



生物工程学报  
*Chinese Journal of Biotechnology*  
ISSN 1000-3061, CN 11-1998/Q

## 《生物工程学报》网络首发论文

题目： 肿瘤浸润淋巴细胞在实体肿瘤中作用的研究进展  
作者： 白素杭, 杨晓悦, 张楠, 张富涵, 沈宗毅, 杨娜, 张文赛, 喻长远, 杨昭  
DOI: 10.13345/j.cjb.190300  
网络首发日期: 2019-11-11  
引用格式: 白素杭, 杨晓悦, 张楠, 张富涵, 沈宗毅, 杨娜, 张文赛, 喻长远, 杨昭. 肿瘤浸润淋巴细胞在实体肿瘤中作用的研究进展[J/OL]. 生物工程学报. <https://doi.org/10.13345/j.cjb.190300>



**网络首发:** 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

**出版确认:** 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

• 综述 •

**杨昭** 北京化工大学学生命科学与技术学院副教授，硕士生导师。中国生物工程学会青年工作委员会委员，北京肿瘤病理精准诊断研究会常委。2010年获吉林大学学士学位，2015年获中国科学院生物物理研究所博士学位。致力于肿瘤干细胞和肿瘤免疫治疗研究，国际上首次证明了膀胱癌干细胞起源于正常膀胱干细胞或膀胱癌非干细胞，相关研究成果发表在 *European Urology*、*Cell Research*、*Journal of Experimental Medicine*、*Cancer Research*、*Clinical Cancer Research* 和 *Molecular Cancer* 等国际权威学术期刊。



## 肿瘤浸润淋巴细胞在实体肿瘤中作用的研究进展

白素杭，杨晓悦，张楠，张富涵，沈宗毅，杨娜，张文赛，喻长远，杨昭

北京化工大学 生命科学与技术学院，北京 100029

白素杭，杨晓悦，张楠，等. 肿瘤浸润淋巴细胞在实体肿瘤中作用的研究进展. 生物工程学报, 2019, 35(12): 1–18.

Bai SH, Yang XY, Zhang N, et al. Function of tumor infiltrating lymphocytes in solid tumors – a review. Chin J Biotech, 2019, 35(12): 1–18.

**摘要：**肿瘤是 21 世纪威胁人类健康的主要疾患之一。临床上，实体瘤治疗仍以手术切除、放化疗和靶向治疗为主，但这些方法往往不能根除肿瘤病灶，易导致肿瘤复发和进展。肿瘤免疫治疗是利用人体的免疫系统，通过增强或恢复抗肿瘤免疫力实现控制和杀伤肿瘤的一种新的治疗模式。肿瘤免疫治疗能够在众多患者中产生持久反应，过继性免疫治疗和免疫检查点阻断剂治疗均可产生显著的抗原特异性免疫反应。肿瘤浸润淋巴细胞 (TILs) 是一种存在于肿瘤组织内部具有高度异质性的淋巴细胞，在宿主抗原特异性肿瘤免疫应答中发挥关键作用。最新研究表明，在肿瘤发生和治疗过程中，TILs 的亚群组成和数量与患者预后密切相关；抗肿瘤的 TILs 介导的过继性免疫治疗方法已在多种实体瘤中取得了良好的疗效。文中就实体肿瘤中 TILs 的研究进展作一综述。

**关键词：**肿瘤浸润淋巴细胞，实体瘤，免疫治疗，预后

**Received:** July 6, 2019; **Accepted:** October 21, 2019

**Supported by:** National Natural Science Foundation of China (No. 81602644), Basic Scientific Research Operating Expenses for Central Universities (No. buctrc201910) and National Key Research and Development Program (No. 2017YFA0105900).

**Corresponding author:** Zhao Yang. Tel: +86-186-10132456; E-mail: yangzhao@mail.buct.edu.cn

国家自然科学基金 (No. 81602644), 中央高校基本科研业务费 (No. buctrc201910), 国家重点研发计划 (No. 2017YFA0105900) 资助。

网络出版时间:

网络出版地址:

# Function of tumor infiltrating lymphocytes in solid tumors – a review

Suhang Bai, Xiaoyue Yang, Nan Zhang, Fuhan Zhang, Zongyi Shen, Na Yang, Wensai Zhang, Changyuan Yu, and Zhao Yang

College of Life Science and Technology, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China

**Abstract:** Tumor is one of the major diseases threatening human health in the 21st century. Surgical resection, radiotherapy, chemotherapy and targeted therapy are the main clinical treatments for solid tumors. However, these methods are unable to eradicate tumor cells completely, and easily lead to the recurrence and progression of tumor. Tumor immunotherapy is a novel treatment that uses human immune system to control and kill tumor by enhancing or restoring anti-tumor immunity. Tumor immunotherapy has shown to produce long-lasting responses in large numbers of patients, and thereby adoptive immunotherapy and immune checkpoint inhibitors could induce remarkable antigen-specific immune responses. Tumor infiltrating lymphocytes (TILs) are highly heterogeneous lymphocytes existing in tumor tissues and play a crucial role in host antigen-specific tumor immune response. Recent studies show that TILs are closely related to the prognosis of patients during the processes of tumorigenesis and treatment. Adoptive immunotherapy mediated by TILs has displayed favorable curative effect in many solid tumors. This paper reviews the recent progress of TILs in solid tumors.

**Keywords:** tumor infiltrating lymphocytes, solid tumors, immunotherapy, prognosis

肿瘤是一类严重危害人类生命健康的疾病,《2018 年全球癌症统计数据》显示 2018 年全球约有 1 810 万癌症新增病例和 960 万癌症死亡病例,其中发病率最高的前 10 种癌症均为实体瘤。相比于其他国家,我国癌症发病率、死亡率均为全球第一。在 1 810 万新增癌症病例中,我国占 380.4 万例;在 960 万癌症死亡病例中,我国占 229.6 万例<sup>[1]</sup>。2012 年我国肿瘤登记年报数据显示,我国发病率最高的前 10 种癌症均为实体瘤,占全部癌症的比例高达 77%。其中,肺癌、胃癌、结直肠癌、肝癌和女性乳腺癌的发病率最高<sup>[2]</sup>。

实体瘤的发生发展涉及大量的基因突变和染色质结构变异,由于该过程非常复杂,其发病机制尚不完全清楚。目前临床上,实体瘤治疗仍以手术切除、放化疗和靶向治疗为主,但这些方法往往不能根除肿瘤病灶,易导致肿瘤复发和进展。

传统的肿瘤治疗方案,更多的是针对肿瘤细胞本身,但事实上肿瘤是在高度复杂且动态的环境中发展而来的。肿瘤微环境 (Tumor microenvironment,

TME) 包括肿瘤细胞和肿瘤相关基质,肿瘤基质由肿瘤浸润淋巴细胞 (Tumor infiltrating lymphocytes, TILs)、成纤维细胞以及肿瘤周围的细胞外基质等共同构成<sup>[3]</sup>。TILs 是存在 TME 中具有异质性的淋巴细胞,参与抗肿瘤免疫反应,主要包括 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、NK 细胞、巨噬细胞和髓源性抑制细胞等<sup>[4]</sup>。在微环境中,肿瘤组织与免疫系统的相互作用常常呈现双向作用,如机体免疫系统可以对肿瘤产生正向的识别与杀伤,而肿瘤细胞又可通过其表面表达的抑制性分子和分泌肿瘤相关细胞因子来形成免疫抑制性的微环境,介导机体对肿瘤产生免疫耐受,造成免疫逃逸。肿瘤细胞和相关基质之间的相互作用不仅影响疾病的发生和发展,并且与患者预后密切相关<sup>[5]</sup>。因此揭示各免疫细胞的特性及其与肿瘤的相互作用的机制,对于研究者通过重塑 TME 进而提高机体的抗肿瘤效应具有重要的科学意义。本文就实体肿瘤中 TILs 的研究进展做一综述。

## 1 TILs 在恶性肿瘤中的作用

### 1.1 TILs 在肿瘤微环境中的功能

TILs 是具有高度异质性的淋巴细胞亚群,不同的细胞亚群在 TME 中发挥着不同的作用。其包含具有正向调节免疫应答的免疫细胞,如树突状细胞 (Dendritic cells, DC)、CD8<sup>+</sup>细胞毒性 T 淋巴细胞、自然杀伤 (Natural killer, NK) 细胞等。它们通过对肿瘤细胞的识别、杀伤和清除,实现肿瘤免疫应答。TME 也包含具有负向调节免疫应答的免疫细胞,如肿瘤相关巨噬细胞、调节性 T 细胞、髓源性抑制细胞等。它们会分泌大量的免疫抑制细胞因子和生长因子,如 IL-6、IL-10、VEGF、TGF- $\beta$  等,抑制上述 DC、CD8<sup>+</sup>细胞毒性 T 淋巴细胞、NK 细胞的激活,从而使肿瘤细胞逃脱免疫监视,最终导致肿瘤形成、侵袭与转移<sup>[6]</sup>。

#### 1.1.1 具有正向调节免疫应答的免疫细胞

CD4<sup>+</sup> Th1: CD4<sup>+</sup> Th1 通过与主要组织相容性复合体 (Major histocompatibility complex, MHC II) 递呈的多肽抗原反应被激活, Th1 主要分泌 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-2 等细胞因子,介导细胞免疫, Th1 可增强 NK 细胞和细胞毒性 T 细胞的杀伤能力,同时抑制 Th2 增殖。

CD8<sup>+</sup>细胞毒 T 细胞: CD8<sup>+</sup>细胞毒 T 细胞主要功能是特异性识别内源性抗原肽-MHC I 类分子复合物,进而杀伤肿瘤细胞。杀伤机制主要有两种:一是分泌穿孔素、颗粒酶等物质直接杀伤靶细胞;二是通过表达 FasL 或分泌 TNF- $\alpha$ ,分别与靶细胞表面受体结合诱导靶细胞凋亡。

NK 细胞: NK 细胞是一类表面标志为 CD3<sup>-</sup>CD19<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>的固有淋巴样细胞,其无需通过提前接触或激活就能发挥肿瘤杀伤能力,某些肿瘤表面表达非 MHC I 类配体分子的杀伤活化受体如 NKG2D 同源二聚体和自然细胞毒性受体, NK 细胞表面识别这些受体选择性攻击肿瘤细胞。

NK 细胞对肿瘤的杀伤机制和 CD8<sup>+</sup>细胞毒 T 细胞类似。

M1 巨噬细胞:经典激活的 M1 巨噬细胞是促炎和抗肿瘤发生的,并分泌 TH1 细胞因子如 IL-12、TNF- $\alpha$  和较低的 IL-10 和 IL-4,具有杀伤肿瘤细胞的功能<sup>[7]</sup>。

DC: DC 是体内功能最强的专职性抗原递呈细胞,其最重要的功能是加工和提呈抗原,从而激活初始 T 细胞和 CD8<sup>+</sup> T 细胞。DC 还能够分泌多种细胞因子和趋化因子调节其他免疫细胞的功能,如 DC 分泌大量 IL-12 诱导初始 T 细胞分化为 Th1,产生 Th1 型免疫应答。

#### 1.1.2 具有负向调节作用的免疫细胞

CD4<sup>+</sup> Th2: Th2 主要分泌 IL-4、IL-5、IL-6、IL-10 及 IL-13 等,抑制体内抗肿瘤免疫反应。研究表明肿瘤间质浸润的 Th2 细胞数量明显高于 Th1 细胞数量,导致 Th1/Th2 漂移,产生的免疫抑制状态会严重影响机体的抗肿瘤免疫,最终导致肿瘤的发生和发展<sup>[8]</sup>。

M2 巨噬细胞:巨噬细胞具有可塑性, TME 中 M1 巨噬细胞往往可转变为 M2 巨噬细胞表型,但这一机制尚不清楚。M2 巨噬细胞表达 CD163、CD206 及 CD204 等标志物,并分泌 Th2 型细胞因子,具有较低的抗原提呈能力以及促进血管生成等,具有抑制免疫应答的能力<sup>[7]</sup>。

调节性 T 细胞:典型的调节性 T 细胞是来自于胸腺的 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup> T 细胞 (Treg 细胞), Treg 细胞在抑制肿瘤相关抗原特异性免疫中发挥重要作用,它会抑制肿瘤引流淋巴结中的肿瘤相关抗原特异性激活,并进一步聚集到 TME 中,抑制效应细胞或效应分子的功能。目前 Treg 细胞发挥抑制作用的机理主要有 4 种:①分泌 IL-35、IL-10 和 TGF- $\beta$  等可溶性负性免疫分子发挥免疫抑制作用;②高表达 IL-2 的高亲和受体,竞争性掠夺邻近活化 T 细胞生存所需的 IL-2,导

致 T 细胞的增殖抑制和凋亡；③通过颗粒酶 A、颗粒酶 B 以穿孔素依赖方式使 CD8<sup>+</sup>细胞毒性 T 细胞和 NK 细胞等凋亡；④通过表达 CTLA-4 等膜分子和分泌 IL-35 等分子抑制 DC 成熟和削弱其抗原提呈功能，并促进抑制性 DC 产生。

## 1.2 TILs 对肿瘤的预后评估作用

临床预后指标可以帮助评估每一例患者的肿瘤复发和术后生存情况，大量研究证明 TILs 的密度、亚型和浸润位置在多种肿瘤如结直肠癌、乳腺癌、黑色素瘤等的预后判断中占主导地位。且 T 细胞在多种实体瘤中具有很强的预后价值<sup>[9-14]</sup>

(表 1)。肿瘤浸润 T 淋巴细胞是免疫治疗过程中最重要的效应细胞类型，其主要包括以下亚型：CD8<sup>+</sup>细胞毒性 T 淋巴细胞，CD4<sup>+</sup> T 辅助淋巴细胞 (Th)，CD45RO<sup>+</sup>记忆 T 细胞 (Tm) 和 FOXP3<sup>+</sup>调节细胞 (Tregs) 等。其中 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞在抗肿瘤免疫中起到核心作用<sup>[15]</sup>。

同时研究者提出运用免疫评分分期系统来预测肿瘤患者的生存周期，他们发现，通过一系列免疫评分分期和 TNM 分期的对比，显示免疫评分对于预测结直肠癌患者的生存周期具有明显的优势，结直肠癌 TILs 的类型及密度是影响患者生

表 1 肿瘤浸润淋巴细胞与实体瘤预后的相关性

Table 1 Correlation between solid tumor infiltrating lymphocytes and prognosis

Cancer type	TILs subpopulation	Evaluation indicators	Clinical relevance	Reference
NSCLC	CD3 <sup>+</sup> T cell	TS	Good prognosis	18
NSCLC	Neutrophil to lymphocyte ratio	TN	Poor prognosis	19
Lung cancer	CD8 <sup>+</sup> T cell, CD3 <sup>+</sup> T cell, CD4 <sup>+</sup> T cell	TS, TN	Good prognosis	20
	FOXP3 <sup>+</sup> T cell	TS	Poor prognosis	
HCC	DC, CD45 <sup>+</sup> cell, CD8 <sup>+</sup> T cell, CD3 <sup>+</sup> T cell	Nodules	Good prognosis	25
HCC	IL-17 <sup>+</sup> cell	TN	Poor prognosis	26
CRCLM	CD8 <sup>+</sup> T cell, CD3 <sup>+</sup> T cell	TN & PT	Good prognosis	27
HCC	FOXP3 <sup>+</sup> TILs,	TN	Poor prognosis	28
	CD8 <sup>+</sup> T cell	TN & IM	Good prognosis	
	CD3 <sup>+</sup> T cell	TN	Poor OS/Good DFS	
Gastric cancer	CD8 <sup>+</sup> and FOXP3 <sup>+</sup> TILs	TN	Good prognosis	35
Gastric cancer	CD8 <sup>+</sup> T cell, CD3 <sup>+</sup> T cell	TN	Good prognosis	36
ESCC	CD4 <sup>+</sup> T cell	IN	Good prognosis	48
Esophageal cancer	CD8 <sup>+</sup> T cell	TN	Good prognosis	49
	CD57 <sup>+</sup> TILs		Poor prognosis	
	FOXP3 <sup>+</sup> TILs			
CRC	FOXP3 <sup>+</sup> Tregs	PT	Poor prognosis	53
		TN	Good prognosis	
Colon cancer	FOXP3 <sup>+</sup> TILs	TS	Good prognosis	54
	CD3 <sup>+</sup> T cell	IM		
	CD8 <sup>+</sup> T cell	TN		
Breast cancer	TILs	TS	Good prognosis	61
TNBC	CD8 <sup>+</sup> T and T-bet <sup>+</sup> cell	TN	Good prognosis	62
	CD8 <sup>+</sup> T <sub>RM</sub> cell			63
Cervical cancer	CD66b <sup>+</sup> cell, CD163 <sup>+</sup> cell	PT & TS	Poor prognosis	67
	CD204 <sup>+</sup> M2 macrophages		Poor prognosis	68

Note: TS: Tumor stromal; TN: Tumor nest; PT: Peritumoral, IM: Invasive margin, IN: Intraepithelial; NSCLC: Non-small cell lung cancer, HCC: Hepatocellular carcinoma, CRCLM: Colorectal Cancer Liver Metastasis; ESCC: Esophageal Squamous Cell Carcinoma, TNBC: Triple negative breast cancer.

存预后的主要因素,提示“免疫评分”在预测肿瘤患者生存预后方面,是一个更加优越的分期系统<sup>[10,16]</sup>。这些研究也奠定了“免疫评分”技术的基础。2013年 Galon 等提出了一种图像分析辅助评分系统,命名为“免疫评分”,其是通过检测肿瘤核心部位和肿瘤边缘侵犯部位浸润的 CD3/CD45RO、CD3/CD8 或 CD8/CD45RO 淋巴细胞群,并基于免疫细胞的类型、数量和位置三个方面作出评分的方法<sup>[9,17]</sup>。免疫评分反映了 TME 的复杂性和动态性,让我们了解即使在同一肿瘤中,不同部位的免疫细胞也是动态变化的。因此运用免疫评分技术有利于针对不同病例选择合理的个性化治疗方案,防止过度治疗和不恰当治疗,对评价患者的预后具有重要作用。

### 1.3 TILs 介导的的肿瘤免疫疗法

早在 1988 年,有研究报道 TILs 在多种晚期恶性肿瘤中参与积极的作用<sup>[18]</sup>,提示免疫细胞的抗肿瘤效果。目前实体瘤的治疗手段主要有手术切除、化疗、放疗及靶向药物治疗,但这些方法不能够完全清除病灶,尤其是晚期实体瘤治疗显得相当困难。近年来,肿瘤免疫疗法蓬勃发展,为实体瘤治疗带来了新的机遇。免疫治疗是一种通过增强免疫系统功能达到对抗肿瘤的治疗方式,其中免疫细胞在抗肿瘤免疫中发挥着重要作用。免疫治疗因其疗效显著、毒副作用小、耐药性低而备受关注。肿瘤免疫疗法的核心思想认为:肿瘤的发生是由于自身免疫系统被抑制,造成癌细胞不能被清除;只要将内源自身免疫抑制解除(免疫检查点抑制剂)或者外源补充不会被抑制的免疫细胞(过继免疫疗法),就可能治疗甚至治愈癌症。

过继免疫疗法(Adoptive immunotherapy, AIT)主要包括 TILs、细胞因子诱导的杀伤细胞(Cytokine-induced killer, CIK)、DC、NK 细胞、

T 细胞受体嵌合型 T 细胞(T-cell receptor-T cell, TCR-T)和嵌合性抗原受体 T 细胞(Chimeric antigen receptor T cell, CAR-T)免疫疗法几大类,具体内容如下:

#### 1.3.1 自体 TILs 过继免疫疗法

DC-CIK 过继免疫疗法:CIK 细胞是自然杀伤 T 淋巴(NKT)细胞的一类,表达 CD3 和 CD56 标志物,与其他报道的抗肿瘤细胞相比,在体外具有快速增殖、更强的抗肿瘤反应和低毒性等特点。近年来 CIK 细胞的已被用于过继免疫疗法,但 CIK 细胞治疗的临床试验未显示出治愈率或长期生存率方面的显著改善,因此需要进一步改善此疗法<sup>[19]</sup>。DC 细胞可以克服肿瘤相关抑制作用并提高 CIK 细胞的活性<sup>[20]</sup>。因此将 DC 和 CIK 结合可显著增强抗肿瘤效力<sup>[21]</sup>。

TILs 过继免疫疗法:基于 TILs 的过继性细胞治疗是将浸润在肿瘤周围的淋巴细胞分离,加入 IL-2 经体外培养,活化和扩增后回输到患者体内,从而发挥杀伤肿瘤的作用。过继治疗需要回输的细胞数量高达  $1 \times 10^{11}$ 。自从 1986 年 Rosenberg 利用 TILs 对荷瘤小鼠进行治疗并发现其疗效是淋巴因子激活的杀伤细胞的 50-100 倍后<sup>[22]</sup>,TILs 成为抗肿瘤研究的热点之一,并且在黑色素瘤的治疗中显示良好的疗效<sup>[23-24]</sup>。

NK 细胞过继免疫疗法:NK 过继免疫治疗包括同种异体和自体 NK 的过继治疗,适用于免疫力低下的病人。自体 NK 细胞 KIRs 受体和 MCH-I 配体结合能抑制 NK 细胞的活化,而同种异体 NK 细胞 KIRs 受体和 MCH-I 配体不匹配,故打破了这种限制,有效活化 NK 细胞,启动抗肿瘤反应<sup>[25]</sup>。过继的 NK 细胞与 DC 相互作用,产生的 INF- $\gamma$  能有效刺激 Th1 辅助细胞,从而进一步增强 T 细胞抗肿瘤免疫反应。同时,肿瘤致敏的 NK 细胞分泌 IFN- $\gamma$  能增加肿瘤细胞 MHC-I 分子的表

达,从而促进细胞毒性 T 细胞的特异性识别和杀伤肿瘤细胞<sup>[26]</sup>。NK 细胞过继治疗肿瘤如乳腺癌、小细胞肺癌等,都显示出其有效性和安全性<sup>[27-28]</sup>。

### 1.3.2 基因修饰的过继免疫疗法

在许多情况下,运用自体细胞过继疗法策略存在一些不足之处,如在肿瘤组织中没有足够的活检原料,或没有足够的浸润性淋巴细胞。为了克服这些不足,可以采用基因修饰的策略赋予效应细胞特异性,拓宽 AIT 对其他癌症的影响。目前基因修饰的抗肿瘤 T 细胞应用最为广泛,且疗效显著,主要包括以下两种策略。

#### (1) CAR-T 细胞免疫疗法

CAR-T 细胞是指经遗传修饰以表达嵌合抗原受体 (Chimeric antigen receptor, CAR) 的 T 细胞, CAR 由 4 部分构成即:细胞单链抗体区 (Single-chain antibody fragment)、跨膜结构域、细胞内信号传导 (通常是 CD3 $\zeta$  链) 和协同刺激信号域 (CD28、41BB、OX40 等)。目前 CD19-CAR-T 在复发或难治性急性淋巴细胞白血病获得空前成功<sup>[29]</sup>。2017 年被称为“CAR-T”元年,凯特生物 Yescarta 和诺华的 Kymriah 被批准上市。但是 CAR-T 在实体瘤治疗中并不像血液肿瘤一样顺利,在实体瘤中疗效并不显著并伴随严重的副作用,临床应用极为受限。因此要积极开发针对实体瘤的免疫治疗策略,目前主要有:①增加 CAR-T 细胞的转运和浸润:构建 FAP-CAR-T 减少肿瘤成纤维细胞的数量或使 CAR-T 表达趋化因子受体以达到肿瘤部位。②解除肿瘤抑制性微环境:将 CAR-T 与免疫抑制剂联用如抗 TGF- $\beta$ 、PD-1 或 PD-L1 等抗体联用。③提高治疗的特异性和安全性如引入串联基因等<sup>[30]</sup>。

因此今后联合治疗,寻找特异性靶点及构建通用型的 CAR 是 CAR-T 疗法未来的发展方向。

#### (2) TCR-T 细胞免疫疗法

TCR-T 细胞免疫疗法是将能识别肿瘤特异性

抗原的 TCR $\alpha$  和  $\beta$  链基因转染到 T 细胞中,使 T 细胞的 TCR 抗原结合区发生结构改变,从而能特异性识别相应的肿瘤抗原。然后经体外扩增并回输到人体内,表达特异性 TCR 的 T 淋巴细胞可识别肿瘤细胞表面的 HLA-肽复合物,并通过磷酸化胞内区免疫受体酪氨酸激活基序,来传递抗原刺激信号,进而引发 T 细胞的免疫效应,达到杀伤肿瘤细胞的目的<sup>[29,31]</sup>。目前,TCR-T 细胞免疫疗法在黑素瘤中的临床研究最多且疗效显著<sup>[32]</sup>。TCR-T 细胞免疫疗法在其他实体肿瘤例如宫颈癌、结直肠癌和乳腺癌等中也均有一些尝试性研究,但其治疗效果尚待进一步临床验证。

以上疗法均是来自患者肿瘤组织、外周血或引流淋巴结中的淋巴细胞在体外修饰、扩增,最后回输至患者的疗法,与其他抗体或靶向药物不同,扩增后的细胞回输到患者体内后将激活并继续增殖,可以形成持续的杀伤力。AIT 已在多种实体瘤中取得了积极的临床效果 (表 2)。但是,AIT 在临床试验中表现出的毒副作用仍然是一个不可忽视的问题。最常见的毒副作用是细胞因子风暴 (Cytokine release syndrome, CRS), CRS 指的是由于 T 细胞增殖和激活,导致细胞因子大量释放,引起患者发烧、低血压、心功能障碍、肾功能衰竭、甚至死亡<sup>[33]</sup>。此外,AIT 还会出现脱靶毒性,即 T 细胞能够识别表达在正常细胞上的微量抗原。因此除了靶向表达该抗原肿瘤细胞外,还会攻击表达相应抗原的正常细胞,损伤其他正常组织和器官的功能<sup>[23]</sup>。为了减轻以上的毒副作用,研究者们开发出一系列的管理策略:①目前,大多数 CRS 毒性可通过升压药,供氧支持,皮质类固醇和 IL-6 受体拮抗剂等方法来控制和治疗<sup>[34]</sup>。②针对 ACT 存在的脱靶毒性,可以构建 SynNotch、iCAR、引入自杀基因或小分子开关的策略来实现更特异和更安全地靶向肿瘤细胞<sup>[35-36]</sup>。下面将对不同实体瘤中 TILs 的研究进展逐一展开叙述。

表 2 实体瘤中肿瘤浸润淋巴细胞的临床治疗

Table 2 Clinical treatment of tumor infiltrating lymphocytes in solid tumors

Cancer type	Treatment cell	Clinical relevance	Reference
Lung cancer	TILs	Good prognosis	21–24
Liver cancer	CIK cell	Good prognosis	30
Liver cancer	TILs	Good prognosis	31
Gastric cancer	CIK cell, DC	Good prognosis	37–38
Gastric cancer	CAR-T	Undefined	43–45
Esophageal cancer	DC	No response	50
Esophageal cancer	TILs	Good prognosis	51
Colorectal cancer	NK cell	Good prognosis	55
Colorectal cancer	CIK cell, DC	Good prognosis	56–58
Colorectal cancer	CAR-T	Good prognosis	59
Breast cancer	T <sub>RMT</sub>	Good prognosis	64
Breast cancer	CAR-T	Undefined	65
Cervical cancer	T cell	Good prognosis	69
Cervical cancer	CIK cell, DC	Good prognosis	70

Note: T<sub>RMT</sub>: Tumor-reactive memory T cells.

## 2 TILs 与肺癌

### 2.1 TILs 在肺癌预后评估中的作用

肺癌是全球癌症发病率和死亡率最高的癌症，在美国四分之一的癌症死亡是由肺癌引起的<sup>[37]</sup>。Kim 等发现，无论是吸烟人群，还是非吸烟人群，与未接触二手烟人群相比，二手烟暴露者肺癌发生风险增加<sup>[38]</sup>。最近，ShibliShibli 等通过对 335 个肺癌组织切除的微阵列研究发现，单变量分析中肿瘤基质 ( $P=0.001$ ) 和上皮区域 ( $P=0.004$ ) 中 CD3<sup>+</sup> 细胞的浸润能够显著延长患者肿瘤特异性生存率 (Cancer-specific survival, CSS)。在多变量分析中，肿瘤基质中 CD3<sup>+</sup> 细胞是 CSS ( $P=0.005$ ) 的独立预后因素。CD3<sup>+</sup> T 细胞的浸润与非小细胞肺癌 (Non-small cell lung cancer, NSCLC) 中改善的临床结果相关。但在此项研究中，浆细胞和肥大细胞均与预后无关<sup>[39]</sup>。在另一项研究中，Yin 等通过 Meta 分析研究中性粒细胞与淋巴细胞比率与肺癌预后的相关性，结果表明中性粒细胞与淋巴细胞比率越高，NSCLC 患者的总生存期 (Overall survival, OS) 越差 ( $P=0.001$ )<sup>[40]</sup>。Geng

等通过对 8 600 名患者的 Meta 分析显示，肿瘤基质或瘤内中高水平的 CD8<sup>+</sup> T 细胞和 CD3<sup>+</sup> T 细胞浸润与肺癌患者更好的 OS 相关。肿瘤基质中高水平 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞浸润在肺癌患者中表现出更好的 OS。而肿瘤基质中高密度的 FOXP3<sup>+</sup> 细胞浸润与患者更差的无进展生存期 (Progression-free survival, PFS) 有关，认为是预后不利的因素<sup>[41]</sup>。这表明 TILs 不仅具有明确的免疫功能，还具有预后作用。

### 2.2 TILs 在肺癌中的临床治疗

TILs 的临床应用开始于 80 年代中后期，AIT 是继 LAK 疗法之后又一新的杀伤自体瘤细胞的免疫治疗方法。Kradin 等用 TILs 对 6 例原发性肺癌患者进行多次  $5.0 \times 10^8$ – $4.5 \times 10^9$  TILs 静脉输注或瘤灶内注入，在无白介素-2 (Interleukin-2, IL-2) 和环磷酰胺的情况下，其中 4 例肿瘤消退且患者有较好的耐受性。他们还对比常规疗法治疗无效的转移性肺癌和转移性肾细胞癌等 7 例患者采用特异性 TILs 进行治疗，也获得较好的疗效<sup>[42]</sup>。Ratto 等利用 AIT 并结合放射性疗法治疗 113 例



NSCLC, TILs 在术后 6–8 周静脉回输给患者, 数量为  $4 \times 10^9$ – $7 \times 10^{10}$ , 前两周剂量逐渐上升, 后两周逐渐下降, 持续回输 2–3 个月。结果表明, 对 II 期 NSCLC, AIT 治疗与对照组 (无辅助治疗) 平均生存期分别为 22.3 个月和 31 个月。对 III A 期 NSCLC, AIT 组 OS 显著高于常规治疗组 (化疗加放疗) ( $P=0.06$ ), 平均生存期分别为 22 个月和 9.9 个月。对 III B 期患者, AIT 组 OS 显著高于常规治疗组 ( $P<0.01$ ), 平均生存期分别为 23.9 个月和 7.3 个月。治疗期间, AIT 组生存率无明显变化, 而对照组中不少患者死于复发<sup>[43]</sup>。超过 80% 的患者未出现严重的毒副作用, 因此 AIT 在未来可以作为 NSCLC 辅助治疗方案。Kradin 等也开展了 TILs 临床应用研究。他们对 7 名患有肺转移性腺癌的患者给予 T 淋巴细胞回输治疗, 发现有 5 名患者的肿瘤减小, 但没有患者达到完全或部分缓解。在治疗后的三名患者中观察到皮肤对蛋白质抗原超敏反应增加反应。因此得出结论, 肿瘤浸润 T 淋巴细胞可以安全地输注到人体中, 并且可能会增强免疫反应并介导体内肿瘤的减小<sup>[44]</sup>。国内也有学者展开了相应的研究, 李东复等对 7 例肺癌患者行 TILs 回输免疫治疗, 结果大部分患者的状态明显改善, 免疫功能增强, 除有轻度发热及 1 例血压下降外, 无其他明显副作用<sup>[45]</sup>。

TILs 临床初步应用表明, 机体能够耐受一定剂量的 TILs, 且副作用少; IL-2 对 TILs 发挥体内杀瘤效应有协同作用; 环磷酰胺能显著增强 TILs 的体内抗癌活性, 但 TILs 体外活性与体内效应并非总是一致。

### 3 TILs 与肝癌

#### 3.1 TILs 在肝癌预后评估中的作用

原发性肝癌包括胆管细胞癌, 亦有混合性肿瘤的情况, 但是临床上主要以肝细胞肝癌 (Hepatocellular carcinoma, HCC) 最为常见。大量

临床研究发现, TILs 的水平与 HCC 的预后显著相关。Cai 等人发现肝癌内 DC 的高浸润度提示较高的无病存活时间 (Disease-free survival, DFS), 瘤内  $CD45^+$  细胞 ( $P=0.003$ )、 $CD3^+$  T 细胞 ( $P=0.005$ ) 及  $CD8^+$  T 细胞 ( $P=0.037$ ) 浸润均与延长的 DFS 密切相关<sup>[46]</sup>。Th17 细胞主要效应因子是 IL-17, Th17 细胞具有强烈的促炎作用, 在炎症和自身免疫性疾病中起着积极的作用。Zhang 等通过对 178 例 HCC 患者采用流式细胞术和免疫组化法测定肿瘤内产生 IL-17 的细胞的分布和表型特征, 结果表明 Th17 细胞在 HCC 患者肿瘤中富集 ( $P<0.001$ )。大多数肿瘤内 Th17 细胞表现出效应记忆表型, 其中 CCR4 和 CCR6 的表达增加。肿瘤内产生 IL-17 的细胞的密度与 HCC 患者的 OS ( $P=0.001$ ) 和 DFS ( $P=0.001$ ) 显著相关, 瘤内产生 IL-17 的细胞密度的增加预示着不良预后。多变量 Cox 分析显示肿瘤内产生 IL-17 的细胞的密度是 OS ( $P=0.009$ ) 和 DFS ( $P=0.002$ ) 的独立预后因素<sup>[47]</sup>。

在更深入的研究中, Wang 等在对 249 名结直肠癌肝转移患者的肝转移分析中, 通过对瘤内和癌周区域中  $CD3^+$  和  $CD8^+$  T 细胞进行免疫评分发现, 免疫评分高 ( $>2$ ) 组相对于免疫评分较低组 ( $\leq 2$ ), 其无复发生存率 (Relapse-free survival, RFS) ( $P<0.001$ ) 和 OS ( $P<0.001$ ) 均显著延长, 免疫评分高组 RFS 中位数为 21.4, OS 未达到终点; 免疫评分低组 RFS 中位数为 8.7 个月, OS 中位数 28.7 个月。因此, 肝转移的 TILs 可用于预测肝切除术后结直肠癌肝转移患者的预后<sup>[48]</sup>。另外, 来自 46 项研究涉及 7 905 名 HCC 患者的 Meta 分析显示, 瘤内 FOXP3<sup>+</sup> TILs 的密度是最重要的预后因子 ( $P<0.001$ )。其密度越高, HCC 患者的预后越差; 瘤内或癌周  $CD8^+$  TILs 浸润的患者 OS 明显延长 ( $P=0.001$ ); 颗粒酶 B 表达为阳性的 T 淋巴细胞在瘤内的浸润与更好的 OS ( $P<0.001$ ) 和

DFS ( $P < 0.001$ ) 相关。有趣的是瘤内高密度的 CD3<sup>+</sup>细胞的浸润预示着更差的 OS ( $P = 0.037$ ), 但是预示着更好的 DFS ( $P = 0.029$ )<sup>[49]</sup>。因此部分 TILs 亚群可以作为 HCC 的预后因子, 同时需要更高质量的随机对照试验来确定这些 TILs 是否可以作为 HCC 免疫治疗的靶点。

### 3.2 TILs 在肝癌中的临床治疗

肝癌具有恶性程度高、死亡率高、进展快、复发快、转移快的特点, HCC 占肝癌病例的绝大部分, 术后 HCC 患者的五年复发率高达 70%<sup>[50]</sup>。Pan 等在对 410 例 HCC 患者研究发现, 经过 CIK 免疫治疗的患者 OS 显著高于单纯手术组 ( $P = 0.0007$ )。接受  $\geq 8$  周期 CIK 细胞输注的患者的生存率明显高于  $< 8$  周期组 ( $P = 0.0272$ ), 因此 CIK 细胞输注术后免疫治疗可能是改善 HCC 患者预后的有效辅助治疗方法<sup>[51]</sup>。在另一项 I 期临床实验研究中, 15 名 HCC 患者在肿瘤切除后, 用其活化和扩增的 TILs 进行治疗。在过继治疗后观察到 T 细胞的数量瞬时增加, 患者的不良反应主要为轻度流感样症状。中位随访 14 个月后, 15 名患者 (100%) 存活; 12 名患者 (80%) 未发现疾病迹象, 仅有 3 名患者肿瘤复发<sup>[52]</sup>。这些结果表明, 用激活并扩增的自体 TILs 进行免疫治疗具有安全性和有效性的特点, 因此可以作为 HCC 患者的新型治疗方式。

## 4 TILs 与胃癌

### 4.1 TILs 在胃癌预后评估中的作用

胃癌在不同地理和人群中的发病率存在很大差异, 韩国、日本、我国等东亚国家胃癌发病率和死亡率明显高于北美、西欧及非洲地区的国家<sup>[53]</sup>。全国肿瘤登记中心数据显示, 2015 年我国胃癌新发病例约为 67.9 万例, 胃癌死亡病例约为 49.8 万例, 严重危害我国居民健康<sup>[54]</sup>。微卫星序列是短

串联重复序列, 是单个碱基或碱基片段 (1 到 6 个碱基) 的重复序列 (通常重复次数在 10 到 60 次), 他们分散在基因的编码区或非编码区。错配修复蛋白是一组核酶, 在 DNA 复制完成后发挥作用, 错配修复蛋白延 DNA 链滑动, 当遇到基因错配时便进行修复。如果缺乏 DNA 错配碱基修复酶, 导致复制错误 DNA 的堆积在增生的细胞中不能被修复, 易诱发肿瘤。错配修复缺失会引起基因组中累积重复几十到上百次的核酸碱基短序列的异常, 称为 MSI, 与之相对应的是 MSS<sup>[55]</sup>。在结肠癌研究中, MSI 高频型 (MSI-H) 患者预后较 MSI 低频型 (MSI-L) 和 MSS 患者好, 其 5 年 OS 率和 DFS 率显著高于 MSI-L 和 MSS 患者。Kim 等进一步研究了 99 例 MSI-H 胃癌患者中的瘤内 CD8<sup>+</sup>和 FoxP3<sup>+</sup> TILs 对患者预后的影响, 研究表明高密度 CD8<sup>+</sup>或 FoxP3<sup>+</sup> TILs 的浸润比低密度 CD8<sup>+</sup>或 FoxP3<sup>+</sup> TILs 的胃癌患者具有更高的总存活率 ( $P$  分别为 0.017 和 0.013); 在多变量生存分析中, CD8<sup>+</sup>和 FoxP3<sup>+</sup> TILs 同时高度浸润与良好的预后相关 ( $P = 0.003$ ), 因此 CD8<sup>+</sup>和 FoxP3<sup>+</sup> TILs 可共同作为 MSI-H 胃癌患者的独立预后因子<sup>[56]</sup>。另外一项涉及 4 942 名胃癌患者的 Meta 分析显示, 瘤内 CD8<sup>+</sup>和 CD3<sup>+</sup> T 细胞的高度浸润与延长的 OS 显著相关<sup>[57]</sup>。

由此看出 FoxP3<sup>+</sup> Tregs 在不同癌症中扮演的作用有所不同, 在胃癌中与良好的预后有关, 但在肺癌中与更差的预后相关。

### 4.2 TILs 在胃癌中的临床治疗

AIT 虽然在胃癌治疗中得到了广泛的应用, 但是临床治疗当中仍然存在着很多问题。如对胃癌患者的治疗中仍存在着靶向性不足, 肿瘤细胞免疫逃逸机制使其无法发挥杀伤作用等缺点。因此, 如果要达到充分发挥免疫细胞的抗肿瘤作用, 需要积极联合其他手段增强其对肿瘤细胞的识别

能力,避免脱靶效应。Peng 等利用 IL-15 基因转染 CIK 细胞后,提高了其增殖能力和肿瘤杀伤效果<sup>[58]</sup>。有随机临床 II 期研究将 CIK 细胞、脐带血来源的 DC 和化疗三种方式联合应用于进展期胃癌患者,显著延长了其无瘤生存期,治疗过程中对患者无明显的毒副作用<sup>[59]</sup>。由此可见,如果要达到充分发挥 CIK 细胞的抗肿瘤作用,需要积极联合其他手段增强其对肿瘤细胞的识别能力,避免脱靶效应。

CAR-T 免疫疗法已成功应用于多种血液系统恶性肿瘤<sup>[60-62]</sup>,此疗法通过在 T 淋巴细胞膜直接表达肿瘤抗原的受体,使 T 淋巴细胞的激活不再依赖 MHC 分子就能激活相应的效应细胞,从而达到杀伤肿瘤的作用<sup>[63]</sup>。目前针对胃癌治疗的 CAR-T 细胞治疗仍在探索当中,其主要难点在于肿瘤抗原的选择。目前已有研究针对 CEA、HER-2/neu、NKG2D 等作为胃癌肿瘤抗原靶点设计了相应的 CAR<sup>[64-66]</sup>,但均以针对胃癌细胞株的体外实验、动物实验为主,部分项目启动了临床入组计划 (NCT02349724、NCT02416466),大规模的临床应用研究尚未进行,其探索的道路依旧漫长。

## 5 TILs 与食管癌

### 5.1 TILs 在食管癌预后评估中的作用

2018 年全球癌症生存趋势监测计划 CONCORD-3 的研究结果显示,近 10 年来我国食管癌生存率增长了 7% 左右<sup>[67]</sup>。食管癌常见的类型为腺癌、鳞癌、肉瘤样癌等,其中以食管鳞状细胞癌最常见<sup>[68]</sup>。Chen 等在对 566 例食管鳞状细胞癌患者的研究表明,上皮内 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞的浸润明显高于肿瘤基质区 ( $P < 0.001$ )。上皮 CD4<sup>+</sup> 淋巴细胞的浸润与较长的 OS ( $P = 0.001$ ) 显著相关。CD3<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞的浸润均与食管鳞状细

胞癌患者的预后无关 ( $P > 0.05$ )。因此上皮 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞浸润可能是食管鳞状细胞癌患者预后的有利指标<sup>[69]</sup>。另外一项涉及 2 909 名患者的 Meta 分析显示总 TILs 是食管癌患者 OS 的有利预后指标 ( $P < 0.001$ )。对于 TILs 亚群,CD8<sup>+</sup> TILs 与改善的 OS ( $P < 0.001$ ) 和 DFS ( $P < 0.001$ ) 相关;FoxP3<sup>+</sup> TILs 的浸润与患者减少的 DFS 相关 ( $P = 0.003$ ),CD57<sup>+</sup> TILs 浸润预示患者的 OS 更好 ( $P < 0.001$ )。此外,其他 TILs 亚群包括 CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> 和 CD45RO<sup>+</sup> TILs 与患者的生存期无关 ( $P > 0.05$ )<sup>[70]</sup>。因此,一些淋巴细胞可以作为食管癌预后的生物标志物,但关于 TILs 在食管癌免疫治疗中的应用需要通过大量的临床研究来验证。

### 5.2 TILs 在食管癌中的临床治疗

食管癌的治疗主要以手术治疗为主,术后辅以放化疗,但放化疗对机体的免疫功能影响较大,中晚期食管癌治疗的预后仍不乐观。Fujiwara 等分离了 5 例术前化疗的食管癌患者外周血 DC 细胞体外培养,待成熟后以 <sup>111</sup>In 标记并在瘤体内注射,再行根治性手术切除。有 4 例患者观察到抗体产生,但是注射到肿瘤组织内部的成熟 DC 细胞并不能有效地向引流淋巴结迁移,因此可能不能达到最佳的临床反应<sup>[71]</sup>。Toh 等进一步报道,将来自食管鳞状细胞癌患者的 PBMC 在体外用自体肿瘤细胞刺激后,直接注射到原发性肿瘤和转移部位,同时给予静脉注射 IL-2。离体产生的自体肿瘤激活的淋巴细胞每 2 周共 13 次局部注射到患者锁骨淋巴结,每次注射给药细胞的平均数量为  $0.8 \times 10^9$  个。在免疫治疗期间,观察到患者 2 级腹泻和发烧,在所有病变中获得临床局部缓解并持续 11 个月。由于临床毒性较小,因此这种免疫疗法可能对转移晚期食管癌患者有效<sup>[72]</sup>。针对食管癌的免疫治疗目前多处于临床研究阶段,尚无成熟的药物可应用于临床,需要更多的转化研究

进行探索。

## 6 TILs 与结直肠癌

### 6.1 TILs 在结直肠癌预后评估中的作用

临床上普遍采用 TNM 分期系统评估结直肠癌患者的预后。近年来,“免疫评分”技术逐渐成为研究热点。1998 年, Naito 等运用半定量方法分析了 139 例结直肠癌 (Colorectal cancer, CRC) 患者,首次报道了瘤内的 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞浸润可能是其独立的预后因素<sup>[73]</sup>。Salama 等对 967 个 II 期和 III 期 CRC 病人研究发现,与正常结肠粘膜相比,肿瘤组织中的 FOXP3<sup>+</sup> Tregs 浸润更多,而 CD8<sup>+</sup>和 CD45RO<sup>+</sup>细胞浸润很少。FOXP3<sup>+</sup> Tregs 的密度是 CRC 独立的预后指标, CD8<sup>+</sup>和 CD45RO<sup>+</sup>细胞则与预后无关。正常粘膜中的 FOXP3<sup>+</sup> Tregs 的高度浸润与较差的预后相关 ( $P=0.019$ )。相反,肿瘤组织中 FOXP3<sup>+</sup> Tregs 的高度浸润与改善的存活率相关 ( $P=0.001$ )。因此, FOXP3<sup>+</sup> Tregs 在 CRC 中具有强烈的预后意义<sup>[74]</sup>。

近日,一项涉及 5 108 名患者的 Meta 分析研究了 TILs 的亚群组成、位置对 CRC 患者的预后影响,结肠癌患者结果显示,基于 TILs 细胞类型分析发现, CD8<sup>+</sup>和 FOXP3<sup>+</sup> T 淋巴细胞 (非 CD3<sup>+</sup> T 细胞) 与改善的 DFS 和 OS 有关;此外,关于 TILs 的位置研究显示,只有在肿瘤基质中 FOXP3<sup>+</sup> T 淋巴细胞的高度浸润与改善的 OS 显著相关 ( $P=0.0007$ ),在肿瘤浸润边缘中, CD3<sup>+</sup> T 细胞高度浸润预示 DFS 增加 ( $P=0.008$ )。瘤内 CD8<sup>+</sup> T 细胞高度浸润与改善的 DFS 相关 ( $P<0.00001$ )<sup>[75]</sup>。

总之,肿瘤组织中 TILs 的密度或亚型与延长的存活率密切相关,此外,在特定的浸润部位仅有一些 TILs 亚型的高度浸润与良好的预后相关。仍需要进一步的研究来验证 TILs 在 CRC 中的预后价值,以进一步增加关于 TILs 的免疫评分和免疫疗法的有效性。

### 6.2 TILs 在结直肠癌中的临床治疗

目前,临床针对结直肠癌的主要治疗方式仍是手术治疗,但是单纯手术治疗效果并不能达到预期,术后复发率较高,且并发症多。Takeshi 等运用 NK 细胞免疫疗法与 IgG1 抗体联合治疗晚期胃癌或结肠直肠癌来观察其有效性和安全性。施用 IgG1 抗体 3 天后,每周向患者输注扩增的 NK 细胞三次,以  $0.5\times 10^9$ 、 $1.0\times 10^9$  和  $2.0\times 10^9$  细胞的剂量逐渐递增。结果表明,患者体内富集 NK 细胞 (中位数 92.9%) 且 NKG2D (97.6%) 和 CD16 (69.6%) 高表达。联合治疗结果显示此疗法耐受性良好,无严重不良事件。在 6 名可评估的患者中,4 名呈现疾病稳定,2 名患者出现疾病进展。在 4 名疾病稳定患者中,3 名患者肿瘤减小,血液中 IFN- $\gamma$  数量增加, Tregs 减少。总之,这项 I 期试验为先前接受过治疗的晚期胃癌和 CRC 患者提供了有希望的治疗方法<sup>[76]</sup>。DC 联合 CIK 是目前肿瘤免疫治疗的重要组成部分。DC 和 CIK 共同培养使 CIK 细胞溶瘤活性明显加强,更具特异性杀死肿瘤靶细胞<sup>[77]</sup>。国内也有研究探讨了 DC-CIK 免疫疗法联合化疗应用于晚期 CRC 中的临床疗效。结果显示,观察组治疗缓解率显著优于对照组 ( $P<0.05$ )<sup>[78]</sup>。翁海光等的研究也显示相似的结果,并且 DC-CIK 组患者的 III-IV 度不良反应中,血白细胞下降的发生率为 22.0% (11/50),低于单纯化疗组 ( $P<0.05$ )<sup>[79]</sup>。说明 DC-CIK 免疫疗法联合化疗可显著提高晚期 CRC 患者的临床疗效,延长患者生存期,提高生存质量。另外在 Zhang 等的研究中显示, CAR-T 细胞免疫疗法对胚胎抗原阳性结直肠患者有良好的耐受性,在 10 名患者中,两名患者病情稳定超过 30 周,且肿瘤缩小;接受高剂量 CAR-T 疗法的患者外周血中 CAR-T 细胞的持续存在,大多数患者的血清胚胎抗原水平下降明显<sup>[80]</sup>。因此, AIT 在 CRC 治疗中具有较高的安全性和有效性,具有良好的应用前景。

## 7 TILs 与乳腺癌

### 7.1 TILs 在乳腺癌预后评估中的作用

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤，严重威胁着女性的健康。乳腺癌根据表达受体不同分为三个主要亚型：ER/PR 阳性型、HER2 阳性和三阴性乳腺癌 (Triple negative breast cancer, TNBC)。乳腺癌中 TILs 的数量是改善患者存活率的有力预后因素，尤其是在 TNBC 和 HER2 过表达的乳腺癌亚型中<sup>[81]</sup>。近期一项研究收集了 2 148 个患者样本探究早期 TNBC 中 TILs 的预后价值，共观察到 736 例侵袭性无病生存和 548 例无远端疾病生存事件以及 533 例死亡事件。在多变量模型中，肿瘤基质 TILs 浸润程度的增加与延长的侵袭性无病生存 ( $P<0.001$ )，无远端疾病生存 ( $P<0.001$ ) 和 OS ( $P<0.001$ ) 显著相关。在肿瘤基质中 TILs  $\geq 30\%$  的淋巴结阴性患者，患者 3 年侵袭性无病生存率为 92%，无远端疾病生存为 97%，总生存率为 99%<sup>[82]</sup>。另外一项 242 例 TNBC 患者中发现，与 T-bet<sup>-</sup> 肿瘤患者相比，T-bet<sup>+</sup> 肿瘤患者的 OS 更长 ( $P=0.047$ )。与 CD8<sup>+</sup> T-bet<sup>-</sup> 肿瘤相比，CD8<sup>+</sup> 和 T-bet<sup>+</sup> 的患者具有更好的 RFS ( $P=0.037$ ) 和 OS ( $P=0.024$ )<sup>[83]</sup>。在更深入的研究中，Savas 等对乳腺癌患者中 6 311 个 T 细胞进行了 scRNA-seq，结果显示乳腺癌患者中含有高度浸润的组织驻留记忆 (Tissue-resident memory T cell, T<sub>RM</sub>) CD8<sup>+</sup> T 细胞，并且这些 CD8<sup>+</sup> T<sub>RM</sub> 细胞表达高水平的免疫检查点分子和效应蛋白。CD8<sup>+</sup> T<sub>RM</sub> 细胞与 TNBC 中患者存活率的改善显著相关，并且比单独的 CD8<sup>+</sup> 细胞具有更好的预后作用<sup>[84]</sup>。因此，TILs 可作为乳腺癌预后因子。

### 7.2 TILs 在乳腺癌中的临床治疗

TNBC 患者具有较高的转移和进展风险，医生会根据肿瘤的分期和患者的身体状况，酌情采用手术、放疗、化疗、内分泌治疗、生物靶向治疗及

中医药辅助治疗等多种手段。乳腺癌患者的骨髓中含有具有治疗潜力的肿瘤反应性记忆 T 细胞 (Tumor-reactive memory T cells, TC)，过继性 T 细胞输注会导致循环肿瘤抗原反应性 I 型 TC 的产生。Domschke 等描述了 16 名转移性乳腺癌患者的长期临床结果及其与肿瘤特异性细胞免疫应答的相关性，TC 在体外首先与自体 DC 细胞和 MCF-7 乳腺癌细胞的裂解物共培养从而激活，然后扩大培养后输注回患者体内，结果显示 16 名患者中有 7 名对治疗有响应，总队列中观察到总体中位生存期为 33.8 个月，其中 3 例患者在接受 AIT 治疗后存活时间超过 7 年。转移的肿瘤反应性 TC 的数量与患者的总体存活率显著相关 ( $P=0.017$ )。AIT 治疗后外周血具有免疫应答的患者的中位生存期明显长于无应答者 (中位生存期为 58.6 对 13.6 个月； $P=0.009$ )。AIT 治疗后产生免疫反应的患者 OS 明显延长，此疗法有良好的应用前景<sup>[85]</sup>。乳腺癌中常表达细胞表面分子 C-Met，因此 Williams 等设计了针对 C-Met 特异的 CAR，进行了 0 期临床试验 (NCT01837602)，以评估通过肿瘤内使用 RNA 转染的 C-Met CAR-T 细胞治疗转移性乳腺癌的安全性和可行性。通过 RNA 转染使 CAR 分子的瞬时表达限制靶标/肿瘤外效应来确保安全性。单次瘤内注射量为： $3\times 10^7$  或  $3\times 10^8$  个细胞。在瘤内注射后不久，分别在 2 名和 4 名患者中检测到外周血和肿瘤组织中的低水平 CAR-T mRNA，患者均无细胞因子释放综合征或比研究药物相关的 1 级更严重的不良事件。因此 CAR-T 疗法在乳腺癌患者治疗中具有良好的耐受性<sup>[86]</sup>。目前，AIT 疗法在乳腺癌中的研究还较少，仍需要大量临床试验验证此疗法的疗效。

## 8 TILs 与宫颈癌

### 8.1 TILs 在宫颈癌预后评估中的作用

宫颈癌是威胁全球妇女健康及生命的主要恶

性肿瘤之一,目前其发病率占女性恶性肿瘤第4位,人乳头状瘤病毒 (Human papillomavirus, HPV) 感染是导致宫颈癌最为常见的因素之一<sup>[87]</sup>。Carus 等在对 101 名宫颈癌患者的研究中发现,在癌周和肿瘤基质中 CD66b<sup>+</sup>中性粒细胞和癌周 CD163<sup>+</sup>巨噬细胞的高度浸润与短 RFS 显著相关。多变量分析发现癌周中性粒细胞高度浸润 ( $P=0.03$ ), CD8<sup>+</sup>淋巴细胞低度浸润 ( $P=0.002$ ) 可以作为短 RFS 的独立预后因素,而 CD163<sup>+</sup>巨噬细胞与预后无显著相关性<sup>[88]</sup>。

Asuka 等调查了 148 例宫颈癌患者,发现较高密度的肿瘤浸润性 CD204<sup>+</sup> M2 巨噬细胞与较短的 DFS 显著相关,但 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、FOXP3<sup>+</sup>和 PD-1<sup>+</sup>淋巴细胞和 CD68<sup>+</sup>巨噬细胞与预后无显著相关性。且侵袭性肿瘤基质中 TILs 和巨噬细胞的密度显著高于原位肿瘤。表达 p16 的 HPV 阳性肿瘤中 TILs 的密度显著高于 HPV 阴性的肿瘤。因此肿瘤浸润性 CD204<sup>+</sup> M2 巨噬细胞是宫颈腺癌患者预后不良的因子<sup>[89]</sup>。

## 8.2 TILs 在宫颈癌中的临床治疗

宫颈癌起病隐匿,早期症状不明显,不同地区之间存在着宫颈癌筛查手段及治疗技术的差异,半数以上的患者就诊时已处于中晚期。转移性宫颈癌是一种典型的化疗耐受型上皮恶性肿瘤,Stevanović 等研究了 AIT 治疗转移性宫颈癌的疗效,患者需之前接受过铂类化疗或放疗,再接受单次输注肿瘤浸润性 T 细胞治疗,结果显示:9 名患者中有 3 名对疗法产生响应,其中 2 例表现出持久缓解(分别为 22、15 个月)<sup>[90]</sup>。另外,杨怡等用 DC-CIK 治疗 60 例宫颈癌患者,结果显示与治疗前相比,患者的淋巴细胞亚群的数量如 CD3<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD56<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> 较治疗前显著升高。颗粒酶 B 和穿孔素的表达量显著上调;患者的 KPS 评分明显改善( $P<0.01$ ),疼痛评分明显降低 ( $P<0.05$ ),生活质量提高;肿

瘤标志物 SCCA 和 CA125 明显下降 ( $P<0.05$ );没有出现明显的毒副反应 ( $P<0.05$ );临床获益率能够达到 80%<sup>[91]</sup>。因此,DC-CIK 细胞免疫治疗治疗宫颈癌能使患者得到临床获益,对于促进患者微小残留病灶的清除以及防止肿瘤的复发和转移等有一定意义。

## 9 总结与展望

TME 是一个高度复杂且动态变化的环境,TILs 在不同实体瘤和不同临床分期中有着不同程度的浸润,大量研究证实了通过检测 TILs 的亚群组成、数量和区域分布情况对于实体瘤预后具有重要价值。

目前在不同实体瘤中 T 细胞的研究最多且研究体系较为成熟。且不论是在肿瘤基质,瘤内还是癌旁/周,CD45<sup>+</sup> T 细胞和 CD8<sup>+</sup> T 细胞的浸润大多与实体瘤良好的预后相关。FOXP3<sup>+</sup> TILs 目前在不同肿瘤中的预后作用报道不一,比如结直肠癌和胃癌瘤内 FOXP3<sup>+</sup> TILs 的浸润表明患者的预后良好,而在肝癌和食管癌的报道中,FOXP3<sup>+</sup> TILs 在瘤内的浸润显示患者的预后更差;肺癌和结肠癌肿瘤基质中 FOXP3<sup>+</sup> TILs 的浸润,表明患者具有更好的预后,而在结直肠癌癌周部位 FOXP3<sup>+</sup> TILs 的浸润则显示更差的预后。因此 FOXP3<sup>+</sup> TILs 在实体瘤的预后作用仍有待进一步探究。CD66<sup>+</sup>中性粒细胞和 CD204<sup>+</sup> M2 巨噬细胞在瘤内浸润均与宫颈癌不良的预后相关。因此,多个指标的联合使用,用于预测肿瘤患者的预后是今后的发展方向。

不仅如此,抗肿瘤的 TILs 介导的过继性免疫治疗方法已在多种实体瘤中取得了良好的疗效。TILs 作为效应细胞来自患者自体,其杀伤肿瘤细胞作用强。AIT 通过增强实体瘤患者免疫系统的功能,使肿瘤缩小,患者病情稳定时间可以超过数十周甚至更长时间,因此 AIT 是治疗实体瘤患

者非常有前景的治疗方法。但 TILs 在实体瘤临床治疗中仍然存在一些问题：①其治疗对象有一定的限制。患者如果具有严重的自身免疫性疾病、脏器移植病史、哺乳期或妊娠期内、对细胞因子过敏、罹患 T 淋巴细胞瘤等情况中的一种或几种时，是不适于接受 AIT 的。②AIT 过程中免疫活性细胞的制备、扩增、回输等环节复杂，可能免疫效应产生之前对治疗效果发生显著影响。目前不同种类免疫活性细胞的制备就无统一的标准，不同研究单位选用的材料、方法不同，细胞扩增后细胞的数量和质量无法保障，这也是当前临床试验需要解决的问题。③在不同肿瘤类型中，AIT 还存在缺乏合适的肿瘤特异性靶标的问题，寻找如 EGFRvIII 和 CD19 这样的特异性靶点是提高 AIT 治疗实体瘤有效性和安全性的重要手段。

综上，TILs 过继治疗与传统治疗（如手术和放疗）和新兴疗法（免疫检查点抑制剂和基因改造）联合是未来临床治疗的发展趋势。不同肿瘤中 TILs 亚群及功能的进一步研究鉴定，是开发肿瘤免疫治疗新方法的基础。

## REFERENCES

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394–424.
- [2] Chen WQ, Sun KX, Zheng RS, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2014. *Chin J Cancer Res*, 2018, 30(1): 1–12.
- [3] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 2011, 144(5): 646–674.
- [4] Sasada T, Suekane S. Variation of tumor-infiltrating lymphocytes in human cancers: controversy on clinical significance. *Immunotherapy*, 2011, 3(10): 1235–1251.
- [5] Joyce JA, Pollard JW. Microenvironmental regulation of metastasis. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9(4): 239–252.
- [6] Quail DF, Joyce JA. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis. *Nat Med*, 2013, 19(11): 1423–1437.
- [7] Biswas SK, Mantovani A. Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets: cancer as a paradigm. *Nat Immunol*, 2010, 11(10): 889–896.
- [8] Lauerova L, Dusek L, Simickova M, et al. Malignant melanoma associates with Th1/Th2 imbalance that coincides with disease progression and immunotherapy response. *Neoplasma*, 2002, 49(3): 159–166.
- [9] Galon J, Angell HK, Bedognetti D, et al. The continuum of cancer immunosurveillance: prognostic, predictive, and mechanistic signatures. *Immunity*, 2013, 39(1): 11–26.
- [10] Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, et al. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science*, 2006, 313(5795): 1960–1964.
- [11] 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. *Nat Med*, 2018, 24(7): 986–993.
- [12] Van Den Eynde M, Mlecnik B, Bindea G, et al. The link between the multiverse of immune microenvironments in metastases and the survival of colorectal cancer patients. *Cancer Cell*, 2018, 34(6): 1012–1026.
- [13] Sade-Feldman M, Yizhak K, Bjorgaard SL, et al. Defining T cell states associated with response to checkpoint immunotherapy in melanoma. *Cell*, 2018, 175(4): 998–1013.e20.
- [14] Zhang L, Yu X, Zheng LT, et al. Lineage tracking reveals dynamic relationships of T cells in colorectal cancer. *Nature*, 2018, 564(7735): 268–272.
- [15] Chiou SH, Sheu BC, Chang WC, et al. Current concepts of tumor-infiltrating lymphocytes in human malignancies. *J Reprod Immunol*, 2005, 67(1/2): 35–50.
- [16] Pagès F, Mlecnik B, Marliot F, et al. International validation of the consensus Immunoscore for the classification of colon cancer: a prognostic and accuracy study. *Lancet*, 2018, 391(10135): 2128–2139.
- [17] Galon J, Mlecnik B, Bindea G, et al. Towards the introduction of the ‘Immunoscore’ in the classification of malignant tumours. *J Pathol*, 2013,

- 232(2): 199–209.
- [18] Topalian SL, Solomon D, Avis FP, et al. Immunotherapy of patients with advanced cancer using tumor-infiltrating lymphocytes and recombinant interleukin-2: a pilot study. *J Clin Oncol*, 1988, 6(5): 839–853.
- [19] Draghiciu O, Nijman HW, Daemen T. From tumor immunosuppression to eradication: targeting homing and activity of immune effector cells to tumors. *Clin Dev Immunol*, 2011, 2011: 439053.
- [20] Wang QJ, Wang H, Pan K, et al. Comparative study on anti-tumor immune response of autologous cytokine-induced killer (CIK) cells, dendritic cells-CIK (DC-CIK), and semi-allogeneic DC-CIK. *Chin J Cancer*, 2010, 29(7): 641–648.
- [21] Wang M, Cao JX, Pan JH, et al. Adoptive immunotherapy of cytokine-induced killer cell therapy in the treatment of non-small cell lung cancer. *PLoS ONE*, 2014, 9(11): e112662.
- [22] Rosenberg S, Spiess P, Lafreniere R. A new approach to the adoptive immunotherapy of cancer with tumor-infiltrating lymphocytes. *Science*, 1986, 233(4770): 1318–1321.
- [23] Rosenberg SA, Restifo NP. Adoptive cell transfer as personalized immunotherapy for human cancer. *Science*, 2015, 348(6230): 62–68.
- [24] Dudley ME, Wunderlich JR, Robbins PF, et al. Cancer regression and autoimmunity in patients after clonal repopulation with antitumor lymphocytes. *Science*, 2002, 298(5594): 850–854.
- [25] Pandey V, Oyer JL, Igarashi RY, et al. Anti-ovarian tumor response of donor peripheral blood mononuclear cells is due to infiltrating cytotoxic NK cells. *Oncotarget*, 2016, 7(6): 7318–732.
- [26] Goding SR, Yu SH, Bailey LM, et al. Adoptive transfer of natural killer cells promotes the anti-tumor efficacy of T cells. *Clin Immunol*, 2017, 177: 76–86.
- [27] Zhang GQ, Zhao H, Wu JY, et al. Adoptive immunotherapy for non-small cell lung cancer by NK and cytotoxic T lymphocytes mixed effector cells: retrospective clinical observation. *Int Immunopharmacol*, 2014, 21(2): 396–405.
- [28] Baggio L, Laureano AM, da RochaSilla LM, et al. Natural killer cell adoptive immunotherapy: coming of age. *Clin Immunol*, 2017, 177: 3–11.
- [29] Fesnak AD, June CH, Levine BL. Engineered T cells: the promise and challenges of cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer*, 2016, 16(9): 566–581.
- [30] Xia AL, Wang XC, Lu YJ, et al. Chimeric-antigen receptor T (CAR-T) cell therapy for solid tumors: challenges and opportunities. *Oncotarget*, 2017, 8(52): 90521–90531.
- [31] Debets R, Donnadieu E, Chouaib S, et al. TCR-engineered T cells to treat tumors: Seeing but not touching? *Semin Immunol*, 2016, 28(1): 10–21.
- [32] Johnson LA, June CH. Driving gene-engineered T cell immunotherapy of cancer. *Cell Res*, 2017, 27(1): 38–58.
- [33] Morgan RA, Yang JC, Kitano M, et al. Case report of a serious adverse event following the administration of t cells transduced with a chimeric antigen receptor recognizing ERBB2. *Mol Ther*, 2010, 18(4): 843–851.
- [34] Neelapu SS, Tummala S, Kebriaei P, et al. Chimeric antigen receptor T-cell therapy-assessment and management of toxicities. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(1): 47–62.
- [35] Lim WA, June CH. The principles of engineering immune cells to treat cancer. *Cell*, 2017, 168(4): 724–740.
- [36] Grada Z, Hegde M, Byrd T, et al. TanCAR: a novel bispecific chimeric antigen receptor for cancer immunotherapy. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2013, 2(7): e105.
- [37] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2017. *CA Cancer J Clin*, 2017, 67(1): 7–30.
- [38] Kim CH, Lee YC, Hung RJ, et al. Exposure to secondhand tobacco smoke and lung cancer by histological type: a pooled analysis of the International Lung Cancer Consortium (ILCCO). *Int J Cancer*, 2014, 135(8): 1918–1930.
- [39] Al-Shibli K, Al-Saad S, Andersen S, et al. The prognostic value of intraepithelial and stromal CD3<sup>+</sup>, CD117<sup>+</sup> and CD138<sup>+</sup> positive cells in non-small cell lung carcinoma. *APMIS*, 2010, 118(5): 371–382.
- [40] Renaud S, Seitlinger J, St-Pierre D, et al. Prognostic



- value of neutrophil to lymphocyte ratio in lung metastasectomy for colorectal cancer. *Eur J Cardio-Thorac Surg*, 2019, 55(5): 948–955.
- [41] Geng YT, Shao Y, He WT, et al. Prognostic role of tumor-infiltrating lymphocytes in lung cancer: a meta-analysis. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 37(4): 1560–1571.
- [42] Zeng DQ, Yu YF, Ou QY, et al. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes for clinical therapeutic research in patients with non-small cell lung cancer. *Oncotarget*, 2016, 7(12): 13765–13781.
- [43] Ratto GB, Zino P, Mirabelli S et al. A randomized trial of adoptive immunotherapy with tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin-2 versus standard therapy in the postoperative treatment of resected nonsmall cell lung cancer. *Cancer*, 1996, 78(2): 244–251.
- [44] Kradin RL, Boyle LA, Preffer FI et al. Tumor-derived interleukin-2-dependent lymphocytes in adoptive immunotherapy of lung cancer. *Cancer Immunol Immunoth*, 1987, 24(1): 76–85.
- [45] 李东复, 张兴义, 宋玉芳, 等. 肺癌术后患者肿瘤浸润淋巴细胞回输的临床疗效观察. *中华肿瘤杂志*, 1995, 17(2): 152–155.
- [46] Cai XY, Gao Q, Qiu SJ et al. Dendritic cell infiltration and prognosis of human hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2006, 132(5): 293–301.
- [47] Zhang JP, Yan J, Xu J, et al. Increased intratumoral IL-17-producing cells correlate with poor survival in hepatocellular carcinoma patients. *J Hepatol*, 2009, 50(5): 980–989.
- [48] Wang Y, Lin HC, Huang MY, et al. The Immunoscore system predicts prognosis after liver metastasectomy in colorectal cancer liver metastases. *Cancer Immunol Immunother*, 2017, 67(3): 435–444.
- [49] Ding W, Xu XZ, Qian Y, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in hepatocellular carcinoma: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*, 2018, 97(50): e13301.
- [50] Désert R, Rohart F, Canal F, et al. Human hepatocellular carcinomas with a periportal phenotype have the lowest potential for early recurrence after curative resection. *Hepatology*, 2017, 66(5): 1502–1518.
- [51] Pan K, Li YQ, Wang W, et al. The efficacy of cytokine-induced killer cell infusion as an adjuvant therapy for postoperative hepatocellular carcinoma patients. *Ann Surg Oncol*, 2013, 20(13): 4305–4311.
- [52] Jiang SS, Tang Y, Zhang YJ, et al. A phase I clinical trial utilizing autologous tumor-infiltrating lymphocytes in patients with primary hepatocellular carcinoma. *Oncotarget*, 2015, 6(38): 41339–41349.
- [53] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(2): 87–108.
- [54] Chen WQ, Zheng RS, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115–132.
- [55] Kim JH, Kang GH. Molecular and prognostic heterogeneity of microsatellite-unstable colorectal cancer. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(15): 4230–4243.
- [56] Kim KJ, Lee KS, Cho HJ, et al. Prognostic implications of tumor-infiltrating FoxP3<sup>+</sup> regulatory T cells and CD8<sup>+</sup> cytotoxic T cells in microsatellite-unstable gastric cancers. *Human Pathol*, 2014, 45(2): 285–293.
- [57] Yu PC, Long D, Liao CC, et al. Association between density of tumor-infiltrating lymphocytes and prognoses of patients with gastric cancer. *Medicine*, 2018, 97(27): e11387.
- [58] Peng Z, Liang WT, Li ZX, et al. Interleukin-15-transferred cytokine-induced killer cells elevated anti-tumor activity in a gastric tumor-bearing nude mice model. *Cell Biol Int*, 2016, 40(2): 204–213.
- [59] Mu Y, Wang WH, Xie JP, et al. Efficacy and safety of cord blood-derived dendritic cells plus cytokine-induced killer cells combined with chemotherapy in the treatment of patients with advanced gastric cancer: a randomized Phase II study. *Onco Targets Ther*, 2016, 9: 4617–4627.
- [60] Kochenderfer JN, Rosenberg SA. Treating B-cell cancer with T cells expressing anti-CD19 chimeric

- antigen receptors. *Nat Rev Clin Oncol*, 2013, 10(5): 267–276.
- [61] Xu XJ, Zhao HZ, Tang YM. Efficacy and safety of adoptive immunotherapy using anti-CD19 chimeric antigen receptor transduced T-cells: a systematic review of phase I clinical trials. *Leuk Lymphoma*, 2013, 54(2): 255–260.
- [62] Gill S, Porter DL. CAR-modified anti-CD19 T cells for the treatment of B-cell malignancies: rules of the road. *Expert Opin Biol Ther*, 2014, 14(1): 37–49.
- [63] Gross G, Gorochov G, Waks T, et al. Generation of effector T cells expressing chimeric T cell receptor with antibody type-specificity. *Transplant Proc*, 1989, 21(1 Pt 1): 127–130.
- [64] Arakawa F, Shibaguchi HZ, Xu ZW, et al. Targeting of T cells to CEA-expressing tumor cells by chimeric immune receptors with a highly specific single-chain anti-CEA activity. *Anticancer Res*, 2002, 22(6C): 4285–4289.
- [65] Liu XQ, Sun ML, Yu S, et al. Potential therapeutic strategy for gastric cancer peritoneal metastasis by NKG2D ligands-specific T cells. *Onco Targets Ther*, 2015, 8: 3095–3104.
- [66] Zhang DX, Zhao PT, Xia L, et al. Potent inhibition of human gastric cancer by HER2-directed induction of apoptosis with anti-HER2 antibody and caspase-3 fusion protein. *Gut*, 2010, 59(3): 292–299.
- [67] Allemani C, Matsuda T, Di Carlo V, et al. Global surveillance of trends in cancer survival 2000–14 (CONCORD-3): analysis of individual records for 37 513 025 patients diagnosed with one of 18 cancers from 322 population-based registries in 71 countries. *Lancet*, 2018, 391(10125): 1023–1075.
- [68] 顾向森, 周凯, 何小勇, 等. 食管癌合并脉管瘤栓的相关因素分析. *外科研究与新技术*, 2016, 5(2): 108–110.
- [69] Chen KY, Zhu ZY, Zhang N, et al. Tumor-infiltrating CD4<sup>+</sup> lymphocytes predict a favorable survival in patients with operable esophageal squamous cell carcinoma. *Med Sci Monit*, 2017, 23: 4619–4632.
- [70] Zheng X, Song X, Shao YJ, et al. Prognostic role of tumor-infiltrating lymphocytes in gastric cancer: a meta-analysis. *Oncotarget*, 2017, 8(34): 57386–57398.
- [71] Fujiwara S, Wada H, Miyata H, et al. Clinical trial of the intratumoral administration of labeled DC combined with systemic chemotherapy for esophageal cancer. *J Immunother*, 2012, 35(6): 513–521.
- [72] Toh U, Sudo T, Kido K, et al. Locoregional adoptive immunotherapy resulted in regression in distant metastases of a recurrent esophageal cancer. *Int J Clin Oncol*, 2002, 7(6): 372–375.
- [73] Naito Y, Saito K, Shiiba K, et al. CD8<sup>+</sup> T cells infiltrated within cancer cell nests as a prognostic factor in human colorectal cancer. *Cancer Res*, 1998, 58(16): 3491–3494.
- [74] Salama P, Phillips M, Grieco F, et al. Tumor-infiltrating FOXP3<sup>+</sup> T regulatory cells show strong prognostic significance in colorectal cancer. *J Clin Oncol*, 2009, 27(2): 186–192.
- [75] Zhao YM, Ge XX, He JW, et al. The prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in colorectal cancer differs by anatomical subsite: a systematic review and meta-analysis. *World J Surg Oncol*, 2019, 17: 85.
- [76] Ishikawa T, Okayama T, Sakamoto N, et al. Phase I clinical trial of adoptive transfer of expanded natural killer cells in combination with IgG1 antibody in patients with gastric or colorectal cancer. *Int J Cancer*, 2018, 142(12): 2599–2609.
- [77] 范钰, 卫菲菲, 方娜, 等. 树突状细胞-细胞因子诱导的杀伤细胞免疫治疗联合化疗对转移性结直肠癌患者血清微小 RNA-21 和微小 RNA-106a 的影响. *中华实验外科杂志*, 2015, 32(7): 1698–1700.
- [78] 张卫平. DC-CIK 过继免疫疗法联合化疗治疗晚期结直肠癌临床观察. *实用中西医结合临床*, 2017, 17(4): 47–48.
- [79] 翁海光, 沈冬, 茅卫东, 等. DC-CIK 过继免疫治疗联合化疗治疗晚期结直肠癌的临床研究. *浙江医学*, 2015, 37(8): 625–629.
- [80] Zhang CC, Wang Z, Yang Z, et al. Phase I escalating-dose trial of CAR-T therapy targeting CEA<sup>+</sup> metastatic colorectal cancers. *Mol Ther*, 2017, 25(5): 1248–1258.
- [81] Savas P, Salgado R, Denkert C, et al. Clinical relevance of host immunity in breast cancer: from

- TILs to the clinic. *Nat Rev Clin Oncol*, 2016, 13(4): 228–241.
- [82] Loi S, Drubay D, Adams S, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes and prognosis: a pooled individual patient analysis of early-stage triple-negative breast cancers. *J Clin Oncol*, 2019, 37(7): 559–569.
- [83] Mori H, Kubo M, Kai M, et al. T-bet<sup>+</sup> lymphocytes infiltration as an independent better prognostic indicator for triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 2019, 176(3): 569–577.
- [84] Savas P, Virassamy B, Ye CZ, et al. Publisher Correction: Single-cell profiling of breast cancer T cells reveals a tissue-resident memory subset associated with improved prognosis. *Nat Med*, 2018, 24(12): 1941.
- [85] Domschke C, Ge YZ, Bernhardt I, et al. Long-term survival after adoptive bone marrow T cell therapy of advanced metastasized breast cancer: follow-up analysis of a clinical pilot trial. *Cancer Immunol Immunother*, 2013, 62(6): 1053–1060.
- [86] Williams AD, Payne KK, Posey AD Jr, et al. Immunotherapy for breast cancer: current and future strategies. *Curr Surg Rep*, 2017, 5(12): 31.
- [87] 李东川, 肖正华, 陈宇宁. 某地区宫颈癌患者 HPV 流行病学调查. *检验医学与临床*, 2014, (17): 2423–2424.
- [88] Carus A, Ladekarl M, Hager H, et al. Tumour-associated CD66b<sup>+</sup> neutrophil count is an independent prognostic factor for recurrence in localised cervical cancer. *Br J Cancer*, 2013, 108(10): 2116–2122.
- [89] Kawachi A, Yoshida H, Kitano S, et al. Tumor-associated CD204<sup>+</sup> M2 macrophages are unfavorable prognostic indicators in uterine cervical adenocarcinoma. *Cancer Sci*, 2018, 109(3): 863–870.
- [90] Stevanović S, Draper LM, Langan MM, et al. Complete regression of metastatic cervical cancer after treatment with human papillomavirus-targeted tumor-infiltrating T cells. *J Clin Oncol*, 2015, 33(14): 1543–1550.
- [91] 杨怡. DC-CIK 治疗 60 例宫颈癌的临床研究[D]. 贵州: 贵州医科大学, 2017.

(本文责编 郝丽芳)