

免疫微环境与非小细胞肺癌预后关系的研究进展

迟佳琦,李泉旺,胡凯文
(北京中医药大学东方医院,北京 100078)

摘要:肺癌是发病率和死亡率增长最快的恶性肿瘤,其中非小细胞肺癌(NSCLC)约占85%。肺癌的治疗已从最初的手术切除、外科辅助治疗、放化疗、靶向治疗,发展到目前比较热门的免疫治疗,但仍只有少数患者能够从中受益。大量研究发现肿瘤微环境不仅影响肿瘤的发生发展,而且与肿瘤的复发及临床结果密切相关。现主要围绕免疫细胞、免疫结构,探讨免疫微环境作为NSCLC预后标志物的研究进展。

关键词:非小细胞肺癌;免疫微环境;预后

中图分类号:R734.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-0242(2017)09-0714-07

doi:10.11735/j.issn.1004-0242.2017.09.A011

Research Progress on the Relationship Between Immunologic Microenvironment and Prognosis of Non-small Cell Lung Cancer

CHI Jia-qi, LI Quan-wang, HU Kai-wen

(Dongfang Hospital, Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100078, China)

Abstract: Lung cancer now is the most deadly malignant disease, 85% of which are non-small cell lung cancer(NSCLC). The treatment of lung cancer have advanced from the surgical resection, surgical adjuvant therapy, radiation and chemotherapy, targeted therapy, to antitumor immunotherapy, however, not all patients can benefit from these treatment. Increasing studies have indicated that tumor microenvironment not only can influence development of tumor, but also is closely related to tumor recurrence and treatment outcome. This review will focus on immune cells and immune contexture, discuss the research progress on immunologic microenvironment as a prognostic marker for NSCLC.

Key words: non-small cell lung cancer; immunologic microenvironment; prognosis

2016年1月,国家癌症中心发布的癌症统计数据表明,癌症已经成为导致我国人口死亡的主要原因之一,其中乳腺癌、结直肠癌和肺癌分列前3位^[1]。肺癌是发病率和死亡率增长最快、对人类健康和生命威胁最大的恶性肿瘤之一,其中非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)占肺癌总数的85%左右。虽然早期肺癌可通过手术切除,但超过70%的患者死于肿瘤的复发和转移,而大部分IV期的患者生存期不超过18个月^[2]。尽管癌症的诊

断、分类手段有大幅进步,肿瘤的治疗也从最初的外科手术切除、外科联合辅助治疗、放化疗、靶向治疗,发展到目前比较热门的免疫治疗,但仍只有少数患者能够从中受益。

由肿瘤细胞、基质细胞(包括血管内皮细胞、周细胞、免疫炎性细胞等)和细胞外基质共同构成的肿瘤微环境,不仅是肿瘤生长、浸润和转移的基础^[3],还影响多种癌症的临床治疗效果^[4]。肿瘤微环境逐渐成为近年来的研究热点,研究表明癌细胞与肿瘤微环境间的相互作用是双向的、动态的,并且微环境对肿瘤的发生、发展过程具有促进和抑制的两面性。

肺癌与其他恶性肿瘤一样,肿瘤周围浸润了大

收稿日期:2016-09-27;修回日期:2016-12-07

基金项目:中国博士后科学基金(2016M591127);北京中医药大学基本科研业务费自主选题项目(2016-JYB-XS168)

通讯作者:胡凯文, E-mail: kaiwenh@163.com

量的免疫细胞,其中以 T 细胞、巨噬细胞和肥大细胞(mast cell,MC)为主,而浆细胞、自然杀伤性细胞和髓系抑制性细胞相对含量较低^[5-8]。但具体的细胞组成又根据肿瘤亚型和患者的不同存在一定的异质性^[4]。免疫细胞的类型、密度及其位置和功能共同构成了特定的免疫结构(immune contexture)^[9],大量研究表明,原位瘤和转移瘤浸润的淋巴细胞与肿瘤的发展及患者的临床结果密切相关^[10,11]。而免疫微环境中不同细胞的密度与 NSCLC 生存期有一定相关性,具有较强的预后评估价值^[4,12]。本综述主要围绕免疫细胞、免疫结构,探讨免疫微环境作为 NSCLC 预后标志物的研究进展。

1 免疫细胞

1.1 CD3⁺T 细胞

CD3 是 T 细胞的共受体,与 T 细胞受体结合传递 T 细胞活化的第一信号,而 T 细胞介导的免疫应答在肿瘤控制中发挥着重要的作用。CD3⁺T 细胞具有抗肿瘤活性^[13],其浸润程度与凋亡程度成正比^[14],因此 CD3⁺T 细胞大量浸润与多种癌症的良好预后相关。早在 2000 年,Johnson 等^[15]通过免疫组织化学方法对 95 例肺癌患者的手术样本进行分析,发现 CD3⁺T 浸润程度高的患者术后生存期较长。近年也有报道表明,对行根治性手术的 NSCLC 患者,肿瘤浸润的 CD3⁺T 淋巴细胞可作为一个有效的预后指标^[16]。Galon 等^[17]现已证明 CD3⁺T 细胞对结肠癌的预后评价优于传统的组织病理学分期方法。大样本、多因素分析显示,位于 NSCLC 基质和上皮中的 CD3⁺T 细胞可作为疾病特异性生存率(disease-specific survival,DSS)的独立预测因子,并且能够通过 CD3⁺T 细胞密度帮助无法预知肿瘤发展的患者选择治疗方案^[18]。因为辅助治疗只能使 4%~5%的 NSCLC 患者生存期延长^[19],而通过 CD3⁺T 细胞的密度检测可将这部分潜在患者筛选出来。

1.2 CD8⁺T 细胞

CD8 是细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)的表面标志,CTL 可释放细胞毒颗粒诱导靶细胞凋亡,是细胞介导的抗肿瘤免疫的关键成分。近年来,以 CD8⁺T 细胞为中心的免疫微环境在恶性肿瘤发展过程中的作用已成为研究热点。大量 CD8⁺T 淋巴细胞浸润与

患者较长的生存期相关,Al-Shibli 等^[20]对 335 例 I~III A 期 NSCLC 患者的统计发现,随着 CD8⁺T 细胞在上皮和基质中含量增加,DSS 不断提高。另一大样本(1290 例患者)分析表明 CD8⁺T 细胞是 NSCLC 患者的独立预后因子,CD8 高表达的肺癌患者预后良好^[21]。Donnem 等^[22]对 797 例患者的肿瘤基质进行检测,结果表明 CD8⁺T 的密度严重影响无病生存期(disease free survival,DFS)、DSS 和总体生存率(overall survival,OS)。并且该结果在其他肿瘤中也得到了印证,如食管癌、胰腺癌和前列腺癌等^[20,23,24]。目前虽然没有 CD8⁺T 细胞与 NSCLC 不良预后的报道,但 Mori 和其他研究者发现 CD8⁺T 细胞数量对生存率的影响不具有统计学意义^[25,26]。不完全一致的结论可能与 CD8⁺T 细胞在肿瘤微环境中的位置^[27]、NSCLC 的类型(鳞癌或腺癌)和 TNM 分期有一定关系^[28]。此外,肿瘤微环境中浸润的其他类型细胞,或 CD8⁺T 细胞处于免疫抑制状态对肿瘤的发展同样具有调节作用。因此 NSCLC 预后标志物可能需要多方面的评判,现已有学者将其他方法与组织病理学方法结合,如 Marta 等^[29]首先运用定量 PCR 的方法检测肿瘤和肿瘤附近基质的 CD8 表达情况,发现其与患者预后良好间具有一定相关性,进一步的免疫组化结果证明,仅位于肿瘤区域的 CD8⁺T 细胞与患者生存期相关。

1.3 CD4⁺T 细胞

与 CD8⁺不同,CD4⁺辅助性 T 细胞(helper T cell,Th)在不同癌症中对预后的影响较为矛盾。就 NSCLC 而言,在可手术切除的 I~III A 期患者中,基质 CD4⁺淋巴细胞(而不是上皮 CD4⁺)与 DSS 的提高显著相关,可作为这些患者独立的预后影响因子^[20]。此外多篇报道均表明基质中的 CD4⁺与较长的生存期相关^[26,29-31]。然而采用 50-基因打分系统对 I/II 期 NSCLC 的分析显示 CD4⁺细胞与生存期无关。存在相悖的研究结果可能是由于 CD4⁺本身是异质性细胞亚群,其中 Th1 型细胞可分泌 IFN- γ 和 IL-2,活化与其共同存在的 CD8⁺细胞和 NK 细胞,促进细胞免疫,而其他亚型对 CD8 及肿瘤微环境的作用不尽相同,甚至相反。因此,CD4⁺通常与 CD3⁺、CD8⁺联用^[21,28],而单独作为预后因子可能需进一步研究。

1.4 FoxP3⁺调节性 T 细胞

FoxP3⁺调节性 T 细胞(FoxP3⁺Treg)属于 T 淋巴

细胞中表达 CD4⁺CD25⁺及叉头样转录因子 3(transcription factor forkhead box P3,FoxP3) 的一类 T 细胞亚型。Treg 介导的免疫抑制是肿瘤免疫逃逸的一种关键机制,也是肿瘤免疫治疗的主要障碍^[32]。与肿瘤细胞一样,Treg 分泌免疫抑制因子(如 IL-10 和 TGF- β),抑制肿瘤抗原特异性 T 细胞的活性,从而维持免疫耐受,肿瘤逃脱宿主免疫系统的监视,最终导致肿瘤的转移与复发。NSCLC 浸润的 Treg 数量高于正常肺组织,虽然对生存期无显著影响,但体现为预后不良^[33]。手术切除的肺组织中,FoxP3⁺ Treg 的浸润伴随着瘤内环氧化酶(Cox-2)的表达,与肿瘤的复发有关^[34]。同样,如果 FoxP3/CTL 或 FoxP3/CD3 的比值较高,NSCLC 患者将存在较高的复发风险^[28,34]。Shimizu 等^[34]证明 FoxP3⁺Treg 是一个独立的不良预后因子,I 至 III B 期的 NSCLC 组织在高倍镜视野下(400 $\times$)存在 3 个及以上的 FoxP3⁺ Treg,预示着较短的无复发生存期。但有报道显示在结肠癌、头颈癌和霍奇金淋巴瘤中高水平的 FoxP3⁺Treg 浸润,临床预后较好。这种对预后影响的反差可理解为复杂的肿瘤微环境对 Treg 细胞的诱导、分化结果不同,如天然调节 T 细胞(natural Treg,nTreg)通过细胞间接触控制炎症反应,从而促进宿主免疫系统对肿瘤细胞的清除;而诱导调节 T 细胞(inducible Treg,iTreg)则通过多种方式抑制效应性 T 细胞的抗肿瘤免疫活性,促进肿瘤细胞的生长。到目前为止 CD4⁺辅助性 T 细胞功能的可塑性、Treg 细胞确切表型及其介导的免疫抑制机制尚未完全清楚,因此对它们在不同肿瘤中的功能及其与预后间的关系仍需审慎评价。

1.5 巨噬细胞

浸润到肿瘤内的巨噬细胞称为肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophage,TAM),起初多认为 TAM 是一种重要的、具有抗肿瘤效应的细胞,直到 1992 年,Mantovani 等^[35]提出了著名的“巨噬细胞平衡假说”,指出 TAM 具有杀伤肿瘤和促瘤生长的双重作用。TAM 分为两种类型,一类是分泌促炎因子 IL-1、TNF- α ,具有抗肿瘤活性的 M1 型;另一类则表达抗炎因子 IL-10,抑制抗原递呈和 T 细胞增殖,促进肿瘤发生发展的 M2 型^[36]。目前已有许多研究通过检测 CD68(巨噬细胞表面标志)证明 NSCLC 中 TAM 的含量可指示患者的生存期^[37]。Dai 等^[38]发现

在肿瘤和基质区域的巨噬细胞数量是一个独立的预后因子,比成熟 DC 对预后的影响更大。然而 Al-Shibli 等^[20]对 335 个 NSCLC 样本分析后并没有得到相同的结果。进一步鉴定 TAM 表型发现,M1 的数量与较长生存期相关,而 M2 对预后没有价值,尽管 M2 占 TAM 的大多数^[39,40]。比较不同生存期的 NSCLC 患者的 TAM 同样显示,微环境中 M1 的含量以及 M1/M2 的比值均与患者生存期正相关^[37]。虽然目前所有的报道都表明 M1 与预后良好相关,但有证据表明 TAM 可同时具有 M1 和 M2 的两种表型^[41],鉴于 TAM 可直接与肿瘤细胞相互接触、局部微环境可引起 TAM 表型的改变,因此 TAM 对临床预后的影响还需更加综合性的分析。

1.6 肥大细胞(MC)

MC 通过分泌大量颗粒性物质调节肿瘤微环境,对肿瘤的发展具有促进和抑制的双重作用^[42]。NSCLC 中,研究主要集中在 MC 密度与微血管密度、患者生存率之间的关系,但始终没有定论。有报道称 MC 的密度与微血管的密度显著相关,但与生存率无关^[43]。而 Niczyporuk 等^[44]的研究却表明 MC 与血管生成及预后并无相关性,除非是在 II 期的腺癌患者中。大样本检测,仅在 NSCLC 基质部分发现少量表达 CD117⁺的 MC,亦与预后无关^[18]。同样是肺腺癌,有研究指出高密度的 MC 可提高生存率^[45],而有的研究则得出相反结论:浸润的 MC 增多与血管生成和不良预后相关^[46]。回顾以往 MC 与 NSCLC 预后关系的研究,可能是以下几点原因导致研究结果相悖。首先,没有考虑 MC 在肿瘤中的具体分布;其次,对 MC 的定量方法不一,同时忽略了其他炎性细胞数量的高低对血管生成的影响。此外对 MC 简单定量,并不能真实反映该亚群中具有功能活性的细胞所占比例。

目前公认 CTL、记忆性 T 细胞和 Th1 细胞与 NSCLC 患者预后良好相关,但要明确 NSCLC 免疫微环境中不同细胞对预后的具体影响,并以此为依据采取相应的治疗手段,可能还需要效仿结肠癌,在世界范围内开展广泛、全面的综合性研究。

2 第三淋巴样结构

随着研究的深入,不断有证据表明肿瘤浸润的

免疫细胞并不是随机地分布在肿瘤周围,而是具有高度组织性,并体现为一种异位淋巴结样的特定结构。Dieu-Nosjean 研究团队于 2008 年首次报道 NSCLC 存在该结构,并将其命名为第三淋巴样结构(tertiary lymphoid structures, TLSs)。利用该结构的间接标志物证明肺癌中获得性免疫的起始可不依赖二级淋巴器官^[47]。TLSs 由 T、B 细胞区和成熟树突状细胞构成,通过高内皮小静脉的包裹使淋巴细胞相互接触形成发生中心,广泛存在于实体瘤中,除发挥抗肿瘤作用,还具有较高的预后价值^[48]。Luc 等^[49]发现 NSCLC 相关的 TLSs 具有特异性的趋化作用,与 T 细胞浸润有关。TLSs 内不仅富含活化的效应—记忆性 CD8⁺T 细胞^[50],还有丰富的、针对肿瘤相关抗原的 IgG 或 IgA^[51],因此 TLSs 通过不断地刺激细胞免疫和提高体液免疫控制肿瘤的进展,从而延长患者的生存时间^[47,50,51]。无论肿瘤处于哪个阶段或采用何种方法统计 TLSs 的数量,目前所有报道均显示 TLSs 与预后良好相关^[51-53]。TLSs 或将成为一个新的生物标志物,对未经治疗的肿瘤患者的总体生存风险进行分层。但 TLSs 和二级淋巴器官各自在癌症中的具体作用有待进一步研究。

3 免疫评分

大量研究不断揭示宿主免疫状态对预后的重要价值,Galon 等^[54]率先在结肠癌领域建立了免疫评分系统(Immunoscore)。通过全面分析肿瘤微环境中浸润的 CD8⁺和 CD3⁺T 细胞的数量、位置等,对结肠癌患者的免疫状态进行免疫打分。免疫评分作为独立的预后因子,是对 TNM 分期的一个重要补充,二者结合后命名为 TNM-Immune(TNM-I)。TNM-I 对确定临床效果和长期治疗成功率方面具有重要意义,不仅能够预测肿瘤复发的可能,还可通过免疫评分改善临床实验中患者的分层管理,这对于有效的免疫治疗发展至关重要^[55]。与结肠癌相似,在乳腺癌领域也成立了国际工作组,评价乳腺癌 TILs 的作用^[56]。值得注意的是,两种癌症采用的免疫评分方法并不相同,这可能是由于 TILs 对预后的影响具有癌症种类和结构的特异性,或者不同评价方式具有潜在的相似机制。那么在今后的研究中,是否可以统一不同癌症的评价方法,以便于更好地应用于临床值得研

究。在 NSCLC 中,目前也在开展免疫评分和 TNM-I 的相关工作^[57,58],虽然采用与结肠癌相同的研究策略^[59],但在此过程中仍有一些关键问题需要解决,如免疫组化的染色程序、得分系统及用于评分的组织区域等。

近年来通过免疫检验点抑制剂来提高抗肿瘤免疫反应的治疗方法已在多种癌症中取得了较好的临床疗效。然而研究表明,免疫检验点封闭效果取决于肿瘤组织淋巴细胞的浸润和行为,并因此提出今后的治疗策略将是致力于提高 CD8⁺T 细胞的数量和功能,并将肿瘤微环境的免疫抑制作用降到最低。与此同时临床工作者正努力筛选可能会从免疫疗法中受益的患者^[60],而免疫结构和免疫评分将极大地帮助此项工作的开展。目前已有研究表明,FDG-PET 的代谢参数与肿瘤免疫标志物(如 PD-1/PD-L1、CD8 和 CD68)直接相关,可体现肿瘤微环境特征,并且以此为依据选择 NSCLC 患者进行检验点抑制剂治疗^[61]。

4 展 望

尽管肿瘤微环境相关的研究已经取得一定进展,某些进展正应用于肿瘤患者的临床治疗,但总体上看,肿瘤免疫和免疫逃逸机制仍不十分清楚,这也是肿瘤免疫治疗的实际效果与预期仍有很大差距的重要原因。免疫细胞,尤其是双向调节性免疫细胞以及免疫抑制性细胞亚群在肿瘤的发生、发展、侵袭及转移中的作用日渐受到认可和重视,并且取得了有目共睹的研究成果。然而随着研究的深入和临床试验的广泛开展,更多的问题涌现出来,亟待进一步的阐明。如标准化免疫病理学的评价体系或更为可靠的独立预后因子,以便准确地评判患者免疫状态及预后;免疫治疗引起自身免疫的不良反应该日益严重,如何在提高肿瘤特异性免疫反应的同时抑制自身免疫性疾病急需深入探讨。此外,全身免疫状态对肿瘤预后的影响是否值得进一步研究等。有报道表明,将肿瘤局部治疗与患者全身调理相结合的肿瘤“绿色治疗”模式,已使广大患者受益^[62],并为年老体弱和常规治疗失败的患者提供了新的治疗策略^[63]。肿瘤免疫微环境对肿瘤的作用是双向的,但如何调节平衡及建立有效的免疫监控体系,是当前免疫治疗成败的关键。相信随着对肿瘤免疫微环境和肿瘤免疫机制

认识的深入,肿瘤免疫治疗的突破也将指日可待。

参考文献:

- [1] Zheng R,Zeng H,Zhang S,et al. National estimates of cancer prevalence in China,2011[J]. *Cancer Lett*,2016,370(1):33-38.
- [2] Langer CJ,Besse B,Gualberto A,et al. The evolving role of histology in the management of advanced non-small-cell lung cancer[J]. *J Clin Oncol*,2010,28(36):5311-5320.
- [3] Hanahan D,Weinberg RA. Hallmarks of cancer:the next generation[J]. *Cell*,2011,144(5):646-674.
- [4] Fridman WH,Pages F,Sautes-Fridman C,et al. The immune contexture in human tumours:impact on clinical outcome[J]. *Nat Rev Cancer*,2012,12(4):298-306.
- [5] Bremnes RM,Al-Shibli K,Donnem T,et al. The role of tumor-infiltrating immune cells and chronic inflammation at the tumor site on cancer development,progression,and prognosis:emphasis on non-small cell lung cancer [J]. *J Thorac Oncol*,2011,6(4):824-833.
- [6] Salgaller ML. The development of immunotherapies for non-small cell lung cancer [J]. *Expert Opin Biol Ther*,2002,2(3):265-278.
- [7] Kataki A,Scheid P,Piet M,et al. Tumor infiltrating lymphocytes and macrophages have a potential dual role in lung cancer by supporting both host-defense and tumor progression[J]. *J Lab Clin Med*,2002,140(5):320-328.
- [8] Ishibashi Y,Tanaka S,Tajima K,et al. Expression of Foxp3 in non-small cell lung cancer patients is significantly higher in tumor tissues than in normal tissues,especially in tumors smaller than 30mm [J]. *Oncol Rep*,2006,15(5):1315-1319.
- [9] Remark R,Becker C,Gomez JE,et al. The non-small cell lung cancer immune contexture. A major determinant of tumor characteristics and patient outcome[J]. *Am J Respir Crit Care Med*,2015,191(4):377-390.
- [10] Giraldo NA,Becht E,Remark R,et al. The immune contexture of primary and metastatic human tumours [J]. *Curr Opin Immunol*,2014,27:8-15.
- [11] Fridman WH,Remark R,Goc J,et al. The immune microenvironment:a major player in human cancers [J]. *Int Arch Allergy Immunol*,2014,164(1):13-26.
- [12] Bremnes RM,Busund LT,Kilvaer TL,et al. The role of tumor-infiltrating lymphocytes in development,progression, and prognosis of non-small cell lung cancer [J]. *J Thorac Oncol*,2016,11(6):789-800.
- [13] Ortel JW,Staren ED,Faber LP,et al. Modulation of tumor-infiltrating lymphocyte cytolytic activity against human non-small cell lung cancer[J]. *Lung Cancer*,2002,36(1):17-25.
- [14] Tormanen-Napankangas U,Soini Y,Paakko P. High number of tumour-infiltrating lymphocytes is associated with apoptosis in non-small cell lung carcinoma [J]. *APMIS*,2001,109(7-8):525-532.
- [15] Johnson SK,Kerr KM,Chapman AD,et al. Immune cell infiltrates and prognosis in primary carcinoma of the lung [J]. *Lung Cancer*,2000,27(1):27-35.
- [16] Tian C,Lu S,Fan Q,et al. Prognostic significance of tumor-infiltrating CD8(+) or CD3(+) T lymphocytes and interleukin-2 expression in radically resected non-small cell lung cancer[J]. *Chin Med J (Engl)*,2015,128(1):105-110.
- [17] 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.
- [18] Al-Shibli K,Al-Saad S,Andersen S,et al. The prognostic value of intraepithelial and stromal CD3⁺,CD117⁺ and CD138-positive cells in non-small cell lung carcinoma[J]. *APMIS*,2010,118(5):371-382.
- [19] Arriagada R,Bergman B,Dunant A,et al. Cisplatin-based adjuvant chemotherapy in patients with completely resected non-small-cell lung cancer[J]. *N Engl J Med*,2004,350(4):351-360.
- [20] Al-Shibli KI,Donnem T,Al-Saad S,et al. Prognostic effect of epithelial and stromal lymphocyte infiltration in non-small cell lung cancer [J]. *Clin Cancer Res*,2008,14(16):5220-5227.
- [21] Ruffini E,Asioli S,Filosso PL,et al. Clinical significance of tumor-infiltrating lymphocytes in lung neoplasms [J]. *Ann Thorac Surg*,2009,87(2):365-372.
- [22] Donnem T,Hald SM,Paulsen EE,et al. Stromal CD8⁺ T-cell density—a promising supplement to TNM staging in non-small cell lung cancer [J]. *Clin Cancer Res*,2015,21(11):2635-2643.
- [23] Fukunaga A,Miyamoto M,Cho Y,et al. CD8⁺ tumor-infiltrating lymphocytes together with CD4⁺ tumor-infiltrating lymphocytes and dendritic cells improve the prognosis of patients with pancreatic adenocarcinoma [J]. *Pancreas*,2004,28(1):e26-e31.
- [24] Oshikiri T,Miyamoto M,Shichinohe T,et al. Prognostic value of intratumoral CD8⁺ T lymphocyte in extrahepatic bile duct carcinoma as essential immune response [J]. *J Surg Oncol*,2003,84(4):224-228.

- [25] Mori M, Ohtani H, Naito Y, et al. Infiltration of CD8⁺ T cells in non-small cell lung cancer is associated with dedifferentiation of cancer cells, but not with prognosis[J]. *Tohoku J Exp Med*, 2000, 191(2):113–118.
- [26] Wakabayashi O, Yamazaki K, Oizumi S, et al. CD4⁺ T cells in cancer stroma, not CD8⁺ T cells in cancer cell nests, are associated with favorable prognosis in human non-small cell lung cancers [J]. *Cancer Sci*, 2003, 94(11): 1003–1009.
- [27] Geng Y, Shao Y, He W, et al. Prognostic role of tumor-infiltrating lymphocytes in lung cancer; a meta-analysis[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 37(4): 1560–1571.
- [28] Suzuki K, Kadota K, Sima CS, et al. Clinical impact of immune microenvironment in stage I lung adenocarcinoma; tumor interleukin-12 receptor beta2 (IL-12Rbeta2), IL-7R, and stromal FoxP3/CD3 ratio are independent predictors of recurrence[J]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(4): 490–498.
- [29] Uso M, Jantus-Lewintre E, Bremnes RM, et al. Analysis of the immune microenvironment in resected non-small cell lung cancer; the prognostic value of different T lymphocyte markers[J]. *Oncotarget*, 2016. [Epub ahead of print]
- [30] Hiraoka K, Miyamoto M, Cho Y, et al. Concurrent infiltration by CD8⁺ T cells and CD4⁺ T cells is a favourable prognostic factor in non-small-cell lung carcinoma[J]. *Br J Cancer*, 2006, 94(2): 275–280.
- [31] Hald SM, Bremnes RM, Al-Shibli K, et al. CD4/CD8 co-expression shows independent prognostic impact in resected non-small cell lung cancer patients treated with adjuvant radiotherapy [J]. *Lung Cancer*, 2013, 80(2): 209–215.
- [32] Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The immunobiology of cancer immunosurveillance and immunoediting[J]. *Immunity*, 2004, 21(2): 137–148.
- [33] Gooden MJ, de Bock GH, Leffers N, et al. The prognostic influence of tumour-infiltrating lymphocytes in cancer; a systematic review with meta-analysis [J]. *Br J Cancer*, 2011, 105(1): 93–103.
- [34] Shimizu K, Nakata M, Hirami Y, et al. Tumor-infiltrating Foxp3⁺ regulatory T cells are correlated with cyclooxygenase-2 expression and are associated with recurrence in resected non-small cell lung cancer [J]. *J Thorac Oncol*, 2010, 5(5): 585–590.
- [35] Mantovani A, Bottazzi B, Colotta F, et al. The origin and function of tumor-associated macrophages[J]. *Immunol Today*, 1992, 13(7): 265–270.
- [36] Mantovani A, Sozzani S, Locati M, et al. Macrophage polarization; tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes [J]. *Trends Immunol*, 2002, 23(11): 549–555.
- [37] Ohri CM, Shikotra A, Green RH, et al. Macrophages within NSCLC tumour islets are predominantly of a cytotoxic M1 phenotype associated with extended survival[J]. *Eur Respir J*, 2009, 33(1): 118–126.
- [38] Dai F, Liu L, Che G, et al. The number and microlocalization of tumor-associated immune cells are associated with patient's survival time in non-small cell lung cancer[J]. *BMC Cancer*, 2010, 10: 220.
- [39] Ma J, Liu L, Che G, et al. The M1 form of tumor-associated macrophages in non-small cell lung cancer is positively associated with survival time[J]. *BMC Cancer*, 2010, 10: 112.
- [40] Carus A, Ladekarl M, Hager H, et al. Tumor-associated neutrophils and macrophages in non-small cell lung cancer; no immediate impact on patient outcome [J]. *Lung Cancer*, 2013, 81(1): 130–137.
- [41] Biswas SK, Sica A, Lewis CE. Plasticity of macrophage function during tumor progression; regulation by distinct molecular mechanisms[J]. *J Immunol*, 2008, 180(4): 2011–2017.
- [42] Theoharides TC, Conti P. Mast cells; the Jekyll and Hyde of tumor growth[J]. *Trends Immunol*, 2004, 25(5): 235–241.
- [43] Dundar E, Oner U, Peker BC, et al. The significance and relationship between mast cells and tumour angiogenesis in non-small cell lung carcinoma [J]. *J Int Med Res*, 2008, 36(1): 88–95.
- [44] Niczyporuk M, Hermanowicz A, Matuszczak E, et al. A lack of correlation between mast cells, angiogenesis, and outcome in non-small cell lung cancer [J]. *Exp Lung Res*, 2012, 38(6): 281–285.
- [45] Tomita M, Matsuzaki Y, Onitsuka T. Correlation between mast cells and survival rates in patients with pulmonary adenocarcinoma[J]. *Lung Cancer*, 1999, 26(2): 103–108.
- [46] Takanami I, Takeuchi K, Naruke M. Mast cell density is associated with angiogenesis and poor prognosis in pulmonary adenocarcinoma[J]. *Cancer*, 2000, 88(12): 2686–2692.
- [47] Dieu-Nosjean MC, Antoine M, Danel 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.
- [48] Dieu-Nosjean MC, Giraldo NA, Kaplon H, et al. Tertiary lymphoid structures, drivers of the anti-tumor responses in human cancers[J]. *Immunol Rev*, 2016, 271(1): 260–275.
- [49] De Chaisemartin L, Goc J, Damotte D, et al. Characteriza-

- tion of chemokines and adhesion molecules associated with T cell presence in tertiary lymphoid structures in human lung cancer[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(20):6391–6399.
- [50] Goc J, Germain C, Vo-Bourgeois TK, 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.
- [51] Germain C, Gnjatich 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.
- [52] Bindea G, Mlecnik B, Tosolini M, et al. Spatiotemporal dynamics of intratumoral immune cells reveal the immune landscape in human cancer [J]. *Immunity*, 2013, 39 (4): 782–795.
- [53] Gu-Trantien C, Loi S, Garaud S, et al. CD4 (+) follicular helper T cell infiltration predicts breast cancer survival[J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(7):2873–2892.
- [54] Galon J, Pages F, Marincola FM, et al. Cancer classification using the Immunoscore: a worldwide task force [J]. *J Transl Med*, 2012, 10:205.
- [55] Galon J, Mlecnik B, Bindea G, et al. Towards the introduction of the ‘Immunoscore’ in the classification of malignant tumours[J]. *J Pathol*, 2014, 232(2):199–209.
- [56] Salgado R, Denkert C, Demaria S, et al. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014[J]. *Ann Oncol*, 2015, 26(2):259–271.
- [57] Donnem T, Kilvaer TK, Andersen S, et al. Strategies for clinical implementation of TNM-Immunoscore in resected nonsmall-cell lung cancer [J]. *Ann Oncol*, 2016, 27 (2): 225–232.
- [58] Parra ER, Behrens C, Rodriguez-Canales J, et al. Image analysis-based assessment of PD-L1 and tumor-associated immune cells density supports distinct intratumoral microenvironment groups in non-small cell lung carcinoma patients[J]. *Clin Cancer Res*, 2016.[Epub ahead of print]
- [59] Mlecnik B, Tosolini M, Kirilovsky A, et al. Histopathologic-based prognostic factors of colorectal cancers are associated with the state of the local immune reaction [J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(6):610–618.
- [60] Anagnostou VK, Brahmer JR. Cancer immunotherapy: a future paradigm shift in the treatment of non-small cell lung cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(5):976–984.
- [61] Lopci E, Toschi L, Grizzi F, et al. Correlation of metabolic information on FDG-PET with tissue expression of immune markers in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) who are candidates for upfront surgery [J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2016.[Epub ahead of print]
- [62] Gao L, Li Q, Jiang M, et al. Combined therapy of percutaneous cryoablation and traditional Chinese medicine can be a promising strategy for elderly or advanced lung cancer patients based on a retrospective clinical study [J]. *Cryobiology*, 2014, 69(1):174–177.
- [63] Hu KW, Zhan T. Theory and practice of cancer “green therapy” [J]. *J Tradit Chin Med Sci*, 2016, doi:10.1016/j.jtcms.2016.11.001.

致作者/通讯作者

本刊对所有来稿不收任何形式的审稿费,同行评议审稿费用由本刊承担。来稿刊登后即给作者/通讯作者通过邮局,以印刷品挂号形式寄赠当期杂志2册,如未能及时收到,请登录 <http://www.chinaoncology.cn> 在所在杂志页面信息公告栏目中查询该期杂志作者邮寄名单,凭“挂刷号”可在当地邮局查询。因办刊经费困难,从2016年起稿酬改为给作者/通讯作者寄赠当期杂志以后的12期杂志每期1册,或合订本。在此期间,如您的邮寄地址有变化,请及时联系本刊:QQ:729586420,电话/传真:0571-88122280, E-mail:zgzl_09@126.com