



· 综述 ·

非小细胞肺癌发生、发展过程中免疫微环境变化及其临床意义

申宇嘉^{1,2}, 傅小龙¹

1. 上海交通大学附属胸科医院放疗科, 上海 200030 ;
2. 上海交通大学医学院, 上海 200025

[摘要] 免疫系统在肿瘤的发生、发展中起着双重作用, 它可以识别并消灭肿瘤细胞, 肿瘤细胞也可以在免疫选择的压力下利用免疫系统自身负调控机制形成复杂的免疫抑制网络, 逃避宿主免疫攻击。非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 的免疫微环境不断变化, 具有异质性, 这种异质性来源于多种因素的相互作用, 包括肿瘤分子亚型、驱动基因及拷贝数变异等。微环境中免疫细胞数量、密度、种类、功能状态、空间分布与NSCLC的发生、发展、预后及抗肿瘤免疫应答密切相关。本文综述了NSCLC发生、发展过程中免疫微环境变化及其临床意义, 以进一步理解免疫系统在NSCLC中的作用。

[关键词] 免疫微环境; 非小细胞肺癌; 肿瘤发生; 发展; 预后

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2021.11.011

中图分类号: R734.2 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2021)11-1115-11

Research progress of immune contexture in tumorigenesis, progression and prognostic relevance of non-small cell lung cancer SHEN Yujia^{1,2}, FU Xiaolong¹ (1. Department of Radiation Oncology, Shanghai Chest Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200030, China; 2. Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China)

Correspondence to: FU Xiaolong E-mail: xlfu1964@126.com

[Abstract] The immune system plays a dual role in tumorigenesis and progression. It can identify and kill tumor cells in a process called immunosurveillance. At the same time, tumors can be forced to edit the surrounding immune system to create an immunosuppressive microenvironment under the selective pressure and eventually escape immune surveillance. The immune contexture of non-small cell lung cancer (NSCLC) lesions is complex and heterogeneous, which stems from the interaction of many factors: molecular subtype, oncogenic drivers and copy number variations, etc. The frequency, density, phenotype, function and spatial distribution of innate and adaptive immune cells in the microenvironment are significantly related to tumorigenesis and prognosis of NSCLC and can potentially predict the efficacy of immunotherapy. This article reviewed the complexity and prognostic relevance of the immune landscape in NSCLC which offers a better understanding of the role of the immune contexture in tumorigenesis and progression of NSCLC.

[Key words] Immune contexture; Non-small cell lung cancer; Tumorigenesis; Progression; Prognosis

非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 是常见的恶性肿瘤, 2年相对生存率约为42%^[1]。恶性肿瘤不是肿瘤细胞简单的堆积, 而是肿瘤细胞生活在由成纤维细胞、免疫细胞、炎性细胞、胶质细胞、细胞间质、微血管以及众多驱动分子构成的微环境中。肿瘤与其微环境存在着制约和反制约的关系, 其中免疫微环境

与肿瘤的发生、发展密不可分。Burnet^[2]于1970年提出“免疫监视”概念: 免疫系统自动识别和消灭癌细胞, 从而防止肿瘤的发展。之后的多项研究^[3-5]将其概念扩展为“免疫编辑”: 免疫细胞通过与肿瘤细胞的相互作用, 对肿瘤的生长发育施加选择性压力, 肿瘤免疫原性被免疫系统编辑, 包括消除、平衡和逃逸3个连续阶段。在消

除期, 免疫细胞通过激活先天性免疫反应和适应性免疫反应消除免疫原性肿瘤。在消除期存活的少数变异型肿瘤细胞进入平衡期, 由于不断的免疫压力, 部分肿瘤细胞发生遗传或表观遗传改变, 肿瘤细胞免疫原性被适应性免疫系统编辑, 获得规避免疫识别的能力, 进入逃逸期, 最终发展为临床可检测到的肿瘤。肿瘤免疫微环境分析是研究肿瘤免疫逃逸机制的必经之路。本文就NSCLC微环境中免疫细胞的性质、密度、免疫功能定向和空间分布在NSCLC的发生、发展不同阶段的变化进行综述, 进一步阐述免疫与NSCLC肿瘤细胞相互作用在肿瘤的发生、发展过程中扮演的角色及其临床意义。

1 NSCLC免疫微环境概述

2018年*Nature Medicine*杂志首次展示肺癌细胞图谱, Lambrechts等^[6]使用单细胞RNA测序技术在原发性非转移性肺肿瘤患者中共鉴定出52个基质细胞亚群, 反映了肿瘤微环境的复杂性, 主要细胞类型包括内皮细胞、成纤维细胞、B细胞、巨噬细胞、T细胞、肺泡细胞和上皮细胞。NSCLC免疫微环境中的免疫浸润细胞包括适应性和先天性免疫细胞^[7]。Stankovic等^[8]在NSCLC中发现了13种不同的免疫细胞类型组成超过95%的CD45⁺白细胞: B细胞, CD4⁺ T细胞, CD8⁺ T细胞, 双阴性T细胞, 巨噬细胞, 浆细胞样、CD1c⁺髓样及CD141⁺髓样树突状细胞(dendritic cell, DC), 自然杀伤(natural killer, NK)细胞, 中性粒细胞, 嗜碱性粒细胞, 嗜酸性粒细胞, 以及肥大细胞。

1.1 先天性免疫细胞

DC作为一种专职抗原提呈细胞, 其成熟状态与抗肿瘤效应密切相关。成熟DC可以促进细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)的活化和增殖, 而未成熟DC具有免疫抑制作用, 可通过转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)依赖方式诱导调节性T细胞(regulatory T cell, Treg)生成, 促进肿瘤的免疫逃逸^[9-10]。NSCLC中DC分为浆细胞样DC(plasmacytoid DC, pDC)和髓样DC(myeloid DC, mDC), 后者根据表面标志分为CD141⁺

DC和CD1c⁺ DC。pDC具有通过产生I型干扰素(interferon, IFN)增强抗肿瘤免疫的潜力, CD1c⁺ DC和CD141⁺ DC用于抗原呈递和幼稚T细胞的激活。NSCLC中, CD1c⁺ DC较CD141⁺ DC更常见^[8]。

髓源性抑制细胞(myeloid-derived suppressor cell, MDSC)是DC、巨噬细胞和粒细胞的前体, 可进一步分为粒细胞样MDSC(granulocytic or polymorphonuclear MDSC, PMN-MDSC)和单核细胞样MDSC(monocytic MDSC, M-MDSC), 消耗肿瘤微环境内的营养物质, 阻碍免疫细胞的增殖, 同时造成肿瘤微环境内的氧化应激, 影响免疫细胞的活性, 具有显著抑制免疫细胞应答的能力, 可抑制T细胞增殖和细胞因子的产生^[11]。体外实验^[12]证实, 来自人肺鳞状细胞癌的MDSC可促进CD8⁺ T细胞凋亡和降低肿瘤细胞凋亡。

肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophage, TAM)是影响肿瘤微环境的重要免疫细胞之一, 主要有两种类型: M1型巨噬细胞通过分泌活性氧(reactive oxygen species, ROS)、活性氮(reactive nitrogen species)、白细胞介素(interleukin, IL)-1、IL-6、IL-12、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和IFN等促炎症因子来发挥抗肿瘤免疫作用。M2型巨噬细胞被肿瘤微环境所诱导分泌IL-10、CC族趋化因子配体(CC chemokine ligand, CCL)-18、CCL-12等抗炎症因子抑制免疫反应, 具有促进血管生成的作用, 从而建立免疫耐受微环境^[13-14]。TAM的定位与NSCLC患者预后有关, 一项meta分析^[15]指出, 肿瘤癌巢中高密度的CD68⁺ TAM是良好的预后因素, 而肿瘤间质中高密度的CD68⁺ TAM是不良的预后因素, 因此TAM的位置可能是NSCLC患者的潜在预后预测因子。集落刺激因子-1受体(colony-stimulating factor-1 receptor, CSF1R)作为介导巨噬细胞在肿瘤组织中存活的蛋白, 其抑制剂被认为是消除TAM的一种治疗策略, 但Kumar等^[16]研究发现, 虽然CSF1R抑制剂有效地消除了TAM, 但会引起肿瘤相关成纤维细胞释放趋化

因子CXCL1数量增加,从而招募更多的免疫抑制PMN-MDSC,促进肿瘤生长。

肿瘤相关中性粒细胞(tumor-associated neutrophil, TAN)可以根据其对肿瘤细胞的效应作用分为N1和N2 TAN。前者通过其表面Fc受体识别肿瘤,释放细胞毒介质从而杀伤肿瘤细胞,同时激活先天性和适应性免疫细胞^[17]。N2 TAN则在慢性炎症免疫应答的过程中释放有利于血管生成的细胞因子,促进肿瘤的发生和转移^[18-19]。Engblom等^[20]研究发现,肺腺癌分泌可溶性晚期糖基化终末产物受体来激活成骨细胞,形成表达高水平唾液酸结合性免疫球蛋白样凝集素F的中性粒细胞,后者通过促进血管生成、髓细胞分化、抑制T细胞来促进肿瘤浸润。

NK细胞可直接释放穿孔素和颗粒酶B破坏靶细胞,也可通过抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用或死亡受体途径Fas(CD95)和FasL(CD95L)相互作用介导细胞凋亡^[21-22]。根据细胞表面分子表达与否可将CD56⁺ NK细胞分为CD16⁺和CD16⁻两个亚群,前者细胞内穿孔素和颗粒酶B的阳性表达率显著高于后组,因此CD16⁺ NK细胞主要参与免疫调节作用。研究^[23-24]发现,NSCLC患者肿瘤中的NK细胞显著减少,主要是由于NK细胞CD16⁺亚群水平降低所致。Russick等^[25]对比了NSCLC肿瘤区和非肿瘤区NK细胞的转录组数据,发现肿瘤微环境中NK细胞下调鞘氨醇-1-磷酸受体1(sphingosine-1-phosphate receptor 1, S1PR1)和CX3C族趋化因子受体1(CX3C chemokine receptor 1, CX3CR1),过表达CXC族趋化因子受体5(CXC chemokine receptor 5, CXCR5)和CXCR6,表明NK细胞被迁移出肿瘤核心。CTL相关抗原4(CTL associated antigen-4, CTLA-4)和杀伤细胞凝集素样受体抑制分子在肿瘤NK细胞中升高,证明NSCLC中NK细胞功能受到抑制,使肺癌细胞发生免疫逃逸。

1.2 适应性免疫细胞

T淋巴细胞普遍被认为在免疫系统中占据主导地位^[24, 26]。T淋巴细胞主要包括CTL、辅助T细胞(help T cell, Th)和Treg。Th1/Th2平衡

失调会造成免疫系统功能紊乱,使肿瘤逃避免疫攻击,有研究^[27]证实,NSCLC与Th1/Th2漂移密切相关。CD4⁺和CD8⁺ T细胞及其分泌的细胞因子发挥适应性免疫效能,而肿瘤细胞分泌的细胞因子会诱导、扩增和招募Treg至肿瘤部位^[28-29]。Treg具有免疫抑制性和免疫无能性两大功能特性,其可上调T细胞免疫球蛋白黏蛋白分子-3(T cell immunoglobulin and mucin domain-3, TIM-3)、淋巴细胞活化基因-3(lymphocyte activation gene 3, LAG-3)等免疫抑制信号,诱导TGF- β 活化,进一步促进Treg分化,抑制T细胞活化^[30]。

B淋巴细胞通过产生抗体、诱导T细胞活化及抗原提呈来调控免疫反应,主要存在于肿瘤的侵袭性边缘和邻近瘤床的三级淋巴结构(tertiary lymphoid structure, TLS)中。B淋巴细胞在肿瘤中发挥着双向调节作用。一方面,肿瘤浸润B淋巴细胞(tumor-infiltrating B lymphocyte, TIL-B)能够通过抗原提呈,产生抗体或分泌多种细胞因子正向调控抗肿瘤免疫,活化的浸润性B细胞与效应T细胞应答相关,耗竭的TIL-B与Treg表型相关^[31]。另一方面,调节性B细胞(regulatory B cell, Breg)通过分泌细胞因子(如IL-10、IL-35、TGF- β)、抑制功能性T细胞(CD4⁺ T细胞、CD8⁺ T细胞)、促进Treg和表达抑制性配体如程序性死亡[蛋白]配体-1(programmed death ligand-1, PD-L1)等机制发挥免疫抑制作用^[32-34]。

2 NSCLC的癌细胞如何重塑免疫微环境

Chen等^[35]提出“肿瘤-免疫循环”概念,肿瘤细胞释放的抗原被DC捕获并提呈给T细胞,启动和活化效应T细胞,在趋化因子引导下,效应T细胞迁移至肿瘤部位,通过T细胞受体与新抗原-主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)之间的相互作用识别并清除肿瘤细胞,然而持续的免疫选择使肿瘤细胞获得了规避免疫识别的能力。

肿瘤浸润发生后,DC提呈抗原,激活幼稚T细胞。CD4⁺ T细胞通过释放细胞因子(如IFN- γ 和TNF)促进细胞毒性CD8⁺ T淋巴细胞反应,增

强免疫应答。CD8⁺ T淋巴细胞活化过程中需要共刺激信号, 这些激活/抑制信号之间的平衡至关重要。最典型的共刺激信号是在抗原提呈细胞 (antigen presenting cell, APC) 和活化B细胞上表达的B7家族分子 (CD80和CD86) 和T细胞上表达的CD28和CTLA-4之间。CD28在识别特定抗原后激活效应T细胞, 诱导T细胞上的CTLA-4表达^[36]。CTLA-4是关键性的免疫检查点分子之一, 抑制免疫反应, 与CD28竞争结合CD80和CD86。

NSCLC的肿瘤细胞可以通过调节CD205和CD103在CD1c⁺ DC上的表达来影响CD1c⁺ DC亚群的免疫功能, 抑制CD40、CD80和CD86等共刺激信号分子在DC上的表达。肿瘤细胞还可通过在DC中下调促炎症因子 (IL-12和IL-23) 与上调抗炎因子 (IL-10、TGF-β) 的分泌来诱导产生耐药性CD1c⁺ DC亚群, 阻断CD8⁺ T细胞的活性并诱导CD4⁺ Treg产生, 形成免疫抑制微环境^[37]。

NSCLC的肿瘤细胞可分泌IL-10、TGF-β等细胞因子, 诱导初始T细胞转化为Treg, 促进Treg增殖^[38], 同时分泌趋化因子CCL20, 募集FOXP3⁺ Treg到肿瘤微环境中^[39]。Treg表达的CTLA-4与抗原提呈细胞上的CD80和CD86结合, 导致其下调并抑制其T细胞活化能力^[40], 抑制CD8⁺ T细胞介导的细胞毒杀伤作用, 介导免疫耐受。肿瘤细胞还可上调T细胞免疫抑制性受体的表达, 包括程序性死亡 [蛋白] -1 (programmed death-1, PD-1)、CTLA-4、LAG-3、TIM-3来逃避免疫系统监测。由于在肿瘤微环境中T细胞不断暴露于抗原, 肿瘤内T细胞表现出广泛的抑制和功能障碍状态, 称为T细胞衰竭^[41-43]。

NSCLC中的APC显著降低MHC- II 的表达, 肿瘤细胞本身也通过下调MHC- I 类分子来减少内源性抗原表达。人白细胞抗原 (human leucocyte antigen, HLA) 是MHC的表达产物, MHC- I 类分子存在于肿瘤细胞表面, 对CD8⁺ T细胞免疫识别非常重要。McGranahan等^[44] 研究发现, 40%的NSCLC患者具有HLA杂合性缺失 (HLA loss of heterozygosity, HLA-LOH), 导致新抗原呈递能力降低, 促使肿瘤免疫逃逸。

HLA-LOH与较高的亚克隆新抗原负荷、细胞溶解活性上调和PD-L1阳性相关联, 提示HLA-LOH是肿瘤为应对活跃的免疫微环境而作出的免疫逃逸反应。

肿瘤还可通过外泌体调节周围免疫微环境。肿瘤源性外泌体 (tumor-derived exosome, TEX) 是肿瘤和宿主细胞之间实现通讯的主要机制, 能够通过转移其内含物, 如RNA (mRNA和非编码RNA)、DNA、蛋白质和脂质实现细胞-细胞通讯^[45]。TEX分泌的miR-21和miR-29a可以作为配体与免疫细胞表面的Toll样受体结合, 触发其介导的NF-κB信号转导通路活化, 最终导致肿瘤生长和转移^[46]。TEX可通过TGF-β1调节NK细胞和DC的功能, 如下调NKG2D抑制NK细胞功能^[47-48]及抑制DC成熟从而促进肿瘤抗原特异性免疫抑制^[49]。TEX与单核细胞相互作用从而维持单核细胞不成熟的状态, 自发分泌免疫抑制性细胞因子 (如TGF-β和前列腺素E2) 抑制T细胞增殖^[50]。TEX还可通过TGF-β和IL-10依赖性机制促进Treg和Breg增殖^[51], 并诱导CD4⁺CD25⁻ T细胞转化为Treg^[52]。总体来说, 外泌体含有多种不同的免疫刺激和免疫抑制因子, 可协助肿瘤细胞调节自身周围环境, 参与调节免疫应答。

综上, 肿瘤细胞可以通过编辑肿瘤微环境来逃避免疫监测, 而这种逃避机制的选择可能与免疫微环境有关。英国TRACERx肺癌研究计划^[53]整合基因组学、转录组学、表观基因组学和病理学数据研究肿瘤进化过程中如何利用免疫逃逸机制, 对88例早期未经治疗的NSCLC患者进行分析, 每例患者病灶多点取样, 发现不同的免疫微环境有不同的新生抗原呈递功能障碍机制。免疫细胞浸润低的肿瘤在进化过程中表现出新生抗原编辑能力的减弱, 通过拷贝数丢失作为亚克隆免疫编辑机制; 免疫细胞浸润高的肿瘤区域表现出持续的免疫编辑作用, 通过HLA-LOH或抑制新生抗原的表达 (新生抗原启动子高甲基化) 来逃避免疫监视。免疫微环境在早期未治疗的NSCLC中发挥强大的选择压力, 其进化是通过免疫编辑机制实现的。

3 NSCLC驱动基因突变如何编辑肿瘤周边微环境

3.1 NSCLC的基因组学变化

肺癌的发生、发展是一个多阶段、多步骤的过程，主要是由于细胞通路中异常基因表达所致。与癌症基因组图谱（The Cancer Genome Atlas, TCGA）cohort 2014数据相比，中国肺腺癌患者表皮生长因子受体（epidermal growth factor receptor, *EGFR*）突变频率较高，而*KRAS*、*BRAF*、*TP53*和*KEAP1*突变频率较低^[54-55]。分析非浸润性与早期浸润性肺腺癌基因组的差别，浸润性肺腺癌（invasive adenocarcinoma, IAC）的突变谱与原位癌（adenocarcinoma in situ, AIS）的突变谱密切相关，但与不典型腺瘤样增生（atypical adenomatous hyperplasia, AAH）的突变谱不相关^[56]。多项研究^[57-58]表明，浸润性腺癌与非浸润性腺癌突变频率差异最大的是*TP53*突变，说明*TP53*突变状态与癌细胞潜在侵袭功能相关。从原位癌到微浸润和浸润性腺癌的演化过程中伴随着更多基因拷贝数变异（copy number variation, CNV）事件，原位腺癌中CNV多与细胞黏附和生长相关，微浸润腺癌和浸润性腺癌中CNV多与转移及侵袭相关^[59]。

3.2 NSCLC的基因组学改变对免疫微环境的影响

NSCLC的驱动基因突变会影响肿瘤免疫细胞表达。多项研究^[60-61]发现，*EGFR*突变型肿瘤表现出强大的髓系细胞募集，但未能产生CD8⁺免疫应答，Gainor等^[60]和Busch等^[61]报道，*EGFR*突变患者CD8⁺高表达率仅为4.2%。*KRAS*突变表现出包括CD8⁺T细胞和Treg在内的T细胞和B细胞多个免疫亚群的扩增^[61]。*TP53*突变患者的免疫相关基因表达水平显著增加，活化CD8⁺T淋巴细胞、活化CD4⁺记忆T细胞、趋化因子和促炎症因子（IL、TNF及IFN- γ ）表达水平增加^[62]。*STK11/LKB1*突变通过AMPK信号通路调节细胞代谢、细胞凋亡和肿瘤转移，*STK11*突变肿瘤的CD4⁺和CD8⁺T细胞浸润减少^[63]，并造成免疫微环境中具有T细胞抑制作用的中性粒细胞的累积和促肿瘤细胞因子（如CXCL7、CXCL3、CXCL5和IL-1a）的过度产生^[64]，在促进免疫抑制环境中发挥作用。

基因组学改变与PD-1/PD-L1通路的激活也存在密切联系。有研究^[65-66]发现，*EGFR*突变可诱导PD-L1表达，但也有研究^[67]指出，*EGFR*突变的NSCLC患者表达PD-L1阳性的比例比野生型*EGFR*显著降低。在间变性淋巴瘤激酶（anaplastic lymphoma kinase, ALK）重排的肺腺癌中，ALK阳性肿瘤表达PD-L1的肿瘤细胞平均数量和百分比均显著高于*EGFR*突变或野生型肺腺癌。PD-L1在肿瘤细胞上的表达与CD8⁺T细胞在肿瘤内的浸润有很强的相关性^[68]。Schoenfeld等^[69]研究发现，*KRAS*、*TP53*、*MET*突变与PD-L1表达显著正相关，*EGFR*、*STK11*突变与PD-L1表达显著负相关。

Zhang等^[54]通过检测患者的免疫浸润相对水平建立了肿瘤微环境的免疫分子标签。在肺腺癌中，免疫T细胞浸润与*KRAS*基因突变及扩增显著相关，而免疫细胞低水平浸润则与*EGFR*基因突变有关。在肺鳞癌中，免疫评分低的患者，*TP63*、*PIK3CA*和*SOX2*扩增及*TP53*、*NFE2L2*突变较多，同时显示出较多的*PTEN*缺失。在*PIK3CA*扩增或*PTEN*缺失较多的肺鳞癌患者样本中，T细胞相关标志物及CD8的表达明显减少。

4 在NSCLC的发生、发展中免疫微环境的差异性

肿瘤免疫微环境存在异质性，肿瘤间和肿瘤内的免疫浸润均不同。20%以上的患者存在不同肿瘤部位的免疫细胞浸润差异^[53]，即使是浸润前肿瘤（如原位癌）也存在显著的异质性^[59]。Jia等^[70]对15例NSCLC患者多位点取样，并开发一种机器学习算法来描述局部抗肿瘤反应，发现肿瘤免疫微环境存在较大的空间异质性，12例患者的44个肿瘤样本分别被划分为“冷肿瘤”和“热肿瘤”，其中6例患者的不同肿瘤部位同时存在“冷肿瘤”和“热肿瘤”。但总体来说，NSCLC诱导强大的免疫浸润，肿瘤中CD45⁺白细胞的比例高于正常肺组织^[24]。Guo等^[71]进一步阐明T细胞亚群分布也存在组织特异性，如幼稚T细胞大多表达于来自外周血的细胞，而CD8⁺耗竭T细胞和CD4⁺Treg大多存在于肿瘤细胞中，癌旁正常肺组织中则主要为效应T细胞。

4.1 不同病理学阶段的免疫微环境

多项研究^[24,54,72]显示,与正常肺组织相比,NSCLC肿瘤中T细胞和B细胞的频率增高,NK细胞的频率降低。Lizotte等^[23]研究发现,肿瘤中CD8⁺T细胞的频率升高,尤其是CD45RO⁺CD8⁺记忆T细胞、CD19⁺B细胞和FOXP3⁺Treg细胞的频率皆升高。Lavin等^[73]聚焦于早期肺腺癌微环境中免疫细胞的组成,发现肿瘤组织中效应T细胞/Treg比值降低,NK细胞尤其是CD16⁺NK细胞亚型显著减少。肿瘤组织中巨噬细胞具有独特的转录特征,与正常肺组织相比,其高表达免疫抑制转录因子过氧化物酶增殖体激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ)、CD64、CD14和CD11c,低表达CD86和CD206。PD-L1在巨噬细胞中的表达量最高,PD-L1⁺巨噬细胞在肿瘤浸润边缘聚集,并与T细胞在肿瘤组织中的浸润程度呈负相关,表明适应性免疫在肺癌发生的早期阶段已经受到抑制,形成免疫抑制微环境。Krysan等^[56]评估AAH、AIS、IAC 3种病变及毗邻的组织学正常区域的淋巴细胞浸润程度,AAH较正常肺组织淋巴细胞浸润明显增加,AIS和IAC较AAH显著增加。随着肿瘤的发生、发展,肿瘤组织中免疫细胞呈现规律性变化。

Mascaux等^[74]从浸润前肺鳞癌患者的免疫状态出发,分析各阶段(正常肺组织、不典型增生、原位癌和浸润性鳞癌)支气管活检样本中的免疫细胞。从重度不典型增生起,髓源性抑制细胞、中性粒细胞和巨噬细胞亚型丰度显著增加,先天和适应性免疫细胞存在共调控。差异基因分析发现,在低级别病变(正常组织,轻度、中度不典型增生)中,负调节相关基因显著下调,介导免疫释放;在高级别病变(重度不典型增生、原位癌)和肺鳞癌中,负调节相关基因显著上调,诱导免疫逃逸。原位癌中一部分进展为肺鳞癌,但另一部分自然退化,目前普遍认为宿主免疫监测与病变的退化密切相关。Beane等^[75]对肺鳞癌的癌前病变组织进行分子分型,发现不同癌前病变组织的免疫状态是不同的。持续进展至

肺鳞癌的癌前病变中IFN通路与抗原呈递通路基因表达降低,先天性和适应性免疫细胞减少,癌前病变的进展可能是肿瘤微环境中缺少浸润免疫细胞的结果。Pennycuick等^[76]研究发现,退行性病变中CD3⁺CD8⁺CTL显著多于进展性病变,CD3⁺CD4⁺辅助性T细胞和Treg差异无统计学意义。肿瘤的免疫逃避能力主要体现在阻止T细胞进入肿瘤区域,而非影响T细胞的细胞毒性功能,其还明确了原位癌进展为鳞癌的潜在免疫逃逸机制:CCL27/CCR10信号上调,免疫调节因子TNFSF9下调。有研究^[77]进一步发现,NEK2基因高表达极可能预示着所在病变组织将发展为肺鳞癌。

NSCLC中肿瘤部位的T细胞衰竭与T细胞的多种抑制性受体表达有关。Lizotte等^[23]研究发现,抑制性受体(如PD-1、TIM-3、LAG-3和CTLA-4)在肿瘤T细胞中的表达高于正常肺组织,在肺鳞癌中的表达高于肺腺癌。Zhang等^[59]观察到,无论是非浸润性还是浸润性肺腺癌,PD-L1的表达水平差异不大,表明早期肿瘤已经处于免疫抑制的微环境中。

4.2 不同临床阶段的免疫微环境

Lavin等^[73]研究认为,巨噬细胞、单核细胞、NK细胞、DC、B细胞和T细胞的亚群分布在不同肺腺癌分期中没有显著差别。Stankovic等^[8]比较了肺腺癌和肺鳞癌不同分期(I~III期)肿瘤组织中CD3⁺T细胞、CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞、CD19⁺B细胞、CD1c⁺DC、pDC和巨噬细胞的百分比,发现差异均无统计学意义(P 均 >0.05),但CD141⁺DC在I期NSCLC中的百分比高于II、III期($P=0.04$)。而Chen等^[78]通过对NSCLC肿瘤组织行单细胞转录组分析,发现不同时期NSCLC中2种B细胞亚型(初始B细胞和浆细胞)的分布存在差异,III期的初始B细胞显著低于I期,且初始B细胞的浸润水平越高,存活率和无复发率越高,其通过体外实验还发现,III期NSCLC的浆细胞促进肿瘤细胞的增殖,而I期的浆细胞抑制肿瘤细胞的增殖。

关于抑制性受体在T细胞中的表达与肿瘤分期是否有关尚存在争议。Thommen等^[43]研究发

现, PD-1和TIM-3在肿瘤部位CD8⁺ T细胞中的表达随着肿瘤分期的增加而增加。Kargl等^[24]则认为, CD4⁺细胞PD-1的表达与肿瘤分期相关, CD8⁺细胞PD-1的表达与肿瘤分期无关。Lavin等^[73]研究指出, 巨噬细胞和T细胞的PD-1和PD-L1的表达水平在TNM各个时期比较稳定。

晚期转移性NSCLC可能具有与早期不同的分子特征。Kim等^[79]对44例转移性肺腺癌患者原发灶、胸膜液、淋巴结或脑转移的肿瘤样本进行单细胞测序, 发现髓样细胞启动免疫抑制微环境, 肿瘤组织和转移淋巴结中正常的髓样细胞群逐渐向单核细胞来源的巨噬细胞和DC转变, 且后者显示为免疫抑制表型, 这可能导致肺腺癌和远端转移的肿瘤抗原呈现不佳。脑转移作为晚期肺癌的常见转移部位, Li等^[80]研究发现, NSCLC脑转移患者表现出较强的全身性免疫抑制, 与早期未发生转移的患者相比, 外周血单核细胞中PD-L1表达、MDSC丰度和Treg百分比均显著增加, 而肿瘤来源的IL-6是诱导单核细胞PD-L1表达的主要介质。Kudo等^[81]研究了39例NSCLC患者的原发灶与脑转移瘤样本并进行测序发现, 脑转移瘤中存在更加严重的免疫抑制现象, 分析两组样本的差异基因发现, 与原发肿瘤相比, 脑转移瘤中DC成熟、Th1和白细胞外溢信号通路受到抑制。血管细胞黏附分子1表达水平更低, 抑制白细胞黏附于炎症部位, CD8⁺ T细胞减少, M2型巨噬细胞浸润增加。

5 NSCLC免疫微环境的临床意义

5.1 预后转归不同

CD8⁺、CD3⁺、CD45RO⁺ T细胞普遍被认为与NSCLC预后呈正相关^[26,82]。一项针对797例I~III A期NSCLC患者的研究^[83]证实, 肿瘤间质中的CD8⁺ T细胞密度被证明是无病生存期(disease-free survival, DFS)和总生存期(overall survival, OS)的独立预后因素, 并在每个病理学分期阶段增加对预后的影响。Fridman等^[84]回顾了124项T细胞对肿瘤(包括NSCLC)预后作用的研究发现, 肿瘤浸润淋巴细胞的强浸润通常与较好的预后相关, 最稳定的积极预后指标为CD8⁺ T细胞、CD45RO⁺ T细胞和辅

助性T细胞。而Foxp3⁺ Treg的高浸润普遍被认为与NSCLC的不良OS显著相关^[85]。

免疫细胞的预后价值需要综合考虑细胞类型、细胞亚群、空间分布和功能状态。近些年提出免疫热区和免疫冷区的概念, TRACERx研究^[86]利用人工智能手段绘制肺腺癌中免疫细胞的空间位置图谱, 根据淋巴细胞百分比划分免疫热区和免疫冷区, 前者的肿瘤复发风险明显高于后者。临床蛋白质组肿瘤分析联盟则通过多组学的方式对肺腺癌不同免疫特征建立了不同分型, 共鉴定出64种不同的细胞类型, 包括免疫和基质细胞, 聚类分析出免疫热区和免疫冷区, 发现免疫热区具有更强的B细胞、CD4⁺ T细胞、CD8⁺ T细胞、DC和巨噬细胞特征, PD-1、PD-L1、TGF-β和IL-10表达上调^[87]。

5.2 对免疫治疗的应答不同

免疫微环境中免疫细胞数量、种类、功能与抗肿瘤免疫应答密切相关。2017年, Chen等^[88]将肿瘤组织分为免疫炎症型(inflamed phenotype)、免疫豁免型(immune-excluded phenotype)和免疫沙漠型(immune-desert phenotype)。免疫炎症型肿瘤有丰富的T细胞(包括CD4⁺ T细胞和CD8⁺ T细胞)浸润, 对于抗PD-1/PD-L1免疫治疗的反应良好; 免疫豁免型肿瘤免疫细胞存在于肿瘤基质中, 不能渗透入肿瘤实质; 免疫沙漠型肿瘤无论是肿瘤基质还是实质均缺少T细胞, 后两者通常对免疫治疗均缺少应答。2021年MD安德森癌症中心通过对29个功能基因表达特征的转录组分析将肿瘤微环境进行分类, 创建了4种不同黑色素瘤的肿瘤微环境模型, 并在多个癌种(包括肺癌)中验证其作为一种生物标志物用于预测免疫检查点抑制剂治疗效果的预测价值^[89]。

6 结语

在NSCLC微环境中, 免疫细胞与肿瘤细胞及其他基质细胞和组织成分之间存在复杂的相互作用。免疫微环境持续地给肿瘤施加免疫压力, 使肿瘤通过免疫编辑来完成免疫逃逸, 而这种免疫编辑机制可能与免疫细胞浸润的程度有关。本综述描述了免疫细胞在不同病理学阶段及临床分

期NSCLC中的浸润情况, 这些细胞的分布和功能在不同程度上与肿瘤的进展和患者预后相关。免疫细胞能够识别癌前病变, 免疫系统在肿瘤形成非常早期时已发生功能失调。上皮-间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT)、驱动基因、CNV的水平和程度、非同义突变负荷和克隆异质性都参与NSCLC免疫结构的形成, 并决定其异质性。越来越多的证据表明, 肿瘤周边免疫微环境对NSCLC的发生、发展具有重要意义, 不同的免疫微环境也会影响肿瘤对免疫治疗的应答及最终预后转归。

[参 考 文 献]

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, FUCHS H E, et al. Cancer statistics, 2021 [J] . CA Cancer J Clin, 2021, 71(1): 7–33.
- [2] BURNET F M. The concept of immunological surveillance [J] . Prog Exp Tumor Res, 1970, 13: 1–27.
- [3] MCGRANAHAN N, SWANTON C. Cancer evolution constrained by the immune microenvironment [J] . Cell, 2017, 170(5): 825–827.
- [4] SCHREIBER R D, OLD L J, SMYTH M J. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion [J] . Science, 2011, 331(6024): 1565–1570.
- [5] MITTAL D, GUBIN M M, SCHREIBER R D, et al. New insights into cancer immunoediting and its three component phases: elimination, equilibrium and escape [J] . Curr Opin Immunol, 2014, 27: 16–25.
- [6] LAMBRECHTS D, WAUTERS E, BOECKX B, et al. Phenotype molding of stromal cells in the lung tumor microenvironment [J] . Nat Med, 2018, 24(8): 1277–1289.
- [7] BREMNES R M, 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.
- [8] STANKOVIC B, BJØRHØVDE H A K, SKARSHAUG R, et al. Immune cell composition in human non-small cell lung cancer [J] . Front Immunol, 2018, 9: 3101.
- [9] GHIRINGHELLI F, PUIG P E, ROUX S, et al. Tumor cells convert immature myeloid dendritic cells into TGF-β-secreting cells inducing CD4⁺CD25⁺ regulatory T cell proliferation [J] . J Exp Med, 2005, 202(7): 919–929.
- [10] GUEGUEN C, BOULEY J, MOUSSU H, et al. Changes in markers associated with dendritic cells driving the differentiation of either TH2 cells or regulatory T cells correlate with clinical benefit during allergen immunotherapy [J] . J Allergy Clin Immunol, 2016, 137(2): 545–558.
- [11] VEGLIA F, PEREGO M, GABRILOVICH D. Myeloid-derived suppressor cells coming of age [J] . Nat Immunol, 2018, 19(2): 108–119.
- [12] CHEN Y, PAN G C, TIAN D B, et al. Functional analysis of CD14⁺HLA-DR⁻/low myeloid-derived suppressor cells in patients with lung squamous cell carcinoma [J] . Oncol Lett, 2017, 14(1): 349–354.
- [13] SUN B S, PEI B X, ZHANG K, et al. Significance of interstitial tumor-associated macrophages in the progression of lung adenocarcinoma [J] . Oncol Lett, 2016, 12(6): 4467–4476.
- [14] ARAS S, ZAIDI M R. TAMEless traitors: macrophages in cancer progression and metastasis [J] . Br J Cancer, 2017, 117(11): 1583–1591.
- [15] MEI J D, XIAO Z L, GUO C L, et al. Prognostic impact of tumor-associated macrophage infiltration in non-small cell lung cancer: a systemic review and meta-analysis [J] . Oncotarget, 2016, 7(23): 34217–34228.
- [16] KUMAR V, DONTHIREDDY L, MARVEL D, et al. Cancer-associated fibroblasts neutralize the anti-tumor effect of CSF1 receptor blockade by inducing PMN-MDSC infiltration of tumors [J] . Cancer Cell, 2017, 32(5): 654–668.e5.
- [17] MANTOVANI A, CASSATELLA M A, COSTANTINI C, et al. Neutrophils in the activation and regulation of innate and adaptive immunity [J] . Nat Rev Immunol, 2011, 11(8): 519–531.
- [18] PICCARD H, MUSCHEL R J, OPDENAKKER G. On the dual roles and polarized phenotypes of neutrophils in tumor development and progression [J] . Crit Rev Oncol Hematol, 2012, 82(3): 296–309.
- [19] GREGORY A D, HOUGHTON A M. Tumor-associated neutrophils: new targets for cancer therapy [J] . Cancer Res, 2011, 71(7): 2411–2416.
- [20] ENGBLOM C, PFIRSCHKE C, ZILIONIS R, et al. Osteoblasts remotely supply lung tumors with cancer-promoting SiglecFhigh neutrophils [J] . Science, 2017, 358(6367): eaal5081.
- [21] TRAPANI J A, SMYTH M J. Functional significance of the perforin/granzyme cell death pathway [J] . Nat Rev Immunol, 2002, 2(10): 735–747.
- [22] PAUL S, LAL G. The molecular mechanism of natural killer cells function and its importance in cancer immunotherapy [J] . Front Immunol, 2017, 8: 1124.
- [23] LIZOTTE P H, IVANOVA E V, AWAD M M, et al. Multiparametric profiling of non-small cell lung cancers reveals distinct immunophenotypes [J] . JCI Insight, 2016, 1(14): e89014.
- [24] KARGL J, BUSCH S E, YANG G H, et al. Neutrophils dominate the immune cell composition in non-small cell lung cancer [J] . Nat Commun, 2017, 8: 14381.
- [25] RUSSICK J, JOUBERT P E, GILLARD-BOCQUET M, et al. Natural killer cells in the human lung tumor microenvironment

- display immune inhibitory functions [J] . *J Immunother Cancer*, 2020, 8(2): e001054.
- [26] BRUNI D, ANGELL H K, GALON J. The immune contexture and immunoscore in cancer prognosis and therapeutic efficacy [J] . *Nat Rev Cancer*, 2020, 20(11): 662–680.
- [27] ITO N, SUZUKI Y, TANIGUCHI Y, et al. Prognostic significance of T helper 1 and 2 and T cytotoxic 1 and 2 cells in patients with non–small cell lung cancer [J] . *Anticancer Res*, 2005, 25(3B): 2027–2031.
- [28] JARNICKI A G, LYSAGHT J, TODRYK S, et al. Suppression of antitumor immunity by IL–10 and TGF–beta–producing T cells infiltrating the growing tumor: influence of tumor environment on the induction of CD4⁺ and CD8⁺ regulatory T cells [J] . *J Immunol*, 2006, 177(2): 896–904.
- [29] WAN Y Y, FLAVELL R A. The roles for cytokines in the generation and maintenance of regulatory T cells [J] . *Immunol Rev*, 2006, 212: 114–130.
- [30] SAKAGUCHI S, WING K, ONISHI Y, et al. Regulatory T cells: how do they suppress immune responses? [J] . *Int Immunol*, 2009, 21(10): 1105–1111.
- [31] BRUNO T C, EBNER P J, MOORE B L, et al. Antigen–presenting intratumoral B cells affect CD4⁺ TIL phenotypes in non–small cell lung cancer patients [J] . *Cancer Immunol Res*, 2017, 5(10): 898–907.
- [32] SCHWARTZ M, ZHANG Y, ROSENBLATT J D. B cell regulation of the anti–tumor response and role in carcinogenesis [J] . *J Immunother Cancer*, 2016, 4: 40.
- [33] BODOGAI M, MORITOH K, LEE–CHANG C, et al. Immunosuppressive and prometastatic functions of myeloid–derived suppressive cells rely upon education from tumor–associated B cells [J] . *Cancer Res*, 2015, 75(17): 3456–3465.
- [34] PATEL A J, RICHTER A, DRAYSON M T, et al. The role of B lymphocytes in the immuno–biology of non–small–cell lung cancer [J] . *Cancer Immunol Immunother*, 2020, 69(3): 325–342.
- [35] CHEN D S, MELLMAN I. Oncology meets immunology: the cancer–immunity cycle [J] . *Immunity*, 2013, 39(1): 1–10.
- [36] COLLINS A V, BRODIE D W, GILBERT R J, et al. The interaction properties of costimulatory molecules revisited [J] . *Immunity*, 2002, 17(2): 201–210.
- [37] LU Y, XU W L, GU Y L, et al. Non–small cell lung cancer cells modulate the development of human CD1c⁺ conventional dendritic cell subsets mediated by CD103 and CD205 [J] . *Front Immunol*, 2019, 10: 2829.
- [38] NEURATH M F, FINOTTO S. The emerging role of T cell cytokines in non–small cell lung cancer [J] . *Cytokine Growth Factor Rev*, 2012, 23(6): 315–322.
- [39] ZHANG C Y, QI Y, LI X N, et al. The role of CCL20/CCR6 axis in recruiting Treg cells to tumor sites of NSCLC patients [J] . *Biomedecine Pharmacother*, 2015, 69: 242–248.
- [40] QURESHI O S, ZHENG Y, NAKAMURA K, et al. Trans–endocytosis of CD80 and CD86: a molecular basis for the cell–extrinsic function of CTLA–4 [J] . *Science*, 2011, 332(6029): 600–603.
- [41] CRESPO J, SUN H Y, WELLING T H, et al. T cell anergy, exhaustion, senescence, and stemness in the tumor microenvironment [J] . *Curr Opin Immunol*, 2013, 25(2): 214–221.
- [42] WHERRY E J, KURACHI M. Molecular and cellular insights into T cell exhaustion [J] . *Nat Rev Immunol*, 2015, 15(8): 486–499.
- [43] THOMMEN D S, SCHREINER J, MÜLLER P, et al. Progression of lung cancer is associated with increased dysfunction of T cells defined by coexpression of multiple inhibitory receptors [J] . *Cancer Immunol Res*, 2015, 3(12): 1344–1355.
- [44] MCGRANAHAN N, ROSENTHAL R, HILEY C T, et al. Allele–specific HLA loss and immune escape in lung cancer evolution [J] . *Cell*, 2017, 171(6): 1259–1271.e11.
- [45] MASHOURI L, YOUSEFI H, AREF A R, et al. Exosomes: composition, biogenesis, and mechanisms in cancer metastasis and drug resistance [J] . *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 75.
- [46] FABBRI M, PAONE A, CALORE F, et al. MicroRNAs bind to Toll–like receptors to induce prometastatic inflammatory response [J] . *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(31): E2110–E2116.
- [47] SZCZEPANSKI M J, SZAJNIK M, WELSH A, et al. Blast–derived microvesicles in sera from patients with acute myeloid leukemia suppress natural killer cell function via membrane–associated transforming growth factor–beta1 [J] . *Haematologica*, 2011, 96(9): 1302–1309.
- [48] BERCHEM G, NOMAN M Z, BOSSELER M, et al. Hypoxic tumor–derived microvesicles negatively regulate NK cell function by a mechanism involving TGF–β and miR23a transfer [J] . *Oncoimmunology*, 2016, 5(4): e1062968.
- [49] YANG C J, KIM S H, BIANCO N R, et al. Tumor–derived exosomes confer antigen–specific immunosuppression in a murine delayed–type hypersensitivity model [J] . *PLoS One*, 2011, 6(8): e22517.
- [50] LIU Y, GU Y, CAO X. The exosomes in tumor immunity [J] . *Oncoimmunology*, 2015, 4(9): e1027472.
- [51] CHEN W Z, JIANG J X, XIA W J, et al. Tumor–related exosomes contribute to tumor–promoting microenvironment: an immunological perspective [J] . *J Immunol Res*, 2017, 2017: 1073947.
- [52] MULLER L, MITSUHASHI M, SIMMS P, et al. Tumor–derived exosomes regulate expression of immune function–related genes in human T cell subsets [J] . *Sci Rep*, 2016, 6: 20254.
- [53] ROSENTHAL R, CADIEUX E L, SALGADO R, et al. Neoantigen–directed immune escape in lung cancer evolution [J] . *Nature*, 2019, 567(7749): 479–485.
- [54] ZHANG X C, WANG J, SHAO G G, et al. Comprehensive genomic and immunological characterization of Chinese non–

- small cell lung cancer patients [J] . Nat Commun, 2019, 10(1): 1772.
- [55] XU J Y, ZHANG C C, WANG X, et al. Integrative proteomic characterization of human lung adenocarcinoma [J] . Cell, 2020, 182(1): 245–261.e17.
- [56] KRYSAN K, TRAN L M, GRIMES B S, et al. The immune contexture associates with the genomic landscape in lung adenomatous premalignancy [J] . Cancer Res, 2019, 79(19): 5022–5033.
- [57] GAO Q, ZHU H W, DONG L Q, et al. Integrated proteogenomic characterization of HBV-related hepatocellular carcinoma [J] . Cell, 2019, 179(5): 1240.
- [58] CHEN H Q, CARROT-ZHANG J, ZHAO Y, et al. Genomic and immune profiling of pre-invasive lung adenocarcinoma [J] . Nat Commun, 2019, 10(1): 5472.
- [59] ZHANG C, ZHANG J J, XU F P, et al. Genomic landscape and immune microenvironment features of preinvasive and early invasive lung adenocarcinoma [J] . J Thorac Oncol, 2019, 14(11): 1912–1923.
- [60] GAINOR J F, SHAW A T, SEQUIST L V, et al. *EGFR* mutations and *ALK* rearrangements are associated with low response rates to PD-1 pathway blockade in non-small cell lung cancer: a retrospective analysis [J] . Clin Cancer Res, 2016, 22(18): 4585–4593.
- [61] BUSCH S E, HANKE M L, KARGL J, et al. Lung cancer subtypes generate unique immune responses [J] . J Immunol, 2016, 197(11): 4493–4503.
- [62] LIN X, WANG L, XIE X, et al. Prognostic biomarker TP53 mutations for immune checkpoint blockade therapy and its association with tumor microenvironment of lung adenocarcinoma [J] . Front Mol Biosci, 2020, 7: 602328.
- [63] KADARA H, CHOI M, ZHANG J, et al. Whole-exome sequencing and immune profiling of early-stage lung adenocarcinoma with fully annotated clinical follow-up [J] . Ann Oncol, 2018, 29(4): 1072.
- [64] KOYAMA S, AKBAY E A, LI Y Y, et al. *STK11/LKB1* deficiency promotes neutrophil recruitment and proinflammatory cytokine production to suppress T-cell activity in the lung tumor microenvironment [J] . Cancer Res, 2016, 76(5): 999–1008.
- [65] AKBAY E A, KOYAMA S, CARRETERO J, et al. Activation of the PD-1 pathway contributes to immune escape in *EGFR*-driven lung tumors [J] . Cancer Discov, 2013, 3(12): 1355–1363.
- [66] AZUMA K, OTA K, KAWAHARA A, et al. Association of PD-L1 overexpression with activating *EGFR* mutations in surgically resected nonsmall-cell lung cancer [J] . Ann Oncol, 2014, 25(10): 1935–1940.
- [67] SOO R A, LIM S M, SYN N L, et al. Immune checkpoint inhibitors in epidermal growth factor receptor mutant non-small cell lung cancer: current controversies and future directions [J] . Lung Cancer, 2018, 115: 12–20.
- [68] ROUSSEL H, DE GUILLEBON E, BIARD L, et al. Composite biomarkers defined by multiparametric immunofluorescence analysis identify *ALK*-positive adenocarcinoma as a potential target for immunotherapy [J] . Oncoimmunology, 2017, 6(4): e1286437.
- [69] SCHOENFELD A J, RIZVI H, BANDLAMUDI C, et al. Clinical and molecular correlates of PD-L1 expression in patients with lung adenocarcinomas [J] . Ann Oncol, 2020, 31(5): 599–608.
- [70] JIA Q, WU W, WANG Y, et al. Local mutational diversity drives intratumoral immune heterogeneity in non-small cell lung cancer [J] . Nat Commun, 2018, 9(1): 5361.
- [71] GUO X Y, ZHANG Y Y, ZHENG L T, et al. Global characterization of T cells in non-small cell lung cancer by single-cell sequencing [J] . Nat Med, 2018, 24(7): 978–985.
- [72] DEL MAR VALENZUELA-MEMBRIVES M, PEREA-GARCÍA F, SANCHEZ-PALENCIA A, et al. Progressive changes in composition of lymphocytes in lung tissues from patients with non-small cell lung cancer [J] . Oncotarget, 2016, 7(44): 71608–71619.
- [73] LAVIN Y, KOBAYASHI S, LEADER A, et al. Innate immune landscape in early lung adenocarcinoma by paired single-cell analyses [J] . Cell, 2017, 169(4): 750–765.e17.
- [74] MASCAUX C, ANGELOVA M, VASATURO A, et al. Immune evasion before tumour invasion in early lung squamous carcinogenesis [J] . Nature, 2019, 571(7766): 570–575.
- [75] BEANE J E, MAZZILLI S A, CAMPBELL J D, et al. Molecular subtyping reveals immune alterations associated with progression of bronchial premalignant lesions [J] . Nat Commun, 2019, 10(1): 1856.
- [76] PENNYCUICK A, TEIXEIRA V H, ABDULJABBAR K, et al. Immune surveillance in clinical regression of preinvasive squamous cell lung cancer [J] . Cancer Discov, 2020, 10(10): 1489–1499.
- [77] TEIXEIRA V H, PIPINIKAS C P, PENNYCUICK A, et al. Deciphering the genomic, epigenomic, and transcriptomic landscapes of pre-invasive lung cancer lesions [J] . Nat Med, 2019, 25(3): 517–525.
- [78] CHEN J, TAN Y, SUN F H, et al. Single-cell transcriptome and antigen-immunoglobulin analysis reveals the diversity of B cells in non-small cell lung cancer [J] . Genome Biol, 2020, 21(1): 152.
- [79] KIM N, KIM H K, LEE K, et al. Single-cell RNA sequencing demonstrates the molecular and cellular reprogramming of metastatic lung adenocarcinoma [J] . Nat Commun, 2020, 11(1): 2285.
- [80] LI Y D, LAMANO J B, LAMANO J B, et al. Tumor-induced peripheral immunosuppression promotes brain metastasis in patients with non-small cell lung cancer [J] . Cancer Immunol Immunother, 2019, 68(9): 1501–1513.
- [81] KUDO Y, HAYMAKER C, ZHANG J, et al. Suppressed immune microenvironment and repertoire in brain metastases from

- patients with resected non-small-cell lung cancer [J] . *Ann Oncol*, 2019, 30(9): 1521-1530.
- [82] FRIDMAN W H, 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.
- [83] DONNEM T, HALD S M, PAULSEN E E, 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.
- [84] FRIDMAN W H, 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.
- [85] ZHAO S, JIANG T, ZHANG L M, et al. Clinicopathological and prognostic significance of regulatory T cells in patients with non-small cell lung cancer: a systematic review with meta-analysis [J] . *Oncotarget*, 2016, 7(24): 36065-36073.
- [86] ABDULJABBAR K, RAZA S E A, ROSENTHAL R, et al. Geospatial immune variability illuminates differential evolution of lung adenocarcinoma [J] . *Nat Med*, 2020, 26(7): 1054-1062.
- [87] GILLETTE M A, SATPATHY S, CAO S, et al. Proteogenomic characterization reveals therapeutic vulnerabilities in lung adenocarcinoma [J] . *Cell*, 2020, 182(1): 200-225.e35.
- [88] CHEN D S, MELLMAN I. Elements of cancer immunity and the cancer-immune set point [J] . *Nature*, 2017, 541(7637): 321-330.
- [89] BAGAEV A, KOTLOV N, NOMIE K, et al. Conserved pan-cancer microenvironment subtypes predict response to immunotherapy [J] . *Cancer Cell*, 2021, 39(6): 845-865. e847.

(收稿日期: 2021-02-18 修回日期: 2021-05-05)