

黑素瘤相关肿瘤浸润淋巴细胞的评价方法及免疫异质性研究进展

索雅力·齐齐格, 王丹妮, 万学峰*

新疆医科大学第一附属医院皮肤科, 新疆 乌鲁木齐

收稿日期: 2023年9月19日; 录用日期: 2023年10月13日; 发布日期: 2023年10月19日

摘要

肿瘤浸润淋巴细胞随着免疫治疗的日益兴起, 作为一个重要的免疫参数, 被证实可以预测免疫治疗的疗效, 还可以提示预后。然而迄今为止, 没有癌症分期算法包含免疫标记物。重要的是, 对TIL浸润的多种成分也缺乏了解。该文综述了肿瘤浸润淋巴细胞在黑素瘤中的评估方法的进展, 同时探讨了CD4+T淋巴细胞在黑素瘤中作用的研究进展。

关键词

黑素瘤, 肿瘤浸润淋巴细胞, 免疫微环境, T淋巴细胞

Research Progress on Evaluation Methods and Immune Heterogeneity of Tumor Infiltrating Lymphocytes in Melanoma

Suoyali-Qiqige, Danni Wang, Xuefeng Wan*

Department of Dermatology, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi Xinjiang

Received: Sep. 19th, 2023; accepted: Oct. 13th, 2023; published: Oct. 19th, 2023

Abstract

With the rise of immunotherapy, tumor-infiltrating lymphocytes, as an important immune parameter, have been proved to predict the efficacy of immunotherapy and can also indicate the prog-

*通讯作者。

文章引用: 索雅力·齐齐格, 王丹妮, 万学峰. 黑素瘤相关肿瘤浸润淋巴细胞的评价方法及免疫异质性研究进展[J]. 临床医学进展, 2023, 13(10): 16476-16482. DOI: 10.12677/acm.2023.13102307

nosis. To date, however, no cancer staging algorithm has included immune markers. Importantly, there is also a lack of understanding of the multiple components of TIL infiltration. This article reviews the progress of evaluation methods of tumor-infiltrating lymphocytes in melanoma, and discusses the role of CD4+T lymphocytes in melanoma.

Keywords

Melanoma, Tumor Infiltrating Lymphocyte, Immune Microenvironment, T Lymphocytes

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 前言

浸润淋巴细胞(Tumor Infiltrating Lymphocyte, TIL)是指已经浸润并破坏了恶性肿瘤细胞巢的淋巴细胞[1], 与健康的非肿瘤组织一起渗透到肿瘤的中心区域及其边缘。由于它们和癌细胞的关系最为密切, 可以更准确地反映肿瘤与宿主的相互作用。TIL 密度增加被认为是有效抗肿瘤免疫的标志[2], TIL 作为癌症免疫治疗的中心靶点, 在肿瘤微环境和环境类型中表现出相当大的异质性和动态性[3]。一些研究表明 TIL 的存在与黑色素瘤预后的改善有显著关联性[4] [5] [6] [7] [8], 也有研究认为肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)是黑素瘤患者淋巴结转移和总生存率的独立预后因素[9]。但上述结论因患者群体、研究方法和使用的 TIL 分级系统的异质性而难以放在同一标准得出结论。

TIL 浸润包括效应 T 细胞、抑制 T 细胞、B 细胞、巨嗜细胞、树突状细胞、自然杀伤细胞和髓源性抑制细胞, 每种细胞在肿瘤微环境中都具有竞争性免疫刺激或免疫抑制作用。大量研究表明, T 细胞在抗肿瘤免疫中的中心作用已得到很好的确立[10] [11]。过去十年的研究揭示了 CD4+T 细胞系日益复杂的生物学特征。这个 T 细胞亚群最初是根据抗体反应中的辅助活性来定义的, 它表达的受体能够识别经过特殊抗原呈递细胞处理和呈递的肽。CD4+T 细胞作为适应性免疫反应的核心, 能够随着免疫微环境分化为多个亚系, 在免疫反应的启动、扩展和记忆阶段起到广泛、协调的效应器活动[12] [13]。CD4 细胞对宿主抵抗致病性入侵和调节自身免疫的贡献现已得到很好的证实。新的证据表明, CD4+效应细胞不仅积极参与形成抗肿瘤免疫, 而且可独立于 CD8+T 细胞参与抗肿瘤免疫[14]。

2. TIL 的评估方法及进展

1989 年 Clark 等[4]提出一种 TIL 分类用于量化肿瘤部位淋巴细胞的存在, 该分类甚至沿用至今。可被分为三类包括: 缺乏、非活跃和活跃。缺乏定义为是 TIL 的缺失, 或者如果 TIL 存在, 则它们不与肿瘤细胞相邻。其他两组在肿瘤部位提供淋巴细胞, 非活跃定义为 TIL 局部浸润。活跃定义为 TIL 存在于垂直生长期的整个肿瘤中, 或者存在并浸润于垂直生长期的整个基底部。目前仍在应用该分类方法, 因其分类简单, 但未考虑到瘤周浸润。随后 Clemente 等[5]将“活跃”浸润模式分为具有相同预后意义的弥漫型和周边型弥漫型和周边型。

2012 年 Azimi 等[9]制定了新的 TIL 分级方法即根据 TIL 密度(轻度、中度、显著)和 TIL 分布(局灶性、多灶性和弥漫性)分成 4 级。无 TIL 浸润的定义为 0 级; 轻度局灶性、中度局灶性或轻度多灶性淋巴细胞浸润定义为 1 级; 有显著的局灶性或中度多灶性定义为 2 级; 有中度弥漫性或显著弥漫性浸润定义为 3 级。这种新型分级方法优点是考虑到了瘤周浸润, 但缺点是大多数黑素瘤细胞位于肿瘤中心部位, 而只

有一小部分的肿瘤细胞可能与 TIL 相互作用, 故这种分类方法结果仍存在偏差[15]。

因 AMI 分级中 TIL 密度的轻度、中度、显著的判断存在主观因素, 故 Saldhana 等[15]设计了一个测量肿瘤细胞中 TIL 细胞浸润的百分比的一种简单 TIL 评分系统。具体如下: 百分比为 0~100%, 精确到 10% (但在 TIL 百分比得分是通过估计被淋巴细极端情况下允许 5% 和 95%)。虽然存在主观因素, 但因其简单明了, 不需要模式和强度的交叉列表, 且该系统具有良好的观察者间一致性。不失为一种新颖、简单的数字 TIL 评分系统。

Park 等[16]运用新开发的参数: 淋巴细胞评分(LS)用于评估肿瘤间质或细胞巢内的淋巴细胞和肿瘤周围的淋巴细胞的分布和密度。LS = 淋巴细胞分布 + 密度(0~6 分)。淋巴细胞分布评分范围为 0 到 3, 定义如下: 0 = 组织内没有淋巴细胞, 1 = 淋巴细胞占组织的比例小于 25%, 2 = 淋巴细胞占组织的比例为 25% 到 50%, 3 = 淋巴细胞占组织的比例大于 50%。淋巴细胞密度范围为 0 到 3, 定义如下: 0 = 缺失, 1 = 轻度, 2 = 中度, 3 = 重度。基于该评分方法, 计算肿瘤内和瘤周区的 LS。0 到 2 被认为评分较低, 3 到 6 被认为评分较高。作者相信这是第一份评估浸润性皮肤黑色素瘤内和瘤周区淋巴细胞作用的报告。该评分方法在借鉴 AMI 评分的基础上运动了新的参数, 同时考虑了肿瘤的位置(瘤周和瘤内)和密度, 降低了研究者的主观性, 使其更为细致和具体。

国际免疫肿瘤生物标志物工作组(IOBWG)提出了一种更标准化的 TIL 评估方法[17]。同时明确的侵袭性边缘的定义: 位于分离宿主组织与恶性巢的边界上的区域, 其范围为 1 mm。标准的评估方法如下: 1) 选择肿瘤区域, 不包括肿瘤外的免疫浸润。2) 定义基质和肿瘤内部区域。3) 低倍率扫描。4) 确定炎症浸润的类型(坏死区不包括中性粒细胞)。5) 评估 TIL 的百分比。然而, 这种方法需要在黑色素瘤和其他实体瘤中得到验证, 以确定其预后的可行性。

Weiss 等[18]提出定量免疫组织化学(IHC)定量方法。即随机选择占整个队列 15% 的原发性黑色素瘤进行 CD3、CD45 免疫组化染色用于 TIL 鉴定。使用单克隆小鼠抗人 Foxp3 克隆 236A/E7 (检测同一队列中的 T 调节细胞(Treg))。将 CD3 和 CD45 表达定量评分为一个高功率场(HPF)中最密集浸润区内染色的肿瘤内 TIL 的绝对数量, 以及肿瘤 - 真皮界面外真皮内染色的肿瘤周围 TIL 的绝对数量。定量评分的截止值设置为 TIL 计数 > 50 个细胞。通过确定抗体染色最密集的区域, 并量化淋巴细胞浸润中单个 HPF 中 Foxp3 阳性细胞的数量, 对 Foxp3 表达进行评分。估计淋巴细胞浸润中 Foxp3 染色细胞的百分比。IHC 的定量 TIL 分级只关注一个高功率场, 用于检测和计数肿瘤中的主要淋巴细胞亚群, 并确定其与患者生存或治疗反应的相关性, 旨在为病理学家提供一种简单、快速的测量方法。目前应用于临床和临床前癌症研究, 使用 IHC 和免疫荧光(IF)检测组织病理学组织样品中的许多白细胞亚群[19] [20] [21]。

目前文献中的 TIL 计数主要依赖于主要淋巴细胞亚群的单标记免疫组织化学分析, 如常规 T 细胞(CD3、CD4、CD8)、调节性 T 细胞(FOXP3)和 B 细胞(CD20) [22]。研究也对肿瘤组织进行了基因表达谱分析, 以检测免疫细胞特异性转录物[23] [24] [25] [26]。这些方法目前可以通过检查肿瘤 RNA 测序数据集中的免疫细胞特异性转录物来补充, 该数据集可在癌症基因组图谱(TCGA)上公开获得[25] [26]。除了评估单个基因外, 许多“免疫细胞去卷积”算法还试图根据每种细胞类型的独特基因特征来估计肿瘤浸润性白细胞的相对丰度[24]。此外, 这些特征的高或低表达可能与 TCGA 中可用的生存数据相比较, 以预测各种白细胞亚群的预后价值[26]。虽然基因表达特征可以提供肿瘤免疫特征的证据, 但最终必须通过流式细胞术或组织病理学来验证这些细胞在 TME (肿瘤微环境)中的存在。基因表达谱分析, 机器学习图像分析算法的最新进展在其统一和自动化数字病理学的能力, 从而产生更一致的结果这方面很有希望。在过去的几年中, 基于高通量测序的癌症图谱计划和组学技术的改进将癌症研究带入了一个新的时代, 这是我们未来需要关注且持续学习的方向。

3. CD4+T 细胞在黑素瘤中的作用

根据功能的不同, T 淋巴细胞分为效应、辅助和调节 T 细胞。TIL 由大多数 CD3+T 细胞表达, 包括 CD4+和 CD8+亚群[27]。CD8+亚群是由 CD3+和 CD3-细胞组成的细胞毒性淋巴细胞, 可诱导细胞凋亡, 从而杀死肿瘤细胞并诱导黑色素瘤消退, 与更好的预后相关[22]。CD4+细胞分为两个亚群, CD4+CD25-T 细胞(辅助性 T 细胞), 可增强 CD8+细胞对抗肿瘤细胞的活性, 并与提高存活率相关; CD4+CD25+T 细胞(Treg)可下调免疫反应活性, 诱导免疫抑制[28]。简言之, 活化的 CD8+T 细胞可直接杀伤恶性肿瘤细胞。CD4+T 细胞可提高 CD8+T 反应的有效性, 并分泌多种细胞因子以促进免疫反应。此外, CD4+T 细胞通过细胞溶解机制也能够直接破坏肿瘤细胞[18]。

虽然目前普遍认为 CD8+T 细胞直接参与抗肿瘤细胞毒性反应, 但 CD4+T 细胞的作用更具争议。CD4+T 细胞参与调节抗肿瘤免疫与通过激活 APC 和通过分泌 IFN γ 等细胞因子增加主要组织相容性复合体 I 类(MHC-I)分子的抗原呈递来帮助启动 CD8+T 细胞有关[21] [29]。研究表明, CD4+T 细胞有助于优化 CTL 在细胞毒性效应分子表达、抑制性受体下调和迁移能力增加方面的作用[30]。还有相关研究表明 CD4+T 淋巴细胞的耗竭促进肿瘤进展, 而其过继转移与肿瘤消退的改善相关[31]。在人类黑色素瘤中也观察到 CD4+T 细胞对新抗原的频繁识别[32]。

CD4+T 分化为不同的辅助性 T 细胞谱系, 这些谱系中研究最多的是 T_{H1}、T_{H2}、T_{H17}、CTL-CD4、T 卵泡辅助细胞(T_{FH}) [33]、和 CD4+ FOXP3+ Treg。T_{H1} 细胞的特征是分泌干扰素- γ (IFN- γ)、TNF- α 、单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1 或 CCL2)和巨噬细胞炎性蛋白-1 α (MIP1 α 或 CCL3)等细胞因子, 上述细胞因子增强 CD8+T 细胞反应或者激活巨噬细胞来达到抗肿瘤细胞毒性等免疫反应。有文献证明 T_{H1} 细胞能增强自身免疫, T_{H2} 细胞则通过分泌 IL-4、IL-5 和 IL-13 等细胞因子协调肿瘤免疫和促进过敏性炎症反应。先前的研究表明, 两种 TH 细胞都介导抗肿瘤免疫[13] [34] [35]。也有研究表面, 有效的抗肿瘤免疫似乎是 Th1 和 Th2 细胞类型之间平衡合作的结果。

T_{H17} 亚群依赖于 STAT3 和 ROR γ t 转录因子的一种表达, 其主要特征是产生细胞因子 IL-17A 和 IL-17F [36]。标志性 TH17 细胞因子 IL-17A 诱导多种趋化因子的表达, 包括 CCL2、CCL7、CXCL1 和 CCL20 以及促进炎症反应的基质金属蛋白酶。对肺癌患者自发产生的肿瘤抗原特异性 TH17 细胞的分析表明, 一些 TH17 细胞可以进一步分化为分泌 IFN-g 的效应细胞[37]。这些支持开发利用人 TH17 细胞的分化潜能和可塑性的新免疫治疗方法。

获得细胞溶解能力的 CD4 T (CTL-CD4)细胞亚群具有明显的抗肿瘤活性。辐射和抗 CTLA-4 抗体治疗后, 将少量的肿瘤反应性 CD4 细胞转移到淋巴细胞减少的宿主中, 导致 IFN 和颗粒酶 B 的扩增和表达, 并与既定肿瘤的消退相关[38]。CD4 CTL 的细胞毒性活性取决于对肿瘤细胞表达的 MHC II 类的识别(在放疗和抗 CTLA-4 抗体后被 B16 黑色素瘤上调), 并且独立于 FAS-FASL 相互作用或 TRAIL 介导的杀伤。宿主的特殊条件似乎对产生细胞毒性 CD4 细胞至关重要。最近研究表明 OX-40 和 4-1BB 的共刺激活性可以分别在化疗诱导的淋巴细胞减少或 FVAX (Flt3 配体表达 B16 细胞)免疫的情况下促进细胞毒性 CD4 细胞的产生[36] [37]。CD4 细胞获得细胞溶解活性似乎也与始中胚层蛋白(Eomes)转录因子的表达有关。OX-40 参与可诱导 Eomes 的上调, 导致肿瘤反应性 CD4 细胞获得细胞溶解活性并分泌多种细胞因子, 包括 IFN-g、TNF-a、IL-4 和 IL-5 [39]。在施用 4-1BB 激动剂抗体后, Eomes 也可能有助于诱导细胞毒性 CD4 细胞[40]。这些观察强调了依赖于 CD4 CTL 激活的治疗方法对人类癌症的临床潜力。早期的研究证明了人 CD4 克隆体外扩增后的细胞毒性活性, 可能为 ACT 背景下细胞毒性 CD4 细胞的产生和使用提供了重要指导[41]。细胞毒性 CD4 细胞的体内扩增与抑制分子(如 CTLA-4)的阻断相结合, 是肿瘤治疗的一种有吸引力的方法。值得注意的是有文献支持 CD4+ CTL 能够杀死特定的肿瘤细胞, 包括非小细胞肺癌

(NSCLC)、皮肤 T 细胞淋巴瘤和黑色素瘤[42]。

最近研究中, Kruse B 等[14]证实 CD4+效应 T 细胞也能够像 CD8+溶细胞 T 细胞一样有效地独立根除已形成的肿瘤。阐述了一种机制:少量的 CD4+T 细胞就足以根除逃避 CD8+T 细胞直接靶向的 MHC 缺陷型肿瘤。极少数 CD4+效应 T 细胞(代表 1%的肿瘤浸润性免疫细胞)位于肿瘤浸润边缘,在那里它们与 CD11c+ MHC-II+抗原呈递免疫细胞相互作用并间接消除肿瘤。相比之下,大量 CD8+溶细胞性 T 细胞渗入肿瘤中心,在那里它们直接靶向并杀死表达 MHC-I 的肿瘤细胞。进一步的先天免疫刺激增强了 CD4+T 细胞的 T_{H1} 定向分化,增加了未成熟单核细胞向肿瘤微环境的募集,并支持它们的 IFN 依赖性活化和向抗原呈递和表达 iNOS 的杀肿瘤效应子表型的分化。CD4+T 细胞和 IFN 激活的单核吞噬细胞共同启动了一个间接的炎性肿瘤细胞死亡过程,该过程从“由外而内”起作用,并可通过中和 IFN γ 而消除。这种独特的作用模式与 NK 细胞[43]的直接溶细胞活性平行且独立地发挥作用,并能够根除逃避 CD8+溶细胞 T 细胞直接识别和破坏的 MHC 缺陷型和 IFN 无反应型肿瘤。

4. 小结与展望

本文综述了 TIL 在黑素瘤中的评估方法及其免疫异质性(CD4+T 淋巴细胞在恶性黑素瘤中的作用)等研究进展。CD4+T 细胞和杀肿瘤的髓样细胞一起协调诱导远程炎症细胞死亡,从而间接根除干扰素无反应和 MHC 缺乏的肿瘤等最新研究进展,为癌症免疫疗法提供了新的临床思路。

参考文献

- [1] Zidlik, V., Bezdekova, M. and Brychtova, S. (2020) Tumor Infiltrating Lymphocytes in Malignant Melanoma-Allies or Foes? *Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czech Republic*, **164**, 43-48. <https://doi.org/10.5507/bp.2019.048>
- [2] Fortes, C., Mastroeni, S., Mannooranparampil, T.J., et al. (2015) Tumor-Infiltrating Lymphocytes Predict Cutaneous Melanoma Survival. *Melanoma Research*, **25**, 306-311. <https://doi.org/10.1097/CMR.000000000000164>
- [3] Li, P., Li, F., Zhang, Y., Yu, X. and Li, J. (2023) Metabolic Diversity of Tumor-Infiltrating T Cells as Target for Anti-Immune Therapeutics. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. <https://doi.org/10.22541/au.168549425.51061738/v1>
- [4] Clark, W.H., Elder, D.E., Guerry, D., et al. (1989) Model Predicting Survival in Stage I Melanoma Based on Tumor Progression. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, **81**, 1893-1904. <https://doi.org/10.1093/jnci/81.24.1893>
- [5] Clemente, C.G., Mihm, M.C., Bufalino, R., Zurrida, S., Collini, P. and Cascinelli, N. (1996) Prognostic Value of Tumor Infiltrating Lymphocytes in the Vertical Growth Phase of Primary Cutaneous Melanoma. *Cancer*, **77**, 1303-1310. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0142\(19960401\)77:7<1303::AID-CNCR12>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0142(19960401)77:7<1303::AID-CNCR12>3.0.CO;2-5)
- [6] Taylor, R.C., Patel, A., Panageas, K.S., Busam, K.J. and Brady, M.S. (2007) Tumor-Infiltrating Lymphocytes Predict Sentinel Lymph Node Positivity in Patients with Cutaneous Melanoma. *Journal of Clinical Oncology*, **25**, 869-875. <https://doi.org/10.1200/JCO.2006.08.9755>
- [7] Mandalà, M., Imberti, G.L., Piazzalunga, D., et al. (2009) Clinical and Histopathological Risk Factors to Predict Sentinel Lymph Node Positivity, Disease-Free and Overall Survival in Clinical Stages I-II AJCC Skin Melanoma: Outcome Analysis from a Single-Institution Prospectively Collected Database. *European Journal of Cancer*, **45**, 2537-2545. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2009.05.034>
- [8] Borges de Barros Primo, R., BritoNobre, A., Santos, B.N., et al. (2023) Impact of Clinical and Histopathological Characteristics on the Disease-Free Survival of Stage I-II Acral Melanoma Patients. *International Journal of Dermatology*, **62**, 1281-1288. <https://doi.org/10.1111/ijd.16800>
- [9] Azimi, F., Scolyer, R.A., Rumcheva, P., et al. (2012) Tumor-Infiltrating Lymphocyte Grade Is an Independent Predictor of Sentinel Lymph Node Status and Survival in Patients with Cutaneous Melanoma. *Journal of Clinical Oncology*, **30**, 2678-2683. <https://doi.org/10.1200/JCO.2011.37.8539>
- [10] Kishton, R.J., Sukumar, M. and Restifo, N.P. (2017) Metabolic Regulation of T Cell Longevity and Function in Tumor Immunotherapy. *Cell Metabolism*, **26**, 94-109. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.06.016>
- [11] Piras, F., Colombari, R., Minerba, L., et al. (2005) The Predictive Value of CD8, CD4, CD68, and Human Leukocyte Antigen-D-Related Cells in the Prognosis of Cutaneous Malignant Melanoma with Vertical Growth Phase. *Cancer*, **104**, 1246-1254. <https://doi.org/10.1002/cncr.21283>

- [12] Xiao, M., Xie, L., Cao, G., *et al.* (2022) CD4+ T-Cell Epitope-Based Heterologous Prime-Boost Vaccination Potentiates Anti-Tumor Immunity and PD-1/PD-L1 Immunotherapy. *The Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, **10**, e004022. <https://doi.org/10.1136/jitc-2021-004022>
- [13] Kim, H.J. and Cantor, H. (2014) CD4 T-Cell Subsets and Tumor Immunity: The Helpful and the Not-So-Helpful. *Cancer Immunology Research*, **2**, 91-98. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-13-0216>
- [14] Kruse, B., Buzzai, A.C., Shridhar, N., *et al.* (2023) CD4+ T Cell-Induced Inflammatory Cell Death Controls Immune-Evasive Tumours. *Nature*, **618**, 1033-1040. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06199-x>
- [15] Saldanha, G., Flatman, K., Teo, K.W. and Bamford, M. (2017) A Novel Numerical Scoring System for Melanoma Tumor-infiltrating Lymphocytes Has Better Prognostic Value than Standard Scoring. *The American Journal of Surgical Pathology*, **41**, 906-914. <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000000848>
- [16] Park, C.K. and Kim, S.K. (2017) Clinicopathological Significance of Intratumoral and Peritumoral Lymphocytes and Lymphocyte Score Based on the Histologic Subtypes of Cutaneous Melanoma. *Oncotarget*, **8**, 14759-14769. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.14736>
- [17] Hendry, S., Salgado, R., Gevaert, T., *et al.* (2017) Assessing Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Solid Tumors: A Practical Review for Pathologists and Proposal for a Standardized Method from the International Immuno-Oncology Biomarkers Working Group: Part 2: TILs in Melanoma, Gastrointestinal Tract Carcinomas, Non-Small Cell Lung Carcinoma and Mesothelioma, Endometrial and Ovarian Carcinomas, Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck, Genitourinary Carcinomas, and Primary Brain Tumors. *Advances in Anatomic Pathology*, **24**, 311-335. <https://doi.org/10.1097/PAP.0000000000000161>
- [18] Weiss, S.A., Han, S.W., Lui, K., *et al.* (2016) Immunologic Heterogeneity of Tumor-Infiltrating Lymphocyte Composition in Primary Melanoma. *Human Pathology*, **57**, 116-125. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2016.07.008>
- [19] Fridman, W.H., Zitvogel, L., Sautès-Fridman, C. and Kroemer, G. (2017) The Immune Contexture in Cancer Prognosis and Treatment. *Nature Reviews Clinical Oncology*, **14**, 717-734. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2017.101>
- [20] Lyons, Y.A., Wu, S.Y., Overwijk, W.W., Baggerly, K.A. and Sood, A.K. (2017) Immune Cell Profiling in Cancer: Molecular Approaches to Cell-Specific Identification. *NPJ Precision Oncology*, **1**, Article No. 26. <https://doi.org/10.1038/s41698-017-0031-0>
- [21] Halse, H., Colebatch, A.J., Petrone, P., *et al.* (2018) Multiplex Immunohistochemistry Accurately Defines the Immune Context of Metastatic Melanoma. *Scientific Reports*, **8**, Article No. 11158. <https://doi.org/10.1038/s41698-017-0031-0>
- [22] Maibach, F., Sadozai, H., SeyedJafari, S.M., Hunger, R.E. and Schenk, M. (2020) Tumor-Infiltrating Lymphocytes and Their Prognostic Value in Cutaneous Melanoma. *Frontiers in Immunology*, **11**, Article No. 2105. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.02105>
- [23] Hutter, C. and Zenklusen, J.C. (2018) The Cancer Genome Atlas: Creating Lasting Value beyond Its Data. *Cell*, **173**, 283-285. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.042>
- [24] Finotello, F. and Trajanoski, Z. (2018) Quantifying Tumor-Infiltrating Immune Cells from Transcriptomics Data. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, **67**, 1031-1040. <https://doi.org/10.1007/s00262-018-2150-z>
- [25] Peng, Q., Ren, B., Xin, K., *et al.* (2023) CYFIP2 Serves as a Prognostic Biomarker and Correlates with Tumor Immune Microenvironment in Human Cancers. *European Journal of Medical Research*, **28**, Article No. 364. <https://doi.org/10.1186/s40001-023-01366-2>
- [26] Iglesia, M.D., Parker, J.S., Hoadley, K.A., Serody, J.S., Perou, C.M. and Vincent, B.G. (2016) Genomic Analysis of Immune Cell Infiltrates across 11 Tumor Types. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, **108**, djw144. <https://doi.org/10.1093/jnci/djw144>
- [27] Paijens, S.T., Vledder, A., de Bruyn, M. and Nijman, H.W. (2021) Tumor-Infiltrating Lymphocytes in the Immunotherapy Era. *Cellular & Molecular Immunology*, **18**, 842-859. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-00565-9>
- [28] Dobrzanski, M.J., Reome, J.B., Hyland, J.C. and Rewers-Felkins, K.A. (2006) CD8-Mediated Type 1 Antitumor Responses Selectively Modulate Endogenous Differentiated and Nondifferentiated T Cell Localization, Activation, and Function in Progressive Breast Cancer. *The Journal of Immunology*, **177**, 8191-8201. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.177.11.8191>
- [29] Antony, P.A., Piccirillo, C.A., Akpınarlı, A., *et al.* (2005) CD8+ T Cell Immunity against a Tumor/Self-Antigen Is Augmented by CD4+ T Helper Cells and Hindered by Naturally Occurring T Regulatory Cells. *The Journal of Immunology*, **174**, 2591-2601. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.174.5.2591>
- [30] Barnes, T.A. and Amir, E. (2018) HYPE or HOPE: The Prognostic Value of Infiltrating Immune Cells in Cancer. *British Journal of Cancer*, **118**, e5. <https://doi.org/10.1038/bjc.2017.417>
- [31] Fu, Q., Chen, N., Ge, C., *et al.* (2019) Prognostic Value of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Melanoma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Oncoimmunology*, **8**, Article ID: 1593806. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2019.1593806>

- [32] Becht, E., Giraldo, N.A., Germain, C., *et al.* (2016) Immune Contexture, Immunoscore, and Malignant Cell Molecular Subgroups for Prognostic and Theranostic Classifications of Cancers. *Advances in Immunology*, **130**, 95-190. <https://doi.org/10.1016/bs.ai.2015.12.002>
- [33] Qiu, L., Yu, Q., Zhou, Y., *et al.* (2018) Functionally Impaired Follicular Helper T Cells Induce Regulatory B Cells and CD14⁺ Human Leukocyte Antigen-DR⁻ Cell Differentiation in Non-Small Cell Lung Cancer. *Cancer Science*, **109**, 3751-3761.
- [34] Mattes, J., Hulett, M., Xie, W., *et al.* (2003) Immunotherapy of Cytotoxic T Cell-Resistant Tumors by T Helper 2 Cells: An Eotaxin and STAT6-Dependent Process. *Journal of Experimental Medicine*, **197**, 387-393. <https://doi.org/10.1084/jem.20021683>
- [35] Nishimura, T., Iwakabe, K., Sekimoto, M., *et al.* (1999) Distinct Role of Antigen-Specific T Helper Type 1 (Th1) and Th2 Cells in Tumor Eradication *In Vivo*. *Journal of Experimental Medicine*, **190**, 617-627. <https://doi.org/10.1084/jem.190.5.617>
- [36] Bettelli, E., Carrier, Y., Gao, W., *et al.* (2006) Reciprocal Developmental Pathways for the Generation of Pathogenic Effector TH17 and Regulatory T Cells. *Nature*, **441**, 235-238. <https://doi.org/10.1038/nature04753>
- [37] Hamaï, A., Pignon, P., Raimbaud, I., *et al.* (2012) Human T(H)17 Immune Cells Specific for the Tumor Antigen MAGE-A3 Convert to IFN- γ -Secreting Cells as They Differentiate into Effector T Cells *In Vivo*. *Cancer Research*, **72**, 1059-1063. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-11-3432>
- [38] Quezada, S.A., Simpson, T.R., Peggs, K.S., *et al.* (2010) Tumor-Reactive CD4(+) T Cells Develop Cytotoxic Activity and Eradicate Large Established Melanoma after Transfer into Lymphopenic Hosts. *Journal of Experimental Medicine*, **207**, 637-650. <https://doi.org/10.1084/jem.20091918>
- [39] Hirschhorn-Cymerman, D., Budhu, S., Kitano, S., *et al.* (2012) Induction of Tumoricidal Function in CD4+ T Cells Is Associated with Concomitant Memory and Terminally Differentiated Phenotype. *Journal of Experimental Medicine*, **209**, 2113-2126. <https://doi.org/10.1084/jem.20120532>
- [40] Curran, M.A., Geiger, T.L., Montalvo, W., *et al.* (2013) Systemic 4-1BB Activation Induces a Novel T Cell Phenotype Driven by High Expression of Eomesodermin. *Journal of Experimental Medicine*, **210**, 743-755. <https://doi.org/10.1084/jem.20120532>
- [41] Thomas, W.D. and Hersey, P. (1998) TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand (TRAIL) Induces Apoptosis in Fas Ligand-Resistant Melanoma Cells and Mediates CD4 T Cell Killing of Target Cells. *The Journal of Immunology*, **161**, 2195-2200. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.161.5.2195>
- [42] Durgeau, A., Virk, Y., Corgnac, S. and Mami-Chouaib, F. (2018) Recent Advances in Targeting CD8 T-Cell Immunity for More Effective Cancer Immunotherapy. *Frontiers in Immunology*, **9**, Article No. 14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00014>
- [43] Busam, K.J., Antonescu, C.R., Marghoob, A.A., *et al.* (2001) Histologic Classification of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Primary Cutaneous Malignant Melanoma. A Study of Interobserver Agreement. *American Journal of Clinical Pathology*, **115**, 856-860. <https://doi.org/10.1309/G6EK-Y6EH-OLGY-6D6P>