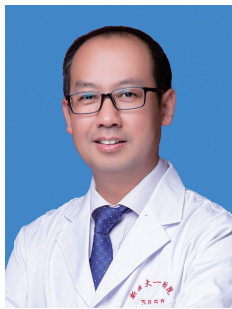


三级淋巴结构在口腔癌中的特征及意义

李晨曦^{1,2,3} 谭小容^{1,2} 魏巍^{1,2} 李慕秋^{1,2} 龚忠诚^{1,2}

¹新疆医科大学第一附属医院(附属口腔医院)口腔颌面肿瘤外科,乌鲁木齐 830054; ²新疆维吾尔自治区口腔医学研究所,乌鲁木齐 830054; ³华中科技大学同济医学院附属协和医院 口腔医学中心,口腔颌面发育与再生湖北省重点实验室,武汉 430022

通信作者:龚忠诚,Email:gump0904@aliyun.com



龚忠诚

【摘要】 三级淋巴结构(TLS)

是出生后在非淋巴组织中形成的免疫细胞有组织的聚集体。TLS不存于生理条件,而是在包括自身免疫性疾病、慢性感染和癌症等慢性炎症环境下出现。在癌症进展情况下,TLS促进免疫细胞涌入癌症发生部位,因此作为提高患者抗癌免疫力和良好治疗反应的一种手段而引起了学术界的兴趣,但其

形成的驱动因素,以及这些结构对肿瘤内免疫反应的贡献仍不完全清楚。笔者综述了TLS的生物学表现并概述了TLS在口腔癌研究的最新进展。

【关键词】 肿瘤微环境; 口腔肿瘤; 癌,鳞状细胞; 免疫治疗; 肿瘤免疫

基金项目:国家自然科学基金(82360481);口腔颌面发育与再生湖北省重点实验室开放课题基金(2022kqhm008);新疆维吾尔自治区科研创新项目(XJ2023G174)

引用著录格式:李晨曦,谭小容,魏巍,等.三级淋巴结构在口腔癌中的特征及意义[J/OL].中华口腔医学研究杂志(电子版),2023,17(5):315-321.

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2023.05.001

Characteristics and significance of tertiary lymphoid structures in oral cancer

Li Chenxi^{1,2,3}, Tan Xiaorong^{1,2}, Wei Wei^{1,2}, Li Muqiu^{1,2}, Gong Zhongcheng^{1,2}

¹Oncological Department of Oral and Maxillofacial Surgery, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, School/Hospital of Stomatology Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China; ²Stomatological Research Institute of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830054, China; ³Hubei Province Key Laboratory of Oral and Maxillofacial Development and Regeneration, School of Stomatology, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology,

Wuhan 430022, China

Corresponding author: Gong Zhongcheng, Email:gump0904@aliyun.com

【Abstract】 Tertiary lymphoid structures (TLSs) are organized aggregates of immune cells that form postnatally in nonlymphoid tissues. TLSs are not found under physiological conditions but arise in the context of chronic inflammation, such as autoimmune diseases, chronic infection, and cancer. In the setting of cancer development, TLSs facilitate the influx of immune cells into the cancer site and have therefore attracted interest as a means of improving anticancer immunity and favorable treatment response in patients. In spite of their presumed importance, the drivers of TLSs formation in cancer and the contribution of these structures to intratumoral immune response remain incompletely understood. In this article, the biology of TLSs and their recent advances in oral cancer research were reviewed.

【Key words】 Tumor microenvironment; Mouth neoplasms; Carcinoma, squamous cell; Immunotherapy; Cancer immunology

Fund programs: National Natural Science Foundation of China (82360481); Open Project of Hubei Province Key Laboratory of Oral and Maxillofacial Development and Regeneration (2022kqhm008); Xinjiang Postgraduate Scientific Research Innovation Project (XJ2023G174)

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2023.05.001

免疫系统在癌症的发生和发展中起着关键作用。尽管阻断免疫检查点已被证明能有效改善多种肿瘤类型的抗肿瘤免疫反应,但肿瘤免疫疗法仍面临诸多挑战^[1]。淋巴器官样结构,也称为三级淋巴结构(tertiary lymphoid structure, TLS)或异位淋巴结构(ectopic lymphoid structure, ELS),是一种淋巴器官新生的结果,已在癌症中被发现^[2]。TLS在肿

瘤组织中可驱动免疫细胞活化,促进免疫细胞侵入实体瘤,在癌症发生部位表现出有序的淋巴滤泡,并与免疫治疗更好的预后和临床结果相关,表明TLS可作为癌症免疫微环境重要的调节剂。然而,癌症中TLS形成的驱动因素,以及这些结构对肿瘤内免疫反应的贡献仍不完全清楚^[1,3,4]。

目前,学术界对口腔癌中TLS的研究尚处于早期阶段。少量文献已经表明,这些组织结构对口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)患者的病理结果和临床预后都有重要影响。OSCC组织中,TLS的存在与更强的抗肿瘤微环境、更好的预后和更高的生存率有关,具有TLS的患者与没有TLS的患者其病理行为也截然不同^[4]。为了理解为什么TLS对OSCC患者能产生如此重大的影响,以及这个过程是如何发挥保护性作用的,需要深入了解TLS的病理生理学背景。本文总结了OSCC中这一现象的现有数据,详细阐述TLS是如何被检测和定义的,其在OSCC中的形成机制,以及靶向TLS以获得治疗益处的潜力。

一、三级淋巴结构的组成

TLS在解剖学上类似于次级淋巴器官(secondary lymphoid organ, SLO),最初认为两者的形成在很大程度上是由相同的刺激因素诱导的。然而,诱导两者形成的细胞池和信号并不完全相同^[5]。TLS有一个被CD3⁺T细胞包围CD20⁺B细胞形成的区域,类似于SLO中的淋巴滤泡,这是TLS的一个重要特征^[6]。TLS的具体组成可能不同,但通常情况下T细胞群中的优势亚群为CD4⁺T滤泡辅助细胞(T_{FH})^[7],也存在CD8⁺细胞毒性T细胞、CD4⁺辅助性T细胞1(Th1)和调节性T细胞(T_{reg})^[8-10]。TLS相关的免疫细胞大部分由B细胞和T细胞群组成,或由不同的树突状细胞(dendritic cell, DC)群构成。其中,来源于间充质的CD21⁺滤泡树突状细胞(follicular dendritic cell, FDC)在SLO生发中心(germinal center, GC)记忆B细胞的选择中起着关键作用^[11];CD83⁺成熟DC主要定位于T细胞区,在一些研究中也被称为树突状细胞溶酶体相关膜蛋白(dendritic cell-lysosomal associated membrane protein, DC-LAMP)DC^[10,12]。滤泡还包含一些分散的CD68⁺巨噬细胞,用于清除凋亡细胞,这与其在SLO中的作用相似^[13]。类似于SLO中的滤泡网状细胞(follicular reticular cell, FRC)所形成的基质网络,也有一些致密的基质网络将TLS锚定在慢性炎症组织部位^[14]。最后,外周淋巴结地址素

(peripheral node addressin, PNA)阳性的内皮微静脉(high endothelial venule, HEV)为TLS提供了特殊的脉管系统,介导淋巴细胞的募集^[11]。不同免疫细胞在头颈部鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC)TLS中的组成图像可以通过多标记免疫荧光染色及Vectra多光谱成像技术精准呈现^[15]。肿瘤中TLS组成和标志物见表1。

表1 肿瘤中三级淋巴结构(TLS)的组成和标志物

| 项目类别 | 结构/细胞 | 标志物 |
|--------------|----------|--------------------------------|
| 常见内容 | 高内皮微静脉 | 无特异性,MECA-79 |
| | 树突状细胞 | DC-LAMP |
| | B细胞 | CD20 |
| | T细胞 | CD3 |
| 可能组成部分 | 生发中心 | Ki-67 |
| | 增殖性B细胞 | Ki-67 |
| 与TLS相关的其他标志物 | 滤泡辅助性T细胞 | CD4, CXCR5, CD40L, IL-21, IL-6 |
| | 趋化因子 | CCL-2, 3, 4, 5, 8, 18, 19, 21 |
| | 细胞毒性T细胞 | CXCL-9, 10, 11, 13 |
| | 调节性T细胞 | CD8 |
| | 内皮细胞 | FOXP3 |
| | 滤泡树突状细胞 | CD31 |
| | 成熟B细胞 | CD23 |

二、三级淋巴结构形成的驱动因素

SLO遍布全身各处,包括淋巴结、扁桃体、脾脏、派氏斑(Peyer patch)和黏膜相关淋巴组织。如此广泛的分布使得SLO允许免疫系统从不同组织中提取抗原,并将不同免疫细胞汇集于此,从而促进诱导适应性免疫反应。在持续的慢性炎症状态下,淋巴组织会发生结外播种并最终在炎症部位形成TLS。TLS显示出与SLO明显的解剖相似性,尽管大多数组织中的TLS都缺乏周围富含胶原蛋白的纤维包膜^[16]。TLS包膜的缺失使其细胞组分可以直接进入周围组织,从而可能使驻留在TLS中的免疫细胞直接暴露于炎症微环境中的大分子。最初认为,TLS和SLO的形成是由相同的分子机制诱导的,它们都具有淋巴毒素(lymphotoxin, LT) α 1 β 2-LT β R信号传导及黏附分子和淋巴趋化因子的局部表达作用,但所涉及的细胞成分并不完全相同,至少有一部分涉及TLS形成的细胞的组成是与SLO不同的,且驱动TLS生成的关键因素仍有待研究^[5]。重要的是,引起TLS形成的细胞和分子机制大多是在自身免疫性疾病和慢性感染的模型中获得的,因此只能算得上是关于肿瘤组织中TLS形成的假说。关于

表2 肿瘤微环境中三级淋巴结构(TLS)的可能驱动因素及其分子机制

| 驱动方式 | 具体表现 | 参考文献 |
|---------|--|---------|
| LTi细胞 | LTi细胞是CD4 ⁺ /CD3 ⁺ /CD45 ⁺ 先天性淋巴样细胞,表达ROR γ t和Id2转录因子,LTi细胞聚集后,依赖于TNF家族成员启动TLS形成的初始步骤。随后CCL19 ⁺ 和(或)CCL21 ⁺ FRC和CXCL13 ⁺ FDC共同调节表达相应CCR7和CXCR5的淋巴细胞募集到淋巴生态位,以及调控HEV的血管形成,从而允许形成T细胞区和B细胞区。 | [17-19] |
| 替代LTi细胞 | Th17细胞、ILC3、CD8 ⁺ T细胞、自然杀伤细胞、B细胞和巨噬细胞均可能替代癌症中的LTi细胞,其中T细胞产生的IL-17可诱导基质细胞表达CXCL13和CCL19,从而促进淋巴组织的形成。但是,这些淋巴聚集物中的T和B细胞区没有间隔,且缺乏HEV。因此,通常认为这是不正常的TLS。 | [20-25] |
| 替代LTo细胞 | 肿瘤内CAF群可作为LTo细胞产生CXCL13、CCL19、CCL21等淋巴趋化因子和BAFF、IL-7、April等生存因素诱导形成TLS。 | [14,23] |

注:LTi为淋巴组织诱导者;LTo为淋巴组织的组织者;FDC为滤泡树突状细胞;FRC为滤泡网状细胞;ILC3为3型固有淋巴细胞;CAF为癌症相关成纤维细胞。

TLS的上游启动信号机制,目前为止尚不清楚是否需要造血淋巴组织诱导(lymphatic tissue inducer, LTi)细胞启动局部间充质积累,或者局部积累的免疫细胞是否可以替代LTi细胞。除此之外,某些免疫细胞和基质细胞可能具有间充质淋巴组织的组织者(lymphatic tissue organizer, LTo)细胞的功能,并有助于TLS的形成和(或)维持。与LTi细胞和LTo细胞邻近的HEV还可以通过血管地址素的表达调节淋巴细胞的浸润,并能调控招募淋巴细胞的类型,因此其在TLS的形成中也发挥着重要的作用。TLS形成的可能分子通路详见表2。值得注意的是,虽然已经鉴定出了许多在肿瘤微环境中与TLS形成相关的因素,但少有研究可以证明局部环境中哪些因子利于TLS形成,而哪些因子又不利于TLS形成。研究发现,在某些肿瘤微环境中也会缺乏抗原等TLS形成的必要驱动因素,使得TLS的形成明显受到抑制,这种环境即所谓的“不充分的组织环境(inadequate tissue environments)”^[5]。

三、口腔鳞状细胞癌中三级淋巴结构的评估方法

TLS的定义很可能需要针对不同的癌症进行调整^[5,26]。通常OSCC微环境中的TLS包含HEV、DC-LAMP⁺细胞、CD20⁺B细胞和CD3⁺T细胞,但可能包括或不包括活性GC、增殖性B细胞或T_{fh}^[27-29]。此外,一些研究还认为以下1种或全部是TLS的必要/互补标志物:CD4、CD8、CD31、CD23、CD163和FOXP3^[26,29]。检测和量化OSCC组织中TLS的方法如下:

1. 苏木精-伊红染色:是最基本的组织学分析方法,可识别具有GC的TLS,但无法区分未明确B/T细胞区域边界的或形成不良的TLS结构与其他非TLS淋巴细胞聚集^[30]。

2. H-DAB+AP染色:H-DAB+AP单标记或双标记形态学染色可增加将普通淋巴细胞聚集与TLS鉴别的准确性,缺点是仅可推断但不能量化TLS的表型组成^[31]。

3. 免疫荧光染色:确定成熟TLS组织结构的常规方法,除可识别出B/T细胞外,还可显示Ki-67⁺细胞、淋巴管和FDC的存在^[32]。

4. 多重免疫组化+组织细胞计数:辅以组织细胞分析的方法允许免疫组化技术使用所有可用的标志物对细胞进行高特异性的表型鉴定,并通过机器学习高通量定量各感兴趣区域的表征关系^[33]。

5. 激光捕获显微切割(laser capture microdissection, LCM)+RNA测序:该方法支持TLS组织的特异性靶向,在下游分析中去除混杂的非TLS RNA序列,比较两者的分子图谱,但LCM设备要求高、操作耗时^[34-35]。

6. 流式细胞术:该方法的样本为OSCC组织的单细胞悬液,虽然很难确定免疫细胞是否源于TLS区域,然而若能确保组织样本中不存在淋巴结和使用标志物来识别主要存在于淋巴滤泡中的细胞群,则可以检测样本中TLS的存在。尤其是其中关键细胞(如Ki-67⁺B细胞)的相对比例也可以用这种方法进行评估^[32]。

7. 空间转录组学:基于有限选择的标志物来选择组织切片上的感兴趣区域,并对大量RNA或蛋白质进行转录组分析,但无论是GeoMx还是10× Genomics技术都需要资深专业技术人员进行^[36-37]。OSCC中TLS基因标志物的特点详见表3。

四、三级淋巴结构对抗口腔鳞状细胞癌特异性免疫反应的调控

越来越多的证据表明,TLS中可以产生或增强适应性免疫反应。在TLS中,B细胞的一个主要效

表3 口腔鳞状细胞癌(OSCC)组织中三级淋巴结构(TLS)的基因标志物

| 标志物分子 | 作用特点 | 参考文献 |
|--------------------------|--|------|
| IL-7、LTβ、CXCL13 | 只有IL-7、LTβ、CXCL13在TLS ⁺ 中的表达较TLS ⁻ 更强,而其他编码炎症细胞因子和趋化因子的基因如IL-1B、IL-6、TNF、IFNG、CXCL1、CXCL9、CXCL10、CXCL11、CCL2、CCL3、CCL5、CCL19和CCL21在新生TLS中未发现有明显改变。 | [27] |
| CCL19、CCL21、CXCL12 | 包含TLS的主要标志物HEV ⁺ 的标本中CCL19、CCL21、CXCL12的表达显著高于HEV ⁻ 的标本。 | [38] |
| CCR7、LTβ、CTLA4、TIM3、LAG3 | TCF7 ⁺ T细胞位于TLS内及周围,且TCF7 ⁺ T细胞组中TLS相关基因表达水平较高,其中CCR7、LTβ为高表达;CTLA4、TIM3、LAG3为低表达。 | [39] |
| CCL20、CCR6 | 缺乏TLS即HEV ⁻ 的标本中CCL20出现高表达,CCL20招募表达CCR6的细胞及调节性T细胞,而肿瘤细胞也表达CCR6,因此CCL20被认为和肿瘤的出现及转移有关,阻碍抗肿瘤的免疫反应。是否可以据此推断如果在OSCC肿瘤标本中检测出CCL20则预示着TLS的消失及肿瘤的进展。 | [40] |

应功能是产生与疾病相关的抗体,后者可以与表达抗原的APC结合,进而介导调理补体介导的裂解或抗体依赖的细胞毒性作用^[41]。尚不清楚OSCC中TLS到底是主要通过再激活或重塑效应T细胞,还是通过支持初始T细胞的启动来发挥作用的。有研究报道,在TLS形成的早期阶段会招募效应T细胞,这在一定程度上反映了效应T细胞在TLS生成中的作用^[14]。值得注意的是,这些初始T细胞确实会进行原位增殖,与局部免疫反应的启动一致。而在缺乏淋巴结的LTα缺陷小鼠模型中,TLS可以在没有SLO的条件下诱导T、B细胞反应,表明TLS可以原位复制SLO的功能^[42-44]。虽然还无法得知TLS在OSCC的具体功能,不过一些模型研究证明,在慢性炎症、感染或癌症部位产生的TLS可能有一些积极作用:(1)T、B细胞群的局部启动绕过了DC和淋巴细胞进出SLO的过程,所以可能会产生更快速的免疫应答反应^[22];(2)局部淋巴区域的产生可能会增加疾病相关抗原和淋巴细胞接触的发生率、效率,从而诱导更强烈或更广泛的免疫应答反应;(3)拥有与炎症组织部位直接接触的淋巴区域,可能可以提供监控免疫反应的额外契机;(4)在一些TLS中存在大量功能失调的程序性死亡受体1(programmed cell death protein 1,PD-1)高表达的CD8⁺T细胞,这是一种与肿瘤免疫反应相关的表型。在此模型中,TLS不仅对诱导肿瘤免疫反应很重要,还用于维持免疫反应。TLS相关的成纤维细胞和其他细胞亚群所分泌的细胞因子能够维持TLS中淋巴细胞的稳态,也能使肿瘤反应性T细胞长期存在于肿瘤部位^[45-47]。

五、三级淋巴结构对口腔鳞状细胞癌患者的预后价值

TLS与许多癌症的良好预后相关^[6],且其预后价值通常与肿瘤的TNM分期无关^[48-50]。而且,现已证明

TLS密度及其组成的T_{FH}、滤泡B细胞、DC-LAMP⁺细胞和HEV等与许多肿瘤患者的生存率相关^[50-52]。此外,与TLS相关的多个基因表达特征也具有较好的预后价值(表3)。在肿瘤中,TLS的出现常伴随着全面增加的免疫浸润。与单独CD8⁺T细胞浸润相比,若同时存在TLS和活跃的瘤内CD8⁺T细胞浸润则预后效果更好,这也表明含有TLS的肿瘤中会产生更积极的免疫反应^[8,36,39,53]。TLS的存在与否与OSCC患者的5年无进展生存率及5年总生存率呈正相关,可作为OSCC患者的独立保护因素^[4,54],且TLS中CD8⁺T细胞和CD57⁺NK细胞的密度均显著高于TLS阴性的OSCC患者。TLS可能导致OSCC免疫微环境中产生更持久的抗肿瘤反应,因为TLS可以通过上调一系列基因增加激活效应记忆B细胞和T细胞表型^[55]。Li等^[27]研究发现,OSCC中TLS的出现与其中Ki-67和p53有关,而Ki-67/p53低评分又反应了肿瘤较低的恶性程度,从而证明了TLS的存在预示着OSCC患者的良好预后。Wang等^[28]研究也表明,在未发生淋巴结转移的早期舌鳞状细胞癌组织中存在较易被识别的未成熟TLS,包括初级和次级淋巴滤泡,同样可反应与良好的总生存率($P=0.0176$)和无进展生存率($P=0.0183$)有关。

六、总结与展望

TLS在癌症的预测方面所体现的重要价值激发了学界对这一结构作为OSCC抗肿瘤免疫治疗潜在手段的浓厚兴趣。现已有部分证据表明,TLS确实有助于增强OSCC特异性免疫反应。然而,目前仍不清楚究竟是TLS增强了SLO中产生的T细胞反应,还是TLS产生了新的T、B细胞反应。另外,诚然OSCC的TLS可通过不同的局部组织因子产生不同性质的免疫反应,但目前亦缺乏直接充足的证据证明TLS中可形成或增强免疫应答反应,且OSCC中

肿瘤浸润淋巴细胞与TLS的关系及两者的共表达在OSCC患者中能否显示出更高的预测准确性也亟待阐明。为了将TLS各生物标志物在临床预测方面的价值最大化,未来仍需要采用统一的标志物来定义和表征OSCC TLS。此外,还需要开发更多基于细胞组成、位置、成熟度和功能等方面的表征手段,以期更加全面地标准化OSCC TLS和定义“TLS状态谱”。也许在将来OSCC的免疫治疗中,可以通过阻断抑制TLS所产生的CCL20等,同时增加促进TLS产生的LT β 、CXCL13等趋化因子,达到延长患者生存时间的目的。最后,更加清晰地从分子层面定义TLS状态可以提高在OSCC预后和预测标记方面的应用意义,全面深入地理解TLS的功能和潜在的自身免疫毒性也将有助于更加客观地评估其作为OSCC治疗靶点的价值。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

作者贡献声明 李晨曦:论文设计、文献检索及筛选、文章撰写、修回、制表、获取研究经费;谭小容、魏巍:文献回顾、文章审阅及修订、整理分析并解释表格数据;李慕秋:翻译资料、文献汇总、补充文章内容;龚忠诚:研究概念、监督指导、文章审阅、获取研究经费

参 考 文 献

- [1] Zhang L, Zhou C, Zhang S, et al. Chemotherapy reinforces anti-tumor immune response and enhances clinical efficacy of immune checkpoint inhibitors [J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 939249. DOI: 10.3389/fonc.2022.939249.
- [2] Hiraoka N, Ino Y, Yamazaki-Itoh R. Tertiary lymphoid organs in cancer tissues [J]. *Front Immunol*, 2016, 7: 244. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00244.
- [3] Zhang Q, Wu S. Tertiary lymphoid structures are critical for cancer prognosis and therapeutic response [J]. *Front Immunol*, 2023, 13: 1063711. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1063711.
- [4] Almagush A, Bello IO, Elseragy A, et al. Tertiary lymphoid structures associate with improved survival in early oral tongue cancer [J]. *BMC Cancer*, 2022, 22 (1) : 1108. DOI: 10.1186/s12885-022-10208-z.
- [5] Schumacher TN, Thommen DS. Tertiary lymphoid structures in cancer [J]. *Science*, 2022, 375 (6576) : eabf9419. DOI: 10.1126/science.abf9419.
- [6] Sautès -Fridman C, Petitprez F, Calderaro J, et al. Tertiary lymphoid structures in the era of cancer immunotherapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2019, 19(6) : 307-325. DOI: 10.1038/s41568-019-0144-6.
- [7] Overacre-Delgoffe AE, Bumgarner HJ, Cillo AR, et al. Microbiota-specific T follicular helper cells drive tertiary lymphoid structures and anti-tumor immunity against colorectal cancer [J]. *Immunity*, 2021, 54 (12) : 2812 -2824.e4. DOI: 10.1016/j.immuni.2021.11.003.
- [8] Kroeger DR, Milne K, Nelson BH. Tumor -infiltrating plasma cells are associated with tertiary lymphoid structures, cytolytic T-cell responses, and superior prognosis in ovarian cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22 (12) : 3005 -3015. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-2762.
- [9] Hennequin A, Derangère V, Boidot R, et al. Tumor infiltration by Tbet⁺ effector T cells and CD20⁺ B cells is associated with survival in gastric cancer patients [J]. *Oncoimmunology*, 2015, 5 (2) : e1054598. DOI: 10.1080/2162402X.2015.1054598.
- [10] Goc J, Germain C, Vo-Bourgais 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. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-1342.
- [11] di Caro G, Bergomas F, Grizzi F, et al. Occurrence of tertiary lymphoid tissue is associated with T-cell infiltration and predicts better prognosis in early-stage colorectal cancers [J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(8) : 2147-2158. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-2590.
- [12] McMullen TP, Lai R, Dabbagh L, et al. Survival in rectal cancer is predicted by T cell infiltration of tumour-associated lymphoid nodules [J]. *Clin Exp Immunol*, 2010, 161 (1) : 81 -88. DOI: 10.1111/j.1365-2249.2010.04147.x.
- [13] Baratin M, Simon L, Jorquera A, et al. T cell zone resident macrophages silently dispose of apoptotic cells in the lymph node [J]. *Immunity*, 2017, 47(2) : 349-362.e5. DOI: 10.1016/j.immuni.2017.07.019.
- [14] Barone F, Gardner DH, Nayar S, et al. Stromal fibroblasts in tertiary lymphoid structures: A novel target in chronic inflammation [J]. *Front Immunol*, 2016, 7: 477. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00477.
- [15] Ruffin AT, Cillo AR, Tabib T, et al. B cell signatures and tertiary lymphoid structures contribute to outcome in head and neck squamous cell carcinoma [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1) : 3349. DOI: 10.1038/s41467-021-23355-x.
- [16] Ruddle NH. Lymphatic vessels and tertiary lymphoid organs [J]. *J Clin Invest*, 2014, 124(3) : 953-959. DOI: 10.1172/JCI71611.
- [17] Cupedo T, Kraal G, Mebius RE. The role of CD45⁺CD4⁺CD3⁻ cells in lymphoid organ development [J]. *Immunol Rev*, 2002, 189: 41-50. DOI: 10.1034/j.1600-065x.2002.18905.x.
- [18] Mebius RE. Organogenesis of lymphoid tissues [J]. *Nat Rev Immunol*, 2003, 3(4) : 292-303. DOI: 10.1038/nri1054.
- [19] Luther SA, Bidgol A, Hargreaves DC, et al. Differing activities of homeostatic chemokines CCL19, CCL21, and CXCL12 in lymphocyte and dendritic cell recruitment and lymphoid neogenesis [J]. *J Immunol*, 2002, 169 (1) : 424 -433. DOI: 10.4049/jimmunol.169.1.424.
- [20] Deteix C, Attuil -Audenis V, Duthey A, et al. Intra-graft Th17 infiltrate promotes lymphoid neogenesis and hastens clinical chronic rejection [J]. *J Immunol*, 2010, 184 (9) : 5344 -5351. DOI: 10.4049/jimmunol.0902999.
- [21] Carrega P, Loiacono F, di Carlo E, et al. NCR⁺ ILC3 concentrate

- in human lung cancer and associate with intratumoral lymphoid structures [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 8280. DOI: 10.1038/ncomms9280.
- [22] Peske JD, Thompson ED, Gemta L, et al. Effector lymphocyte-induced lymph node-like vasculature enables naive T-cell entry into tumours and enhanced anti-tumour immunity [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 7114. DOI: 10.1038/ncomms8114.
- [23] Rodriguez AB, Peske JD, Woods AN, et al. Immune mechanisms orchestrate tertiary lymphoid structures in tumors via cancer-associated fibroblasts [J]. *Cell Rep*, 2021, 36(3): 109422. DOI: 10.1016/j.celrep.2021.109422.
- [24] Lochner M, Ohnmacht C, Presley L, et al. Microbiota-induced tertiary lymphoid tissues aggravate inflammatory disease in the absence of ROR γ t and LT α i cells [J]. *J Exp Med*, 2011, 208(1): 125-134. DOI: 10.1084/jem.20100052.
- [25] Guedj K, Khallou-Laschet J, Clement M, et al. M1 macrophages act as LT β R-independent lymphoid tissue inducer cells during atherosclerosis-related lymphoid neogenesis [J]. *Cardiovasc Res*, 2014, 101(3): 434-443. DOI: 10.1093/cvr/cvt263.
- [26] Munoz-Eraza L, Rhodes JL, Marion VC, et al. Tertiary lymphoid structures in cancer - considerations for patient prognosis [J]. *Cell Mol Immunol*, 2020, 17(6): 570-575. DOI: 10.1038/s41423-020-0457-0.
- [27] Li K, Guo Q, Zhang X, et al. Oral cancer-associated tertiary lymphoid structures: Gene expression profile and prognostic value [J]. *Clin Exp Immunol*, 2020, 199(2): 172-181. DOI: 10.1111/cei.13389.
- [28] Wang C, Huang Z, Zhang M, et al. Prognostic value of tertiary lymphoid structures in early clinical stage oral tongue squamous cell carcinoma [J]. *J Oral Pathol Med*, 2021, 50(8): 776-784. DOI: 10.1111/jop.13215.
- [29] Dieu-Nosjean MC, Goc J, Giraldo NA, et al. Tertiary lymphoid structures in cancer and beyond [J]. *Trends Immunol*, 2014, 35(11): 571-580. DOI: 10.1016/j.it.2014.09.006.
- [30] Heikkinen I, Bello IO, Wahab A, et al. Assessment of tumor-infiltrating lymphocytes predicts the behavior of early-stage oral tongue cancer [J]. *Am J Surg Pathol*, 2019, 43(10): 1392-1396. DOI: 10.1097/PAS.0000000000001323.
- [31] Wirsing AM, Rikardsen OG, Steigen SE, et al. Characterisation and prognostic value of tertiary lymphoid structures in oral squamous cell carcinoma [J]. *BMC Clin Pathol*, 2014, 14: 38. DOI: 10.1186/1472-6890-14-38.
- [32] Nayar S, Campos J, Smith CG, et al. Immunofibroblasts are pivotal drivers of tertiary lymphoid structure formation and local pathology [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(27): 13490-13497. DOI: 10.1073/pnas.1905301116.
- [33] Yamaguchi K, Ito M, Ohmura H, et al. Helper T cell-dominant tertiary lymphoid structures are associated with disease relapse of advanced colorectal cancer [J]. *Oncoimmunology*, 2020, 9(1): 1724763. DOI: 10.1080/2162402X.2020.1724763.
- [34] de Chaisemartin L, Goc J, Damotte D, et al. Characterization 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. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-0952.
- [35] Calderaro J, Petitprez F, Becht E, et al. Intra-tumoral tertiary lymphoid structures are associated with a low risk of early recurrence of hepatocellular carcinoma [J]. *J Hepatol*, 2019, 70(1): 58-65. DOI: 10.1016/j.jhep.2018.09.003.
- [36] Tooley KA, Escobar G, Anderson AC. Spatial determinants of CD8 $^{+}$ T cell differentiation in cancer [J]. *Trends Cancer*, 2022, 8(8): 642-654. DOI: 10.1016/j.trecan.2022.04.003.
- [37] Hu X, Liu XS. A high-resolution view of intra-tumoral B cell immunity [J]. *Immunity*, 2022, 55(3): 387-389. DOI: 10.1016/j.immuni.2022.02.009.
- [38] Wirsing AM, Ervik IK, Seppola M, et al. Presence of high-endothelial venules correlates with a favorable immune microenvironment in oral squamous cell carcinoma [J]. *Mod Pathol*, 2018, 31(6): 910-922. DOI: 10.1038/s41379-018-0019-5.
- [39] Peng Y, Xiao L, Rong H, et al. Single-cell profiling of tumor-infiltrating TCF1/TCF7 $^{+}$ T cells reveals a T lymphocyte subset associated with tertiary lymphoid structures/organs and a superior prognosis in oral cancer [J]. *Oral Oncol*, 2021, 119: 105348. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2021.105348.
- [40] Kadomoto S, Izumi K, Mizokami A. The CCL20-CCR6 axis in cancer progression [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(15): 5186. DOI: 10.3390/ijms21155186.
- [41] Bruno TC. New predictors for immunotherapy responses sharpen our view of the tumour microenvironment [J]. *Nature*, 2020, 577(7791): 474-476. DOI: 10.1038/d41586-019-03943-0.
- [42] Moyron-Quiroz JE, Rangel-Moreno J, Kusser K, et al. Role of inducible bronchus associated lymphoid tissue (iBALT) in respiratory immunity [J]. *Nat Med*, 2004, 10(9): 927-934. DOI: 10.1038/nm1091.
- [43] Rangel-Moreno J, Moyron-Quiroz JE, Hartson L, et al. Pulmonary expression of CXC chemokine ligand 13, CC chemokine ligand 19, and CC chemokine ligand 21 is essential for local immunity to influenza [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(25): 10577-10582. DOI: 10.1073/pnas.0700591104.
- [44] Moyron-Quiroz JE, Rangel-Moreno J, Hartson L, et al. Persistence and responsiveness of immunologic memory in the absence of secondary lymphoid organs [J]. *Immunity*, 2006, 25(4): 643-654. DOI: 10.1016/j.immuni.2006.08.022.
- [45] Oliveira G, Stromhaug K, Klaefer S, et al. Phenotype, specificity and avidity of antitumour CD8 $^{+}$ T cells in melanoma [J]. *Nature*, 2021, 596(7870): 119-125. DOI: 10.1038/s41586-021-03704-y.
- [46] Buckley CD, Barone F, Nayar S, et al. Stromal cells in chronic inflammation and tertiary lymphoid organ formation [J]. *Annu Rev Immunol*, 2015, 33: 715-745. DOI: 10.1146/annurev-immunol-032713-120252.
- [47] Wang M, Zhai R, Wang M, et al. Tertiary lymphoid structures

- in head and neck squamous cell carcinoma improve prognosis by recruiting CD8⁺ T cells [J]. *Mol Oncol*, 2023 Feb 24. DOI: 10.1002/1878-0261.13403.
- [48] Posch F, Silina K, Leibl S, et al. Maturation of tertiary lymphoid structures and recurrence of stage II and III colorectal cancer [J]. *Oncoimmunology*, 2017, 7 (2) : e1378844. DOI: 10.1080/2162402X.2017.1378844.
- [49] Goc J, Fridman WH, Hammond SA, et al. Tertiary lymphoid structures in human lung cancers, a new driver of antitumor immune responses [J]. *Oncoimmunology*, 2014, 3: e28976. DOI: 10.4161/onci.28976.
- [50] Hiraoka N, Ino Y, Yamazaki-Itoh R, et al. Intratumoral tertiary lymphoid organ is a favourable prognosticator in patients with pancreatic cancer [J]. *Br J Cancer*, 2015, 112(11): 1782-1790. DOI: 10.1038/bjc.2015.145.
- [51] Siliņa K, Rulle U, Kalniņa Z, et al. Manipulation of tumour-infiltrating B cells and tertiary lymphoid structures: A novel anti-cancer treatment avenue? [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2014, 63(7): 643-662. DOI: 10.1007/s00262-014-1544-9.
- [52] 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.
- [53] 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.
- [54] Li Q, Liu X, Wang D, et al. Prognostic value of tertiary lymphoid structure and tumour infiltrating lymphocytes in oral squamous cell carcinoma [J]. *Int J Oral Sci*, 2020, 12 (1) : 24. DOI: 10.1038/s41368-020-00092-3.
- [55] Helmink BA, Reddy SM, Gao J, et al. B cells and tertiary lymphoid structures promote immunotherapy response [J]. *Nature*, 2020, 577(7791) : 549-555. DOI: 10.1038/s41586-019-1922-8.

(收稿日期:2023-05-01)

(本文编辑:王嫚)