

肿瘤浸润淋巴细胞预测恶性肿瘤免疫治疗疗效和预后的研究进展

姜凡 胡琴琴 豆立靓 焦剑桥 褚佳慧 李松 刘联

山东大学齐鲁医院肿瘤内科, 济南 250012

通信作者: 刘联, Email: lianliu@sdu.edu.cn

【摘要】 目前, 免疫治疗已成为恶性肿瘤治疗的重要策略, 但精准识别获益患者群体仍是关键。肿瘤浸润淋巴细胞 (TILs) 作为肿瘤微环境 (TME) 的关键免疫细胞群体, 在调控免疫活性中起核心作用。TILs 包括 CD8⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞、B 细胞、自然杀伤 (NK) 细胞等亚群, 它们通过协同或拮抗机制调控抗肿瘤免疫反应。评估 TILs 的方法多样, 传统方法评估精度有限, 人工智能 (AI) 技术的应用有助于提高评估的精准度。TILs 丰度和动态变化与多种肿瘤免疫治疗效果及预后密切相关, 在不同肿瘤分期和治疗背景下展现出差异化的预测价值。联合分析 TILs 与程序性死亡受体配体 1 (PD-L1) 等免疫标志物, 可以进一步提高免疫治疗疗效的预测能力。借助新兴技术深入解析 TILs 功能状态, 并结合治疗前后动态监测, 能够进一步优化其作为恶性肿瘤免疫治疗疗效和预后评估的生物标志物。

【关键词】 恶性肿瘤; 肿瘤浸润淋巴细胞; 免疫应答; 预后预测; 疗效预测; 生物标志物

DOI: 10.13455/j.cnki.cjcor.113494-20250209-0048

Research progress on the value of Tumor-infiltrating lymphocytes in immunotherapy efficacy prediction and cancer prognosis

Jiang Fan, Hu Qinqin, Dou Liliang, Jiao Jianqiao, Chu Jiahui, Li Song, Liu Lian

Department of Medical Oncology, Qilu Hospital of Shandong University, Jinan 250012, China

Corresponding author: Liu Lian, Email: lianliu@sdu.edu.cn

【Abstract】 Although immunotherapy has emerged as a crucial strategy in cancer treatment, the precise identification of the patient subset that can benefit remains critical. Tumor-infiltrating lymphocytes (TILs), as a key immune cell population in the tumor microenvironment, play a central role in modulating immune responses. TILs consist of subsets such as CD8⁺T cells, CD4⁺T cells, B cells, and NK cells, which regulate the anti-tumor immune response through synergistic or antagonistic mechanisms. There are various methods for assessing TILs, and the traditional methods have limited assessment accuracy, and the application of artificial intelligence (AI) technology helps to improve the accuracy of evaluation. The abundance and dynamic changes of TILs are closely associated with the immunotherapy efficacy and prognosis in various cancers, with different predictive values for different tumor stages and treatment strategies. Combined analysis of TILs with immune

markers such as PD-L1 can further enhance the predictive ability of immunotherapy efficacy. The use of emerging technologies for in-depth analysis of the functional state of TILs, along with dynamic monitoring before and after treatment, can further optimize their role as biomarkers for assessing immunotherapy efficacy and prognosis.

【Keywords】 Neoplasms; Tumor-infiltrating lymphocytes; Immunotherapy response; Prognostic prediction; Efficacy prediction; Biomarkers

DOI: 10.13455/j.cnki.cjcor.113494-20250209-0048

近年来,免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors, ICIs)研究取得巨大进展,已成为恶性肿瘤免疫治疗的核心策略。ICIs通过靶向阻断程序性死亡受体1(programmed death 1, PD-1)/程序性死亡配体1(programmed cell death-ligand 1, PD-L1)以及细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4(cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4, CTLA-4)等关键免疫检查点通路,解除肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)中的免疫抑制状态,重新激活T细胞对肿瘤的特异性杀伤功能,从而实现持久的抗肿瘤作用^[1]。TME是由肿瘤细胞、多种免疫细胞、肿瘤相关成纤维细胞、肿瘤血管、细胞外基质等组成的复杂的局部环境。其中,肿瘤浸润淋巴细胞(tumor-infiltrating lymphocytes, TILs)是指TME中由免疫系统招募并浸润到肿瘤组织中的淋巴细胞群体,包括CD8⁺T细胞、CD4⁺T细胞、自然杀伤(natural killer cell, NK)细胞、B细胞等^[2]。这些细胞群体通过直接或间接途径调节TME的免疫活性,决定肿瘤促进或抑制过程^[2]。研究表明,免疫治疗的效果并非取决于单一亚型的淋巴细胞,而是由多个淋巴细胞亚群在TME中的位置、密度、相互作用以及共刺激信号的综合作用所决定^[3]。因此,深入研究TILs及其与TME中其他细胞类型相互作用,揭示其复杂的组成、作用机制和影响因素,对肿瘤疗效预测、预后评估有重要意义。

一、TILs在TME中的作用

在肿瘤免疫过程中,TILs通过协同或拮

抗机制调控抗肿瘤效应。CD8⁺T细胞,尤其是细胞毒性T细胞(cytotoxic T lymphocytes, CTLs)可通过颗粒酶、Fas/FasL等途径对肿瘤细胞施加细胞毒性压力,发挥关键作用^[2]。CD4⁺T细胞中的辅助性T细胞1(T-helper 1 cells, Th1)可增强CTLs活性^[4],辅助性T细胞2(T-helper 2 cells, Th2)的作用因环境而异^[4-5],而调节性T细胞(regulatory T cells, Tregs)通过抑制CTLs和NK细胞功能导致免疫逃逸^[2]。NK细胞和B细胞则分别通过直接杀伤肿瘤和调节免疫反应,参与抗肿瘤免疫^[2]。这些TILs亚群的功能与其表面标志物密切相关,TILs的标志物不仅用于识别TILs的亚群,还能揭示其在TME中的作用和状态(表1)。

二、TILs的评估方法

目前,评估TILs有多种方法和技术,包括HE染色、免疫组化染色、常规转录组测序等,各有优缺点。选择TILs检测方法时,需要根据研究目标、实验条件及技术限制进行综合考量(表2)。

三、TILs对肿瘤免疫治疗疗效及预后的预测价值

肿瘤免疫治疗通过激活自身免疫系统来杀伤肿瘤细胞,TILs在发挥抗肿瘤作用的同时也被视为预测免疫治疗疗效的生物标志物。KEYNOTE-086研究对转移性三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)患者进行帕博利珠单抗单药治疗,其探索性分析结果表明,基线状态下TILs的浸润丰度与帕博利珠单抗治疗的客观缓解率(objective

表1 TILs及其常用标志物

细胞类型	主要标志物	表达主要标志物的其他细胞	其他标志物
T细胞	CD3	无	CD5、CD2、CD7
CTLs	CD8	NK细胞	CD3、CD5、CD2、CD7、穿孔素、颗粒酶B
Th1	CD4	Th2、Tregs、Th17、巨噬细胞	CD3、CD5、CD2、CD7、T-bet
Tregs	FOXP3	某些CD8 ⁺ 细胞和某些肿瘤细胞	CD3、CD4、CD25、CTLA-4、PD-1
记忆T细胞	CD45RO	髓系细胞、巨噬细胞、某些活化的B细胞	CD3、CD4、CD8
B细胞	CD20	无	CD79a、PAX-5
浆细胞	CD138	某些上皮组织和恶性肿瘤细胞	CD79a
NK细胞	CD56	某些活化的CD4 ⁺ 和CD8 ⁺ T细胞	CD2、CD7、CD8、CD57、穿孔素、颗粒酶B

注：TILs：肿瘤浸润淋巴细胞；CTLs：细胞毒性T细胞；Th1：辅助性T细胞1；Tregs：调节性T细胞；NK：自然杀伤；T-bet：T盒转录因子；PD-1：程序性死亡受体1；CTLA-4：细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4；PAX-5：配对盒蛋白5

表2 TILs常用的评估方法及其优缺点

评估方法	原理	优势	劣势
HE染色	基于苏木精和伊红两种染料的酸碱属性差异，使得细胞核与细胞质及基质部分在显微镜下呈现不同颜色	成本低、快速评估、适用性强	主观性强与重复性、半定量限制、无法提供深入的生物标志物信息
免疫组化或免疫荧光	特异性抗体检测特定蛋白	特异性强、敏感度高、可视化	主观判定差异、相对定量、标记靶标数量限制、染色的非特异性
多重免疫组化或免疫荧光	特异性抗体检测特定蛋白，抗体通过不同的酶标记或荧光标记来发出信号，从而在单一的组织切片上实现多目标的同时检测	多参数分析、高分辨率和精确定量、提供空间信息	技术复杂、成本高、样本处理困难、数据解析的复杂性
批量RNA测序	对细胞群体进行整体的RNA提取和测序	高效性与经济性、全面性，是成熟的数据分析工具	缺乏单细胞分辨率、空间信息缺失
单细胞RNA测序	单个细胞分离RNA，随后构建cDNA文库并进行高通量测序，解析每个单独细胞的详细基因表达谱	高分辨率，可揭示细胞功能状态，适用于复杂样本	成本和技术要求高、数据处理复杂、空间信息缺失
空间转录组学	结合基因表达信息和组织形态学，在细胞层面上详细描绘基因表达的空间分布	高空间分辨率、全面的细胞表型和功能状态	技术复杂性和高成本、数据处理和解析的挑战、样本制备的敏感性
T细胞受体测序	利用下一代测序技术对T细胞受体的多样性和克隆性进行高通量分析	高度的特异性和精确性、揭示T细胞多样性和克隆动态、潜在的生物标记和治疗靶标	技术和资源要求高、数据处理和解析的复杂性、样本质量对结果的影响、克隆估计的偏差

续表2

评估方法	原理	优势	劣势
流式细胞术	通过单克隆抗体对单个细胞进行多参数、快速的定量分析	高度精确的细胞分选、快速多参数分析、自动化和标准化	对样本质量的高要求、空间信息的缺失、操作复杂性
组织微阵列技术	对悬浮于流体中的微小颗粒进行计数和分选	大规模、高通量、标准化	制片方法繁杂、检测设备昂贵
人工智能	深度学习模型进行识别	自动化精准评估、减少染色和其他人为操作对结果的影响	构建复杂

response rate, ORR)和总生存时间(overall survival, OS)呈正相关,PD-L1的表达水平无关^[6]。在晚期非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)患者的一项真实世界队列研究中,纳武利尤单抗治疗组中高浸润的TILs与更好的无进展生存时间(progression free survival, PFS)和OS密切相关^[7]。相反,缺乏TILs的肿瘤(如胰腺癌)通常ICIs疗效较差。通过诱导炎性反应或细胞凋亡等手段增加TILs浸润,有望将“冷”肿瘤转化为“热”肿瘤,从而提高ICIs疗效。

TILs在免疫治疗中的动态变化同样具有重要临床意义。一项前瞻性Ⅱ期临床研究评估了抗CTLA-4单抗治疗在不可切除Ⅲ~Ⅳ期黑色素瘤患者中的疗效以及与TME生物标志物的相关性。结果显示,治疗2个周期后,TILs水平的升高与患者的临床获益显著相关,而基线TILs水平则未展现出预测价值^[8]。此外,在早期高危TNBC患者化疗联合帕博利珠单抗新辅助治疗的KEYNOTE-173研究中,治疗前和治疗中的TILs与较高的病理完全缓解率显著相关^[9]。这些数据表明,基线状态下TILs丰度无法全面预测免疫疗效,进行治疗前和治疗中TILs动态变化评估更能提高预测效力。

TILs在多项研究中也展示出独特的肿瘤预后价值。在恶性黑色素瘤^[10]、NSCLC^[11]、胃癌^[12]、结直肠癌^[13]、TNBC和人表皮生长因

子受体2(human epidermal growth factor receptor-2, HER-2)过表达型乳腺癌^[14]等多种肿瘤中,高密度TILs与患者更好的生存密切相关。此外,TILs对预后的预测作用与肿瘤分期密切相关。早期肿瘤中的TILs通常表现出较强的抗肿瘤活性,并与更好的生存预期相关。一项针对NSCLC患者接受新辅助化疗的研究显示,切除组织中TILs数量(尤其是CD8⁺T细胞)与更长的PFS、OS呈显著正相关^[15]。另一项基于乳腺癌患者接受新辅助治疗的回顾性研究表明,残留肿瘤负担和TILs的组合是接受新辅助化疗后乳腺癌复发的重要预测指标,且可能优于单独的TILs数量评估^[16]。相较于早期肿瘤,晚期肿瘤中TME的抑制性和耗竭性特征可能削弱了TILs的预后价值,研究结果存在差异。一项基于晚期实体瘤患者抗PD-1/PD-L1治疗的前瞻性研究显示,TILs数量与PFS和OS均无显著相关性^[17]。然而,在接受帕博利珠单抗姑息治疗的晚期或转移性NSCLC患者中,CD4⁺TIL被确认为PFS的重要预测因子,肿瘤内CD8⁺TIL数量则与OS呈显著正相关^[18]。因此,TILs在肿瘤不同阶段和治疗背景下表现出多样的预测价值,特别是在晚期肿瘤中,细化分析TILs亚群有助于优化其作为治疗反应预测标志物的应用潜力。最后,不同研究间TILs阈值设定的差异也可能影响其预测效能。在两项针对晚期HER-2阳性乳腺癌的

研究(CLEOPATRA 和 MA.31)中,TILs对化疗联合抗HER-2治疗的疗效预测价值不一致,可能的原因是采用了不同TILs截断值^[19-20]。

综上所述,TILs在肿瘤预后预测中具有潜在价值,但目前数据多为探索性结果,且TILs尚未被纳入随机临床试验的分层因素,仍需更多独立的前瞻性研究验证其临床应用价值。在研究设计中,也应综合考虑不同肿瘤类型及其进展阶段的差异,深入探讨TILs的功能及其与TME的相互作用,并确定各种肿瘤的最佳TILs截断值,以提高其临床疗效预测能力。

四、TILs亚群对肿瘤免疫治疗疗效及预后的预测价值

目前,TILs已被证实在预测免疫治疗反应和预后方面显示出显著潜力。随着研究的深入,不同的TILs亚群进一步展现出各自独特的预测价值。

(一)CD8⁺T细胞

CD8⁺T细胞是广受关注的TILs细胞亚群,在肿瘤免疫中发挥核心作用,既是免疫治疗疗效预测的重要指标,也是与多种恶性肿瘤预后密切相关的关键因素。癌症基因组图谱(the Cancer Genome Atlas,TCGA)多组学数据和21种恶性肿瘤治疗数据分析显示,在36个变量中,CD8⁺T细胞丰度与跨癌种的PD-1/PD-L1治疗反应相关性最高($r=0.72$, $P<0.001$),因此被视为是抗PD-1/PD-L1治疗的关键预测指标^[21]。此外,Bruni等^[22]对17种实体瘤免疫细胞综合分析,进一步证实CD8⁺T细胞是最具预后预测能力的TILs亚群。

然而,CD8⁺T细胞的高浸润并非预示着所有肿瘤中的良好疗效。在肾透明细胞癌和前列腺癌中,高密度的CD8⁺T细胞与较差的预后相关,且与抗PD-1疗效无显著相关性^[23-24]。这可能与这些肿瘤的免疫抑制性微环境以及CD8⁺T细胞功能耗竭有关。特别是

在前列腺癌中,慢性炎症可能导致免疫反应降低,从而进一步削弱CD8⁺T细胞的杀伤功能^[25]。因此,评估CD8⁺T细胞的功能状态至关重要。

结合T细胞功能检测相关的标志物分析能更准确地反映CD8⁺T细胞的功能状态及TME的复杂性。其中,CD103阳性的组织驻留记忆T细胞(tissue resident memory T cell, TRM)在食管癌、胃癌、乳腺癌、肺癌及黑色素瘤等多种实体瘤中与良好预后密切相关,其预后价值甚至超越传统的CD8⁺TILs^[26-27]。针对乳腺癌T细胞进行的单细胞RNA测序进一步证实TRM有助于肿瘤免疫监视,并且是ICIs调节的关键靶标^[28]。在接受抗PD-1/PD-L1治疗的NSCLC队列中,CD8⁺CD103⁺TRM细胞数量的增加与ICIs治疗应答有关^[29]。此外,表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)突变的NSCLC患者的CD103⁺CD8⁺T细胞比例显著降低,这可能部分解释了其对PD-1抑制剂响应较差的原因^[30]。因此,基于TRM样细胞比例的评估在作为预后标志物的同时,或许能够为EGFR突变患者提供新的治疗策略。

除了CD103外,另一重要标志物CD39在CD8⁺T细胞中也具有关键意义。表达CD39的CD8⁺T细胞富含克隆性增殖淋巴细胞群的特征,表达颗粒酶B等细胞毒性标志物,且具有耗竭及活化特征^[31]。一项对440例肺癌样本的流式细胞分析结果显示,CD39⁺CD8⁺T细胞的较高基线比例与ICIs治疗的良好临床结果相关^[31]。然而,在小细胞肺癌(small cell lung cancer, SCLC)中,CD39高表达的CD8⁺T细胞却与疾病进展和较差的生存率相关^[32]。

综上所述,虽然CD8⁺T细胞是研究最多、最被认可的免疫治疗疗效指标,但单纯依赖其数量并不足以全面预测免疫治疗疗效及肿

瘤预后,多种功能标志物的联合评估可为个体化免疫治疗提供更可靠的依据。

(二)CD4⁺T细胞及其亚群

1. CD4⁺T细胞

CD4⁺T细胞浸润在黑色素瘤以及NSCLC等肿瘤中被认为与良好的预后相关^[10-11]。Jia等^[33]在接受新辅助化疗的NSCLC患者的研究中对治疗前后TME的预后价值进行了比较,结果显示,治疗后CD4⁺TIL水平升高是NSCLC患者的独立预后因素,且治疗重塑后的TME的预后价值优于基线。值得注意的是,CD4⁺T细胞在不同的细胞因子环境中,可分化为如Th1、Th2、Th9、Th17、Tregs等效应细胞。它们通过分泌不同的细胞因子来激活和调节免疫反应,其对肿瘤预后的影响也因功能的差异而有所不同^[34],因此,进一步细化CD4⁺T细胞亚群有助于更好地理解其在肿瘤治疗疗效及预后预测中的价值。

2.Th1、Th2和Th17细胞

与CD8⁺T细胞类似,Th1细胞及其产生的细胞因子[如干扰素 γ (interferon γ , IFN- γ)]在乳腺癌、食管癌、结直肠癌等肿瘤中与良好预后密切相关^[35-36]。然而,在NSCLC中,高水平的Th1细胞可能与术后生存率降低相关^[22]。与Th1细胞相比,Th2和Th17细胞的预后价值研究较为有限,部分原因是它们在许多肿瘤中的出现频率较低且识别技术较为复杂。Th2细胞与侵袭性肿瘤的恶性特征相关。一项研究分析了69例接受手术切除的I B~III期胰腺癌患者的肿瘤样本,结果显示,肿瘤基质中存在的Th2细胞与疾病进展相关,Th2/Th1比值被确定为患者生存的独立预后因素^[37]。关于Th17细胞的预后作用,研究结果存在争议。有研究显示,Th17细胞的高浸润与胃癌、食管癌和卵巢癌患者的生存率提高相关,但在结直肠癌、NSCLC中却与较差的预后相关^[22]。这种差异可能部分归因于Th17细胞的识别不够准确,依赖IL-17

水平来评估Th17细胞的预后价值可能存在偏差^[22]。

3. Tregs

Tregs以关键转录因子叉头框蛋白P3(forkhead box protein P3, FoxP3)的表达为特征,在肿瘤发病机制中具有双重作用,其预后价值也因肿瘤类型不同而呈现明显差异。其中,Tregs与NSCLC、黑色素瘤、乳腺癌、肾癌等肿瘤的不良预后相关^[11, 38];而在头颈鳞状细胞癌、膀胱癌中则往往提示较好的预后^[39-40];在结直肠癌中的预后价值尚有争议。Saito等^[41]将直肠癌中的Tregs细分为FoxP3高表达的经典抑制性Tregs和FoxP3低表达的非经典非抑制性Tregs,发现前者与较差预后显著相关,而后者与更好预后相关,表明Tregs在表型和功能上的异质性可能是其预后作用有差异的原因。除了Treg传统分群外,近期研究还聚焦于Treg的增殖状态,特别是Ki67⁺增殖性Treg在肿瘤免疫中的作用。在CONTINUUM和DIPPER两项III期临床试验中,验证了Ki67⁺增殖性Treg在预测局部晚期鼻咽癌患者对标准治疗联合抗PD-1治疗反应中的作用,结果表明,Ki67⁺增殖性Tregs在肿瘤中的数量与TME中的免疫抑制状态有关,其高表达与ICIs疗效的降低相关,提示其作为新的免疫治疗标志物的潜力^[42]。Tregs的空间分布也显著影响其预后价值。Galon等^[3]研究显示,在结直肠癌中,位于肿瘤间质中的Tregs与更好的预后相关,而分布于肿瘤巢和浸润边缘的Tregs则与预后不佳相关。这些差异可能源于Tregs在不同TME区域中功能差异有关:间质中的Tregs通过抑制Th17细胞介导的炎症性抗微生物反应,间接抑制肿瘤生长;而位于肿瘤巢和边缘的Tregs则直接抑制效应T细胞的抗肿瘤免疫反应,从而促进肿瘤进展^[43]。此外,Treg的免疫抑制功能可能依赖于其与效应细胞的直接相互作用。Christian等^[44]分析了接受手术切除

的Ⅰ~Ⅲ期结直肠癌患者的肿瘤样本,发现Tregs与CD8⁺T细胞之间的空间距离是无病生存时间(disease-free survival, DFS)的独立预测因子。这一现象在鼻咽癌中也得到了验证^[45]。因此,Tregs的预后价值不仅依赖于其数量和抗原表达,还需结合其在TME中的空间分布及其与效应T细胞的相互作用。

(三)B细胞

肿瘤浸润B细胞(tumor-infiltrating B cells, TIBs)在肿瘤中作用复杂,既可抑制肿瘤生长,又能促进其进展及免疫逃逸。有研究表明,TIBs可作为免疫治疗反应的潜在标志物。在一项针对ⅢA期NSCLC患者接受帕博利珠单抗联合化疗新辅助治疗的研究结果显示,获得主要病理缓解的肿瘤样本中B细胞显著富集,提示B细胞可能在新辅助帕博利珠单抗治疗的抗肿瘤反应中发挥关键作用^[46]。此外,Cabrita等^[47]的研究表明,在接受抗或抗PD-1治疗的转移性黑色素瘤患者中,治疗前肿瘤中存在B细胞淋巴结构时,患者对免疫治疗反应更佳。

除了作为免疫治疗生物标志物,TIBs还与多种肿瘤的预后密切相关。在乳腺癌、胃癌、肝细胞癌、卵巢癌等恶性肿瘤中,TIBs与预后良好相关^[48]。在NSCLC中,尽管TIBs随肿瘤分期增加而减少,但其正向的预后影响仍在各阶段存在^[49]。值得注意的是,B细胞在肺腺癌中浸润水平较高,在SCLC中浸润水平较低,这可能是TIBs在SCLC中的预后价值较低的原因^[49]。

另一方面,作为TIBs的重要亚群,调节性B细胞(regulatory B cells, Bregs)则表现出显著的免疫抑制作用,Bregs通过分泌白细胞介素10(interleukin 10, IL-10)、转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)等细胞因子,或上调PD-L1和CTLA-4等免疫调节分子,抑制T细胞和NK细胞的抗肿瘤反应,从而增强肿瘤的免疫逃逸能力^[49]。目

前,关于Bregs的免疫疗效预测及预后价值的研究尚不充分,有待进一步探索。针对TIB功能亚群的深入研究有助于提高TIBs其疗效及预后预测的潜力。

(四)NK细胞

NK细胞通过与肿瘤细胞和其他免疫细胞的相互作用控制肿瘤生长。尽管TME中的NK细胞数量少于T细胞和B细胞,且浸润度随着疾病进展而下降^[50],但仍然与预后良好密切相关。一项荟萃分析显示,NK细胞浸润在乳腺癌、结直肠癌、头颈部肿瘤等实体瘤中与较好的OS相关^[51]。NK细胞的数量和空间分布同样提供了额外的预后信息。有研究显示,上皮内浸润比肿瘤邻近基质中的NK细胞浸润更能预测OS^[51],NK细胞在侵袭边缘与肿瘤中心的比例或许能够提供治疗反应的早期预示^[52]。这些研究凸显了NK细胞在肿瘤免疫中的关键角色,并为临床治疗提供了新的视角。

五、TILs与PD-L1等免疫标志物的联合分析

目前,PD-L1已获美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准作为治疗的生物标志物,尽管其表达与肿瘤应答率相关,但作为单一预测标志物的效果有限。此外,PD-L1的表达与TILs密切相关,其中CD8⁺T细胞通过分泌IFN- γ 诱导肿瘤及其微环境中PD-L1的上调,导致适应性免疫抗性,并促进免疫逃逸;与此同时,PD-1/PD-L1通路进一步抑制T细胞的功能,从而限制抗肿瘤免疫反应^[53]。因此,联合分析PD-L1表达与TILs的策略在预测ICIs疗效方面可能会显示出更大的潜力。

Teng等^[54]根据TILs的存在与否和PD-L1的表达将TME分为Ⅰ型(PD-L1⁺、TIL⁺)、Ⅱ型(PD-L1⁻、TIL⁻)、Ⅲ型(PD-L1⁺、TIL⁻)和Ⅳ型(PD-L1⁻、TIL⁺),以上分型已应用于多种实体瘤(如黑色素瘤、NSCLC、乳腺

癌等)^[54]。其中, I型患者因TILs提供了充足的免疫激活环境,最可能从ICIs中获益。在黑色素瘤和NSCLC中, I型患者的ORR和PFS显著优于III型^[54-55]。相较之下, II型(PD-L1-, TIL-)患者被认为属于免疫忽视型,预后较差,且对免疫单药治疗效果有限^[54],可能需联合放疗、化疗或粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子等疗法来增强抗原呈递并激活免疫反应^[54]。III型患者的先天性免疫抵抗导致PD-1/PD-L1阻断疗法难以有效激发T细胞反应,可能需要采用疫苗或放疗等策略来诱导抗原释放^[54]。对于IV型患者,治疗策略则需根据TILs和肿瘤的特征制定,如携带JAK1/2突变的肿瘤对PD-1阻断可能产生抗性,需采用其他检查点抑制剂或非免疫疗法来发挥抗肿瘤效果^[54]。

此外,TILs的空间分布数量,尤其是免疫评分,已在结直肠癌的免疫预后评估中得到广泛应用,显示出极高的预后价值,甚至在某些情况下可以协助或替代传统的TNM分期^[3, 56]。除PD-L1和免疫评分外,肿瘤突变负荷、肠道微生物群、HLA、INF- γ 等因素也可能影响免疫治疗效果^[57]。但尚需进一步研究来优化这些生物标志物的联合应用。

六、总结与展望

TILs作为TME的重要组成部分,在肿瘤免疫治疗中的临床价值备受关注。随着ICIs等免疫疗法的发展,TILs的数量、分布及亚群特征已被确立为预测疗效和预后的关键生物标志物。有研究表明,TILs不仅能够反映TME的免疫状态,还与多种实体瘤的治疗反应和生存预后密切相关。CD8⁺T细胞是预测患者预后的核心指标且与ICIs应答高度相关;CD4⁺T细胞影响预后,但细胞亚群分析有待细化;TIBs通常与良好预后相关,但Bregs可促进肿瘤进展;NK细胞预示良好预后,且其空间分布可为疗效评估提供额外信息(表3)。

然而,TILs的临床应用仍面临挑战。首

先,TILs的高度异质性导致其作为单一标志物的普适性受限。例如,局部活检可能因无法反映TME整体免疫景观而产生偏差,而TILs的动态变化受肿瘤分期、免疫状态及治疗史等多因素干扰。其次,不同研究对TILs的定义阈值、评分标准及功能状态评估存在差异,阻碍了结果的临床可比性。此外,TILs亚群的功能多样性(如CD8⁺T细胞中效应型与耗竭型亚群共存)需结合单细胞测序等高分辨率技术深入解析。

未来研究需要关注TILs的动态变化及其与治疗疗效的关系。相较于基线水平,治疗过程中TILs的动态变化更能反映TME的重塑特性及治疗敏感性。因此,针对治疗前后不同时间点的TILs分析,不仅有助于揭示TME的动态变化,还能够评估肿瘤对免疫治疗的即时反应和潜在的长期免疫记忆效应,从而为治疗策略的调整和疗效预测提供依据。此外,TME的复杂性决定了仅凭TILs难以全面预测肿瘤患者对免疫治疗的反应。将TILs与其他生物标志物进行联合分析,构建综合免疫评分体系,可进一步提高疗效预测的准确性。最后,空间转录组学、单细胞测序和人工智能等新兴技术的应用,为解析TILs的空间分布和功能状态提供了更高的准确性。

总之,TILs在免疫治疗反应及预后预测中的潜力已初步得到验证,但实现TILs的全临床转化仍需更多前瞻性研究支持。通过多学科协作与技术创新,有望进一步揭示TILs在肿瘤免疫中的作用机制,筛选免疫优势患者,优化治疗效果并提高生存率。

利益冲突 所有作者均声明无利益冲突

参 考 文 献

- [1] 王洁,赫捷,国家肿瘤质控中心肺癌质控专家委员会,等. 中国肺癌免疫治疗规范化应用指南(2024版)[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2024, 31(11): 659-700. DOI:

表3 免疫治疗中TILs及其疗效预测

肿瘤类型	免疫治疗药物	TILs类别	TILs分析方法	TILs与生存
转移性三阴性乳腺癌 ^[6]	帕博利珠单抗	基质TIL、CD8 ⁺ 细胞	免疫组化	高基质TIL与ORR ($P=0.012$)、OS ($P=0.004$) 获益显著相关；CD8 ⁺ 细胞与ORR ($P<0.001$)、PFS ($P<0.001$)、OS ($P<0.001$) 获益显著相关
晚期非小细胞肺癌 ^[7]	纳武利尤单抗	基质TIL	HE染色	高TIL与OS ($HR=0.48$, 95%CI: 0.28~0.81) 和PFS ($HR=0.40$, 95%CI: 0.25~0.64) 获益显著相关
晚期黑色素瘤 ^[8]	伊匹木单抗	TIL、CD4、CD45RO、CD8、FoxP3	HE染色、免疫组化	基线TIL与临床获益之间无显著关联，但治疗后TIL的增加与临床获益显著相关 ($P=0.005$)；FoxP3与临床获益显著相关 ($P=0.014$)；而CD4、CD45RO、CD8与临床获益无显著关联
肺癌 ^[31]	抗PD-1/PD-L1、CTLA-4治疗	CD39 ⁺ CD8 ⁺ T细胞	流式细胞术	基线瘤内CD39 ⁺ CD8 ⁺ T细胞与PFS获益相关 ($P=0.0219$)
非小细胞肺癌 ^[29]	抗PD-1/PD-L1治疗	CD8 ⁺ T细胞、CD103 ⁺ CD8 ⁺ 组织驻留记忆T细胞	多重免疫荧光	高CD8 ⁺ T肿瘤浸润与更高的生存率显著相关 ($HR=0.40$, 95%CI: 0.20~0.77, $P=0.006$)；CD103 ⁺ CD8 ⁺ 细胞与预后显著相关 ($HR=0.39$, 95%CI: 0.18~0.85, $P=0.01$)
局部晚期鼻咽癌 ^[42]	抗PD-1治疗	Ki67 ⁺ Tregs	多重免疫组化	低Ki67 ⁺ Tregs患者中，PD1治疗显著改善了无事件生存时间 ($HR=0.22$, 95%CI: 0.06~0.79, $P=0.011$)；而高Ki67 ⁺ Tregs患者中，免疫治疗未显著改善无事件生存时间 ($HR=0.99$, 95%CI: 0.48~2.02, $P=0.97$)

注：TILs：肿瘤浸润淋巴细胞；ORR：客观缓解率；OS：总生存时间；PFS：无进展生存时间；FoxP3：叉头框蛋白P3；HR：风险比；PD-1：程序性死亡受体1；CTLA-4：细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4；Tregs：调节性T细胞

10.13455/j.cnki.cjcor.113494-2024-2024-0207.

[2] Paijens ST, Vledder A, de Bruyn M, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes in the immunotherapy era [J]. Cell Mol Immunol, 2021, 18 (4) : 842-859. DOI: 10.1038/s41423-020-00565-9.

[3] Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, et al. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome [J]. Science, 2006, 313 (5795) : 1960-1964. DOI: 10.1126/science.1129139.

[4] Gao S, Hsu TW, Li MO. Immunity beyond cancer cells: perspective from tumor tissue [J]. Trends Cancer, 2021, 7 (11): 1010-1019. DOI: 10.1016/j.trecan.2021.06.007.

[5] 张筠笛, 王志杰, 徐佳晨. 单细胞测序技术在肺癌免疫治疗中的应用 [J]. 中国肿瘤临床与康复, 2024, 31 (6): 333-342. DOI: 10.13455/j.cnki.cjcor.113494-2024-2024-0128.

[6] Loi S, Salgado R, Schmid P, et al. Association between biomarkers and clinical outcomes of Pembrolizumab monotherapy in patients with metastatic triple-negative breast cancer: KEYNOTE-086 exploratory analysis [J]. JCO Precis Oncol, 2023, 7: e2200317. DOI: 10.1200/PO.22.00317.

[7] Gataa I, Mezquita L, Rossoni C, et al. Tumour-infiltrating lymphocyte density is associated with favourable outcome in patients with advanced non-small cell lung cancer treated with immunotherapy [J]. Eur J Cancer, 2021, 145: 221-229. DOI: 10.1016/j.ejca. 2020. 10.017.

[8] Hamid O, Schmidt H, Nissan A, et al. A prospective phase II trial exploring the association between tumor microenvironment biomarkers and clinical activity of

- ipilimumab in advanced melanoma [J]. *J Transl Med*, 2011, 9:204. DOI:10.1186/1479-5876-9-204.
- [9] Schmid P, Salgado R, Park YH, et al. Pembrolizumab plus chemotherapy as neoadjuvant treatment of high-risk, early-stage triple-negative breast cancer: results from the phase 1b open-label, multicohort KEYNOTE-173 study [J]. *Ann Oncol*, 2020, 31(5):569-581. DOI:10.1016/j.annonc.2020.01.072.
- [10] Fu Q, Chen N, Ge C, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in melanoma: a systematic review and meta-analysis [J]. *Oncoimmunology*, 2019, 8(7):1593806. DOI:10.1080/2162402X.2019.1593806.
- [11] Yan Q, Li S, He L, et al. Prognostic implications of tumor-infiltrating lymphocytes in non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis [J]. *Front Immunol*, 2024, 15:1476365. DOI:10.3389/fimmu.2024.1476365.
- [12] Zhang N, Cao M, Duan Y, et al. Prognostic role of tumor-infiltrating lymphocytes in gastric cancer: a meta-analysis and experimental validation [J]. *Arch Med Sci*, 2020, 16(5):1092-1103. DOI:10.5114/aoms.2019.86101.
- [13] Liu A, Li X, Wu H, et al. Prognostic significance of tumor-infiltrating lymphocytes determined using LinkNet on colorectal cancer pathology images [J]. *JCO Precis Oncol*, 2023, 7:e2200522. DOI:10.1200/PO.22.00522.
- [14] Loi S, Michiels S, Adams S, et al. The journey of tumor-infiltrating lymphocytes as a biomarker in breast cancer: clinical utility in an era of checkpoint inhibition [J]. *Ann Oncol*, 2021, 32(10):1236-1244. DOI:10.1016/j.annonc.2021.07.007.
- [15] Zens P, Bello C, Scherz A, et al. The effect of neoadjuvant therapy on PD-L1 expression and CD8⁺ lymphocyte density in non-small cell lung cancer [J]. *Mod Pathol*, 2022, 35(12):1848-1859. DOI:10.1038/s41379-022-01139-y.
- [16] Asano Y, Kashiwagi S, Goto W, et al. Prediction of survival after neoadjuvant chemotherapy for breast cancer by evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes and residual cancer burden [J]. *BMC Cancer*, 2017, 17(1):888. DOI:10.1186/s12885-017-3927-8.
- [17] García-Corbacho J, Indacochea A, González Navarro AE, et al. Determinants of activity and efficacy of anti-PD1/PD-L1 therapy in patients with advanced solid tumors recruited in a clinical trials unit: a longitudinal prospective biomarker-based study [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2023, 72(6):1709-1723. DOI:10.1007/s00262-022-03360-9.
- [18] Kaira K, Yamaguchi O, Kawasaki T, et al. Prognostic significance of tumor infiltrating lymphocytes on first-line pembrolizumab efficacy in advanced non-small cell lung cancer [J]. *Discov Oncol*, 2023, 14(1):6. DOI:10.1007/s12672-023-00615-4.
- [19] Luen SJ, Salgado R, Fox S, et al. Tumour-infiltrating lymphocytes in advanced HER2-positive breast cancer treated with pertuzumab or placebo in addition to trastuzumab and docetaxel: a retrospective analysis of the CLEOPATRA study [J]. *Lancet Oncol*, 2017, 18(1):52-62. DOI:10.1016/S1470-2045(16)30631-3.
- [20] Liu S, Chen B, Burugu S, et al. Role of cytotoxic tumor-infiltrating lymphocytes in predicting outcomes in metastatic HER2-positive breast cancer: a secondary analysis of a randomized clinical trial [J]. *JAMA Oncol*, 2017, 3(11):e172085. DOI:10.1001/jamaoncol.2017.2085.
- [21] Lee JS, Ruppin E. Multiomics prediction of response rates to therapies to inhibit programmed cell death 1 and programmed cell death 1 ligand 1 [J]. *JAMA Oncol*, 2019, 5(11):1614-1618. DOI:10.1001/jamaoncol.2019.2311.
- [22] Bruni D, Angell HK, Galon J. The immune contexture and Immunoscore in cancer prognosis and therapeutic efficacy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2020, 20(11):662-680. DOI:10.1038/s41568-020-0285-7.
- [23] Giraldo NA, 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.
- [24] Petitprez F, Fossati N, Vano Y, et al. PD-L1 expression and CD8(+) T-cell infiltrate are associated with clinical progression in patients with node-positive prostate cancer [J]. *Eur Urol Focus*, 2019, 5(2):192-196. DOI:10.1016/j.euf.2017.05.013.
- [25] Mulvey A, Muggeo-Bertin E, Berthold DR, et al. Overcoming immune resistance with radiation therapy in prostate cancer [J]. *Front Immunol*, 2022, 13:859785. DOI:10.3389/fimmu.2022.859785.
- [26] Edwards J, Wilmott JS, Madore J, et al. CD103(+) tumor-resident CD8(+) T Cells are associated with

- improved survival in immunotherapy-naïve melanoma patients and expand significantly during anti-PD-1 treatment [J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24 (13) : 3036–3045. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-17-2257.
- [27] Damei I, Trickovic T, Mami-Chouaib F, et al. Tumor-resident memory T cells as a biomarker of the response to cancer immunotherapy [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1205984. DOI:10.3389/fimmu.2023.1205984.
- [28] Savas P, Virassamy B, Ye C, et al. Single-cell profiling of breast cancer T cells reveals a tissue-resident memory subset associated with improved prognosis [J]. *Nat Med*, 2018, 24 (7) : 986–993. DOI: 10.1038/s41591-018-0078-7.
- [29] Corgnac S, Malenica I, Mezquita L, et al. CD103(+)CD8(+) T(RM) cells accumulate in tumors of anti-PD-1-responder lung cancer patients and are tumor-reactive lymphocytes enriched with Tc17 [J]. *Cell Rep Med*, 2020, 1(7):100127. DOI:10.1016/j.xcrm.2020.100127.
- [30] Cho JW, Park S, Kim G, et al. Dysregulation of T(FH)-B-T (RM) lymphocyte cooperation is associated with unfavorable anti-PD-1 responses in EGFR-mutant lung cancer [J]. *Nat Commun*, 2021, 12 (1) : 6068. DOI: 10.1038/s41467-021-26362-0.
- [31] Chow A, Uddin FZ, Liu M, et al. The ectonucleotidase CD39 identifies tumor-reactive CD8(+) T cells predictive of immune checkpoint blockade efficacy in human lung cancer [J]. *Immunity*, 2023, 56 (1) : 93–106. e6. DOI: 10.1016/j.immuni.2022.12.001.
- [32] Chen S, Wu S, Zhang L, et al. CD39: the potential target in small cell lung cancer [J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2020, 9(4):1483–1495. DOI:10.21037/tlcr-20-798.
- [33] Jia W, Guo H, Wang M, et al. High post-chemotherapy TIL and increased CD4+TIL are independent prognostic factors of surgically resected NSCLC following neoadjuvant chemotherapy [J]. *MedComm* (2020) , 2023, 4(1):e213. DOI:10.1002/mco2.213.
- [34] Wing JB, Tanaka A, Sakaguchi S. Human FOXP3(+) regulatory T Cell heterogeneity and function in autoimmunity and cancer [J]. *Immunity*, 2019, 50(2) : 302–316. DOI:10.1016/j.immuni.2019.01.020.
- [35] Fridman WH, Pagès F, Sautès-Fridman C, et al. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome [J]. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12 (4) : 298–306. DOI:10.1038/nrc3245.
- [36] Fridman WH, Zitvogel L, Sautès-Fridman C, et al. The immune contexture in cancer prognosis and treatment [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2017, 14 (12) : 717–734. DOI: 10.1038/nrclinonc.2017.101.
- [37] De Monte L, Reni M, Tassi E, et al. Intratumor T helper type 2 cell infiltrate correlates with cancer-associated fibroblast thymic stromal lymphopoietin production and reduced survival in pancreatic cancer [J]. *J Exp Med*, 2011, 208(3):469–478. DOI:10.1084/jem.20101876.
- [38] Shang B, Liu Y, Jiang SJ, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating FoxP3+ regulatory T cells in cancers: a systematic review and meta-analysis [J]. *Sci Rep*, 2015, 5:15179. DOI:10.1038/srep15179.
- [39] de Ruiter EJ, Ooft ML, Devriese LA, et al. The prognostic role of tumor infiltrating T-lymphocytes in squamous cell carcinoma of the head and neck: a systematic review and meta-analysis [J]. *Oncoimmunology*, 2017, 6 (11) : e1356148. DOI: 10.1080/2162402X.2017.1356148.
- [40] Koll FJ, Banek S, Kluth L, et al. Tumor-associated macrophages and Tregs influence and represent immune cell infiltration of muscle-invasive bladder cancer and predict prognosis [J]. *J Transl Med*, 2023, 21 (1) : 124. DOI:10.1186/s12967-023-03949-3.
- [41] Saito T, Nishikawa H, Wada H, et al. Two FOXP3(+) CD4(+) T cell subpopulations distinctly control the prognosis of colorectal cancers [J]. *Nat Med*, 2016, 22 (6):679–684. DOI:10.1038/nm.4086.
- [42] Huang SW, Jiang W, Xu S, et al. Systemic longitudinal immune profiling identifies proliferating Treg cells as predictors of immunotherapy benefit: biomarker analysis from the phase 3 CONTINUUM and DIPPER trials [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, 9 (1) : 285. DOI: 10.1038/s41392-024-01988-w.
- [43] Fantini MC, Favale A, Onali S, et al. Tumor infiltrating regulatory T Cells in sporadic and colitis-associated colorectal cancer: the red little riding hood and the wolf [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21 (18) : 6744. DOI:10.3390/ijms21186744.
- [44] Bergsland CH, Jeanmougin M, Moosavi SH, et al. Spatial analysis and CD25-expression identify regulatory T cells as predictors of a poor prognosis in colorectal cancer [J]. *Mod Pathol*, 2022, 35 (9) : 1236–1246. DOI: 10.1038/s41379-022-01086-8.
- [45] Zhou F, Shayan G, Sun S, et al. Spatial architecture of regulatory T-cells correlates with disease progression in

- patients with nasopharyngeal cancer[J]. *Front Immunol*, 2022, 13:1015283. DOI:10.3389/fimmu.2022.1015283.
- [46] Liu Y, Liu Z, Yang Y, et al. The prognostic and biology of tumour-infiltrating lymphocytes in the immunotherapy of cancer[J]. *Br J Cancer*, 2023, 129(7):1041-1049. DOI:10.1038/s41416-023-02321-y.
- [47] 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.
- [48] Wouters M, Nelson BH. Prognostic significance of tumor-infiltrating B cells and plasma cells in human cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(24):6125-6135. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-18-1481.
- [49] Wang SS, Liu W, Ly D, et al. Tumor-infiltrating B cells: their role and application in anti-tumor immunity in lung cancer[J]. *Cell Mol Immunol*, 2019, 16(1):6-18. DOI:10.1038/s41423-018-0027-x.
- [50] Malmberg KJ, Carlsten M, Björklund A, et al. Natural killer cell-mediated immunosurveillance of human cancer [J]. *Semin Immunol*, 2017, 31:20-29. DOI:10.1016/j.smim.2017.08.002.
- [51] Nersesian S, Schwartz SL, Grantham SR, et al. NK cell infiltration is associated with improved overall survival in solid cancers: a systematic review and meta-analysis[J]. *Transl Oncol*, 2021, 14(1):100930. DOI:10.1016/j.tranon.2020.100930.
- [52] Brummel K, Eerkens AL, de Bruyn M, et al. Tumour-infiltrating lymphocytes: from prognosis to treatment selection[J]. *Br J Cancer*, 2023, 128(3):451-458. DOI:10.1038/s41416-022-02119-4.
- [53] Spranger S, Spaapen RM, Zha Y, et al. Up-regulation of PD-L1, IDO, and T (regs) in the melanoma tumor microenvironment is driven by CD8(+) T cells[J]. *Sci Transl Med*, 2013, 5(200):200ra116. DOI:10.1126/scitranslmed.3006504.
- [54] Teng MW, Ngiow SF, Ribas A, et al. Classifying cancers based on T-cell infiltration and PD-L1[J]. *Cancer Res*, 2015, 75(11):2139-2145. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-15-0255.
- [55] Shirasawa M, Yoshida T, Shimoda Y, et al. Differential immune-related microenvironment determines programmed cell death protein-1/programmed death-ligand 1 blockade efficacy in patients with advanced NSCLC[J]. *J Thorac Oncol*, 2021, 16(12):2078-2090. DOI:10.1016/j.jtho.2021.07.027.
- [56] Mlecnik B, Bindea G, Pagès F, et al. Tumor immunosurveillance in human cancers [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2011, 30(1):5-12. DOI:10.1007/s10555-011-9270-7.
- [57] Pabst L, Lopes S, Bertrand B, et al. Prognostic and predictive biomarkers in the era of immunotherapy for lung cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(8):7577. DOI:10.3390/ijms24087577.

(收稿日期:2025-02-09)

(本文编辑:费凯伦、金琦)