

新陈代谢对肿瘤免疫治疗影响的进展研究

杨力*

黑龙江中医药大学第一临床医学院, 黑龙江 哈尔滨 150006

【摘要】 肿瘤细胞特有的代谢途径可以对肿瘤微环境内的生物小分子产生影响,而这些变化又可对局部免疫反应产生关键性的影响。肿瘤浸润淋巴细胞的代谢研究,已经为肿瘤的免疫治疗提供了可能的策略。代谢限制已经在不同肿瘤中显示出了作为综合治疗的前景。本综述回顾了免疫代谢领域的一些最新研究进展,将在免疫检查点阻断、过继性细胞治疗和溶瘤病毒治疗等背景下,讨论抗肿瘤T细胞反应的代谢过程和内容。

【关键词】 肿瘤免疫治疗; 新陈代谢; 肿瘤微环境

Research progress of metabolic influence on tumor immunotherapy

Yang li*

First Clinical Hospital of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150006, Heilongjiang, China

Corresponding author: Yang li, E-mail: 2983709349@qq.com

【Abstract】 The specific metabolic pathways of tumor cells can affect the small biological molecules in the tumor microenvironment, and these changes can have a key impact on the local immune response. The metabolic study of tumor infiltrating lymphocytes has provided a possible new strategy for tumor immunotherapy. Metabolic restriction has shown the prospect of comprehensive treatment in different tumors. In this review, we review some new developments in the field of immune metabolism, and discuss the metabolic process and content of antitumor T cell response under the background of immune checkpoint blocking, adoptive cell therapy and oncolytic virus therapy.

【Key words】 Tumor immunotherapy; Metabolism; Tumor microenvironment

自从2010年4月9日美国食品药品监督管理局批准provenge用于治疗激素难治性晚期前列腺癌,成为第一款治疗实体瘤的细胞免疫疗法以来,肿瘤免疫治疗领域的热度就居高不下。其中,免疫检查点阻断疗法已经成为治疗癌症的主要武器,相关抗体药物,如抗PD-1或抗CTLA-4,显示出了明显优势,已被批准用于至少13种肿瘤的治疗^[1,2]。截至目前,通过基因工程得到的溶瘤性单纯疱疹病毒株—Imlygic(T-VEC/Talimogene laherparepvec),可直接注射到局部晚期不可切除黑色素瘤中。这是迄今美国食品药品监督管理局和欧洲药品管理局唯一批准的溶瘤病毒(oncolytic virus,OV)疗法^[3]。而嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor,CAR)-T细胞过继性疗法已经成为某些恶性血液肿瘤的标准治疗方法^[1]。然而,免疫疗法的总体应答率仍不能使人满意。例如,卫星稳定结直肠癌和胰腺癌,免疫治疗的临床结局不甚乐观,CAR-T细胞疗法在绝大多数实体瘤的应用基本是不成功的^[1]。由于免疫治疗的核心是引发各种途径进入到肿瘤微环境中的T淋巴细胞发生持续的免疫应答来发挥其抗肿瘤效应,尽管多种细胞内外

因素可能会引起免疫抑制或失能,但代谢通路在免疫细胞的分化和功能发挥,以及在抗肿瘤方面的作用不容忽视。在T细胞浸润到肿瘤微环境之后,由于肿瘤组织旺盛的代谢活动,肿瘤微环境中免疫细胞所需营养成分不足且某些代谢物浓度达到毒性浓度水平。缺氧、糖代谢因葡萄糖不足而受到抑制以及腺苷、犬尿氨酸、鸟氨酸、活性氧和钾的浓度升高,和酸中毒程度的增加,这些特征都在肿瘤微环境中出现,而且其中每一种产物都可能产生对抗肿瘤免疫反应起到抑制作用^[4]。每一种免疫疗法在激活T细胞时都会在不同的阶段影响T细胞的代谢;阻断CTLA-4可解开对T细胞启动和激活的限制;阻断PD-1可解开对肿瘤微环境中PD-1低的祖T细胞群激活的限制;溶瘤病毒可诱导启动和激活新的抗病毒和抗肿瘤反应。过继细胞治疗(adoptive cell therapy,ACT)则绕过了对激活和扩增的限制;然而,由于这些扩增,细胞可能会经历代谢压力,并在进入肿瘤后经历代谢限制^[1]。

尽管肿瘤免疫疗法在部分患者体内产生了免疫应答,获得了不错的疗效,但肿瘤微环境中T细胞的代谢压力仍没有得到解决,如果结合目前的治疗措施,解决代谢障碍和挑战,无疑免疫治疗的总体应答率会得到提高。本文将从

* 通信作者:杨力,E-mail: 2983709349@qq.com

已被批准的免疫治疗措施出发,介绍代谢与肿瘤免疫之间的关系。

1 肿瘤微环境中代谢与免疫的关系

肿瘤细胞的高代谢活性和肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)内混乱的血管系统可能会导致营养耗竭和缺氧,从而在肿瘤细胞和浸润的免疫细胞之间建立代谢竞争。而免疫细胞的新陈代谢影响其增殖、分化和功能的发挥^[4]。增殖的细胞,尤其是肿瘤细胞不仅需要产生能量来支持细胞的生长,而且还必须满足旺盛的DNA复制、RNA转录、蛋白质等大分子的生物合成和细胞氧化还原的动态平衡,所以肿瘤维持其活跃的分裂需求会造成极大的能量成本^[5]。尽管早有研究显示因为肿瘤细胞代谢的特殊性,肿瘤微环境中的代谢产物以及分子组成与正常组织不尽相同,但并没有得到重视。随着对免疫和肿瘤关系的进一步研究发现这可能与免疫编辑密切相关,肿瘤微环境中代谢通路也是造成免疫逃逸的关键因素^[1]。

1.1 TME内的糖代谢

肿瘤细胞会出现不同于正常细胞的代谢变化,同时肿瘤细胞自身可通过糖酵解和氧化磷酸化之间的转换来适应代谢环境的改变。即使氧气水平足够进行氧化磷酸化,但肿瘤细胞仍有利用糖酵解产生ATP的能力,从而有了更高效的ATP生成通路,并被称为“warburg效应”。肿瘤细胞这种利用葡萄糖进行糖酵解和细胞快速分裂使肿瘤微环境耗尽了浸润免疫细胞(如效应T细胞)所需的营养,同时也使肿瘤微环境中积累了大量的免疫抑制代谢物^[6]。肿瘤微环境中的葡萄糖限制会显著影响T细胞反应^[7]。低糖抑制了T细胞糖酵解中间产物磷酸烯醇丙酮酸(phosphoenolpyruvate, PEP)的产生,从而破坏了体外钙依赖的NFAT信号,使T细胞的分化和增殖产生障碍^[7]。降低培养液中的葡萄糖浓度还可以减弱mTOR信号,并抑制CD4⁺和CD8⁺T细胞的效应功能^[8-10]。减少mTORC1信号可干扰效应T细胞的分化,特别有利于具有免疫抑制活性的、促肿瘤的调节性T细胞的发育^[11]。降低培养液中葡萄糖可使效应T细胞减少效应分子IFN- γ 、IL-17和颗粒酶B分泌,不利于效应T细胞最终的分化及发挥其自身效应^[9, 10, 12, 13]。原代卵巢癌细胞培养液中的葡萄糖限制可导致microRNA介导的组蛋白甲基化酶EZH2被抑制,导致NOTCH信号的减弱,抑制效应T细胞存活率^[14]。Shin-Ichi Tsukumo和Koji Yasutomo的研究表明Notch信号影响NF- κ B活化,而NF- κ B转录因子家族参与各种免疫反应,在哺乳动物中,已经确定了5个成员:c-Rel、RelA(p65)、RelB、NF- κ B1(p50/p105)和NF- κ B2(p52/p100)^[15]。关于外周T细胞分化,缺乏NF- κ B1的小鼠不能诱导CD4⁺T细胞中GATA3的表达,也不能诱导Th2分化,而缺乏c-Rel的小鼠在Th1反应中存在缺陷^[16]。

研究发现,黑色素瘤和非小细胞肺癌患者的肿瘤样本中糖酵解相关基因的表达也与T细胞浸润水平呈负相关^[17]。改变代谢平衡也可以通过直接控制T细胞代谢来实现。例

如,在使用黑色素瘤特异性T细胞的过继T细胞模型中,与转染空载体的T细胞相比,在肿瘤特异性CD4⁺T细胞中过表达PEP羧激酶,可以改善抗肿瘤反应^[7]。综上所述,葡萄糖摄取和糖酵解的增加不仅为细胞增殖提供了前体,如核苷酸的合成则依赖于葡萄糖代谢产生的丝氨酸,而且还支持干扰素- γ (IFN- γ)的产生。有证据表明,肿瘤微环境中的葡萄糖限制会损害肿瘤浸润性淋巴细胞的效应功能和自然杀伤细胞的抗肿瘤效应。

肿瘤对葡萄糖的高利用率也生成了大量的副产品乳酸,它降低了肿瘤微环境的pH值。这可能会抑制T细胞的细胞溶解活性和细胞因子的产生^[18]。此外,不论其低pH值的特性如何,乳酸都是一种对免疫细胞群有不同影响的代谢物,可将巨噬细胞极化为耐受性M2型,并改变调节性T细胞的代谢以维持其在低葡萄糖环境中的活性^[19-21]。在小鼠和人CD8⁺T细胞的体外研究中,肿瘤微环境中细胞外乳酸和H⁺水平的升高可以抑制T细胞的增殖、存活、细胞毒性和细胞因子的产生^[22, 23]。与标准培养液相比,在高浓度的乳酸和H⁺条件下,小鼠CD8⁺T细胞的体外激活过程中,编码关键效应T细胞转录因子NFAT基因的上调过程会受到破坏^[22]。

1.2 肿瘤微环境内的氧气限制

肿瘤细胞为了快速增殖,也需要增加血流量以满足氧气和营养物质的供应,这导致肿瘤微环境内经常释放VEGF等因子,形成混乱的血管布局。此外,由于灌注减少、水肿、血管损伤和/或耗氧免疫细胞的流入容易在肿瘤中形成极度缺氧区。在肿瘤的背景下,缺氧被定义为内部氧分压低于10~15 mmHg^[24, 25]。因此在这种低氧条件下HIF-1 α 成为研究的重点。低氧会阻止PHD介导的I κ B激酶- β (IKK- β)抑制,从而导致NF- κ B的激活和随后的HIF-1 α 上调^[26]。T细胞中HIF-1 α 稳定的机制似乎与骨髓细胞中的类似,因为外源抗原与T细胞受体的结合通过磷酸肌醇3-激酶(PI3K)/mTOR信号通路上调HIF-1 α ^[27]。综上所述,在缺氧环境中,HIF-1 α 在炎症和免疫背景下可稳定地通过多种信号通路介导的级联反应发生。在HIF-1 α 稳定表达后,HIF-1 α 还有助于产生许多促炎细胞因子,如TNF- α 、IL-1 α 、IL-1 β 、IL-6和IL-12,它们是巨噬细胞活化、吞噬功能和淋巴细胞扩散所必需的^[28]。在肿瘤发生和细胞分化的背景下,Notch可增强HIF-1 α 所介导的缺氧诱导基因的反式激活。同时,HIF-1 α 可以通过几种不同的机制增强Notch信号^[29]。HIF-1 α 已被证明可以在常氧和缺氧条件下以一种独立于其转录活性的方式稳定激活Notch,尽管发生这种情况的确切机制尚不清楚。研究表明形成长寿命记忆CD8⁺T细胞时需要氧化代谢能力,在小鼠模型中,条件性敲除*Vhl*基因来实现HIF-1 α 的持续激活可以增强糖酵解活性,有利于长寿效应记忆细胞的形成^[30]。研究表明,低氧可诱导肿瘤微环境中不同细胞上外切核苷酸酶CD39和CD73的表达^[31, 32]。这些酶将肿瘤微环境中的ATP分解成腺苷,腺苷是A2A和A2B嘌呤能受体的配体,广泛表达于多种免疫细胞上,具

有广泛的免疫抑制作用^[33-38]。而补充氧气可通过下调腺苷信号通路来增强小鼠T细胞的抗肿瘤免疫反应。考虑到肿瘤中缺氧区的普遍存在以及缺氧对适应性免疫反应有着深远影响,进一步的研究将有利于免疫治疗领域。这些研究表明,氧气供应可以强烈影响肿瘤微环境中的免疫细胞功能及细胞间的相互作用。

1.3 脂质代谢与T细胞 脂质和胆固醇是细胞膜合成必不可少的成分。不管是激活T细胞还脂质代谢的重编程,上调从头开始的脂质合成和胆固醇吸收是膜合成的关键,并分别由转录因子SREBP1和SREBP2介导。在缺乏SREBP1和SREBP2功能的活化小鼠CD8⁺T细胞中,增殖、代谢重编程和抗病毒活性都被显著抑制^[39,40]。此外,CD8⁺T细胞体外激活和扩增过程中膜胆固醇含量受胆固醇酯化酶ACAT1的调节。在过继转移的小鼠肿瘤模型中,*Acat1*基因敲除的CD8⁺T细胞表现出膜胆固醇量增加,T细胞受体聚集和信号转导改善,增强了细胞的增殖和功能,也提高了肿瘤杀伤率^[39]。随着胆固醇代谢和抗肿瘤T细胞功能的关系研究不断深入发展,最近一项研究表明肿瘤中高胆固醇含量可以通过激活内质网应激反应而导致T细胞功能障碍^[41]。因此,尽管胆固醇对效应T细胞的增殖和代谢很重要,但靶向胆固醇代谢以提高抗肿瘤免疫反应的还需要进一步研究。

2 检查点阻断

免疫检查点分子一般是由T细胞等免疫细胞表面表达的共抑制受体,生理情况下对于维持自身免疫耐受、防止免疫细胞过度激活有重要作用。然而在肿瘤微环境中,高表达免疫检查点分子及其配体是其特征之一,常导致抗肿瘤免疫反应的抑制。本文着重讨论了CLTA-4和PD-1两种检查点分子。

患者体内存在的肿瘤浸润性免疫细胞是检查点阻断疗法的基础。通过抑制各种途径浸润到肿瘤组织中的免疫细胞的共抑制受体,即去抑制,使免疫细胞对肿瘤细胞产生免疫应答,发挥其抗肿瘤效应。

检查点分子的激活也会对代谢产生障碍,例如,PD-1和CTLA-4信号可以通过减少AKT的激活^[42,43]。AKT可直接磷酸化下游GSK3蛋白和GYS糖原合成酶来影响物质代谢,AKT还可以磷酸化FOXO转录因子,合成葡萄糖-6-磷酸酶和磷酸烯醇丙酮酸羧激酶这两种与糖代谢关系密切的物质。AKT的减少,会使上述通路受到抑制,扰乱物质代谢,尤其是糖代谢。

CTLA-4与T细胞表面共刺激分子CD28结合,会阻止激活T细胞的第二信号传导,这同样会阻止T细胞自身糖酵解的激活,而糖酵解的减弱会抑制活化的T细胞向完全分化的效应T细胞转化^[44]。相比于正常组织,肿瘤组织会高表达PD-L1,但由于T细胞表达PD-1的阶段较晚,因此对T细胞分化的影响较小。由此来看,这两种免疫检查点分子的激活都会抑制糖酵解,这就为免疫检查点阻断

治疗提供了新的治疗思路,联合提高糖酵解的治疗方法可能会增强患者体内的免疫反应。

2.1 线粒体 线粒体是真核生物进行氧化代谢的部位,是糖类、脂肪和氨基酸最终氧化释放能量的场所。李文慧等^[45]发现,肿瘤微环境中衰竭表型的免疫细胞存在线粒体损伤。在过继性细胞疗法中,患者对治疗的反应程度与输注的T细胞的线粒体损伤程度呈负相关。从小鼠B16黑色素瘤肿瘤微环境中分离出来的T细胞中发现其线粒体的结构不良和功能下降^[46,47]。线粒体的这些变化与转录因子PGC1- α 密切相关^[48]。PGC1- α 与其下游的目标基因*NRF-1*结合后,能激活该基因转录,合成相关蛋白,参与调解线粒体的呼吸。PGC1- α 通过与*NRF-1*和*NRF-2*基因结合,共转录激活TFB1M和TFB2M,从而调节线粒体的转录。

采用PD-1阻断治疗发生的无应答现象可能与抗肿瘤T细胞线粒体存在不同程度的损伤有关,而PD-1阻断治疗并不能改善肿瘤浸润淋巴细胞面临的线粒体损伤。Werner Held进行的小鼠实验表明,通过基因敲入或敲除以及药物治疗方法可以增加T细胞线粒体的生成,这不仅有助于恢复T细胞的功能,而且可能会与PD-1检查点阻断疗法产生协同效应,提高治疗效果^[49]。

2.2 缺氧 线粒体的有氧呼吸需要氧气参与。尽管不同类型和部位的肿瘤缺氧程度不一,但如前文所述,氧气在肿瘤微环境中常常处于短缺状态。HIF-1是细胞对缺氧条件的适应过程中最重要的转录因子。在缺氧条件下,可激活四十多种基因的转录,包括促红细胞生成素、葡萄糖转运蛋白、糖酵解酶、血管内皮生长因子、缺氧诱导脂滴相关蛋白,以及其他蛋白质产物增加氧气输送或促进代谢适应缺氧的基因。此外,它也是血管内皮生长因子-A的主要调节因子,其在肿瘤新生血管形成的复杂过程中至关重要。低氧可抑制细胞增殖和某些细胞因子的产生,CD4⁺和CD8⁺T细胞的活化程度更差^[50,51]。但缺氧环境使HIF-1的活性增强,有利于记忆T细胞的形成^[30,52]。

缺氧抑制了抗肿瘤T细胞的分化和激活,并且使浸润性T细胞衰竭,免疫活性下降。因此,明确肿瘤微环境中缺氧的代谢情况可能会为潜在的治疗方法提供支持。

2.3 糖酵解和氨基酸 肿瘤微环境中营养成分的稀缺性让T细胞获取葡萄糖较为艰难,尤其是与肿瘤细胞竞争营养的情况下^[53,54]。糖酵解的中间产物PEP对于转录因子NFAT家族在T细胞受体刺激下的核转录至关重要^[55]。NFAT转录因子在Th1、Th2、Th17细胞分化中,以及在PD-L1表达和PD-1检查点通路中发挥重要作用,当树突状细胞表面抗原肽-MHC II分子复合物与TCR结合时,共受体CD4与T细胞活化接头LAT分别活化下游Calcium信号通路、NF- κ B信号通路、MAPK信号通路,激活核转录因子NFAT,调节基因转录,合成IFN- γ 、IL-2、IL-4、IL-12等细胞因子,增强免疫细胞活性。在PD-1阻断疗法中,通过NFAT介导的PI3K-AKT信号通路,MAPK信号通路,HIF-1信号通路,最终对细胞程序性死亡,T细胞的活性,细胞因

子的分泌产生影响。因此,维持肿瘤微环境中T细胞的糖酵解效率,对于检查点阻断疗法具有积极影响。

无论是肿瘤细胞还是活化的免疫细胞,都需要谷氨酰胺作为生物合成的底物^[56]。在小鼠实验中,CD4⁺T细胞激活时,谷氨酰胺转运蛋白SLC1A5、SLC38A1及SLC38A2表达均明显上调。通过string数据库对转运蛋白进行PPI富集分析发现与MYC、GLS2蛋白、mTOR相关性密切。在MYC的驱动下谷氨酰胺代谢为谷氨酸,最终进入三羧酸循环,可用于生成脂质、蛋白质的中间代谢物。由于肿瘤部位的高代谢,肿瘤微环境中缺少谷氨酰胺,则可能会抑制T细胞的活性。用谷氨酰胺拮抗剂治疗结肠癌小鼠,可以改善肿瘤部位葡萄糖和谷氨酰胺的获得情况,有利于肿瘤浸润T细胞活性的恢复^[57]。

3 过继细胞疗法

由于在肿瘤微环境中免疫细胞会受到包括代谢等诸多因素在内的免疫抑制,尽管有许多联合治疗可以改善这些问题,但从外源性解决这些问题显得更具吸引力。将治疗性T细胞在体外扩增并且激活,然后回输到患者体内,这使得T细胞无需在肿瘤微环境下面临代谢压力进行增殖和活化,并且为代谢编辑提供了机会,使得编辑过后的T细胞更能适应肿瘤微环境严峻的生存压力,从而更好地发挥抗肿瘤效应。此外,通过高通量测序筛选出新抗原反应性的T细胞进行回输被证明有更好的疗效^[58]。

在过继细胞疗法中,回输的T细胞分化出记忆T细胞对肿瘤的治疗至关重要。有研究证明CAR-T细胞的持续性与肿瘤清除率呈正比^[59]。而记忆表型的分化可通过特定的代谢通路进行影响,由于代谢可塑性,特定的代谢干预可以通过遗传手段来精确控制,因此这一疗法越来越得到关注。

肉碱棕榈酰转移酶1(carnitine palmitoyltransferase1, CPT1A)能催化长链脂肪酸辅酶A偶联物的酰基转移到肉碱上,这是线粒体摄取长链脂肪酸及其随后在线粒体中进行 β -氧化的必要步骤。此外,CPT1A能支持T细胞从糖酵解向氧化代谢转变,这似乎能改善T细胞的持久性,以适应肿瘤微环境的生存压力^[60]。研究表明,CPT1A表达增加的T细胞在患者体内表现出了代谢优势^[61,62]。

然而,体外扩增也存在问题,经典的培养基富含各种细胞必需的营养,回输到肿瘤微环境中可能因营养获取程度的改变而发生免疫失能。对于这种问题目前已有解决方案,在扩增阶段用糖酵解抑制剂培养T细胞,会增加其回输后的肿瘤清除率,这可能是因为T细胞提前适应了葡萄糖获取不足的情况^[63]。因此,在扩增阶段使用代谢调节药物或利用遗传或基因手段进行代谢重编程可以改变T细胞的代谢适应情况,有助于记忆T细胞的分化,从而可以提高治疗的有效性和持久性。尤为重要的是,相比浸润到肿瘤微环境中的T细胞,处于体外扩增的T细胞实现上述操作更为可行。

4 溶瘤病毒

无论是检查点阻断治疗还是以CAR-T为代表的ACT治疗,都需要患者体内的肿瘤微环境有一定的浸润性淋巴细胞,以便于重新激活它们的活性或是筛选新抗原反应性T细胞用于回输治疗。但有一部分患者,他们体内浸润性免疫细胞很少,这时溶瘤病毒疗法可能会发挥作用。溶瘤病毒是一类非致病性病毒,可特异性感染肿瘤细胞。该类病毒能通过两种方式杀死肿瘤细胞:一是病毒感染导致细胞过度代谢,引发程序性细胞凋亡;二是导致潜在的促细胞凋亡基因产物的表达,如Bcl-2蛋白家族^[64]。此外,溶瘤病毒在裂解肿瘤细胞时释放的病毒或肿瘤抗原会引发新的免疫反应。如前所述,新激活的T细胞在迁移入肿瘤微环境也会面临代谢压力。通过溶瘤病毒的作用机制得知,若能增加溶瘤病毒在肿瘤内的复制以及增强其裂解肿瘤细胞的能力将提高该治疗方法的疗效。除了传统的基因手段,调节代谢以增强溶瘤病毒的能力得到关注。研究发现,当肿瘤细胞的糖代谢偏向氧化磷酸化时,病毒的复制能力会增强^[65]。小鼠实验表明,溶瘤病毒与二氯乙酸联合处理可以使小鼠肿瘤的代谢向氧化磷酸化转变,肿瘤清除效率也得到提高。同时,还可以减少代谢产物乳酸的积累,减轻代谢性免疫抑制^[66]。使用糖酵解抑制剂2-脱氧-D葡萄糖处理肿瘤部位,也观察到了类似小鼠实验的效果^[67]。但与此同时,氧化代谢的增强会进一步导致肿瘤微环境中的缺氧,这又会导致免疫抑制。因此,将氧化代谢增强运用到治疗措施中还有许多问题尚未解决。

5 结论和展望

近年来“免疫代谢”逐渐成为肿瘤免疫领域的热点,越来越多的免疫和代谢之间的关系被逐渐揭示,并逐渐运用于临床治疗上。由于肿瘤在一定程度上被定义为基因突变积累所致,不同的个体所突变的基因不同。同理,由于代谢可塑性,不同个体肿瘤微环境中代谢压力的形成和代谢产物的积累都不尽相同。此外,不同类型肿瘤细胞的代谢通路也不同。因此,代谢差异性更对个体化的肿瘤治疗措施提出了要求,而个体化的治疗措施理应成为未来的标准治疗方法。

目前对免疫代谢的研究,主要集中在对肿瘤细胞代谢的研究,这与免疫代谢存在一定差距。此外,在ACT疗法中,体外T细胞扩增阶段所使用的标准培养基与体内的T细胞生存环境存在一定差异,若使用模拟体内的生化条件开发出的类人血浆培养基所培养的T细胞可能有更高的应答率。

代谢酶作为参与新陈代谢的关键物质,在近年来的研究中不断改变人们对其功能的认知。最近的研究表明,代谢酶在应答细胞信号时所作出的翻译后修饰,包括磷酸化、乙酰化等赋予了代谢酶不同的功能,可能会是下个研究热点。

参考文献

- [1] DEPEAUX K, DELGOFFE G M. Metabolic barriers to cancer immunotherapy[J]. *Nat Rev Immunol*,2021.
- [2] HE X, XU C. Immune checkpoint signaling and cancer immunotherapy[J]. *Cell Res*,2020,30(8):660-669.
- [3] ANDTBACKA R H, KAUFMAN H L, COLLICCHIO F, et al. Talimogene Laherparepvec Improves Durable Response Rate in Patients With Advanced Melanoma [J]. *J Clin Oncol*,2015,33(25):2780-2788.
- [4] LEONE R D, POWELL J D. Metabolism of immune cells in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*,2020,20(9):516-531.
- [5] MUIR A, VANDER H M. The nutrient environment affects therapy[J]. *Science*,2018,360(6392):962-963.
- [6] LI Z, ZHANG H. Reprogramming of glucose, fatty acid and amino acid metabolism for cancer progression[J]. *Cell Mol Life Sci*,2016,73(2):377-392.
- [7] HO P C, BIHUNIAK J D, MACINTYRE A N, et al. Phosphoenolpyruvate Is a Metabolic Checkpoint of Anti-tumor T Cell Responses[J]. *Cell*,2015,162(6):1217-1228.
- [8] BLAGIH J, COULOMBE F, VINCENT E E, et al. The energy sensor AMPK regulates T cell metabolic adaptation and effector responses in vivo[J]. *Immunity*,2015,42(1):41-54.
- [9] CHAM C M, DRIESESENS G, O'KEEFE J P, et al. Glucose deprivation inhibits multiple key gene expression events and effector functions in CD8+ T cells [J]. *Eur J Immunol*,2008,38(9):2438-2450.
- [10] CHAM C M, GAJEWSKI T F. Glucose availability regulates IFN- γ production and p70S6 kinase activation in CD8+ effector T cells[J]. *J Immunol*,2005,174(8):4670-4677.
- [11] DELGOFFE G M, KOLE T P, ZHENG Y, et al. The mTOR kinase differentially regulates effector and regulatory T cell lineage commitment[J]. *Immunity*,2009,30(6):832-844.
- [12] DANG E V, BARBI J, YANG H Y, et al. Control of T(H)17/T(reg) balance by hypoxia-inducible factor 1[J]. *Cell*,2011,146(5):772-784.
- [13] SHI L Z, WANG R, HUANG G, et al. HIF1 α -dependent glycolytic pathway orchestrates a metabolic checkpoint for the differentiation of TH17 and Treg cells[J]. *J Exp Med*,2011,208(7):1367-1376.
- [14] ZHAO E, MAJ T, KRYCZEK I, et al. Cancer mediates effector T cell dysfunction by targeting microRNAs and EZH2 via glycolysis restriction[J]. *Nat Immunol*,2016,17(1):95-103.
- [15] TSUKUMO S, YASUTOMO K. Notch governing mature T cell differentiation[J]. *J Immunol*,2004,173(12):7109-7113.
- [16] FERRANDINO F, GRAZIOLI P, BELLAVIA D, et al. Notch and NF- κ B: Coach and Players of Regulatory T-Cell Response in Cancer[J]. *Front Immunol*,2018,9:2165.
- [17] CASCONE T, MCKENZIE J A, MBOFUNG R M, et al. Increased Tumor Glycolysis Characterizes Immune Resistance to Adoptive T Cell Therapy [J]. *Cell Metab*,2018,27(5):977-987.
- [18] ERRA D F, DANTAS E, GEFFNER J. Unravelling the Interplay between Extracellular Acidosis and Immune Cells[J]. *Mediators Inflamm*,2018,2018:1218297.
- [19] COLEGIO O R, CHU N Q, SZABO A L, et al. Functional polarization of tumour-associated macrophages by tumour-derived lactic acid[J]. *Nature*,2014,513(7519):559-563.
- [20] ANGELIN A, GIL-DE-GÓMEZ L, DAHIYA S, et al. Foxp3 Reprograms T Cell Metabolism to Function in Low-Glucose, High-Lactate Environments [J]. *Cell Metab*,2017,25(6):1282-1293.
- [21] HAAS R, SMITH J, ROCHER-ROS V, et al. Lactate Regulates Metabolic and Pro-inflammatory Circuits in Control of T Cell Migration and Effector Functions [J]. *PLoS Biol*,2015,13(7):e1002202.
- [22] BRAND A, SINGER K, KOEHL G E, et al. LDHA-Associated Lactic Acid Production Blunts Tumor Immunosurveillance by T and NK Cells[J]. *Cell Metab*,2016,24(5):657-671.
- [23] 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.
- [24] BERTOUT J A, PATEL S A, SIMON M C. The impact of O₂ availability on human cancer [J]. *Nat Rev Cancer*,2008,8(12):967-975.
- [25] KRZYWINSKA E, STOCKMANN C. Hypoxia, Metabolism and Immune Cell Function[J]. *Biomedicines*,2018,6(2).
- [26] GREER S N, METCALF J L, WANG Y, et al. The updated biology of hypoxia-inducible factor[J]. *EMBO J*,2012,31(11):2448-2460.
- [27] PEZZUTO A, CARICO E. Role of HIF-1 in Cancer Progression: Novel Insights. A Review [J]. *Curr Mol Med*, 2018,18(6):343-351.
- [28] HARRIS A L. Hypoxia --a key regulatory factor in tumour growth[J]. *Nat Rev Cancer*,2002,2(1):38-47.
- [29] MUTVEI A P, LANDOR S K, FOX R, et al. Notch signaling promotes a HIF2 α -driven hypoxic response in multiple tumor cell types[J]. *Oncogene*,2018,37(46):6083-6095.
- [30] PHAN A T, DOEDENS A L, PALAZON A, et al. Constitutive Glycolytic Metabolism Supports CD8 (+) T Cell Effector Memory Differentiation during Viral Infection [J]. *Immunity*, 2016,45(5):1024-1037.
- [31] WANG L, FAN J, THOMPSON L F, et al. CD73 has distinct roles in nonhematopoietic and hematopoietic cells to promote tumor growth in mice [J]. *J Clin Invest*,2011,121(6):2371-2382.
- [32] ALLARD B, LONGHI M S, ROBSON S C, et al. The ectonucleotidases CD39 and CD73: Novel checkpoint inhibitor targets[J]. *Immunol Rev*,2017,276(1):121-144.
- [33] LEONE R D, EMENS L A. Targeting adenosine for cancer immunotherapy[J]. *J Immunother Cancer*,2018,6(1):57.
- [34] OHTA A, GORELIK E, PRASAD S J, et al. A2A adenosine receptor protects tumors from antitumor T cells [J]. *Proc Natl*

- Acad Sci U S A,2006,103(35):13132-13137.
- [35] LEONE R D, LO Y C, POWELL J D. A2aR antagonists: Next generation checkpoint blockade for cancer immunotherapy [J]. *Comput Struct Biotechnol J*,2015,13:265-272.
- [36] WAICKMAN A T, ALME A, SENALDI L, et al. Enhancement of tumor immunotherapy by deletion of the A2A adenosine receptor [J]. *Cancer Immunol Immunother*,2012,61(6):917-926.
- [37] LEONE R D, SUN I M, OH M H, et al. Inhibition of the adenosine A2a receptor modulates expression of T cell coinhibitory receptors and improves effector function for enhanced checkpoint blockade and ACT in murine cancer models [J]. *Cancer Immunol Immunother*,2018,67(8):1271-1284.
- [38] FERRANTE C J, PINHAL-ENFIELD G, ELSON G, et al. The adenosine-dependent angiogenic switch of macrophages to an M2-like phenotype is independent of interleukin-4 receptor alpha (IL-4R α) signaling [J]. *Inflammation*,2013,36(4):921-931.
- [39] YANG W, BAI Y, XIONG Y, et al. Potentiating the antitumor response of CD8 (+) T cells by modulating cholesterol metabolism [J]. *Nature*,2016,531(7596):651-655.
- [40] KIDANI Y, ELSAESSER H, HOCK M B, et al. Sterol regulatory element-binding proteins are essential for the metabolic programming of effector T cells and adaptive immunity [J]. *Nat Immunol*,2013,14(5):489-499.
- [41] MA X, BI E, LU Y, et al. Cholesterol Induces CD8 (+) T Cell Exhaustion in the Tumor Microenvironment [J]. *Cell Metab*, 2019,30(1):143-156.
- [42] RILEY J L. PD-1 signaling in primary T cells [J]. *Immunol Rev*,2009,229(1):114-125.
- [43] PARRY R V, CHEMNITZ J M, FRAUWIRTH K A, et al. CTLA-4 and PD-1 receptors inhibit T-cell activation by distinct mechanisms [J]. *Mol Cell Biol*,2005,25(21):9543-9553.
- [44] SUKUMAR M, LIU J, JI Y, et al. Inhibiting glycolytic metabolism enhances CD8+ T cell memory and antitumor function [J]. *J Clin Invest*,2013,123(10):4479-4488.
- [45] LI W, CHENG H, LI G, et al. Mitochondrial Damage and the Road to Exhaustion [J]. *Cell Metab*,2020,32(6):905-907.
- [46] 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.
- [47] SCHARPING N E, MENK A V, MORECI R S, et al. The Tumor Microenvironment Represses T Cell Mitochondrial Biogenesis to Drive Intratumoral T Cell Metabolic Insufficiency and Dysfunction [J]. *Immunity*,2016,45(2):374-388.
- [48] ZUO Y, HU J, XU X, et al. Sodium azide induces mitochondria-mediated apoptosis in PC12 cells through Pgc-1 α -associated signaling pathway [J]. *Mol Med Rep*,2019,19(3):2211-2219.
- [49] 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.
- [50] HSU T S, LIN Y L, WANG Y A, et al. HIF-2 α is indispensable for regulatory T cell function [J]. *Nat Commun*, 2020,11(1):5005.
- [51] CALDWELL C C, KOJIMA H, LUKASHEV D, et al. Differential effects of physiologically relevant hypoxic conditions on T lymphocyte development and effector functions [J]. *J Immunol*,2001,167(11):6140-6149.
- [52] TYRAKIS P A, PALAZON A, MACIAS D, et al. S-2-hydroxyglutarate regulates CD8 (+) T-lymphocyte fate [J]. *Nature*,2016,540(7632):236-241.
- [53] BHATTACHARYA D, AZAMBUJA A P, SIMOES-COSTA M. Metabolic Reprogramming Promotes Neural Crest Migration via Yap/Tead Signaling [J]. *Dev Cell*,2020,53(2):199-211.
- [54] WARBURG O, WIND F, NEGELEIN E. The metabolism of tumors in the body [J]. *J Gen Physiol*,1927,8(6):519-530.
- [55] HO P C, BIHUNIAK J D, MACINTYRE A N, et al. Phosphoenolpyruvate Is a Metabolic Checkpoint of Anti-tumor T Cell Responses [J]. *Cell*,2015,162(6):1217-1228.
- [56] CRUZAT V, MACEDO R M, NOEL K K, et al. Glutamine: Metabolism and Immune Function, Supplementation and Clinical Translation [J]. *Nutrients*,2018,10(11).
- [57] KIM H. Glutamine as an immunonutrient [J]. *Yonsei Med J*, 2011,52(6):892-897.
- [58] ROBBINS P F, LU Y, EL-GAMIL M, et al. Mining exomic sequencing data to identify mutated antigens recognized by adoptively transferred tumor-reactive T cells [J]. *Nature Medicine*,2013,19(6):747-752.
- [59] GRIGOR E, FERGUSSON D, KEKRE N, et al. Risks and Benefits of Chimeric Antigen Receptor T-Cell (CAR-T) Therapy in Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis [J]. *Transfus Med Rev*,2019,33(2):98-110.
- [60] RAUD B, ROY D G, DIVAKARUNI A S, et al. Etomoxir Actions on Regulatory and Memory T Cells Are Independent of Cpt1a-Mediated Fatty Acid Oxidation [J]. *Cell Metab*,2018,28(3):504-515.
- [61] KLEIN G R, O'SULLIVAN D, CORRADO M, et al. Mitochondrial Priming by CD28 [J]. *Cell*,2017,171(2):385-397.
- [62] CHANG C H, CURTIS J D, MAGGI L J, et al. Posttranscriptional control of T cell effector function by aerobic glycolysis [J]. *Cell*,2013,153(6):1239-1251.
- [63] KAYMAK I, WILLIAMS K S, CANTOR J R, et al. Immunometabolic Interplay in the Tumor Microenvironment [J]. *Cancer Cell*,2021,39(1):28-37.
- [64] LAWLER S E, SPERANZA M C, CHO C F, et al. Oncolytic

- Viruses in Cancer Treatment: A Review [J]. JAMA Oncol, 2017,3(6):841-849.
- [65] MACEDO N, MILLER D M, HAQ R, et al. Clinical landscape of oncolytic virus research in 2020 [J]. J Immunother Cancer, 2020,8(2).
- [66] MENG G, LI B, CHEN A, et al. Targeting aerobic glycolysis by dichloroacetate improves Newcastle disease virus-mediated viro-immunotherapy in hepatocellular carcinoma [J]. Br J Cancer, 2020,122(1):111-120.
- [67] ZHANG D, LI J, WANG F, et al. 2-Deoxy-D-glucose targeting of glucose metabolism in cancer cells as a potential therapy [J]. Cancer Lett, 2014,355(2):176-183.

·读者·作者·编者·

本刊对来稿中统计学处理的有关要求

1 统计学研究设计 应交代统计研究设计的名称和主要做法。如调查设计(分为前瞻性、回顾性或横断面调查研究);实验设计(应交代具体的设计类型,如自身配对设计、成组设计、交叉设计、析因设计、正交设计等);临床试验设计(应交代属于第几期临床试验,采用了何种盲法等)。主要做法应围绕4个原则:随机、对照、重复、均衡进行概要说明,尤其要交代如何控制重要非试验因素的干扰和影响。

2 资料的表达与描述 用 $(\bar{x}\pm s)$ 表达近似正态分布的定量资料,用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表达呈偏态分布的定量资料;用统计表时,要合理安排纵横标目,并将数据的意义表达清楚,可使用表注在表格下方进行详细说明;用统计图时,所用统计图的类型应与资料性质相匹配,并使数轴上的刻度值的标法符合数学原则,可使用图注进行必要的说明;用相对数时,分母不宜少于20,要注意区分百分率和百分比。

3 统计分析方法的选择 对于定量资料,应根据所采用的设计类型、资料条件和分析目的,选择合适的统计方法,不能盲目套用 t 检验和单因素方差分析;对于定性资料,应根据所采用的设计类型、定性变量的性质和频数所具备的条件以及分析目的,选择合适的统计分析方法,不能盲目套用 χ^2 检验。对于回归分析,应结合专业知识和散布图,选用合适的回归类型,不能盲目套用简单直线回归分析,对于具有重复数据的回归分析资料,不应简单化处理;对于多因素、多指标资料,要在一元分析的基础上,尽可能运用多元统计分析方法,以便对因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系进行全面和合理的解释和评价。

4 统计结果的解释和表达 当 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ 时应说明对比组之间的差异有统计学意义,而不应说对比组之间具有显著性(或非常显著性)的差别;应写明所用统计分析方法的具体名称(如:成组设计资料的 t 检验、两因素析因设计资料的方差分析、多个均数之间的两两比较的 q 检验等)、统计量的具体值(如 $t=3.12, \chi^2=4.36, F=6.86$ 等)、具体的 P 值(如 $P=0.012$);当涉及总体参数(如总体均数、总体率等)时,在给出显著性检验结果的同时,再给出95%CI。