288. DOI: 10.1309/AJCPIXUYDVZORZ3G.
- [43] SAVAS P, SALGADO R, DENKERT C, *et al.* Clinical relevance of host immunity in breast cancer: from TILs to the clinic[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2016, 13(4): 228-241. DOI: 10.1038/nrclinonc.2015.215.
- [44] MEIER D, BORNMANN C, CHAPPAZ S, *et al.* Ectopic lymphoid-organ development occurs through interleukin 7-mediated enhanced survival of lymphoid-tissue-inducer cells[J]. *Immunity*, 2007, 26(5): 643-654. DOI: 10.1016/j.immuni.2007.04.009.
- [45] MORI T, TANAKA H, SUZUKI S, *et al.* Tertiary lymphoid structures show infiltration of effective tumor-resident T cells in gastric cancer[J]. *Cancer Sci*, 2021, 112(5): 1746-1757. DOI: 10.1111/cas.14888.
- [46] HILL D G, YU L, GAO H, *et al.* Hyperactive gp130/STAT3-driven gastric tumorigenesis promotes submucosal tertiary lymphoid structure development[J]. *Int J Cancer*, 2018, 143(1): 167-178. DOI: 10.1002/ijc.31298.
- [47] MEYLAN M, PETITPREZ F, BECHT E, *et al.* Tertiary lymphoid structures generate and propagate anti-tumor antibody-producing plasma cells in renal cell cancer[J]. *Immunity*, 2022, 55(3): 527-541. DOI: 10.1016/j.immuni.2022.02.001.
- [48] FRIDMAN W H, PETITPREZ F, MEYLAN M, *et al.* B cells and cancer: to B or not to B? [J/OL]. *J Exp Med*, 2021, 218(1): e20200851 [2024-01-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33601413/>. DOI: 10.1084/jem.20200851.
- [49] KINKER G S, VITIELLO G A F, FERREIRA W A S, *et al.* B cell orchestration of anti-tumor immune responses: a matter of cell localization and communication[J/OL]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 678127 [2024-01-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34164398/>. DOI: 10.3389/fcell.2021.678127.
- [50] NIELSEN J S, NELSON B H. Tumor-infiltrating B cells and T cells: working together to promote patient survival[J]. *Oncoimmunology*, 2012, 1(9): 1623-1625. DOI: 10.4161/onci.21650.
- [51] SHIMIZU K, YAMASAKI S, SHINGA J, *et al.* Systemic DC activation modulates the tumor microenvironment and shapes the long-lived tumor-specific memory mediated by CD8⁺ T cells[J]. *Cancer Res*, 2016, 76(13): 3756-3766. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-3219.
- [52] CHEN L, TAYLOR J L, SABINS N C, *et al.* Extranodal induction of therapeutic immunity in the tumor microenvironment after intratumoral

- delivery of Tbet gene-modified dendritic cells[J]. *Cancer Gene Ther*, 2013, 20(8): 469-477. DOI: 10.1038/cgt.2013.42.
- [53] ZHAO H, WANG H, ZHOU Q R, *et al.* Insights into tertiary lymphoid structures in the solid tumor microenvironment: anti-tumor mechanism, functional regulation, and immunotherapeutic strategies[J]. *Cancer Biol Med*, 2021, 18(4): 981-991. DOI: 10.20892/j.issn.2095-3941.2021.0029.
- [54] COTTRELL T R, THOMPSON E D, FORDE P M, *et al.* Pathologic features of response to neoadjuvant anti-PD-1 in resected non-small-cell lung carcinoma: a proposal for quantitative immune-related pathologic response criteria (irPRC) [J]. *Ann Oncol*, 2018, 29(8): 1853-1860. DOI: 10.1093/annonc/mdl218.
- [55] POSCH F, SILINA K, LEIBL S, *et al.* Maturation of tertiary lymphoid structures and recurrence of stage II and III colorectal cancer[J]. *Oncoimmunology*, 2017, 7(2): e1378844. DOI: 10.1080/2162402X.2017.1378844.
- [56] JACQUELOT N, TELLIER J, SL N, *et al.* Tertiary lymphoid structures and B lymphocytes in cancer prognosis and response to immunotherapies[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2021, 10(1): 1900508 [2024-01-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33854820/>. DOI: 10.1080/2162402X.2021.1900508.
- [57] ONDER L, LUDEWIG B. Redefining the nature of lymphoid tissue organizer cells: response to ‘complexity of lymphoid tissue organizers’ by koning and mebius[J]. *Trends Immunol*, 2018, 39(12): 952-953. DOI: 10.1016/j.it.2018.10.007.
- [58] DRAYTON D L, YING X Y, LEE J, *et al.* Ectopic LT alpha beta directs lymphoid organ neogenesis with concomitant expression of peripheral node addressin and a HEV-restricted sulfotransferase[J]. *J Exp Med*, 2003, 197(9): 1153-1163. DOI: 10.1084/jem.20021761.
- [59] RODRIGUEZ A B, PESKE J D, WOODS A N, *et al.* Immune mechanisms orchestrate tertiary lymphoid structures in tumors via cancer-associated fibroblasts[J/OL]. *Cell Rep*, 2021, 36(3): 109422 [2024-01-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34289373/>. DOI: 10.1016/j.celrep.2021.109422.
- [60] MALDONADO L, TEAGUE J E, MORROW M P, *et al.* Intramuscular therapeutic vaccination targeting HPV16 induces T cell responses that localize in mucosal lesions[J]. *Sci Transl Med*, 2014, 6(221): 221ra13. DOI: 10.1126/scitranslmed.3007323.
- [61] ZHENG L, DING D, EDIL B H, *et al.* Vaccine-induced intratumoral lymphoid aggregates correlate with survival following treatment with a neoadjuvant and adjuvant vaccine in patients with resectable pancreatic adenocarcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(5): 1278-1286. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-20-2974.
- [62] CHEN P L, ROH W, REUBEN A, *et al.* Analysis of immune signatures in longitudinal tumor samples yields insight into biomarkers of response and mechanisms of resistance to immune checkpoint blockade[J]. *Cancer Discov*, 2016, 6(8): 827-837. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-15-1545.
- [63] ACAR E, ESENDAĞLI G, YAZICI O, *et al.* Tumor-infiltrating lymphocytes (TIL), tertiary lymphoid structures (TLS), and expression of PD-1, TIM-3, LAG-3 on TIL in invasive and *in situ* ductal breast carcinomas and their relationship with prognostic factors[J/OL]. *Clin Breast Cancer*, 2022, 22(8): e901-e915 [2024-01-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36089459/>. DOI: 10.1016/j.clbc.2022.08.005.
- [64] ZHU G Y, FALAHAT R, WANG K, *et al.* Tumor-associated tertiary lymphoid structures: gene-expression profiling and their bioengineering [J/OL]. *Front Immunol*, 2017, 8: 767 [2024-01-12]. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00767>. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00767.
- [65] GAJEWSKI T F, WOO S R, ZHA Y Y, *et al.* Cancer immunotherapy strategies based on overcoming barriers within the tumor microenvironment[J]. *Curr Opin Immunol*, 2013, 25(2): 268-276. DOI: 10.1016/j.coi.2013.02.009.
- [66] COPPOLA D, NEBOZHYN M, KHALIL F, *et al.* Unique ectopic lymph node-like structures present in human primary colorectal carcinoma are identified by immune gene array profiling[J]. *Am J Pathol*, 2011, 179(1): 37-45. DOI: 10.1016/j.ajpath.2011.03.007.
- [67] GEURTSVANKESSEL C H, WILLART M A M, BERGEN I M, *et al.* Dendritic cells are crucial for maintenance of tertiary lymphoid structures in the lung of influenza virus-infected mice[J]. *J Exp Med*, 2009, 206(11): 2339-2349. DOI: 10.1084/jem.20090410.
- [68] CALABRESE L H, CALABRESE C, CAPPELLI L C. Rheumatic immune-related adverse events from cancer immunotherapy[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2018, 14(10): 569-579. DOI: 10.1038/s41584-018-0074-9.
- [69] RANDALL T D, CARRAGHER D M, RANGEL-MORENO J. Development of secondary lymphoid organs[J]. *Annu Rev Immunol*, 2008, 26: 627-650. DOI: 10.1146/annurev.immunol.26.021607.090257.
- [70] MEBIUS R E. Organogenesis of lymphoid tissues[J]. *Nat Rev Immunol*, 2003, 3(4): 292-303. DOI: 10.1038/nri1054.

[收稿日期] 2023-08-12

[修回日期] 2024-02-04

[本文编辑] 黄静怡