肿瘤特异性 CD8+T 细胞分化及调控机制的研究进展

方堃^{1,2},方艳芬^{1,2*}(1.原创新药研究重点实验室肿瘤药理组,中国科学院上海药物研究所,上海 201203; 2.中国科学院大学,北京 100049)

摘要:肿瘤特异性 CD8⁺T 细胞是抗肿瘤免疫应答的主要效应细胞之一,其分化状态与免疫应答强度、对免疫疗法的响应 程度密切相关。在肿瘤病程中,CD8⁺T 细胞往往呈现耗竭状态,主要表现为效应功能降低和增殖能力下降。近几年,耗 竭 CD8⁺T 细胞的高度异质性特征备受关注,其中记忆、效应和终末耗竭表型是当下考察肿瘤特异性 CD8⁺T 细胞分化状 态的 3 个重要维度。伴随肿瘤进展,肿瘤特异性 CD8⁺T 细胞的干性、效应表型逐渐丢失,最终分化为终末耗竭细胞,表 观遗传学变化和代谢重编程参与调控这一过程,另外肿瘤微环境中复杂多样的免疫抑制性信号加速了这一过程的发生。 本文综述了肿瘤特异性 CD8⁺T 细胞激活后的命运以及不同分化状态的分子标志物和转录调控分子、影响分化状态的因素、 与免疫疗法响应相关的标志物、调控 CD8⁺T 细胞增强抗肿瘤作用的应用等方面近年来的研究进展,以期为更加精准地调 控 CD8⁺T 细胞表型,增强抗肿瘤免疫应答等研究提供参考。

关键词:肿瘤特异性 CD8⁺T 细胞;分化状态;记忆;耗竭;效应

中图分类号: R966 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2023)12-1670-10

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20230852

引用本文: 方堃, 方艳芬. 肿瘤特异性 CD8⁺T 细胞分化及调控机制的研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(12): 1670-1679.

Research Progress in the Differentiation and Regulatory Mechanisms of Tumor Specific CD8⁺T Cell

FANG Kun^{1,2}, FANG Yanfen^{1,2*}(1.Division of Anti-tumor Pharmacology, State Key Laboratory of Drug Research, Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China; 2.University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

ABSTRACT: Tumor specific CD8⁺T cells are the major effector population during anti-tumor immune response, and their differentiation states are closely related to the intensity of immune response and the responsiveness to immunotherapy. During the course of cancer, CD8⁺T cells often exhibit an exhaustion phenotype, mainly characterized by decreased effector function and proliferative capacity. In recent years, the high heterogeneity of exhausted CD8+T cells have received considerable attention, with memory, effector and terminal exhaustion phenotypes being the three important dimensions for investigating the differentiation states of tumor specific CD8⁺T cells. Exhausted CD8⁺T cells with memory characteristics have been referred to as "memory-like" "stem-like", or progenitor exhausted T cells. This subset can self-renew and differentiate into effector like or terminally exhausted cells, and is currently being considered as the main cell population that responds to immune checkpoint blockade. The self-renewal of these progenitor exhausted CD8⁺T cells was found to depend on expression of TCF1. Terminal exhausted CD8⁺T cells is characterized by the expression of several immune checkpoint molecules such as programmed cell death protein 1(PD-1), cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4(CTLA-4), lymphocyte activation gene(LAG), T cell immunoglobulin and mucin domain-containing protein 3(TIM3) etc. The level of PD-1 increases as the exhaustion of CD8⁺T cells getting worse, while TIM-3 is restricted to the terminally exhausted subset. Effector CD8⁺T cells are intermediate of the above two types, and surface receptor CX3C chemokine receptor 1(CX3CR1) is enriched in this subset. T-bet is the key transcription factor that drives the effector phenotype of tumor specific CD8+T cells, while TOX is a critical driver of the exhaustion phenotype. Besides the above exhaustion states, the heterogeneity of CD8+T cells are also characterized by the expression of surface receptors. For example, CD39 is an important marker to distinguish bystander and tumor-specific CD8⁺T cells. The expression of CD39, CD103 and CD69 on the surface of CD8⁺T cells is closely related to patient prognosis. Moreover, IL-17A and CCR6 suggest insufficient specificity for tumor cells and lower effector function. As tumor progresses, the memory and effector phenotypes of tumor specific CD8⁺T cells gradually vanish and eventually differentiate into terminally exhausted cells. Epigenetic changes and metabolic reprogramming are involved in regulating this process. The increase of chromatin accessibility of exhaustion related genes is the direct causes of the exhaustion of CD8⁺T cells. Hypoxia- or deprivation of nutrients-caused dysfunction of oxidative phosphorylation and glycolysis is one of the important causes. Moreover, the complex and diverse immunosuppressive signals within tumor microenvironment, including excess of immune checkpoint molecule, lack of co-stimulation receptor, etc. accelerate this process. Clinical studies have shown that T cell factor 1(TCF-1), CX3CR1 and CD103 are correlated to the response of patients to immunotherapy, indicating that the memory, effector phenotype, and the

基金项目:上海市科委"科技创新行动计划"实验动物研究领域项目(21140902000);中国科学院青年创新促进会(2020281)

作者简介:方堃,男 E-mail: s18-fangkun@simm.ac.cn *通信作者:方艳芬,女,博士,副研究员 E-mail: yffang@simm.ac.cn

·1670 · Chin J Mod Appl Pharm, 2023 June, Vol.40 No.12

中国现代应用药学 2023 年 6 月第 40 卷第 12 期

tumor specificity of CD8⁺T cells are the basis for their response to immunotherapy. Tumor vaccine immunization and other approaches targeting critical regulatory molecules have been proven to increase the density of tumor specific effector CD8⁺T cells effectively and are expected to become new approaches to enhance anti-tumor immune response or improve immunotherapy response. Together, this paper reviews the fate of tumor specific CD8⁺T cells after activation, the molecular markers and transcriptional regulatory molecules characterizing distinct differentiation states of CD8⁺T cells, as well as the factors that influence CD8⁺T cells differentiation, in order to provide a reference for more precise regulation of CD8⁺T cell phenotype and enhancement of anti-tumor immune response.

KEYWORDS: tumor specific CD8⁺T cells; differentiation state; memory; exhaustion; effector

CD8⁺T 细胞是免疫应答的主要效应细胞,可 以特异性地杀伤靶细胞。在体细胞癌变背景下, 肿瘤特异性 CD8+T 细胞是识别和消灭肿瘤细胞的 生力军。但是在复杂的肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)中, 肿瘤特异性 CD8+T 细 胞往往呈现功能耗竭的分化状态,表现为细胞表 面抑制性受体表达上调,包括程序性死亡受体 1(programmed cell death protein 1, PD-1)^[1]、细胞毒 性 T 淋巴细胞相关蛋白 4(cytotoxic T lymphocyteassociated antigen 4, CTLA-4)^[2]和 T 淋巴细胞免疫 球蛋白黏蛋白 3(T cell immunoglobulin and mucincontaining molecule 3, TIM-3)等。这些受体与肿瘤 细胞和各类免疫抑制细胞表面相应配体结合后, 肿瘤特异性 CD8+T 细胞分泌细胞因子、释放细胞 毒性分子的功能逐渐丧失,其介导的抗肿瘤免疫 应答也受到抑制[3]。基于这一理论开发的免疫检查 点阻断(immune checkpoint blockade, ICB)药物能 够阻断免疫抑制信号的传递,重新激活肿瘤特异 性 CD8⁺T 细胞的杀伤功能,已成为近 10 年来进展 最快、最成功的一类抗肿瘤药物。但是,临床实 践也表明, ICB 疗法目前仍然面临总体响应率低 下、易产生耐药性等问题^[4]。近几年的研究发现, 肿瘤特异性 CD8+T 细胞是一个高度异质性的群 体,具有多种不同的分化状态,并且这些分化状 态与对免疫检查点抑制剂的响应程度紧密关联。 本文通过介绍肿瘤特异性 CD8⁺T 细胞激活后的命 运,对表征不同分化状态的分子标志物、调控细 胞分化的重要转录因子、影响分化状态的因素、 与免疫疗法响应相关的标志物、调控 CD8⁺T 细胞 增强抗肿瘤作用的应用等内容进行综述。

1 肿瘤特异性 CD8+T 细胞的命运和研究历史

肿瘤抗原是恶性肿瘤细胞中特异性存在或者 高表达的蛋白/多肽分子^[5]。树突状细胞(dendritic cell, DC)摄取、加工肿瘤抗原,并通过主要组织相 容性复合体 I (major histocompatibility complex- I, MHC- I)和 MHC- II 将抗原肽呈递给 T 细胞。CD8⁺T 细胞群体经过抗原受体基因重排获得 T 细胞受体(T cell receptor, TCR), 具有多样性特征, 能特异性识 别肿瘤抗原。初始 CD8⁺T 细胞表面的 TCR 和 CD28 共受体分别结合 DC 表面的抗原肽-MHC (peptide-MHC, pMHC)复合物和 CD80/CD86 后发生 活化^[6]。在活化后的早期阶段,肿瘤特异性 CD8⁺T 细胞迅速克隆扩增,其中一些从次级淋巴器官迁移 至肿瘤组织,并终末分化为高表达杀伤细胞凝集素 样受体 G1(killer cell lectin-like receptor subfamily G member 1, KLRG1)的短期效应细胞(short-lived effector cells, SLECs)。SLECs 能够强力靶向杀伤肿 瘤细胞,但很快凋亡,因此无法介导持久的抗肿瘤 免疫应答[7]。由于肿瘤细胞未被完全清除,在肿瘤抗 原的持续刺激和免疫抑制性 TME 作用下, 肿瘤特异 性CD8⁺T细胞的增殖分化潜力和细胞杀伤能力不断 减弱,这一过程称为 CD8⁺T 细胞的耗竭^[8]。研究发 现, 耗竭 CD8⁺T 细胞中存在一群具有干细胞样 (stem-like)或记忆样(memory-like)特征的细胞,能在 较长时间内存在并分化产生终末效应细胞, 被认为 是对 ICB 产生响应的主要群体。

关于干细胞样/记忆样耗竭 CD8⁺T 细胞的认 知,最初起源于对病毒慢性感染过程的研究。2012 年, John Wherry 团队利用小鼠慢性病毒感染模型, 首次提出祖细胞 CD8+T 亚群和终末 CD8+T 亚群的 概念,认为这2 群细胞的动态调节是控制慢性病 毒感染的重要环节^[9]。2016年, Werner Held 团队 发现病毒特异性 CD8⁺T 细胞中, T 细胞因子 1(T cell factor 1, TCF-1)阳性的细胞具有记忆细胞特 征,能够自我更新并分化产生终末效应细胞^[10]。 同年,仍是在慢性病毒感染背景下,Im等[11]发现 细胞表面趋化因子受体 5(C-X-C chemokine receptor type 5, CXCR5)阳性 CD8⁺T 细胞亚群是具 有干细胞特征并对 PD-1 响应的群体, 而 TCF-1 是 该亚群必需的转录因子。2019年, Werner Held 团 队率先将慢性病毒感染模型中的发现拓展至肿瘤 领域,他们利用小鼠肿瘤模型研究发现肿瘤浸润

CD8⁺T 细胞中存在 TCF-1⁺PD-1⁺亚群,该亚群兼具 干细胞和耗竭细胞特征,能对肿瘤疫苗和 ICB 治 疗产生响应,显著抑制肿瘤生长。重要的是,在 黑色素瘤患者的血液和肿瘤浸润淋巴细胞中亦存 在 TCF-1⁺PD-1⁺ CD8⁺T 细胞,与患者生存率正相 关^[12]。紧接着, Miller 等^[13]首次提出将肿瘤浸润的 耗竭 CD8⁺T 细胞划分为祖细胞样耗竭 T(progenitor exhausted T, T_{PEX})细胞和终末耗竭 T(terminally exhausted T, T_{EX})细胞 2 个亚群, 两者存在不同的 表观遗传和转录特征,呈现不同的功能特性。无抗 原刺激下, T_{PEX} 可长期存在; 经抗原刺激后, T_{PEX} 可分化为 T_{EX}。T_{PEX} 在 PD-1 抗体作用后,比例显 著提高,并且分化为 T_{EX},发挥长效抑瘤的作用。 对 ICB 治疗产生不同响应的晚期黑色素瘤患者肿 瘤样本进行分析,发现 TPEX 比例在有无响应的患者 之间没有差别,但是在响应群体中,与患者无进展 生存期正相关。

对 TPEX 亚群的研究刷新了人们对 CD8+T 细胞 异质性和 ICB 响应机制的认知, 之后关于肿瘤特 异性耗竭 CD8+T 细胞分化状态的新发现不断涌 现。Krishna 等^[14]发现 CD8⁺T 细胞中 CD69 与 CD39 组合能够指示患者对过继性细胞疗法是否响应, 双阴性亚群介导更持久有效的抗肿瘤免疫应答。 Duhen 等^[15]则发现 CD39⁺CD103⁺CD8⁺T 细胞是存 在于多种实体瘤中的肿瘤特异性 CD8⁺T 亚群,并 且与更长的总生存期相关。Corgnac 等^[16]认为在肺 癌患者体内,对 ICB 疗法产生响应并特异性杀伤 肿瘤细胞的是 CD103⁺定居记忆 T 细胞, 而不是 TCF-1⁺非定居记忆亚群。叶丽林团队^[17]利用小鼠 肿瘤模型发现一群存在于肿瘤引流淋巴结的肿瘤 特异性记忆 T(tumor-specific memory T, T_{TSM})细胞, 与 T_{PEX} 呈现不同的表型特征, 能对 ICB 治疗产生 响应,而且比 Tpex 具有更好的长效抗肿瘤效应。

正如 TPEX 亚群中存在耗竭程度的异质性, TEX 亚群中存在着杀伤功能的异质性。有报道揭示了 慢性感染模型中, CX3C 趋化因子受体 1 阳性 (CX3C chemokine receptor 1, CX3CR1)CD8⁺T 细 胞亚群比阴性亚群产生更多的干扰素γ(interferon γ, INF-γ)和颗粒酶 B(Granzyme B, GzmB), 细胞 毒性更强^[18-19],而且该亚群在肿瘤模型中能介导 更强的抗肿瘤免疫应答^[20]。根据体外激活及分泌 产生的细胞因子差异, CD8⁺T 细胞可分为 Tc1、 Tc2、Tc9、Tc17 和 Tc22 等。研究表明, 终末分化亚 群 Tc17 细胞, 表达白细胞介素 17A(interleukin-17A, IL-17A)和趋化因子 C-C-基元受体 6(C-C chemokine receptor type 6, CCR6), 其效应功能相对低下^[21-22]。除了 Tc17 亚群和典型的 Tc1 亚群, 目前对其他亚 群的了解仍然较少, 有待深入研究探索。

综上所述,目前的研究围绕肿瘤特异性 CD8⁺T 细胞的记忆、耗竭、效应表型定义了多种 不同分化状态的 CD8⁺T 细胞。虽然对这些分化状 态的描述或定义尚未统一,但总的来说,肿瘤特 异性 CD8⁺T 细胞朝着终末耗竭方向单向分化,不 可逆转,并且耗竭程度越深,对免疫检查点抑制 剂的响应越差,分化途径见图 1。当 CD8⁺T 细胞 分化至终末耗竭阶段后,就完全失去其记忆细胞 表型,杀伤功能得到强化,但最终因完全耗竭而 迅速死亡。



图 1 肿瘤特异性 CD8⁺T 细胞分化命运 Fig. 1 Differentiation fate of tumor specific CD8⁺ T Cells

2 区分肿瘤特异性 CD8⁺T 细胞分化状态的重要 标志物

2.1 TCF-1 和 TIM-3 是区分 T_{PEX} 和 T_{EX} 亚群的主 要标志物

早期研究表明,在成熟 T 细胞中,TCF-1 是 记忆细胞形成的关键转录因子^[23],TIM-3 是与终 末耗竭密切相关的重要检查点分子^[24]。2019 年, Werner Held 率先发现肿瘤特异性 TCF-1⁺PD-1⁺ CD8⁺T 细胞兼具耗竭细胞和干性细胞特征, TCF-1⁺细胞能够不可逆地分化产生 TCF-1⁻细胞, 并且介导更持久的抗肿瘤免疫应答^[12]。Miller等^[13] 的研究进一步表明,PD-1⁺耗竭 CD8⁺T 细胞中, TCF-1 与 TIM-3 的表达存在显著的负相关关系。 根据两者的表达情况,定义了 T_{PEX}(TCF-1⁺TIM-3⁻) 亚群和 T_{EX}(TCF-1⁻TIM-3⁺)亚群。T_{PEX} 亚群是对 PD-1 阻断疗法响应的主要细胞群体,能够分化产 生 T_{EX} 亚群。T_{EX} 亚群表达高水平的 GzmB, 具备 更强的细胞毒性。另外, John Wherry 等^[25]研究发 现表面分子 SLAM 家族成员 6(SLAM family member 6, Slamf6, 别名 Ly108)与 TCF-1 的表达 具有较高的一致性, 证实 Ly108⁺细胞也具有 T_{PEX} 亚群特征, 而由 Ly108⁺细胞分化产生的 Ly108⁻亚 群细胞毒性更强, 因此 Ly108 也是用于表征 T_{PEX} 亚群的重要蛋白。

2.2 CD39、CD69 和 CD103 指示肿瘤特异性且预 后良好

肿瘤浸润 CD8⁺T 细胞中常包含识别肿瘤无关 抗原的非肿瘤特异性细胞,称为"旁观者"亚群, 该亚群表型多样,但几乎都不表达 CD39,因此 CD39 可指示 CD8⁺T 细胞的肿瘤特异性^[26]。另一 方面, CD39 也是耗竭表型的标志物之一,其编码 基因 *Entpd1* 在耗竭 CD8⁺T 细胞中上调。

多项研究表明, CD8⁺T 细胞中 CD39、CD69 和 CD103 的表达具有相关性, 且对患者预后有较 高的预测价值^[15-16,26-27]。CD69是 CD8⁺T 细胞活化 后上调的早期标志物之一,随着细胞增殖表达不 断下降。CD69 和 CD103 亦是组织定居 CD8+T 细 胞的标志物。在黑色素瘤中,肿瘤浸润 CD69+ CD103⁺CD8⁺T 细胞亚群比例与患者的积极预后相 关^[27]。在肺癌中,肿瘤浸润 CD103⁺CD8⁺T 细胞亚 群比例亦与患者的积极预后相关^[16]。Duhen 等^[15] 研究发现,肿瘤浸润 CD103+CD8+T 细胞中,CD39-细胞的耗竭程度较低,但 IFN- γ 、TNF- α 等细胞因 子的表达水平高; CD39⁺细胞表面 PD-1 等免疫检 查点分子及 GzmB 的表达水平高。在头颈癌肿瘤中, CD39⁺CD103⁺CD8⁺T细胞高占比与患者更好的总 生存率呈正相关。可见, CD39、CD69 和 CD103 三者的表达情况与患者预后具有密切相关性。

2.3 CX3CR1 指示细胞毒性更强的终末分化 CD8⁺T 细胞

在病毒感染模型中,CX3CR1 被认为与效应 CD8⁺T 细胞分化密切相关。Gerlach 等^[28]报道 CX3CR1 是效应细胞分化的标志物,在激活的 CD8⁺T 细胞中呈现由低到高的差异性表达,中枢 记忆 T 细胞仅由 CX3CR1⁻亚群分化产生。Hudson 等^[18]证实了慢性感染 T_{EX} 亚群中存在 CX3CR1⁺细 胞,并且这群细胞表达高水平的 GzmB,细胞毒性 更强。类似地,肿瘤特异性 CD8⁺T 细胞中的 CX3CR1⁺亚群也具有更强的效应功能^[29]。Chen 等^[30] 的研究表明记忆表型标志物 TCF-1 和耗竭表型标 志物 PD-1 都会抑制 CD8+T 细胞向效应细胞命运 分化。Yamauchi 等[31]也发现肿瘤浸润 CD8+T 细胞 中 CX3CR1 的表达与记忆、耗竭标志物的表达呈 现负相关关系,且 CX3CR1⁺亚群难以响应 PD-L1 阻断疗法。综合来看,肿瘤特异性CX3CR1⁺CD8⁺T 细胞具有效应细胞表型,与完全耗竭的 Tex 亚群有 所区别,但两者都是对 ICB 疗法不敏感的终末分 化亚群。在 TPEX 亚群中, 效应与耗竭 2 种命运之 间可能存在着竞争关系,ICB 疗法阻断免疫抑制信 号后促进 T_{PEX} 亚群向效应细胞命运分化, 而增强 免疫共刺激信号也可能产生类似的效应,例如 Zander 等^[20]的研究表明,CD4⁺T 细胞产生的白细 胞介素-21(interleukin 21, IL-21)会促进 CX3CR1⁺ 亚群的产生,而当 CD4+T 细胞辅助不足时, CD8+T 细胞更易进入效应功能低下的完全耗竭状态。

2.4 PD-1 的逐步升高提示 CD8+T 细胞耗竭进程

对 T 细胞耗竭的定义最早来自慢性感染模型 中的研究,泛指 CD8⁺T 细胞持续存在却无法清除 病原体的功能失常状态^[8],而 PD-1 的表达上调是 耗竭 CD8⁺T 细胞最显著的标志之一^[1]。对 CD8⁺T 细胞异质性的解析同时也揭示了不同亚群中 PD-1 的表达丰度存在差异:T_{TSM} 亚群表达极低水平的 PD-1,T_{PEX} 亚群表达中等水平的 PD-1,T_{EX} 亚群 表达高水平的 PD-1 以及 TIM-3、CD39 等终末耗 竭标志物^[17,32]。由此可见,伴随着 CD8⁺T 细胞的 逐渐耗竭,细胞表面 PD-1 分子的数量不断增加。

需要指出的是,越来越多的证据表明,肿瘤 浸润 CD8⁺T 细胞异质性低不利于对肿瘤生长的抑 制:T_{EX} 亚群容易凋亡,无法长期存活;T_{TSM} 和 T_{PEX} 亚群自身几乎不表达颗粒酶、穿孔素,无法 直接杀伤肿瘤细胞,过高的 TCF-1⁺比例可能还意 味着 CD8⁺T 细胞对肿瘤的特异性不足,包含了大 量"旁观者"细胞。因此,尽管各亚群的 PD-1 分 子表达水平存在差异,但它们对于持久有效的抗 肿瘤免疫应答都是不可或缺的。

2.5 Tc17 是效应功能低下的终末分化 CD8⁺T 细 胞亚群

对应 CD4⁺T 细胞的 Th 分型, CD8⁺T 细胞可 分为 Tc1、Tc2、Tc9、Tc17 和 Tc22, 其中 Tc1、 Tc2 和 Tc22 均表达 GzmB, 细胞毒性强, 而 Tc9 和 Tc17 是 2 个低细胞毒性的 CD8⁺T 细胞亚群。目 前人们对 Tc9 亚群的了解仍然较少, 但对于 Tc17 亚群已有较多的表征和研究^[33]。Huber 等^[21]体外 使用 IL-6 和转化生长因子 β(transforming growth factor β, TGF-β)刺激 CD8⁺T 细胞, 首先对 Tc17 亚群进行了描述: 产生 IL-17, 同时低表达效应标 志物 T-bet、GzmB 和 IFN-γ。随后, Kuang 等^[34] 在肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)患者 体内证实了 Tc17 亚群的存在,该亚群可在单核或 巨噬细胞分泌的 IL-1β、IL-6、IL-23 刺激下表达 IFN-γ, 但均不表达 GzmB。最近的研究也显示, HCC 中 IFN-γ⁻ Tc17 亚群的浸润与患者的不良预后 相关^[35]。

Chellappa 等^[36]首次描述了 Tc17 亚群的耗竭表 型, Tc17 细胞表达高水平的 TIM-3 并缺少记忆细 胞标志物 CD127 的表达,属于终末分化细胞,另 外,多数 Tc17 在表达标志物转录因子视黄酸相关 孤儿受体 γT(retinoic acid-related orphan receptor γT, RORγT/RORC)的同时,还表达 Tc1 标志物 T-bet,故而呈现 IL-17A 和 IFN-γ 的共表达,但细 胞毒性低。Burger 等^[37]进一步揭示了 TME 中较弱 的 pMHC-I-TCR 结合导致 T_{PEX} 细胞表达 CCR6, CCR6⁺T_{PEX} 亚群分化产生了效应功能低下的 Tc17 细胞,且多数表达终末耗竭标志物 TIM-3。

3 调控肿瘤特异性 CD8⁺T 细胞分化的主要转录 因子

3.1 TOX(Thymocyte selection-associated high mobility group box protein)是驱动 CD8⁺T 细胞耗竭 的关键转录因子

转录因子 TOX 是高迁移率组盒(high mobility group-box, HMG-box)蛋白超家族的成员之一,能 够识别并结合具有特定结构的 DNA 序列^[38]。TOX 蛋白不参与效应和记忆 CD8⁺T 细胞的形成,但在 耗竭亚群中的表达选择性升高,并且对于耗竭命 运的确立是不可或缺的。TOX 缺失引起 CD8⁺T 细 胞中干性相关基因(Tcf7, Lef1, Il7r)染色体开放程 度升高、表达上调,耗竭相关基因(Pdcd1, Haver2, Entpd1)染色体开放程度降低,表达下调; TOX 过 表达则会导致完全相反的结果[39-41]。最近,叶丽 林团队^[17]证实了肿瘤特异性 CD8⁺T 细胞中存在 TOX⁻T_{TSM}亚群,该亚群仅表达极低水平的 PD-1, 但表达较高水平的 CD62L、CD127 等记忆细胞标 志物。过继性细胞移植实验结果显示, T_{TSM} 亚群 的增殖分化潜力显著优于 TOX⁺T_{PEX} 亚群, 与急性 感染模型中的记忆细胞相当,并且能够介导更强

的抗肿瘤免疫应答和对 PD-L1 免疫检查点阻断的 响应^[17]。

3.2 T-bet 是促进 CD8⁺T 细胞效应功能激活的关键转录因子

T-bet 由 Tbx21 基因编码,是调控多种淋巴细 胞(Th1、B 细胞和 NK 细胞)分化和成熟的关键转 录因子之一^[42]。近年来, T-bet 在 CD8⁺T 细胞的分 化和耗竭中的作用也逐渐被揭示。John Wherry 团 队研究发现,在慢性感染中, T-bet 抑制 PD-1 等免 疫检查点分子的表达,有助于耗竭 CD8+T 细胞的 维持^[43]。后续研究揭示 T-bet 和 Eomesodermin (Eomes)竞争性结合于 Pdcd1 T-box 序列,两者的 结合比例决定 CD8⁺T 细胞耗竭程度。在慢性病毒 感染模型和人黑色素瘤样本中, CD8⁺ Tex 细胞核 内 Eomes: T-bet 比例偏高, PD-L1 抗体作用后该 比例显著下调, T-bet 的转录调控作用得以增强, 使 Tex 细胞具备效应样细胞表型^[44]。这些研究将 T-bet 与耗竭 CD8⁺T 的效应样分化进行关联, Tbx21 基因敲除实验则直接确证了 T-bet 的效用。John Wherry 团队根据 Ly108、CD69 的表达情况,将耗 竭 CD8+T 细胞分为 4 个阶段: 2 个 TCF1+亚群 (Ly108⁺CD69⁺和 Ly108⁺ CD69⁻)、效应样亚群 (Ly108-CD69-)和终末耗竭亚群(Ly108-CD69+)。敲 除 CD8⁺T 细胞中 Tbx21 后, 不仅耗竭 CD8⁺T 细胞 总数明显减少,而且效应样亚群在耗竭细胞中占 比显著降低^[25]。Raju 等^[45]也报道在 CD8⁺T 细胞中 敲除 Tbx21 后, CX3CR1⁺亚群比例显著降低, 效 应分子 CD107a、IFN-γ 的表达显著减少。上述 2 项研究证实 T-bet 是促进 CD8⁺T 细胞效应功能激 活的关键因子,但这些发现均基于慢性病毒感染 模型研究获得, T-bet 在肿瘤耗竭 CD8+T 细胞分化 过程中的作用仍有待研究确证。

3.3 碱性亮氨酸拉链转录因子 ATF 样蛋白(basic leucine zipper transcriptional factor ATF-like, BATF) 参与 CD8⁺T 细胞分化的多个阶段

BATF 也是 CD8⁺T 细胞效应功能激活所必需的转录因子之一^[46]。Zander 等^[20]发现 CD4⁺T 细胞 产生的 IL-21 可能上调了 CD8⁺T 细胞中 BATF 的 表达。随后他们进一步发现, BATF 调控了一系列 效应相关基因(*Tbx21、Cx3cr1、Gzmb、Ifngr*)的染 色体开放程度,促进记忆细胞向效应细胞命运分 化。不过,他们的结果也表明,BATF 对记忆和耗 竭相关基因也存在调控作用^[19]。实际上,BATF 和 其他 AP-1 家族成员二聚化后,或者与转录因子干 扰素调节因子 4(interferon regulatory factor 4, IRF4) 协作才能发挥表达调控作用,而当 BATF 与 IRF4 协作调控基因表达时,它们显著促进了 CD8+T 细 胞的耗竭和相关基因 Haver2、Tigit、Pdcd1、Lag3 的表达^[47]。Nir Yosef团队^[48]也报道了 BATF 与其 他转录因子的协同作用对效应 CD8⁺T 细胞分化的 调控,他们发现 T-bet 和 Runt 相关转录因子 3(Runt-related transcription factor 3, Runx3)在基因 组上的结合位点与 BATF 的结合位点接近或重合, T-bet 的调控作用如前所述, Runx3 是调控 CD8⁺T 细胞向定居表型分化的关键转录因子, BATF 既能 直接调控 T-bet/Runx3 结合位点的染色质开放程 度,也能促进染色质环的形成,将相距较远的结 合位点拉近。综合来看,CD8⁺T 细胞的命运可能 受到与 BATF 协作的转录因子的深刻影响。

4 影响 CD8+T 细胞分化进程的主要因素

4.1 表观遗传图景改变和代谢重编程是 CD8⁺T 细胞分化的内在基础

上述分化特征已经表明,肿瘤特异性 CD8+T 细胞各亚群具有自身独特的基因表达转录谱,因 此人们紧接着开始探索异质性形成的更深层次原 因,且已有一些研究揭示了 CD8⁺T 细胞分化的表 观遗传学基础。Sen 等^[41]发现幼稚 CD8⁺T 细胞分 化过程中,染色体的整体开放程度显著增加,且 不同分化状态染色体开放性的差异比基因表达的 差异更为明显。在耗竭 CD8⁺T 细胞中, Havcr2、 Pdcd1、Batf 等基因附近的染色体开放程度显著增 加,并鉴定了这些基因附近的耗竭特异性增强子 序列,提出通过对这些区域进行编辑从而增强 CD8⁺T 细胞对耗竭的抗性。同时 Pauken 等^[49]也发 现,耗竭 CD8⁺T 细胞具有与效应、记忆、幼稚亚 群不同的表观遗传图景, 阻断 PD-1 信号通路通过 影响转录因子与基因序列的结合暂时增强了 CD8⁺T 细胞的效应功能,但无法逆转耗竭相关的 表观遗传学特征。更近的一项研究对不同亚群 CD8⁺T 细胞的组蛋白修饰作了更细致的分析, 令 人意外的是,研究者发现除耗竭相关基因外,T_{EX} 亚群中活化/效应相关基因增强子区域的开放程度 也很高,但这些基因却缺乏相应的表达,他们推 测是相关转录因子的缺失导致了这一结果[50]。

除了表观遗传图景的改变,在 CD8⁺T 细胞的 分化过程中,其自身的代谢需求也在变化。初始 CD8⁺T 细胞的代谢需求较低,主要通过氧化磷酸 化(oxidative phosphorylation,OXPHOS)进行分解 代谢来产生能量;活化的效应 CD8⁺T 细胞代谢需 求陡增,主要利用合成代谢,尤其是有氧糖酵解 来产生能量,在产能的同时合成生物大分子底物, 以支持自身快速克隆扩增和效应功能的发挥^[51]。 脂肪酸氧化促进 CD8⁺T 细胞记忆表型的形成与维 持^[52],且帮助保持胞内线粒体的完整性及备用呼 吸量^[53]。线粒体完整性遭到破坏是 CD8⁺T 细胞耗 竭的又一显著标志^[54],尽管两者联系的具体机制 尚未完全阐明,但人们已经发现,CD8⁺T 细胞耗 竭总是伴随着线粒体功能受损、OXPHOS 水平降 低以及糖酵解储备能力的下降^[55],显然代谢功能 异常是耗竭亚群效应功能低下的重要原因。

4.2 TME 中的免疫抑制性信号是 CD8⁺T 细胞功能失调的外在原因

肿瘤的发生发展是一个逐渐逃逸机体免疫监视的过程,因此外界干预前的肿瘤浸润 CD8⁺T 细胞总是表现为不能完全清除肿瘤细胞的功能失调状态,TME 中逐渐积累的免疫抑制性信号是造成这一结果的主要外因,包括过多的免疫抑制分子、贫乏的共刺激分子、缺氧、营养物质剥夺等。

除了 MHC 分子呈递的抗原肽信号, CD8⁺T 细胞的充分活化还需要足够的共刺激信号,已发 现的共刺激受体包括 CD28、可诱导共刺激分子 (inducible co-stimulator, ICOS), CD226, OX-40, 4-1BB 等, 抗原呈递细胞(antigen presenting cell, APC)表面则表达相应的配体,如 CD80/CD86 (CD28 配体)、CD275(ICOS 配体)、CD155/CD112 (CD226 配体)、OX-40L(OX-40 配体)、4-1BBL (4-1BB 配体)等。在耗竭过程中, CD8+T 细胞表面 多种免疫共抑制受体表达升高,除前面提到的 PD-1、CTLA-4、TIM-3外,还有T细胞免疫球蛋 白和 ITIM 结构域(T cell immunoglobulin and ITIM domain, TIGIT)、淋巴细胞活化基因 3(lymphocyte activation gene 3, LAG-3)等^[56-57]。这些免疫共抑 制受体通过多种途径强化免疫抑制信号,例如 CTLA-4、TIGIT 分别与 CD28、CD226 竞争结合 CD80/CD86及 CD155/CD112, 传递免疫抑制信号 的同时削弱共刺激信号^[58-59]; LAG-3 既能竞争性 结合 MHC-II 分子,也能与 TCR 结合后破坏 CD8 与酪氨酸激酶 LCK 的结合,阻断激活信号向下传 递^[5,60]; PD-1 与肿瘤细胞或髓系细胞表面 PD-L1

中国现代应用药学 2023 年 6 月第 40 卷第 12 期

结合后抑制 TCR/CD28 介导的下游 PI3K/Akt、ERK 等信号通路的激活^[61-62]。在生理条件下,免疫抑 制信号与刺激信号的平衡对自身免疫耐受至关重 要,但在 TME 中,前者对后者的拮抗却导致 CD8⁺T 细胞肿瘤杀伤功能的逐渐丧失。

缺氧是 TME 中普遍存在的代谢压力,其对 CD8⁺T 细胞表型和功能的影响可能具有两面性,一 方面,低氧条件下激活的缺氧诱导因子 1α(hypoxia inducible factor 1α,HIF-1α)信号通路通过促进糖酵 解增强 CD8⁺T 细胞的增殖和效应功能^[63],但另一 方面,缺氧和持续抗原刺激导致线粒体中积累过 量的活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS), 损害线粒体功能并加剧了 CD8⁺T 细胞的终末耗 竭,清除 ROS 或改善缺氧能够改善 CD8⁺T 细胞对 ICB 疗法的响应^[32]。

除了氧气,TME 中还缺乏各类营养物质,尤 其是葡萄糖,糖酵解功能活跃的恶性肿瘤细胞积 极摄取葡萄糖并向胞外堆积乳酸,肿瘤浸润 CD8⁺T 细胞因此面临激烈的代谢竞争。较早的研 究已经揭示了激烈代谢竞争下葡萄糖摄取受限会 对 CD8⁺T 细胞的效应功能造成不可逆的损伤^[64], 而靶向抑制肿瘤细胞糖酵解则能够提高 TME 中的 葡萄糖水平,改善 CD8⁺T 细胞效应功能和对 ICB 的响应^[65]。糖酵解副产物乳酸对 CD8⁺T 细胞的表 型功能也有着深刻的影响。早期研究表明乳酸显 著抑制 CD8⁺T 细胞的增殖与效应功能^[66-67],但最 近的一些研究则揭示了乳酸也是 CD8⁺T 细胞三羧 酸循环的重要碳源^[68],并且有助于干性表型的维 持^[69],因此乳酸对 CD8⁺T 细胞的影响可能也具有 两面性。

5 与免疫疗法响应相关的 CD8+T 细胞分子标志物

CD8⁺T 细胞的分化状态与其增殖分化潜力、 效应功能密切相关,也决定了细胞能否对免疫疗 法产生响应,因此寻找能够指征响应情况的分子 标志物成为当下研究重点之一。Sade-Feldman等^[70] 率先发现在黑色素瘤患者中,ICB疗法响应者的肿 瘤浸润 CD8⁺T 细胞具有更高的 TCF-1⁺比例,Miller 等^[13]的研究也表明 PD-1⁺CD8⁺T 细胞中的 TCF-1⁺ 比例与响应者的无进展生存期长度具有明显相关 性。Edwards等^[27]则发现 CD103⁺肿瘤定居 CD8⁺T 细胞丰度与黑色素瘤患者的总生存期相关。该群 细胞高表达 PD-1、LAG-3等免疫检查点分子,分 化程度较高,在 ICB 疗法响应患者体内,该亚群 丰度在治疗后增幅更大。Yamauchi等^[29]研究发现, 非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC) 患者外周血 CD8⁺T 细胞中的 CX3CR1⁺比例与患者 的总生存期相关,且 PD-1 抗体治疗后,该比例增 幅>20%的患者的无进展生存期和总生存期更长。 Chow 等^[71]发现 CD39 在肿瘤特异性 CD8⁺T 细胞 中富集,在接受 ICB 疗法的肺癌患者中,基线期 响应者 CD8⁺T 细胞的 CD39⁺比例更高,且比例位 于前 25%的患者治疗后的无进展生存期和总生存 期更长。上述临床相关研究结果表明,T_{PEX} 亚群 和具有效应功能的 T_{EX} 亚群是长效抗肿瘤免疫应 答不可或缺的成分。

此外,还有一些研究对限制免疫疗法响应的 CD8⁺T 细胞进行了表征。Sanmamed 等^[72]在 NSCLC 患者肿瘤中发现了 CD45RO^{high} CD45RA⁻ 耗尽效应(burned-out effector, Ebo)CD8⁺T 细胞。 Ebo 亚群表达高水平增殖标志物 Ki-67 和多种免疫 检查点分子,转录因子 Eomes:T-bet 比例高,但 IFN-γ 表达水平低且易凋亡。CD8⁺T 细胞中 Ebo 亚群比例高(>17.5%)的 NSCLC 患者对 ICB 疗法响 应差,治疗后的总生存期明显更短。

6 调控 CD8⁺T 细胞分化状态增强抗肿瘤作用的 应用

对 CD8⁺T 细胞分化状态的研究表明,促进效 应细胞数量的增加是增强抗肿瘤免疫应答的重要 环节,而保持 T_{PEX} 细胞占比并促进其自我更新、 分化为终末效应细胞是发挥长效抗肿瘤作用的关 键因素。

D'Alise 等^[73]报道,移植 MC38 皮下移植瘤小 鼠若在腺病毒肿瘤疫苗免疫后再接受 PD-1 抗体治 疗,与单用 PD-1 抗体相比,肿瘤及其引流淋巴结 中 CD127⁺KLRG1⁻记忆亚群、CD127⁻KLRG1⁺效应 亚群占肿瘤特异性 CD8⁺T 细胞比例及绝对数量均 显著增加,肿瘤生长受到显著抑制。LaFleur 等^[74] 证实非受体蛋白酪氨酸磷酸酶 2(protein-tyrosine phosphatase non-receptor typ2, PTPN2)通过降低 I 型干扰素信号通路活化水平抑制 T_{PEX} 亚群的终末 分化。敲除 *Ptpn2* 能够促进 Slamf6⁺细胞增殖分化 产生 TIM-3⁺细胞,但对 Slamf6⁺亚群的维持无影 响。敲除造血干细胞中的 *Ptpn2* 能够促使 MC38 皮下移植瘤完全消退。在免疫难治性的 B16 黑色 素瘤模型中,敲除 *Ptpn2* 显著增强了 CD8⁺T 细胞 对 PD-1 抗体的响应,GzmB⁺细胞比例显著升高, 且肿瘤生长受到显著抑制甚至消退。Liu 等^[75]发现 赖氨酸特异性组蛋白去甲基化酶 1A (lysinespecific histone demethylase 1A, LSD1)以拮抗 TCF-1 的方式抑制 T_{PEX} 亚群的维持,促使其终末 分化。在 MC38 皮下移植瘤模型中,条件性敲除 T 细胞中的 *LSD1* 显著抑制肿瘤生长,并使得肿瘤浸 润 CD8⁺T 细胞数量大幅增加、存活时间显著延长, 其 中 TCF-1⁺PD-1^{int}T_{PEX} 亚 群 比 例 升 高 、 TCF-1⁻PD-1^{hi} T_{EX} 亚群比例降低,但 2 个亚群的细 胞数量均显著增加。这表明敲除 *LSD1* 促进了 T_{PEX} 亚群自我更新并最终产生更多的终末效应细胞。 与 LSD1 抑制剂联用后,PD-1 抗体对 MC38 皮下 瘤的抑制作用也进一步增强,肿瘤浸润 T_{EX} 亚群 细胞数量显著增加^[75]。

7 结语

本文回顾了肿瘤特异性 CD8⁺T 细胞分化命运 的研究历史,并对各分化状态的分子标志物、重 要转录调控分子以及影响分化的因素作了介绍, 总结了一些调控 CD8⁺T 细胞分化状态增强抗肿瘤 免疫应答的实践案例。CD8⁺T 细胞是适应性免疫 应答的主要效应细胞,从整体来看,有效的抗肿 瘤免疫应答需要在记忆、效应、耗竭 3 种表型之 间实现最佳的平衡,以获得更多的效应细胞,而 TME 中却总是缺少甚至缺失效应亚群。随着对 CD8⁺T 细胞分化命运及调控机制了解的逐渐深入, 研究者们将有机会更加精准地改善肿瘤特异性 CD8⁺T 细胞功能,肿瘤免疫疗法的新时代必将到来。

REFERENCES

- AHMADZADEH M, JOHNSON L A, HEEMSKERK B, et al. Tumor antigen-specific CD8 T cells infiltrating the tumor express high levels of PD-1 and are functionally impaired[J]. Blood, 2009, 114(8): 1537-1544.
- [2] SOTOMAYOR E M, BORRELLO I, TUBB E, et al. In vivo blockade of CTLA-4 enhances the priming of responsive T cells but fails to prevent the induction of tumor antigenspecific tolerance[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(20): 11476-11481.
- [3] JUNEJA V R, MCGUIRE K A, MANGUSO R T, et al. PD-L1 on tumor cells is sufficient for immune evasion in immunogenic tumors and inhibits CD8 T cell cytotoxicity[J]. J Exp Med, 2017, 214(4): 895-904.
- [4] THOMMEN D S, SCHUMACHER T N. T cell dysfunction in cancer[J]. Cancer Cell, 2018, 33(4): 547-562.
- [5] LIANG X, CHEN S Q. Research progress of neoantigen in precision tumor immunotherapy[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2021, 38(8): 897-903.
- [6] COURTNEY A H, LO W L, WEISS A. TCR signaling:

Mechanisms of initiation and propagation[J]. Trends Biochem Sci, 2018, 43(2): 108-123.

- [7] DOLINA J S, VAN BRAECKEL-BUDIMIR N, THOMAS G D, et al. CD8⁺ T cell exhaustion in cancer[J]. Front Immunol, 2021(12): 715234.
- [8] BLANK C U, HAINING W N, HELD W, et al. Defining 'T cell exhaustion'[J]. Nat Rev Immunol, 2019, 19(11): 665-674.
- [9] PALEY M A, KROY D C, ODORIZZI P M, et al. Progenitor and terminal subsets of CD8⁺ T cells cooperate to contain chronic viral infection[J]. Science, 2012, 338(6111): 1220-1225.
- [10] UTZSCHNEIDER D T, CHARMOY M, CHENNUPATI V, et al. T cell factor 1-expressing memory-like CD8⁽⁺⁾ T cells sustain the immune response to chronic viral infections[J]. Immunity, 2016, 45(2): 415-427.
- [11] IM S J, HASHIMOTO M, GERNER M Y, et al. Defining CD8⁺ T cells that provide the proliferative burst after PD-1 therapy[J]. Nature, 2016, 537(7620): 417-421.
- [12] SIDDIQUI I, SCHAEUBLE K, CHENNUPATI V, et al. Intratumoral Tcf1⁺PD-1⁺CD8⁺ T cells with stem-like properties promote tumor control in response to vaccination and checkpoint blockade immunotherapy[J]. Immunity, 2019, 50(1): 195-211.e10.
- [13] MILLER B C, SEN D R, ABOSY R A, et al. Subsets of exhausted CD8⁺ T cells differentially mediate tumor control and respond to checkpoint blockade[J]. Nat Immunol, 2019, 20(3): 326-336.
- [14] KRISHNA S, LOWERY F J, COPELAND A R, et al. Stem-like CD8 T cells mediate response of adoptive cell immunotherapy against human cancer[J]. Science, 2020, 370(6522): 1328-1334.
- [15] DUHEN T, DUHEN R, MONTLER R, et al. Co-expression of CD39 and CD103 identifies tumor-reactive CD8 T cells in human solid tumors[J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 2724.
- [16] CORGNAC S, MALENICA I, MEZQUITA L, et al. CD103⁺ CD8⁺ T_{RM} cells accumulate in tumors of anti-PD-1-responder lung cancer patients and are tumor-reactive lymphocytes enriched with Tc₁₇[J]. Cell Rep Med, 2020, 1(7): 100127.
- [17] HUANG Q Z, WU X, WANG Z M, et al. The primordial differentiation of tumor-specific memory CD8⁺ T cells as bona fide responders to PD-1/PD-L1 blockade in draining lymph nodes[J]. Cell, 2022, 185(22): 4049-4066.e25.
- [18] HUDSON W H, GENSHEIMER J, HASHIMOTO M, et al. Proliferating transitory T cells with an effector-like transcriptional signature emerge from PD-1⁺ stem-like CD8⁺ T cells during chronic infection[J]. Immunity, 2019, 51(6): 1043-1058.e4.
- [19] CHEN Y, ZANDER R A, WU X P, et al. BATF regulates progenitor to cytolytic effector CD8⁺ T cell transition during chronic viral infection[J]. Nat Immunol, 2021, 22(8): 996-1007.
- [20] ZANDER R, SCHAUDER D, XIN G, et al. CD4⁺ T cell help is required for the formation of a cytolytic CD8⁺ T cell subset that protects against chronic infection and cancer[J]. Immunity, 2019, 51(6): 1028-1042.e4.
- [21] HUBER M, HEINK S, GROTHE H, et al. A Th17-like developmental process leads to CD8(+) Tc17 cells with

Chin J Mod Appl Pharm, 2023 June, Vol.40 No.12 \cdot 1677 \cdot

中国现代应用药学 2023 年 6 月第 40 卷第 12 期

reduced cytotoxic activity[J]. Eur J Immunol, 2009, 39(7): 1716-1725.

- [22] SRENATHAN U, STEEL K, TAAMS L S. IL-17⁺ CD8⁺ T cells: Differentiation, phenotype and role in inflammatory disease[J]. Immunol Lett, 2016(178): 20-26.
- [23] ZHOU X Y, YU S Y, ZHAO D M, et al. Differentiation and persistence of memory CD8(+) T cells depend on T cell factor 1[J]. Immunity, 2010, 33(2): 229-240.
- [24] SAKUISHI K, APETOH L, SULLIVAN J M, et al. Targeting Tim-3 and PD-1 pathways to reverse T cell exhaustion and restore anti-tumor immunity[J]. J Exp Med, 2010, 207(10): 2187-2194.
- [25] BELTRA J C, MANNE S, ABDEL-HAKEEM M S, et al. Developmental relationships of four exhausted CD8⁺ T cell subsets reveals underlying transcriptional and epigenetic landscape control mechanisms[J]. Immunity, 2020, 52(5): 825-841.e8.
- [26] SIMONI Y, BECHT E, FEHLINGS M, et al. Bystander CD8⁺ T cells are abundant and phenotypically distinct in human tumour infiltrates[J]. Nature, 2018, 557(7706): 575-579.
- [27] EDWARDS J, WILMOTT J S, MADORE J, et al. CD103⁺ tumor-resident CD8⁺ T cells are associated with improved survival in immunotherapy-Naïve melanoma patients and expand significantly during anti-PD-1 treatment[J]. Clin Cancer Res, 2018, 24(13): 3036-3045.
- [28] GERLACH C, MOSEMAN E A, LOUGHHEAD S M, et al. The chemokine receptor CX3CR1 defines three antigen-experienced CD8 T cell subsets with distinct roles in immune surveillance and homeostasis[J]. Immunity, 2016, 45(6): 1270-1284.
- [29] YAMAUCHI T, HOKI T, OBA T, et al. T-cell CX3CR1 expression as a dynamic blood-based biomarker of response to immune checkpoint inhibitors[J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 1402.
- [30] CHEN Z Y, JI Z C, NGIOW S F, et al. TCF-1-centered transcriptional network drives an effector versus exhausted CD8 T cell-fate decision[J]. Immunity, 2019, 51(5): 840-855.e5.
- [31] YAMAUCHI T, HOKI T, OBA T, et al. CX3CR1-CD8⁺ T cells are critical in antitumor efficacy but functionally suppressed in the tumor microenvironment[J]. JCI Insight, 2020, 5(8): e133920.
- [32] SCHARPING N E, RIVADENEIRA D B, MENK A V, et al. Mitochondrial stress induced by continuous stimulation under hypoxia rapidly drives T cell exhaustion[J]. Nat Immunol, 2021, 22(2): 205-215.
- [33] ST PAUL M, OHASHI P S. The roles of CD8⁺ T cell subsets in antitumor immunity[J]. Trends Cell Biol, 2020, 30(9): 695-704.
- [34] KUANG D M, PENG C, ZHAO Q Y, et al. Tumor-activated monocytes promote expansion of IL-17-producing CD8⁺ T cells in hepatocellular carcinoma patients[J]. J Immunol, 2010, 185(3): 1544-1549.
- [35] LEE Y H, CHUAH S, NGUYEN P H D, et al. IFNγ⁻IL-17⁺ CD8 T cells contribute to immunosuppression and tumor progression in human hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Lett, 2023(552): 215977.

·1678 · Chin J Mod Appl Pharm, 2023 June, Vol.40 No.12

- [36] CHELLAPPA S, HUGENSCHMIDT H, HAGNESS M, et al. CD8⁺ T cells that coexpress RORγt and T-bet are functionally impaired and expand in patients with distal bile duct cancer[J]. J Immunol, 2017, 198(4): 1729-1739.
- [37] BURGER M L, CRUZ A M, CROSSLAND G E, et al. Antigen dominance hierarchies shape TCF1⁺ progenitor CD8 T cell phenotypes in tumors[J]. Cell, 2021, 184(19): 4996-5014.e26.
- [38] O'FLAHERTY E, KAYE J. TOX defines a conserved subfamily of HMG-box proteins[J]. BMC Genomics, 2003, 4(1): 13.
- [39] KHAN O, GILES J R, MCDONALD S, et al. TOX transcriptionally and epigenetically programs CD8⁺ T cell exhaustion[J]. Nature, 2019, 571(7764): 211-218.
- [40] SCOTT A C, DÜNDAR F, ZUMBO P, et al. TOX is a critical regulator of tumour-specific T cell differentiation[J]. Nature, 2019, 571(7764): 270-274.
- [41] SEN D R, KAMINSKI J, BARNITZ R A, et al. The epigenetic landscape of T cell exhaustion[J]. Science, 2016, 354(6316): 1165-1169.
- [42] PRITCHARD G H, KEDL R M, HUNTER C A. The evolving role of T-bet in resistance to infection[J]. Nat Rev Immunol, 2019, 19(6): 398-410.
- [43] KAO C, OESTREICH K J, PALEY M A, et al. Transcription factor T-bet represses expression of the inhibitory receptor PD-1 and sustains virus-specific CD8⁺ T cell responses during chronic infection[J]. Nat Immunol, 2011, 12(7): 663-671.
- [44] MCLANE L M, NGIOW S F, CHEN Z Y, et al. Role of nuclear localization in the regulation and function of T-bet and Eomes in exhausted CD8 T cells[J]. Cell Rep, 2021, 35(6): 109120.
- [45] RAJU S, XIA Y, DANIEL B, et al. Identification of a T-bet^{hi} quiescent exhausted CD8 T cell subpopulation that can differentiate into TIM3⁺CX3CR1⁺ effectors and memory-like cells[J]. J Immunol, 2021, 206(12): 2924-2936.
- [46] WEI J, LONG L Y, ZHENG W T, et al. Targeting REGNASE-1 programs long-lived effector T cells for cancer therapy[J]. Nature, 2019, 576(7787): 471-476.
- [47] MAN K, GABRIEL S S, LIAO Y, et al. Transcription factor IRF₄ promotes CD8⁺ T cell exhaustion and limits the development of memory-like T cells during chronic infection[J]. Immunity, 2017, 47(6): 1129-1141.e5.
- [48] TSAO H W, KAMINSKI J, KURACHI M, et al. Batf-mediated epigenetic control of effector CD8⁺ T cell differentiation[J]. Sci Immunol, 2022, 7(68): eabi4919.
- [49] PAUKEN K E, SAMMONS M A, ODORIZZI P M, et al. Epigenetic stability of exhausted T cells limits durability of reinvigoration by PD-1 blockade[J]. Science, 2016, 354(6316): 1160-1165.
- [50] FORD B R, VIGNALI P D A, RITTENHOUSE N L, et al. Tumor microenvironmental signals reshape chromatin landscapes to limit the functional potential of exhausted T cells[J]. Sci Immunol, 2022, 7(74): eabj9123.
- [51] CHAPMAN N M, BOOTHBY M R, CHI H B. Metabolic coordination of T cell quiescence and activation[J]. Nat Rev Immunol, 2020, 20(1): 55-70.

- [52] PEARCE E L, WALSH M C, CEJAS P J, et al. Enhancing CD8 T-cell memory by modulating fatty acid metabolism[J]. Nature, 2009, 460(7251): 103-107.
- [53] VAN DER WINDT G J, EVERTS B, CHANG C H, et al. Mitochondrial respiratory capacity is a critical regulator of CD8⁺ T cell memory development[J]. Immunity, 2012, 36(1): 68-78.
- [54] FRANCO F, JACCARD A, ROMERO P, et al. Metabolic and epigenetic regulation of T-cell exhaustion[J]. Nat Metab, 2020, 2(10): 1001-1012.
- [55] VARDHANA S A, HWEE M A, BERISA M, et al. Impaired mitochondrial oxidative phosphorylation limits the self-renewal of T cells exposed to persistent antigen[J]. Nat Immunol, 2020, 21(9): 1022-1033.
- [56] SCHNELL A, BOD L, MADI A, et al. The Yin and Yang of co-inhibitory receptors: Toward anti-tumor immunity without autoimmunity[J]. Cell Res, 2020, 30(4): 285-299.
- [57] CHEN L P, FLIES D B. Molecular mechanisms of T cell co-stimulation and co-inhibition[J]. Nat Rev Immunol, 2013, 13(4): 227-242.
- [58] WALUNAS T L, LENSCHOW D J, BAKKER C Y, et al. CTLA-4 can function as a negative regulator of T cell activation[J]. Immunity, 1994, 1(5): 405-413.
- [59] SOLOMON B L, GARRIDO-LAGUNA I. TIGIT: A novel immunotherapy target moving from bench to bedside[J]. Cancer Immunol Immunother, 2018, 67(11): 1659-1667.
- [60] GUY C, MITREA D M, CHOU P C, et al. LAG3 associates with TCR–CD3 complexes and suppresses signaling by driving co-receptor-Lck dissociation[J]. Nat Immunol, 2022, 23(5): 757-767.
- [61] YOKOSUKA T, TAKAMATSU M, KOBAYASHI-IMANISHI W, et al. Programmed cell death 1 forms negative costimulatory microclusters that directly inhibit T cell receptor signaling by recruiting phosphatase SHP₂[J]. J Exp Med, 2012, 209(6): 1201-1217.
- [62] PATSOUKIS N, BROWN J, PETKOVA V, et al. Selective effects of PD-1 on Akt and ras pathways regulate molecular components of the cell cycle and inhibit T cell proliferation[J]. Sci Signal, 2012, 5(230): e2002796.
- [63] PALAZON A, TYRAKIS P A, MACIAS D, et al. An HIF-1α/VEGF-A axis in cytotoxic T cells regulates tumor progression[J]. Cancer Cell, 2017, 32(5): 669-683.e5.
- [64] CHANG C H, QIU J, O'SULLIVAN D, et al. Metabolic competition in the tumor microenvironment is a driver of

cancer progression[J]. Cell, 2015, 162(6): 1229-1241.

- [65] HU B, YU M C, MA X L, et al. IFNα potentiates anti-PD-1 efficacy by remodeling glucose metabolism in the hepatocellular carcinoma microenvironment[J]. Cancer Discov, 2022, 12(7): 1718-1741.
- [66] FISCHER K, HOFFMANN P, VOELKL S, et al. Inhibitory effect of tumor cell-derived lactic acid on human T cells[J]. Blood, 2007, 109(9): 3812-3819.
- [67] BRAND A, SINGER K, KOEHL G, et al. LDHA-associated lactic acid production blunts tumor immunosurveillance by T and NK cells[J]. Cell Metab, 2016, 24(5): 657-671.
- [68] KAYMAK I, LUDA K M, DUIMSTRA L R, et al. Carbon source availability drives nutrient utilization in CD8⁺ T cells[J]. Cell Metab, 2022, 34(9): 1298-1311.e6.
- [69] FENG Q A, LIU Z D, YU X X, et al. Lactate increases stemness of CD8⁺T cells to augment anti-tumor immunity[J]. Nat Commun, 2022(13): 4981.
- [70] SADE-FELDMAN M, YIZHAK K, BJORGAARD S L, et al. Defining T cell states associated with response to checkpoint immunotherapy in melanoma[J]. Cell, 2018, 175(4): 998-1013.e20.
- [71] CHOW A, UDDIN F Z, LIU M, et al. The ectonucleotidase CD39 identifies tumor-reactive CD8⁺ T cells predictive of immune checkpoint blockade efficacy in human lung cancer[J]. Immunity, 2023, 56(1): 93-106.e6.
- [72] SANMAMED MIGUEL F, NIE X X, DESAI SHRUTI S, et al. A burned-out CD8⁺ T-cell subset expands in the tumor microenvironment and curbs cancer immunotherapy[J]. Cancer Discov, 2021(11): 1700-1715.
- [73] D'ALISE A M, BRASU N, DE INTINIS C, et al. Adenoviral-based vaccine promotes neoantigen-specific CD8⁺ T cell stemness and tumor rejection[J]. Sci Transl Med, 2022, 14(657): eabo7604.
- [74] LAFLEUR M W, NGUYEN T H, COXE M A, et al. PTPN2 regulates the generation of exhausted CD8⁺ T cell subpopulations and restrains tumor immunity[J]. Nat Immunol, 2019, 20(10): 1335-1347.
- [75] LIU Y, DEBO B M, LI M F, et al. LSD1 inhibition sustains T cell invigoration with a durable response to PD-1 blockade[J]. Nat Commun, 2021(12): 6831.

收稿日期: 2023-03-31 (本文责编: 李艳芳)