

本文引文格式:李艳霞,谭嘉辉,周亚杏,等.三级淋巴结构在结直肠癌中的临床特征及预后分析[J].右江民族医学院学报,2025,47(4):600-606,613.

【论著与临床报道】

三级淋巴结构在结直肠癌中的临床特征及预后分析

李艳霞,谭嘉辉,周亚杏,郭雪峰

(桂林医科大学公共卫生学院,广西 桂林 541004)

摘要:目的 探究三级淋巴结构(tertiary lymphoid structures, TLS)在结直肠癌中的发生情况及结构表现,分析其与结直肠癌患者临床病理特征和预后的关联。**方法** 通过回顾性分析桂林医科大学附属医院2017—2024年128例结直肠癌患者苏木精-伊红染色结果初步确定三级淋巴结构的存在,同时联合免疫组化标记CD20、CD21和CD23明确三级淋巴结构的表达特征,并依据其所处的空间位置和成熟度水平对患者进行分类,探索其与预后的关系。**结果** 肿瘤内三级淋巴结构主要分布在黏膜层,多呈扁平的泪滴状且缺失生发中心;而肿瘤周围三级淋巴结构主要分布于黏膜下层及固有层,多为椭圆或球状结构且包含完整淋巴滤泡。队列分析显示,肿瘤周围三级淋巴结构阳性表达率较高且成熟度多处于高水平的次级滤泡样三级淋巴结构,而肿瘤内三级淋巴结构阳性表达率较低且以早期三级淋巴结构及初级滤泡样三级淋巴结构为主。三级淋巴结构阳性与CD20、CD21和CD23的表达有关($P < 0.05$)。生存分析表明,空间上,肿瘤周围三级淋巴结构浸润与患者无进展生存期、总生存期预后良好有关;成熟度上,次级滤泡样三级淋巴结构阳性的结直肠癌患者预后较好。**结论** 肿瘤周围三级淋巴结构和次级滤泡样三级淋巴结构可作为结直肠癌预后预测的重要标志物,这将为个体化免疫治疗提供新方向。

关键词:结直肠癌;三级淋巴结构;临床特征;免疫治疗;预后标志物

中图分类号:R735.34

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2025)04-0600-08

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.04.008

Clinical characteristics and prognostic analysis of tertiary lymphoid structures in colorectal cancer

LI Yanxia, TAN Jiahui, ZHOU Yaxing, GUO Xuefeng

(School of Public Health, Guilin Medical University, Guilin 541004, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To investigate the occurrence and structural characteristics of tertiary lymphoid structures (TLS) in colorectal cancer (CRC) and analyze their associations with clinicopathological features and prognosis in CRC patients. **Methods** A retrospective analysis was conducted on hematoxylin and eosin (H&E)-stained specimens from 128 CRC patients treated at the Affiliated Hospital of Guilin Medical University between 2017 and 2024 to preliminarily identify TLS. Immunohistochemical (IHC) staining for CD20, CD21, and CD23 was employed to clarify the expression characteristics of TLS. Patients were classified based on TLS spatial localization and maturity levels to explore associations with prognosis. **Results** Intratumoral TLS were predominantly localized in the mucosal layer, exhibiting flat, teardrop-shaped morphologies without germinal centers. Peritumoral TLS were primarily distributed in the submucosa and lamina propria, forming oval or spherical structures with intact lymphoid follicles. Cohort analysis revealed a higher positive expression rate of peritumoral TLS, mostly as highly mature secondary follicular-like TLS; in contrast, the positive expression rate of intratumoral TLS was lower, mainly consisting of early-stage TLS and primary follicular-like

基金项目:广西高校中青年教师科研基础能力提升项目(2024KY0526)

第一作者:李艳霞,在读硕士研究生,研究方向:肿瘤分子流行病学, E-mail:3439645644@qq.com

通讯作者:郭雪峰,博士,硕士研究生导师,研究方向:肿瘤分子流行病学, E-mail:gxf-05411984@163.com

TLS. The positivity of TLS was associated with the expression of CD20, CD21, and CD23 ($P < 0.05$). Survival analysis indicated that spatially, peritumoral TLS infiltration was associated with favorable progression-free survival (PFS) and overall survival (OS); in terms of maturity, CRC patients with positive secondary follicular-like TLS had better prognosis. **Conclusion** Peritumoral TLS and secondary follicular-like TLS are significant prognostic biomarkers in CRC and may provide new directions for individualized immunotherapy.

Key words: colorectal neoplasms; tertiary lymphoid structures; clinical characteristics; immunotherapy; prognostic biomarkers

结直肠癌作为全球范围内致死率排名第三的恶性肿瘤,其疾病负担在人口老龄化和生活方式西化的双重驱动下持续加剧。中国癌症流行病学监测数据显示,2015至2022年间我国结直肠癌新发病例年增长率高达3.92%,2022年新确诊及死亡病例分别达到51.71万例和26万例^[1],发病率和死亡率跃居恶性肿瘤第2位和第4位。近年来,结直肠癌呈现发病率快速攀升^[2]、年轻化趋势明显^[3]、早诊早治率低、晚期占比高^[4]的流行病学趋势。因此,探索新型肿瘤标志物十分必要,这将为结直肠癌防治提供新的策略。

三级淋巴结构(tertiary lymphoid structure, TLS)是在非淋巴组织内,由持续性抗原刺激和炎症反应诱导形成的异位淋巴样结构,其形成过程涉及淋巴细胞、树突状细胞等多种免疫细胞的定向迁移与空间重构^[5-6]。在结构上,根据组织学成熟度,TLS可分为3种亚型,包括早期三级淋巴结构(early tertiary lymphoid structure, E-TLS)、初级滤泡样三级淋巴结构(primary follicular-like tertiary lymphoid structure, P-TLS)和成熟的次级滤泡样三级淋巴结构(secondary follicular-like tertiary lymphoid structure, S-TLS)^[7]。在不同阶段,上述3种三级淋巴结构分别发挥不同的功能。E-TLS中B细胞无序聚集,尚未形成完整的滤泡网状结构,其存在可能与T细胞耗竭、炎症和免疫抑制相关^[8]。进一步激活后,P-TLS逐步形成,具有明显T/B淋巴细胞分区,主要参与抗原呈递等基础免疫过程,但是其缺乏生发中心反应^[9]。在发展成熟阶段,S-TLS形成,形态上已具备完整的生发中心,可通过促进B细胞成熟分化和抗体类别转换,在长效维持抗肿瘤免疫应答过程中发挥关键作用^[10]。但是,在结直肠癌中,不同空间区域以及不同成熟度的TLS与肿瘤患者的预后关系仍不明确。本研究旨在发现TLS在结直肠癌中的空间分布和表达规律,探索TLS与结直肠癌患者临床病理特征和预后的关系,尤其是不同空间区域以及不同成熟度的TLS与结直肠癌预后的关联,以期对结直肠癌的预后预测和个体化免疫治疗提供新的理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究纳入桂林医科大学附属医院

2017年1月至2024年1月期间初诊初治并行原发灶根治性切除的结直肠癌患者。病例筛选严格遵循以下标准:纳入对象需符合《中国结直肠癌诊疗规范(2023版)》诊断标准(经内镜活检及术后病理确诊),具有完整临床及随访数据、广西桂林户籍(年龄18~80岁)、完成本院系统检查(血液/影像/病理)并签署知情同意书;排除标准包括合并严重器官功能障碍、既往结直肠癌治疗史及其他恶性肿瘤史、精神认知障碍和凝血功能异常等^[11]。以上标准旨在确保研究对象的同质性,提高研究结果的科学性和可靠性。所有结直肠癌患者的石蜡样本,使用免疫组织化学染色(immunohistochemistry staining, IHC)检测CD20、CD21和CD23,同时匹配患者苏木精-伊红染色(HE)切片,共回顾了386张病理组织切片。所有染色结果均由两位病理医生独立判断,主要判断结直肠癌组织的细胞形态学改变情况,包括组织学分级、浸润深度、脉管转移、淋巴转移等情况评估。通过整合医院电子病历系统构建临床信息数据库,涵盖患者基线特征、实验室、影像及病理数据。采用电话或门诊随访至2024年10月,动态追踪患者的复发及治疗数据,选用总生存期(overall survival, OS)和无进展生存期(progression-free survival, PFS)作为核心的预后评估指标。研究方案经桂林医科大学附属医院伦理委员会审批(GLMC20243358),所有流程遵循临床研究伦理规范。

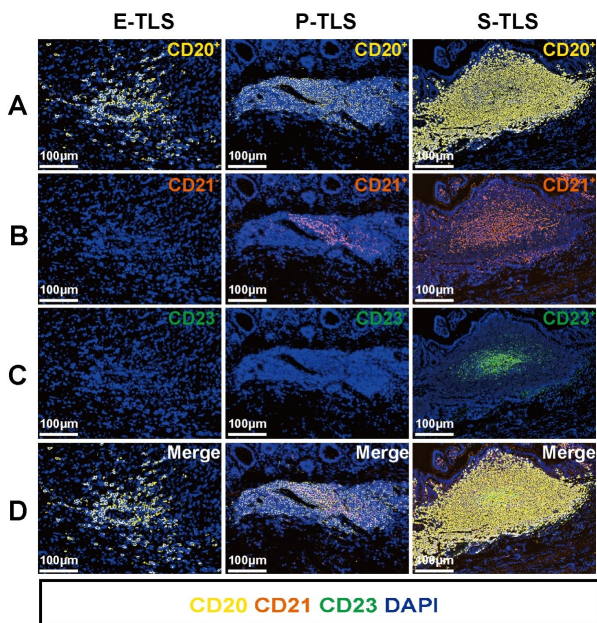
1.2 方法

1.2.1 HE染色 HE染色是一种通过碱性苏木精和酸性伊红分别标记细胞核与细胞质、细胞外基质的基础组织学技术,广泛应用于病理学和组织结构分析^[12]。标准化流程主要包括烤片、梯度脱蜡复水、苏木精-伊红双染、乙醇梯度脱水及中性树胶封固。所有HE染色切片均使用SLIDEVIEW病理切片扫描仪(OLYMPUS VS200, Japan)扫描为数字化图像($\times 200$)。主要试剂苏木素-伊红染料采购于珠海贝索生物技术有限公司。

1.2.2 IHC IHC基于抗原与抗体特异性结合原理,通过显色剂标记靶蛋白实现定位与定量分析,是检测组织内蛋白质表达的关键技术^[13-14]。本研究对结直肠癌样本进行IHC染色,涵盖抗原修复、一抗与二抗孵

育、DAB 显色及苏木素核染等步骤。所有 IHC 染色切片均使用 SLIDEVIEW 病理切片扫描仪 (OLYMPUS VS200, Japan) 扫描为数字化图像 ($\times 200$)。主要试剂包括 CD20 兔单抗 (ab315160, 1 : 100, Abcam)、CD21 兔单抗 (ab315160, 1 : 300, Abcam)、CD23 兔单抗 (ZRB2691, 1 : 1000, Sigma) 和免疫显色试剂 (GK347010, 基因科技股份有限公司)。

1.2.3 多重免疫组织化学染色 (mIHC) mIHC 是基于辣根过氧化酶的高密度原位酶学标记技术,可精准解析生物标志物的空间分布及共表达特征^[14]。本研究对结直肠癌样本进行 mIHC 染色,涵盖抗原修复、一抗与二抗孵育、荧光显色及 DAPI 核染等步骤。所有 mIHC 染色切片均使用 SLIDEVIEW 病理切片扫描仪 (OLYMPUS VS200, Japan) 扫描为数字化图像 ($\times 200$)。主要免疫显色试剂为爱必信生物科技有限公司的六色多重免疫组化染色试剂。TLS 的相关标志物 CD20、CD21 与 CD23 的多重荧光染色如图 1 所示。



注:A 为 CD20 染色区域;B 为 CD21 染色区域;C 为 CD23 染色区域;D 为 CD20、CD21 和 CD23 的染色聚集图像。

CD20(黄色),CD21(橙色),CD23(绿色)。

图 1 E-TLS、P-TLS 和 S-TLS 的典型图像 ($\times 200$)

1.2.4 TLS 判读标准 判读标准:首先采用 HE 染色对 TLS 进行数量、形态及位置的初步识别;然后,结合 IHC 的 B 细胞标志物,将肿瘤内和肿瘤周围 CD20+B 细胞数量 > 50 个且存在生发中心反应的淋巴滤泡样结构,即 S-TLS 确定为 TLS 阳性^[15]。进一步,通过不同淋巴细胞标志物判断 TLS 的成熟度和空间分布。具体如下。成熟度判读:基于 HE 判定的三级淋

巴结构,同时结合 TLS 成熟度判定相关文献,将 TLS 分为 E-TLS、P-TLS、S-TLS 和阴性。将仅有 CD20 染色的淋巴聚集体,即聚集体内无 CD21 和 CD23 阳性表达判定为早期 TLS (E-TLS, 仅 CD20+TLS);在淋巴聚集体中,存在双染阳性,即 CD20+CD21+TLS 判定为初级滤泡样 TLS (P-TLS, CD20+CD21+TLS);在淋巴聚集体中,存在三染阳性,即 CD20+CD21+CD23+TLS,并形成生发中心判定为次级滤泡样 TLS (S-TLS, CD20+CD21+CD23+TLS);阴性判定为未见 CD20+B 淋巴细胞或存在少量散在的 CD20+B 淋巴细胞^[16-17]。空间分布判读,肿瘤内三级淋巴结构 (Intratumoral Tertiary Lymphoid Structure, iTLS) 位于肿瘤实质区域;肿瘤周围三级淋巴结构 (Peritumoral Tertiary Lymphoid Structure, pTLS) 则包括肿瘤侵袭边缘 2 mm 内的全部 TLS^[18]。该体系从多维度构建了 TLS 的评估框架,为预后关联研究提供标准化依据。

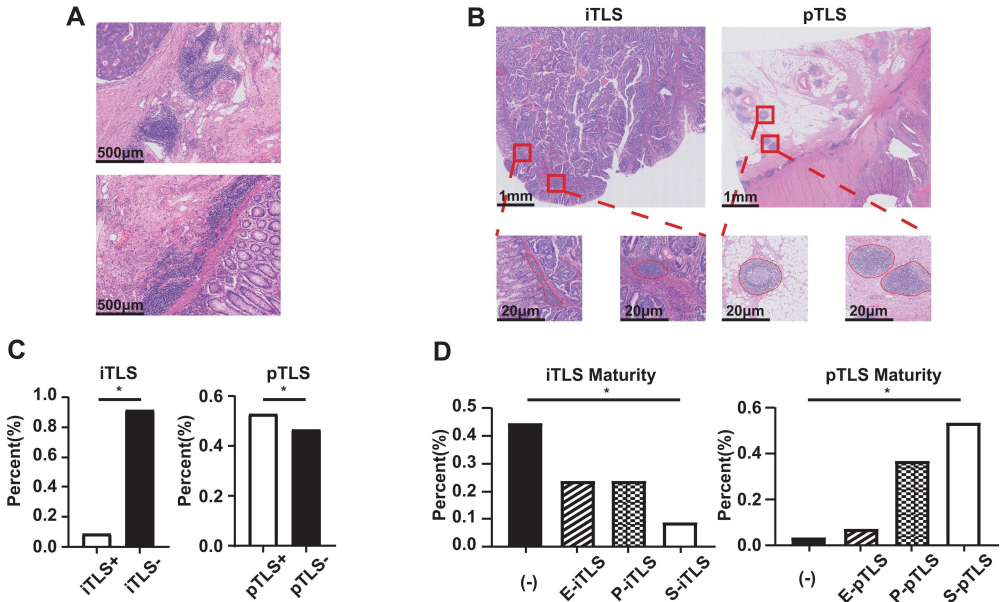
1.3 统计学方法 本研究采用 R 4.0.3 与 SPSS 28.0 进行统计分析。针对 TLS 与临床病理特征的关联性,分类变量应用 χ^2 检验或 Fisher 精确检验,连续变量根据正态性检验结果选择 t 检验或非参数检验。生存分析通过 Kaplan-Meier 法绘制 OS 和 PFS 曲线,log-rank 检验评估组间差异。所有检验均为双侧,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 形态特征 通过组织病理学分析发现,结直肠癌微环境中的 TLS 呈现显著的空间差异性 (见图 2)。图 2A 所示为典型的 iTLS 和 pTLS 的 HE 染色。iTLS 主要定位于肿瘤巢的黏膜层,受限于狭窄的细胞间质,其形态多呈现扁平状或泪滴状结构;而 pTLS 则集中分布于肿瘤侵袭前沿及肿瘤远端的黏膜下层及固有层,在相对宽松的细胞外基质中发育为典型的椭圆形或球状结构,这种形态差异现象可能是由于其形成的机械微环境限制以及功能需求不同而导致的^[19] (见图 2B)。进一步的统计分析表明,在结直肠癌队列中,pTLS 的阳性表达率为 53.13%,相对于阴性组稍高;而 iTLS 则相反,阳性表达率仅为 8.59%,显著低于阴性组 (见图 2C)。同时,pTLS 不同成熟度的患者占比从 S-TLS、P-TLS、E-TLS 到阴性对照组逐渐降低,且普遍呈现更成熟的 S-TLS;相反,iTLS 成熟度分布则呈现逆向特征,且大多为早期发育状态,稀疏分布于癌巢间质中 (见图 2D)。通过 HE 染色发现,E-TLS 有淋巴细胞的低密度浸润;P-TLS 在淋巴细胞聚集的基础上可观察到滤泡样结构;S-TLS 则可进一步观察到生发中心 (见图 3A~图 3C)。另外,免疫组化染色也进一步验证,S-TLS 呈现明确的三层组织架构:外周

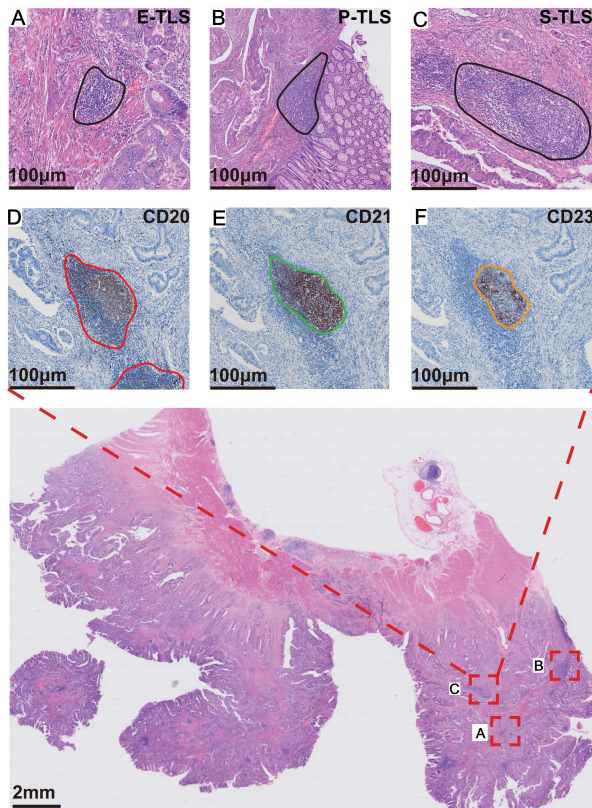
区 CD20+B 细胞形成高度致密的细胞团块;中间层由 CD21+B 细胞构建的滤泡网状支架构成,用于支持生发中心反应;核心区则高度富集 CD23+活化 B 细胞

(见图 3D~图 3F)。这种高度有序的空间分布提示 TLS 在抗肿瘤免疫应答中的功能可塑性,其结构特征或为突破免疫治疗耐药提供新靶点。



注:A为典型 TLS 的 HE 显微图像($\times 200$);B为 iTLS 和 pTLS 的 HE 显微图像($\times 200$); C 为 TLS 存在状态(阳性/阴性)在 iTLS 与 pTLS 区域中的分布比例差异; D 为 TLS 成熟度分级在 iTLS 与 pTLS 区域中的分布比例差异;* $P < 0.05$ 。

图 2 结直肠癌组织内 TLS 的空间分布及形态特征



注:A为 E-TLS;B为 P-TLS;C为 S-TLS;D为 CD20 的表达轮廓(红色)指示 B 细胞聚集; E 为 CD21 的表达轮廓(绿色)指示滤泡网状结构;F 为 CD23 的表达轮廓(橙色)指示生发中心结构。

图 3 CD20、CD21 和 CD23 在结直肠癌组织中 TLS 的 HE 及 IHC 显微图像($\times 200$)

2.2 TLS 与结直肠癌患者临床病理特征的关联分析

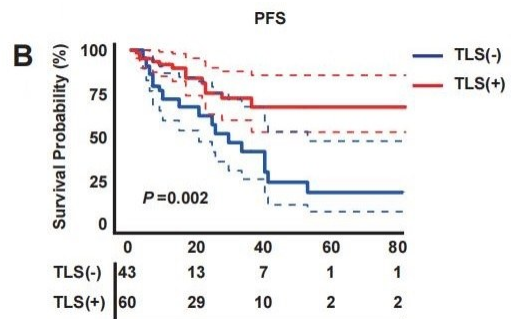
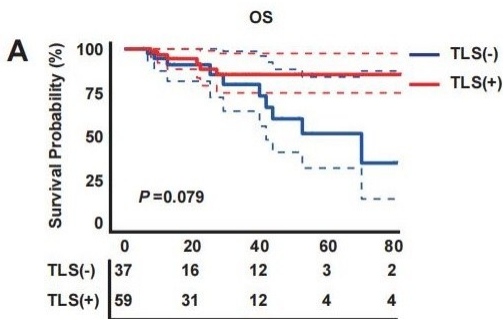
采用 χ^2 检验分析 TLS 与临床病理参数之间的关系,结果提示, TLS 与结直肠癌患者的淋巴结转移差异无统计学意义($P = 0.066$),但 TLS 阳性患者的淋巴结转移较少。另外,3 个 TLS 标志物 CD20、CD21 和 CD23 均与 TLS 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

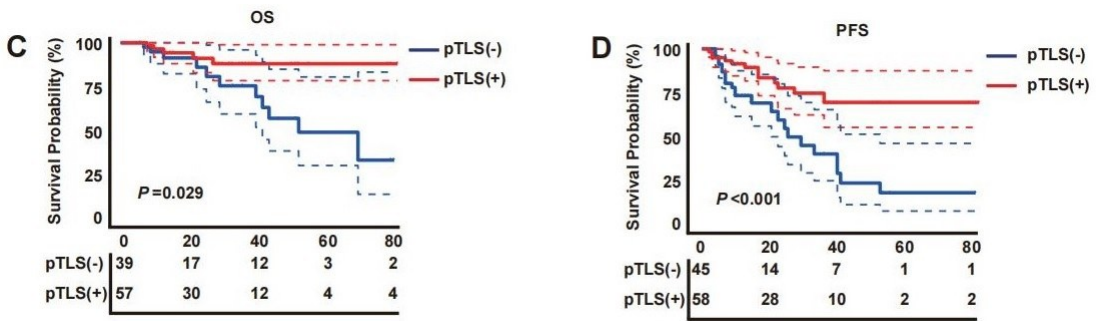
2.3 TLS 与结直肠癌患者预后的关系

为探究 TLS 与结直肠癌预后的关系,从总 TLS、TLS 空间分布及其成熟度分级 3 个方面对结直肠癌患者预后进行分析。首先,在总 TLS 预后分析中,相比于阴性组, TLS 阳性组患者有较好的 PFS(TLS⁺: 62.652 个月, TLS⁻: 34.820 个月, $P = 0.002$; 见图 4A、图 4B); 在 TLS 空间分布的预后分析中,相比阴性组, pTLS 阳性患者的 OS 和 PFS 显著较好(OS: pTLS⁺: 76.002 个月, pTLS⁻: 55.853 个月, $P = 0.029$; PFS: pTLS⁺: 63.815 个月, pTLS⁻: 34.186 个月, $P < 0.001$; 见图 4C、图 4D),其他比较未见显著差异。进一步,本课题组探索了不同 TLS 成熟度与结直肠癌患者预后的关系。结果表明,相比于其他两组, S-TLS 患者的 PFS 显著延长(S-TLS: 62.652 个月, P-TLS: 34.842 个月, E-TLS: 10.800 个月, $P = 0.003$, 见图 5A),而 OS 之间差异无统计学意义($P > 0.05$, 见图 5B)。更进一步,探讨了肿瘤周围浸润的不同成熟度的 TLS 对结直肠癌患者预后的影响。结果显示,相比其他两组,肿瘤周围成熟的 S-TLS 患者的 OS 和 PFS 预后生存较好(OS: S-pTLS: 76.002 个月, P-pTLS: 60.315 个月, E-pTLS: 29.000 个月, $P = 0.004$; PFS: S-pTLS: 63.815 个月, P-pTLS: 35.695 个月, E-pTLS: 15.571 个月, $P < 0.001$; 见图 5C、图 5D)。

表 1 TLS 的表达与结直肠癌患者临床病理特征的关联分析

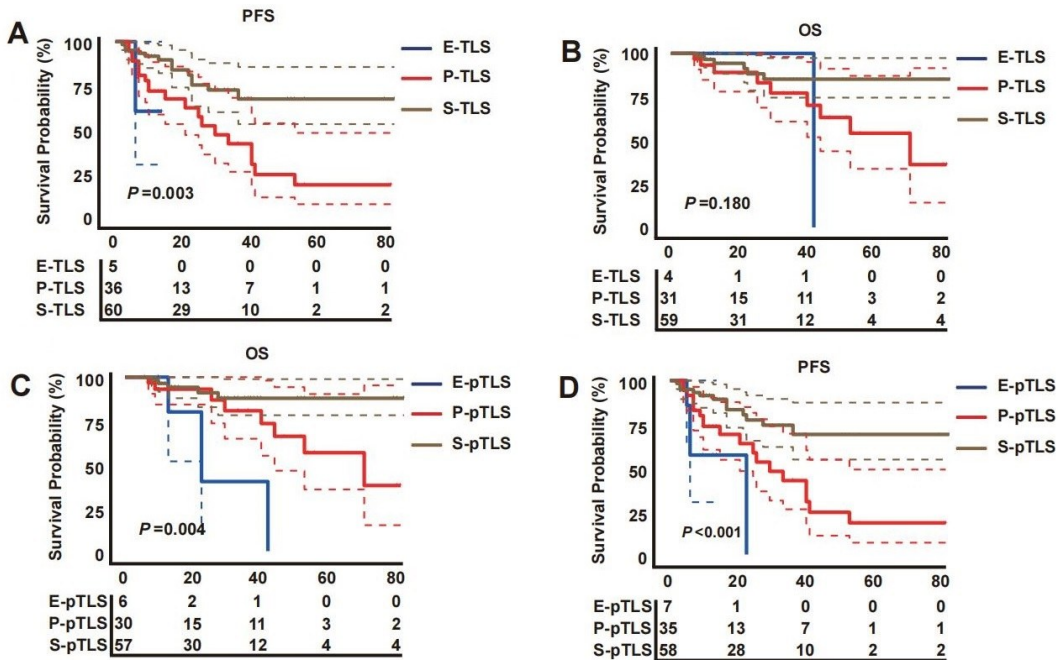
| 项目 | n | TLS 表达 | | χ^2 | P |
|---------|-----|------------------|------------------|----------|-------|
| | | TLS ⁻ | TLS ⁺ | | |
| 性别 | 128 | | | 0.015 | 0.902 |
| 女 | 36 | 16 | 20 | | |
| 男 | 92 | 42 | 50 | | |
| 年龄/岁 | 128 | | | 1.854 | 0.173 |
| <60 | 41 | 15 | 26 | | |
| ≥60 | 87 | 43 | 44 | | |
| 肿瘤部位 | 128 | | | 0.744 | 0.389 |
| 左半结肠 | 90 | 43 | 47 | | |
| 右半结肠 | 38 | 15 | 23 | | |
| 组织学分级 | 127 | | | 3.011 | 0.556 |
| 高分化 | 10 | 2 | 8 | | |
| 高中分化 | 24 | 12 | 12 | | |
| 中分化 | 69 | 31 | 38 | | |
| 中低分化 | 14 | 7 | 7 | | |
| 低分化 | 10 | 5 | 5 | | |
| 病理分型 | 126 | | | 2.198 | 0.333 |
| 隆起型 | 45 | 19 | 26 | | |
| 溃疡型 | 74 | 32 | 42 | | |
| 浸润型 | 7 | 5 | 2 | | |
| 肿瘤直径/cm | 126 | | | 0.216 | 0.642 |
| <5 | 38 | 16 | 22 | | |
| ≥5 | 88 | 41 | 47 | | |
| 神经侵犯 | 126 | | | 3.197 | 0.074 |
| 未见神经侵犯 | 46 | 16 | 30 | | |
| 可见神经侵犯 | 80 | 41 | 39 | | |
| 脉管侵犯 | 126 | | | 0.094 | 0.760 |
| 未见脉管侵犯 | 77 | 34 | 43 | | |
| 可见脉管侵犯 | 49 | 23 | 26 | | |
| 淋巴结转移 | 125 | | | 3.370 | 0.066 |
| 未见淋巴结转移 | 78 | 30 | 48 | | |
| 可见淋巴结转移 | 47 | 26 | 21 | | |
| T 分期 | 125 | | | 0.099 | 0.753 |
| T1~T3 | 80 | 35 | 45 | | |
| T4 | 45 | 21 | 24 | | |
| CD20 | 128 | | | 11.664 | 0.001 |
| 低表达 | 86 | 48 | 38 | | |
| 高表达 | 42 | 10 | 32 | | |
| CD21 | 128 | | | 13.092 | 0.001 |
| 阴性 | 10 | 10 | 0 | | |
| 阳性 | 118 | 48 | 70 | | |
| CD23 | 128 | | | 128.000 | 0.001 |
| 阴性 | 58 | 58 | 0 | | |
| 阳性 | 70 | 0 | 70 | | |





注:A、B为 TLS 与结直肠癌患者预后的关系;
C、D为 pTLS 与结直肠癌患者预后的关系。

图 4 TLS 对结直肠癌患者预后的影响



注:A、B为 TLS 成熟度与结直肠癌患者预后的关系;
C、D为 pTLS 成熟度与结直肠癌患者预后的关系。

图 5 TLS 成熟度对结直肠癌患者预后的影响

3 讨论

TLS是在病理状态下非淋巴组织中新形成的异位免疫细胞聚集体^[20],包含 B 淋巴细胞、T 淋巴细胞等多种免疫细胞。结直肠癌中的 TLS 在不同发育过程中呈现时序性细胞交互变化;E-TLS 表现为 CD20+B 细胞的局灶性聚集,晚期成熟的 TLS 则主要由 CD21 阳性滤泡树突细胞、CD23 阳性生发中心及高内皮微静脉形成,包含完整的淋巴滤泡结构^[21-22]。本研究发现,结直肠癌微环境中的 TLS 呈现显著的空间差异性,与患者预后密切相关。在空间上,肿瘤周围主要以成熟的 S-TLS 为主,且其成熟度与患者总生存期和无进展生存期有关;在肿瘤区域中,TLS 则多处于发育早期阶段,缺乏完整的淋巴滤泡,但与预后无显著关联。另外,结直肠癌患者的淋巴结转移与 TLS 阳性表

达有关。以上结果均提示结直肠癌患者肿瘤周围浸润较多的 TLS 预示较好的预后生存。

有研究表明,在实体肿瘤中,TLS 聚集与患者预后、肿瘤免疫浸润及治疗具有重要关系。结直肠癌多中心队列研究发现,TLS 在右半结肠癌和左半结肠癌中的分布和功能存在差异。相比于左半结肠癌患者,右半结肠癌患者的 TLS 具有较多的 CD20+B 细胞富集,并与患者良好的预后相关^[23]。XIA J 等^[24]通过单细胞测序进一步揭示,高免疫细胞浸润的结直肠癌患者其 TLS 中聚集多种亚型的 B 淋巴细胞,包括幼稚 B 细胞、记忆 B 细胞和生发中心 B 细胞等,推测其可能显著促进抗原呈递和 T 细胞激活,并且发现 TLS 的存在与患者免疫治疗的响应率提高显著相关。在治疗方面,THOMMEN D S 等^[25]发现高表达 PD-1 的 CD8+

T 细胞通过分泌趋化因子 CXCL13 募集 CXCR5+B 细胞、CD4+滤泡辅助 T 细胞向 TLS 迁移,促进其成熟。并且,PD-1+T 细胞的存在与患者的预后生存延长以及接受 PD-1 抑制剂治疗的客观缓解率提升显著相关。关于黑色素瘤的研究显示,TLS 的密度和比例与免疫检查点阻断治疗的应答显著相关,应答患者肿瘤中的 TLS 数量更多,且 TLS 占据的肿瘤面积比例更高^[26]。POSCH F 等^[16]在结直肠癌中通过综合 TLS 免疫评分发现,低评分组患者的复发风险是对照组的 8 倍,推测综合 TLS 免疫评分可有效识别低复发风险患者,避免过度化疗,这为精准化辅助治疗决策提供了重要依据。另外,关于肝癌、卵巢癌以及乳腺癌的机制研究发现,较为成熟的 TLS 可显著改善患者预后,这与本研究结果保持一致。其中,成熟 TLS 中的 DC-LAMP+树突状细胞不仅可以通过 MHC-I/II 高效呈递肿瘤抗原,驱动 CD8+T 细胞分化为效应细胞并促进滤泡 T 辅助细胞通过 IL-21/ICOS 信号辅助 B 细胞克隆扩增;而且生发中心分化的浆细胞还可分泌高亲和力抗体,经抗体依赖的细胞毒性作用及补体途径直接清除肿瘤细胞,显著改善患者生存^[27]。此外,TRAJKOVSKI G 等^[28]研究发现,肿瘤周围高密度浸润的 TLS 与结直肠癌患者较低的淋巴结转移率存在显著相关性。TLS 能够通过增强局部抗肿瘤免疫反应,提高活化细胞毒性 T 细胞和自然杀伤细胞浸润密度,进而抑制淋巴管侵袭,限制肿瘤细胞向淋巴结的扩散,这也与本研究结果一致。目前,在结直肠癌中,少有研究将 TLS 的空间分布及成熟度做联合预后分析。本研究深入讨论了不同空间区域中 TLS 与结直肠癌患者预后的关系,以及不同成熟度 TLS 对结直肠癌患者预后的影响。这将丰富研究者对结直肠癌中 TLS 的理解,有助于提高结直肠癌患者预后生存,并为制定个体化免疫治疗策略提供新的理论依据。

综上所述,在结直肠癌中,pTLS 和 S-TLS 结直肠癌患者预后显著较好。该结果提示在结直肠癌微环境中,不同空间区域和成熟度的 TLS 与结直肠癌预后关系密切,可为结直肠癌患者预后生存预测提供新的标志物。

参考文献:

- [1] 郑荣寿,陈茹,韩冰峰,等. 2022 年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. 中华肿瘤杂志,2024,46(3):221-231.
- [2] 李建,张尧,胡登敏,等. 1990—2019 年中国人群早发性结直肠癌疾病负担及变化趋势分析[J]. 现代预防医学,2022,49(19):3468-3473.
- [3] 周梓芳,闫范书,殷鹏,等. 1990—2021 年中国及分省人群结直肠癌疾病负担分析[J]. 中国慢性病预防与控制,

2024,32(12):893-899.

- [4] 中华医学会肿瘤学分会早诊早治学组. 中国结直肠癌早诊早治专家共识(2023 版)[J]. 中华医学杂志,2023,103(48):3896-3908.
- [5] FRIDMAN W H,MEYLAN M,PUPIER G,et al. Tertiary lymphoid structures and B cells:an intratumoral immunity cycle[J]. Immunity,2023,56(10):2254-2269.
- [6] FRIDMAN W H,MEYLAN M,PETITPREZ F,et al. B cells and tertiary lymphoid structures as determinants of tumour immune contexture and clinical outcome[J]. Nat Rev Clin Oncol,2022,19(7):441-457.
- [7] LYNCH K T,YOUNG S J,MENEVEAU M O,et al. Heterogeneity in tertiary lymphoid structure B-cells correlates with patient survival in metastatic melanoma[J]. J Immunother Cancer,2021,9(6):e002273.
- [8] FRIDMAN W H,SIBÉRIEL S,PUPIER G,et al. Activation of B cells in tertiary lymphoid structures in cancer:anti-tumor or anti-self? [J]. Semin Immunol, 2023, 65: 101703.
- [9] LE ROCHAIS M,GHAMRY-BARRIN S,PANOUILLOT M,et al. Imaging mass cytometry to decipher the maturation of tertiary lymphoid structures[J]. Methods Mol Biol,2025,2864:159-179.
- [10] YU A Y,CAO M H,ZHANG K L,et al. The prognostic value of the tertiary lymphoid structure in gastrointestinal cancers[J]. Front Immunol,2023,14:1256355.
- [11] 中华医学会肿瘤学分会,国家卫生健康委员会医政司. 中国结直肠癌诊疗规范(2023 版)[J]. 协和医学杂志,2023,14(4):706-733.
- [12] AZEVEDO TOSTA T A,DE FARIA P R,NEVES L A,et al. Computational normalization of H&E-stained histological images:progress,challenges and future potential[J]. Artif Intell Med,2019,95:118-132.
- [13] HUSSAINI H M,SEO B,RICH A M. Immunohistochemistry and immunofluorescence[J]. Methods Mol Biol,2023,2588:439-450.
- [14] SHENG W J,ZHANG C Y,MOHIUDDIN T M,et al. Multiplex immunofluorescence:a powerful tool in cancer immunotherapy[J]. Int J Mol Sci,2023,24(4):3086.
- [15] VANHERSECKE L,BRUNET M,GUÉGAN J P,et al. Mature tertiary lymphoid structures predict immune checkpoint inhibitor efficacy in solid tumors independently of PD-L1 expression[J]. Nat Cancer,2021,2(8):794-802.
- [16] 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.

(下转第 613 页)

- 1233.
- [6] 周也,范冠杰,杨博,等. 2 型糖尿病患者并发高尿酸血症的临床预测模型构建及应用评估研究[J]. 大理大学学报, 2024,9(8):67-74.
- [7] 中华医学会内分泌学分会. 高尿酸血症和痛风治疗的中国专家共识[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2013,29(11):913-920.
- [8] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2020 年版)[J]. 中华糖尿病杂志, 2021,13(4):315-409.
- [9] 中华中医药学会糖尿病基层防治专家指导委员会. 国家糖尿病基层中医防治管理指南(2022)[J]. 中华糖尿病杂志, 2023,15(2):100-117.
- [10] KATSIKI N, DIMITRIADIS G D, MIKHAILIDIS D P. Serum uric acid and diabetes: from pathophysiology to cardiovascular disease [J]. *Curr Pharm Des*, 2021, 27(16):1941-1951.
- [11] ALEMAYEHU E, FISEHA T, BAMBO G M, et al. Prevalence of hyperuricemia among type 2 diabetes mellitus patients in Africa: a systematic review and meta-analysis[J]. *BMC Endocr Disord*, 2023,23(1):153.
- [12] 张旭,李海雪,沈艳宇,等. 糖尿病患者共患高尿酸现状及影响因素调查[J]. 华南预防医学, 2024,50(5):455-458.
- [13] 黄子芯. 2 型糖尿病患者尿酸水平与胰岛素抵抗和大血管病变的相关性研究及荟萃分析[D]. 大连:大连医科大学, 2023.
- [14] 王秀梅,王小玲,刘惠萍. 2 型糖尿病患者血尿酸水平检验的临床价值分析[J]. 糖尿病新世界, 2024,27(07):57-59,63.
- [15] 郭伟. 2 型糖尿病合并高尿酸血症的中医证型及相关因素研究[D]. 长春:长春中医药大学, 2023.
- [16] 王晓鹏. 2 型糖尿病合并高尿酸血症的中医证素分布规律研究[D]. 沈阳:辽宁中医药大学, 2023.
- [17] 王小琪. 2 型糖尿病合并高尿酸血症的危险因素及其中医辨证分型的相关研究[D]. 沈阳:辽宁中医药大学, 2021.
- [18] 匡鑫. 2 型糖尿病合并高尿酸血症发病相关因素及中医证型分布规律的研究[D]. 武汉:湖北中医药大学, 2022.

收稿日期:2025-04-21;修回日期:2025-05-23

(本文编辑 覃洪含)

(上接第 606 页)

- [17] 邓姝哲,杨鑫鑫,耿敬姝,等. 实体瘤三级淋巴结检测与判读[J]. 临床与实验病理学杂志, 2024,40(10):1012-1017.
- [18] 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.
- [19] LIU Q P, LUO Q, JU Y, et al. Role of the mechanical microenvironment in cancer development and progression[J]. *Cancer Biol Med*, 2020,17(2):282-292.
- [20] MEYLAN M, PETITPREZ F, BECHT E, et al. Tertiary lymphoid structures generate and propagate anti-tumor antibody-producing plasma cells in renal cell cancer[J]. *Immunity*, 2022,55(3):527-541. e5.
- [21] LAUSS M, DONIA M, SVANE I M, et al. B cells and tertiary lymphoid structures: friends or foes in cancer immunotherapy? [J]. *Clin Cancer Res*, 2022, 28(9):1751-1758.
- [22] WU X, HUANG Q B, CHEN X P, et al. B cells and tertiary lymphoid structures in tumors: immunity cycle, clinical impact, and therapeutic applications [J]. *Theranostics*, 2025,15(2):605-631.
- [23] JI L L, FU G B, HUANG M X, et al. scRNA-seq of colorectal cancer shows regional immune atlas with the function of CD20⁺ B cells [J]. *Cancer Lett*, 2024, 584:216664.
- [24] XIA J, XIE Z J, NIU G M, et al. Single-cell landscape and clinical outcomes of infiltrating B cells in colorectal cancer[J]. *Immunology*, 2023,168(1):135-151.
- [25] THOMMEN D S, KOELZER V H, HERZIG P, et al. A transcriptionally and functionally distinct PD-1⁺ CD8⁺ T cell pool with predictive potential in non-small-cell lung cancer treated with PD-1 blockade[J]. *Nat Med*, 2018,24(7):994-1004.
- [26] HELMINK B A, REDDY S M, GAO J J, et al. B cells and tertiary lymphoid structures promote immunotherapy response[J]. *Nature*, 2020,577(7791):549-555.
- [27] 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.
- [28] TRAJKOVSKI G, OGNJENOVIC L, KARADZOV Z, et al. Tertiary lymphoid structures in colorectal cancers and their prognostic value[J]. *Open Access Maced J Med Sci*, 2018,6(10):1824-1828.

收稿日期:2025-03-13;修回日期:2025-04-09

(本文编辑 钟琳)