

# 免疫评分在结直肠癌中的研究进展

张景淳, 郑桐森, 张艳桥

(哈尔滨医科大学附属肿瘤医院, 黑龙江 哈尔滨 150000)

**摘要:**结直肠癌是最常见的恶性消化系统肿瘤,近年来发病呈上升趋势。目前临床普遍采用 TNM 分期系统评估患者的预后,但该系统在临床实践中受到了挑战,主要表现在相同 TNM 分期系统患者的术后生存周期存在明显差异。近年来,免疫评分技术逐渐成为研究热点,该手段是通过将肿瘤微环境中的免疫细胞进行量化来预测肿瘤患者的生存周期。研究表明免疫评分能够更加准确地预测结直肠癌患者的临床预后,并且优于 TNM 分期和微卫星不稳定,在结直肠癌转移、术前放疗的疗效评估中具有重要的作用。本文将对免疫评分在结直肠癌中的研究进展进行综述。

**关键词:**免疫评分;肿瘤微环境;结直肠肿瘤

中图分类号:R735.3 文献标识码:A 文章编号:1004-0242(2017)08-0612-05

doi:10.11735/j.issn.1004-0242.2017.08.A006

## Research Progress of Immunoscore in Colorectal Cancer

ZHANG Jing-chun, ZHENG Tong-sen, ZHANG Yan-qiao

(Cancer Hospital Affiliated with Harbin Medical University, Harbin 150000, China)

**Abstract:**Colorectal cancer is the most common malignant tumor of the digestive system. In recent years, the incidence is on the rise. At present, TNM staging system is commonly used to evaluate the prognosis of patients clinically, but the system in clinical practice has been challenged. Patients in the same TNM stage may exhibit significantly discrepant survival after surgery. In recent years, immunoscore technology becomes a research hotspot. It predicts the survival period of cancer patients by the immune cell quantification in the microenvironment of the tumor. Studies have shown that immunoscore can predict the prognosis of colorectal cancer more accurately, and is superior to TNM classification and microsatellite instability; it also can evaluate the metastasis of colorectal cancer and the curative effect of radiotherapy and chemotherapy. In this article, the research progress of immunological evaluation in colorectal cancer is reviewed.

**Key words:** immunoscore; tumor microenvironment; colorectal neoplasms

结直肠癌是最常见的恶性消化系统肿瘤,位居全世界恶性肿瘤发病的第3位,是恶性肿瘤患者死亡的主要原因之一<sup>[1]</sup>。我国结直肠癌的发病率也呈逐年升高趋势,并且远高于世界平均水平<sup>[2]</sup>。目前,临床上普遍采用美国癌症联合委员会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)和国际抗癌联盟(Union for International Cancer Control, UICC)的 TNM 分期系统<sup>[3]</sup>。而 TNM 分期系统仍然是早中期结直肠癌术后患者是否需要辅助化疗的判断标准,可

以很好地反映肿瘤的进展程度,对评估结直肠癌患者的预后具有重要的参考意义<sup>[4]</sup>。然而,该系统在临床实践中受到了挑战,主要表现在同一临床分期、同样术后辅助治疗方案治疗的患者预后存在明显差异,甚至分期较早的患者比分期晚的患者预后更差,这可能是因为 TNM 分期是以肿瘤所侵犯的范围为依据来判断其演变趋势,而没有考虑到肿瘤的微环境及机体的整体免疫状态<sup>[5,6]</sup>。有研究证实肿瘤微环境中的免疫细胞浸润情况与患者的预后密切相关<sup>[7]</sup>。因而,国际上有学者提出免疫评分(immunoscore)系统,即将微环境中的免疫细胞量化来预测肿瘤患者的生存周期,近期研究表明其对肿瘤患者临床预后

收稿日期:2016-10-27;修回日期:2017-03-01

基金项目:国家自然科学基金项目(81672428、81472322、81201878)

通讯作者:张艳桥, E-mail: yanqiaozhang@126.com

的预测较 TNM 分期更准确,目前在结直肠癌中的研究较为广泛<sup>[8]</sup>。本文将重点阐述免疫评分在结直肠癌中的研究现状及展望。

## 1 肿瘤微环境中的免疫细胞浸润与肿瘤患者预后的关系

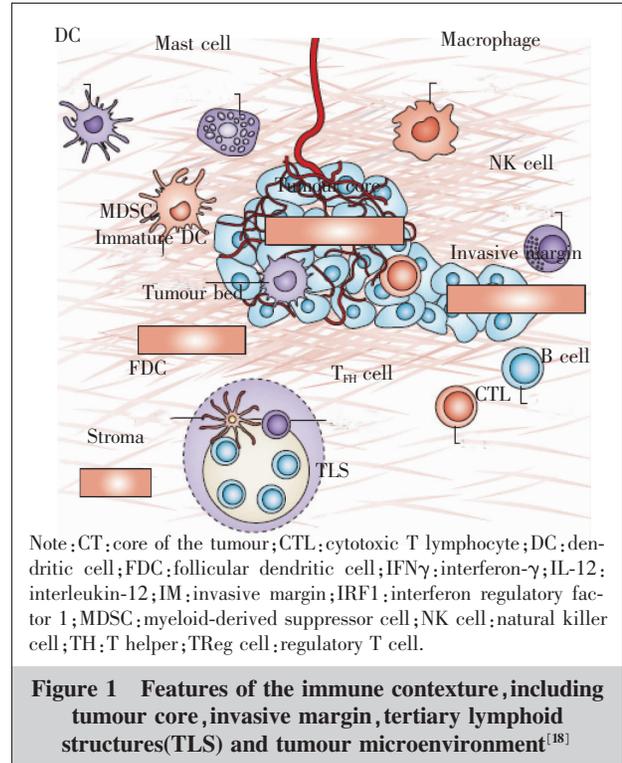
肿瘤微环境是由肿瘤细胞、基质细胞、趋化因子和细胞因子组成的,这些细胞彼此之间通过直接的细胞接触或者分泌细胞因子进行交流与传递<sup>[9]</sup>。原发肿瘤以及转移均以这个肿瘤微环境为基础<sup>[10]</sup>。近年大量研究证明,肿瘤预后与肿瘤的微环境密切相关,尤其是肿瘤微环境中的免疫细胞在机体对抗肿瘤中发挥着非常重要的作用<sup>[11,12]</sup>。多项关于结直肠癌的临床试验表明肿瘤内存在免疫细胞浸润,其中免疫细胞的密度、类型、肿瘤内分布区域和表型激活状态对于预测肿瘤患者预后具有重要意义<sup>[13,14]</sup>。研究发现无癌栓的结肠癌组织比有癌栓的有更多的淋巴细胞浸润<sup>[13]</sup>,同时也发现无早期转移侵袭的结肠癌患者中,T 淋巴细胞的迁移、活化和分化相关的指标均显著升高。通过高通量结肠癌肿瘤微环境数据库(tumor microenvironment database, TME.db)发现, Th1 获得性免疫相关的基因(*CD3 $\zeta$* 、*CD8*、*IFN- $\gamma$* 、*Tbet* 和颗粒溶解素等)表达升高与患者的术后复发存在明显正相关<sup>[7]</sup>。

## 2 免疫评分概念与方法

### 2.1 免疫评分概念

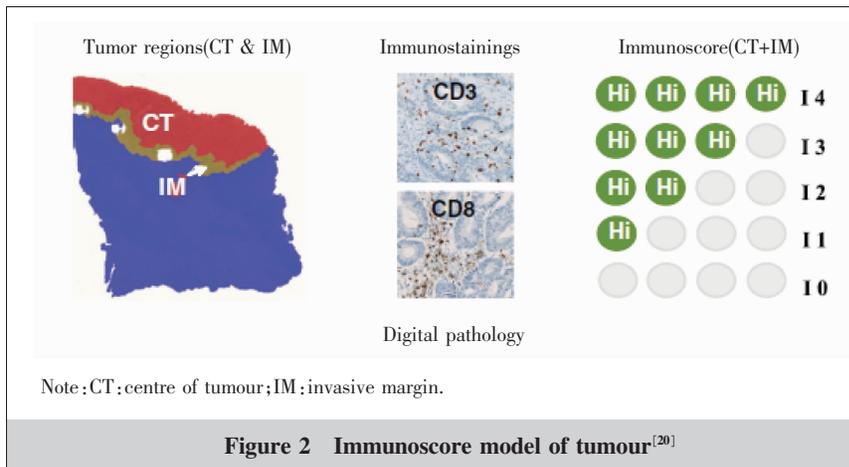
有学者将与肿瘤患者的无病生存期(disease-free survival, DFS)和总生存期(overall survival, OS)相关的获得性免疫因素统称为“免疫结构”(immune contexture),该结构由肿瘤中心区域和交界区域中的 CD8<sup>+</sup>T 细胞、CD45RO<sup>+</sup>记忆性 T 细胞、三级淋巴结构和其他功能黏附相关分子(如 MADCAM1、ICAM1、颗粒溶解素和粒酶 B 等)共同组成<sup>[13,15]</sup>(Figure 1)。在结肠癌组织芯片中发现在肿瘤中心(centre of tumour, CT)区域与肿瘤浸润交界(invasive margin, IM)区域中,CD3、CD8、粒酶 B 和 CD45RO 高表达与患者的生存预后存在明显的正相关。通过反复系统比对,肿瘤区域的免疫特征被进一步缩小到仅需要观

察 CD3<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD45RO<sup>+</sup>和 GZMB<sup>+</sup>细胞的密度和区域,同样可以准确地预测患者的术后生存周期<sup>[16,17]</sup>。基于上述研究背景,Galon 等<sup>[13]</sup>提出免疫评分这一概念,早先在结直肠癌患者中进行评分,即通过量化肿瘤微环境中的 T 细胞和细胞毒 T 细胞密度来预测患者术后的总生存期。



### 2.2 免疫评分方法

由于 CD45RO 和 GZMB 实验操作较为复杂,经过筛选,最终选择将不同肿瘤组织区域的 CD3 和 CD8 阳性细胞密度作为免疫评分的依据。首先采用免疫组化技术在两张病理切片上分别染色 CD3 和 CD8 抗体,然后用显微镜的图像作为数字照片的形式输入到数字病理系统中,并用图像处理软件计数每平方毫米区域内的 CD3 和 CD8 免疫细胞数量,再根据所得到的 CD3/CD8 阳性细胞数量通过最优分割法 SPSS 分析得出最佳临界值,进而将患者分为高密度和低密度两群,并进行评分,高密度计 1 分,低密度计 0 分;最后将 CD3 和 CD8 阳性细胞各自在 CT 与 IM 区域的密度评分相加,得到免疫总分(0~4 分)。根据肿瘤组织的免疫评分可划分成 5 个分期,其中 0 分的患者在 CT 和 IM 区域中 CD3<sup>+</sup>和 CD8<sup>+</sup>细胞均为低密度;4 分患者的两种细胞则在 CT 和 IM 区域中均为高密度<sup>[19,20]</sup>(Figure 2)。



### 3 免疫评分在结直肠癌中的研究进展

临床发现没有发生转移的结直肠癌患者行根治性手术切除后,约有20%~25%的患者将会复发,这表明隐匿性转移在根治性手术时已经存在<sup>[21]</sup>。以往尚没有相关的生物学指标可以预测这部分术后结直肠癌患者的复发情况,而这部分患者可能从辅助治疗中获益。然而,应用上述的免疫评分方法进行的两个独立队列(602例)研究表明,只有4.8%的高IM(4分)患者5年后出现复发,而86.2%的患者仍存活。相反,72%的低IM(0分和2分)患者发生肿瘤复发,患者5年生存率仅有27.5%<sup>[22]</sup>。因此,免疫评分可以有效预测结直肠癌患者的DFS和OS,而这些低免疫评分的患者可能从辅助治疗中获益。

Galon等<sup>[13]</sup>研究发现结直肠癌患者生存预后与免疫评分正相关,而与I~III期患者TNM分期没有明显联系。例如,在I期结直肠癌患者中,如果免疫评分为0分,则患者生存预后很差,证明免疫评分比TNM分期更为准确。Pages等<sup>[23]</sup>运用免疫评分方法对TNM早期(I/II期)的结直肠癌患者进行随访,发现免疫评分4分患者与评分为0分患者的差异在DFS和OS中具有统计学意义。其中免疫评分为4分的患者生存期较长,且95%的患者在结直肠癌术后18年内没有复发;而50%评分为0分患者在结直肠癌术后2年内即出现复发或转移。由于在TNM早期患者中看到很好的预测效果,研究人员在2011年开始针对各个肿瘤阶段(TNM I~IV期)的患者进行免疫评分的效果验证,结果显示免疫评分可以预测更广泛分期的结直肠癌患者的预后。

继微卫星不稳定(microsatellite-instable, MSI)、*BRAF*基因突变之后,免疫评分是预测结直肠癌患者预后的又一指标,Mlecnik等<sup>[8]</sup>发现在微卫星不稳定(MSI)和微卫星稳定(microsatellite-stable, MSS)的亚组结直肠癌患者中肿瘤内有较高的获得性免疫基因的表达,通过分析发现免疫评分对结直肠癌生存和复发的预测要优于MSI。因此,免疫评分不仅可以准确预测结直肠癌患者的生存周期,

而且也可能成为临床中免疫治疗的潜在靶点。

为了提高免疫评分在临床分期中的应用,Galon等<sup>[20]</sup>在2012年倡导了免疫评分全球协作,并且得到了癌症免疫治疗协会(society for immunotherapy of cancer, SITC)的支持。免疫评分全球协作的目的是验证以下几点:①验证免疫评分的可行性和重复应用性;②验证免疫评分在I/II/III期结肠癌患者中的评估预后作用;③证实免疫评分可以预测II期结肠癌患者复发的高风险性。最后的结果在2016年ASCO会议上报道,17个国家23个病理中心组成的肿瘤免疫治疗国际联合会评估了未行新辅助化疗的1336例结肠癌患者(I/II/III期)的免疫评分与复发时间(TTR)的相关性,患者分为培训和内部验证两个亚组,使用标准化程序进行定量,使用CD3和CD8抗体进行免疫标记,将原发结肠癌的整体切片进行病理数字化定量,发现TTR在I/II/III期高IM评分的患者中显著延长,低免疫评分为II期结肠癌的高危因素,免疫评分在预测患者的TTR、DFS和OS上要优于TNM分期系统。

由于直肠癌的临床病理学和治疗标准与结肠癌存在区别,癌症免疫治疗协会(SITC)并没有将直肠癌纳入免疫评分研究。而Anitei等<sup>[24]</sup>开展了一个辅助性的研究,进一步评估免疫评分在局部直肠癌患者中的效用,发现高免疫评分组和低免疫评分组存在统计学差异,免疫评分为0/1分的预后最差,结合其他可能与临床预后相关的指标,只有淋巴结阳性比率(lymph node ratio, LNR)和免疫评分与患者的DFS和OS具有显著的相关性,CD3<sup>+</sup>细胞的密度与直肠癌的复发成负相关(CD8<sup>+</sup>细胞的数据未出),在

直肠癌组织的活检组织中,CD3<sup>+</sup>细胞的浸润密度与术前放化疗的疗效呈正相关。

鉴于免疫评分在结直肠癌中的准确预测,Mlecnik等<sup>[8]</sup>研究发现远处转移的结直肠癌患者,肿瘤内的淋巴细胞密度(如CD3、GZMB、CD8、T-Bet、CD57和CD45RO等)是显著降低的。在肿瘤的IM区域,高免疫评分、高淋巴管密度(lymphatic vessel density, LVD)和高密度的GZMB细胞会降低肿瘤转移的可能性。所以,免疫评分是肿瘤发生远处转移的关键决定性因素,可以作为患者生存预后的重要标志物<sup>[25]</sup>。

## 4 结论与展望

免疫评分可以作为预测结直肠癌患者DFS和OS的生物学指标,并且可以确定癌症患者复发和转移的高风险性,对结直肠癌患者能否从术后辅助化疗中获益做出分类,以往临床上多采用TNM分期判断预后,而免疫评分目前已被证实对结直肠癌的预后及复发的评估更有价值,因此结合两个分期系统筛选相应的人群进行更加合理的个体化治疗具有潜在的应用前景。

尽管目前多项研究证明免疫评分可以较为准确预测结直肠癌患者的预后,但要作为临床常规检测指标,仍需要明确以下几个问题:①是否可以综合TNM分期和免疫评分(I)两个系统建立TNM-I,继而制定治疗决策和判断预后;②免疫评分的质量控制问题,目前尚缺乏免疫评分的统一实施标准或指南,如何将免疫评分检测在临床上变得更实用、高效是亟待解决的问题;③不同地域、不同种族之间,是否需要加入一些新的检测指标来完善免疫评分系统。

鉴于免疫分期对结直肠癌患者临床预后更准确的预测,我们对免疫评分未来的展望有如下几点:①是否可以应用免疫评分判断结直肠癌放化疗、靶向治疗和免疫治疗的预后;②免疫评分能否解释左、右半结肠癌治疗及预后的差异问题;③免疫评分能否解决结直肠癌化疗耐药的问题。随着基础机制研究的不断深入以及临床试验的不断总结,免疫评分系统将在多种恶性肿瘤中发挥越来越大的作用,必将带来生命科学领域的巨大飞跃,对提高患者的生存期具有实际意义。

## 参考文献:

- [1] Siegel R, Desantis C, Jemal A. Colorectal cancer statistics, 2014 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2014, 64(2): 104-117.
- [2] Chen Q, Liu ZC, Cheng LP, et al. An analysis of incidence and mortality of colorectal cancer in China, 2003~2007 [J]. *China Cancer*, 2012, 21(3): 179-182. [陈琼, 刘志才, 程兰平, 等. 2003~2007年中国结直肠癌发病与死亡分析 [J]. *中国肿瘤*, 2012, 21(3): 179-182.]
- [3] Wiltberger G, Krenzien F, Benzing C, et al. Prognostic accuracy of the seventh edition of the TNM classification compared with the fifth and sixth Edition for distal cholangiocarcinoma [J]. *Ann Surg Oncol*, 2016, 23(4): 1320-1326.
- [4] Ueno H, Mochizuki H, Akagi Y, et al. Optimal colorectal cancer staging criteria in TNM classification [J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(13): 1519-1526.
- [5] Nagtegaal ID, Quirke P, Schmoll HJ. Has the new TNM classification for colorectal cancer improved care? [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2011, 9(2): 119-123.
- [6] Bindea G, Mlecnik B, Fridman WH, et al. Natural immunity to cancer in humans [J]. *Curr Opin Immunol*, 2010, 22(2): 215-222.
- [7] Galon J, Fridman WH, Pages F. The adaptive immunologic microenvironment in colorectal cancer: a novel perspective [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(5): 1883-1886.
- [8] Mlecnik B, Bindea G, Angell HK, et al. Integrative analyses of colorectal cancer show immunoscore is a stronger predictor of patient survival than microsatellite instability [J]. *Immunity*, 2016, 44(3): 698-711.
- [9] Song QB, Chu YX, Hu QY. Tumor microenvironmental change in cancer immune tolerance [J]. *China Cancer*, 2016, 25(10): 794-798. [宋启斌, 褚玉新, 胡钦勇. 肿瘤微环境变化在肿瘤免疫耐受中的作用 [J]. *中国肿瘤*, 2016, 25(10): 794-798.]
- [10] Garagnani P, Pirazzini C, Franceschi C. Colorectal cancer microenvironment: among nutrition, gut microbiota, inflammation and epigenetics [J]. *Curr Pharm Des*, 2013, 19(4): 765-778.
- [11] Zhu W, Li JL, Zhang LH, et al. Clinical study of autoimmune cells therapy combined with chemotherapy for colorectal cancer [J]. *Chinese Journal of Surgery of Integrated Traditional and Western Medicine*, 2016, 22(2): 116-119. [朱卫, 李佳丽, 张利红, 等. 自体免疫细胞治疗联合化疗治疗大肠癌的临床研究 [J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2016, 22(2): 116-119.]
- [12] Chen YF, Wu XR, Wu XJ, et al. Clinical prognostic value of immune microenvironment in colorectal neoplasms [J].

- Chinese Journal of Experimental Surgery, 2012, 29 (2): 350-351. [陈钰锋, 吴现瑞, 吴小剑, 等. 免疫微环境在结直肠肿瘤中的临床预后价值[J]. 中华实验外科杂志, 2012, 29(2): 350-351.]
- [13] Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, et al. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome[J]. Science, 2006, 313(5795): 1960-1964.
- [14] Zou YF, Cai ZR, Chen YF, et al. Comparison of local immune microenvironment between liver-metastasis colorectal cancer and non-liver-metastasis colorectal cancer [J]. Chinese Journal of Gastrointestinal Surgery, 2013, 16(6): 547-551. [邹一丰, 蔡泽荣, 陈钰锋, 等. 结直肠癌肝转移与肿瘤局部免疫微环境的关系[J]. 中华胃肠外科杂志, 2013, 16(6): 547-551.]
- [15] Galon J, Angell HK, Bedognetti D, et al. The continuum of cancer immunosurveillance: prognostic, predictive, and mechanistic signatures [J]. Immunity, 2013, 39(1): 11-26.
- [16] Sato E, Olson SH, Ahn J, et al. Intraepithelial CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes and a high CD8+/regulatory T cell ratio are associated with favorable prognosis in ovarian cancer[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005, 102(51): 18538-18543.
- [17] Sharma P, Shen Y, Wen S, et al. CD8 tumor-infiltrating lymphocytes are predictive of survival in muscle-invasive urothelial carcinoma[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007, 104(10): 3967-3972.
- [18] Fridman WH, Pages F, Sautes-Fridman C, et al. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome [J]. Nat Rev Cancer, 2012, 12(4): 298-306.
- [19] Mlecnik B, Tosolini M, Kirilovsky A, et al. Histopathologic-based prognostic factors of colorectal cancers are associated with the state of the local immune reaction[J]. J Clin Oncol, 2011, 29(6): 610-618.
- [20] Galon J, Pages F, Marincola FM, et al. Cancer classification using the immunoscore: a worldwide task force[J]. J Transl Med, 2012, 10: 205.
- [21] Yang J, Xing S, Li J, et al. Novel lymph node ratio predicts prognosis of colorectal cancer patients after radical surgery when tumor deposits are counted as positive lymph nodes: a retrospective multicenter study[J]. Oncotarget, 2016, 7(45): 73865-73875.
- [22] Gabrielson A, Wu Y, Wang H, et al. Intratumoral CD3 and CD8 T-cell densities associated with relapse-free survival in HCC [J]. Cancer Immunol Res, 2016, 4(5): 419-430.
- [23] Pages F, Kirilovsky A, Mlecnik B, et al. In situ cytotoxic and memory T cells predict outcome in patients with early-stage colorectal cancer[J]. J Clin Oncol, 2009, 27(35): 5944-5951.
- [24] Anitei MG, Zeitoun G, Mlecnik B, et al. Prognostic and predictive values of the immunoscore in patients with rectal cancer [J]. Clin Cancer Res, 2014, 20(7): 1891-1899.
- [25] Mlecnik B, Bindea G, Kirilovsky A, et al. The tumor microenvironment and Immunoscore are critical determinants of dissemination to distant metastasis [J]. Sci Transl Med, 2016, 8(327): 327ra326.

## 致作者/通讯作者

本刊对所有来稿不收任何形式的审稿费,同行评议审稿费用由本刊承担。来稿刊登后即给作者/通讯作者通过邮局,以印刷品挂号形式寄赠当期杂志2册,如未能及时收到,请登录<http://www.chinaoncology.cn>在所在杂志页面信息公告栏目中查询该期杂志作者邮寄名单,凭“挂刷号”可在当地邮局查询。因办刊经费困难,从2016年起稿酬改为给作者/通讯作者寄赠当期杂志以后的12期杂志每期1册,或合订本。在此期间,如您的邮寄地址有变化,请及时联系本刊:QQ:729586420,电话/传真:0571-88122280, E-mail:zgzl\_09@126.com

## 关于开具版面费发票提供税号的通知

由于营改增的实施,本刊的版面费发票改为国税发票,如您的版面费发票抬头为贵单位名称,需提供贵单位的税号或组织机构代码证号,请您在百忙中,向贵单位财务部门咨询一下!并在本刊投稿网站作者版面费登记栏中,完善税号登记信息,以便本刊开具发票;如果您的版面费发票抬头是个人,则不需税号。谢谢合作!