

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2017.12.001

· 专家论坛 ·

## T细胞免疫球蛋白黏蛋白分子-3精细化调控免疫应答的机制

韩根成(军事医学科学院 基础医学研究所,北京 100850)

**[摘要]** 机体免疫应答的动态变化及空间差异是疾病精细化治疗的理论基础之一,同一免疫调节分子在不同时空条件下的功能可能截然不同。T细胞免疫球蛋白黏蛋白分子-3(T cell immunoglobulin and mucin-containing protein-3, TIM-3)是新近鉴定出的免疫检查点分子,与CTLA-4、PD-1等一样参与了免疫细胞稳态调控, TIM-3的异常高表达与肿瘤、慢性病毒感染的相关性使其成为免疫靶向治疗的关注点。靶向免疫检查点分子的临床治疗给患者带来了希望,但也存在效率不高、耐药乃至副作用明显等情况,问题的解决有赖于该类分子精细调控机制的阐明。大多数数据显示TIM-3具免疫抑制作用,但也有相反的报道。TIM-3的配体多样,胞内信号转导机制仍不十分明确。此外,血清中存在的可溶性TIM-3蛋白的功能及临床意义目前尚不清楚。如果免疫系统进化的过程中也赋予了TIM-3多重的免疫调节功能,阐明其调控机制必将对后续的应用研究提供重要参考。

**[关键词]** T细胞免疫球蛋白黏蛋白分子-3;免疫耐受;精细化调控;肿瘤

**[中图分类号]** R73-36+2;R735.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2017)012-1343-07

### Precise mechanisms by which TIM-3 regulates immune response

HAN Gencheng(Institute of Basic Medical Sciences, Academic of Military Medical Sciences, Beijing, 100850, China)

**[Abstract]** Dynamic change and spatial characteristics of immune response is one of the fundamental theories of precision medical treatment. One certain immune regulator may have totally different functions under different temporal and spatial distribution. T cell immunoglobulin domain and mucin domain protein-3 (TIM-3) is a recently identified immune checkpoint inhibitor. Like PD-1 and CTLA-4, TIM-3 contributes to immune homeostasis. Recently, TIM-3 has attracted much attention as its dysregulated over-expression was approved to be associated with tumors and chronic viral infections. Strategies targeting immune checkpoints are now showing therapeutic prospect. However, the low efficiency rate, therapy resistance and even side effects still exist, which call for precise mechanisms investigation. Most of the research indicates the immune inhibitory effect of TIM-3; still, there are some reports on opposite conclusion. TIM-3 has multiple ligands, and the intra-cellular signaling mechanism is still unclear. In addition, the function and clinical significance of soluble TIM-3 protein in plasma remain unclear. If TIM-3 acquired multiple functions following the evolution of immune system, clarify the mechanisms by which TIM-3 regulates immune response will provided much important information for its further investigation.

**[Key words]** T cell immunoglobulin and mucin-containing protein-3 (TIM-3); immune tolerance; precise regulation; tumor

[Chin J Cancer Biother, 2017, 24(12): 1343-1349. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.12.001]



韩根成,军事医学科学院基础医学研究所研究员,博士生导师,主要从事免疫调控异常与疾病关系的研究。围绕免疫应答调控机制,发现了天然免疫稳态调控中一些关键信号通路及调控分子,提出了免疫检查点分子TIM-3的作用新模式,为免疫相关疾病的干预治疗提供了新思路。截至目前,以通信作者或第一作者身份在*J Immunol*, *Cancer Res*等国际权威专业杂志发表SCI研究论文36篇;获国家发明专利授权10项、

美国发明专利授权1项。兼任中国免疫学会基础免疫分会委员,《中国肿瘤生物治疗杂志》、《细胞与分子免疫学杂志》编委。

**[基金项目]** 国家重点基础研究发展计划(973计划)资助项目(No. 2013CB530506),国家自然科学基金资助项目(No. 81471540),北京市自然科学基金重点项目资助(No. 7141007)。Project supported by the National Key Basic Research Program (973 Program) of China(No. 2013CB530506), the National Natural Science Foundation of China (No. 81471540), and the National Natural Science Foundation of Beijing City(No. 7141007)

[优先发表]

免疫细胞功能的麻痹或耗竭是肿瘤、病毒等逃脱免疫监视的重要机制。近年来,旨在重新激活免疫细胞功能的治疗策略取得了令人鼓舞的成功,其中代表性的是靶向中和免疫抑制分子如PD-1、CTLA-4功能的免疫治疗策略<sup>[1]</sup>。尽管该治疗策略取得了一些成果,但由于机体免疫系统的复杂性以及个体差异,免疫治疗靶点的选择需要更加精准,针对特定靶点的免疫治疗也需要更精细化的方案。在利用免疫调控分子作为免疫治疗靶点的策略中,要实现疾病的精细化治疗尚需要回答许多问题,如(1)免疫调控分子的生理功能是否清楚?(2)不同免疫调控分子的表达及功能是否存在时空差异?(3)一些免疫调控分子是动态表达的,在肿瘤等免疫抑制微环境下会持续高表达;如果这些分子是免疫细胞活化的检查点,那么导致这类分子上调或下调的检查点又是什么?(4)除了PD-1、CTLA-4外,靶向其他免疫调控分子如T细胞免疫球蛋白黏蛋白分子-3(T cell immunoglobulin and mucin-containing protein 3, TIM-3)等的免疫制剂尚在如火如荼的研究之中<sup>[2]</sup>,这些靶点是否能够作为替代或协同分子用于肿瘤等免疫抑制性疾病的免疫治疗?总之,阐明免疫调控分子精细化调控机制对其应用研究有着重要的指导意义。本文将TIM-3为例,探讨其精细化调控机制的研究进展及面临的挑战。

## 1 TIM-3分子的结构及配体

TIM-3属于T细胞-免疫球蛋白-黏蛋白家族(T cell Immunoglobulin mucin, TIM)成员,在结构上归属于免疫球蛋白超家族。该家族基因于2001年被发现,基因位点与哮喘、过敏、自身免疫疾病相关的基因位于同一区域<sup>[3]</sup>,因而其潜在功能引起免疫学研究者的关注。小鼠TIM家族基因编码TIM-1~TIM-8蛋白,而在人TIM家族基因编码TIM-1、TIM-3、TIM-4三种蛋白。不同TIM蛋白的表达及功能不同<sup>[4]</sup>。因TIM-3的表达异常与多种免疫相关疾病如肿瘤、慢性病毒感染以及自身免疫疾病的发生发展密切相关,其作用机制及应用前景近年来倍受关注<sup>[5]</sup>。

TIM-3蛋白既表达在细胞表面,也以可溶性形式存在于血清中。小鼠的膜表达型TIM-3由281个氨基酸组成,而人膜表达型TIM-3分子包含301个氨基酸。膜表达型TIM-3属于一次穿膜的I型蛋白,包含可变免疫球蛋白区域(immunoglobulin variable region, IgV)、糖基化的黏蛋白结构域(mucin domain)区、穿膜区及胞内段组成。IgV结构域包含6个半胱氨酸残基,两个半胱氨酸残基之间形成二硫键,两端的FG和CC' loops在二硫键作用下形成一个配

体结合口袋<sup>[6]</sup>。TIM-3胞内段含有的6个保守的酪氨酸残基,可形成SH<sub>2</sub>(src homology 2)结合结构域,在TIM-3信号传递中发挥关键作用<sup>[7-8]</sup>。

在小鼠发现由不同的选择性拼接形成的TIM-3可溶性蛋白,该蛋白只含有IgV-样结构域及胞内段,缺少黏蛋白域、穿膜区<sup>[9]</sup>。在人TIM-3中未发现类似的选择性拼接的片段。但在人血清中检测到细胞膜上脱落下来的可溶性TIM-3蛋白<sup>[10]</sup>。血清中可溶性TIM-3蛋白的生物学功能目前尚不十分清楚。人们为了探讨TIM-3的功能,制备了将TIM-3胞外段与IgG F1片段融合表达的TIM-3-Ig融合蛋白。目前该蛋白的功能已比较明确,即可以阻断TIM-3与其配体的结合,从而破坏TIM-3诱导的免疫耐受,如研究发现重组的TIM-3融合蛋白能够增强HIV-特异性T细胞的活性<sup>[10-11]</sup>。值得注意的是,小鼠经选择性拼接形成的可溶性TIM-3蛋白未出现预期的竞争性阻断膜上TIM-3与其配体的功能,反而表现为对T细胞活化的抑制作用。分析认为选择性拼接的可溶性TIM-3与重组表达的TIM-3-Ig融合蛋白中的膜表面TIM-3识别不同的配体分子,从而导致不同的功能<sup>[9-10]</sup>。研究<sup>[10]</sup>表明,人体内可溶性TIM-3蛋白来源于细胞膜上TIM-3的脱落。近年来人血清中可溶性TIM-3的临床意义受到关注,如发现血浆中可溶性TIM-3的水平与HIV病毒载量正相关而与CD4<sup>+</sup>T细胞的计数负相关,提示了可溶性TIM-3的病理意义。为了进一步探讨血清中脱落的可溶性TIM-3的功能,该研究小组试图由血清中对其进行分离纯化,遗憾的是该TIM-3蛋白仅溶于变性溶液而不能用于功能的评价<sup>[10]</sup>。此外, Hansen等<sup>[12]</sup>研究发现,急性GVHD发生前血清中可溶性胞外段TIM-3的含量上升,随后其含量与GVHD的严重程度成正比。

综上所述, TIM-3分子存在全长TIM-3、选择性拼接的可溶性TIM-3剪切体(小鼠)、从膜上脱落的可溶性TIM-3蛋白以及重组表达的TIM-3-Ig融合蛋白等四种不同的形态。鉴于不同形式的TIM-3可能由于氨基酸组成不同、蛋白修饰不同等因素导致不同的功能,因此分别探讨各种形式的TIM-3的功能对于全面认识该分子的生理及病理意义是非常有必要的。

最初发现TIM-3表达于分化后的Th1、Th17、Tc1等T效应细胞以及Treg细胞, Th2细胞不表达TIM-3。近几年陆续发现TIM-3的表达不限于上述T细胞,巨噬细胞、DC、NK细胞、Mast细胞以及上皮细胞等也表达TIM-3分子<sup>[13]</sup>。最早鉴定出的TIM-3的配体蛋白为凝集素半乳糖-9(galectin-9)。Zhu等<sup>[14]</sup>发现, galectin-9与TIM-3的结合依赖于IgV区的糖基化, galectin-9能够通过激发钙离子内流诱导Th1效

应细胞凋亡,缓解EAE小鼠的病情。近来Kang等<sup>[15]</sup>发现,galectin-9可诱导肿瘤浸润CD8<sup>+</sup>T细胞的凋亡,诱导肿瘤耐受。磷脂酰丝氨酸(phosphatidyl serine,PtdSer)是一种带负电的磷脂,正常情况下分布于细胞膜内侧,在细胞凋亡早期翻转到膜外侧。Cao等<sup>[6]</sup>发现,TIM-3可以结合PtdSer。高表达TIM-3的DC结合PtdSer后可促进凋亡细胞的摄取,介导抗原的交叉提呈<sup>[16]</sup>。高迁移率族蛋白B-1(high-mobility group box-1 protein,HMGB-1)是第3个被鉴定出的TIM-3配体。HMGB1是传统的DNA结合蛋白,在细胞应激等条件下HMGB1可以释放到细胞外,然后通过TLR等模式识别受体结合激活天然免疫应答。2012年,Chiba等<sup>[17]</sup>发现TIM-3可以与DNA分子竞争性结合HMGB1分子,抑制HMGB1-DNA复合物介导的DC活化,从而抑制DC的抗肿瘤免疫应答。2015年,Huang等<sup>[18]</sup>发现癌胚抗原相关黏附分子(CEACAM-1)是TIM-3的另一个配体分子,CEACAM-1与TIM-3共表达于T细胞表面且存在相互作用,以异二聚体的方式介导T细胞耐受,且TIM-3的免疫抑制作用有赖于CEACAM-1的存在。上述研究表明,TIM-3可通过不同的配体发挥多重作用,或直接传递负性信号,或协同其他抑制分子调节细胞功能,或参与其他分子介导的免疫应答过程。但目前对于不同的配体在什么特定条件下发挥作用,是否存在其他未知的配体,不同的配受体之间相互作用的结构基础、信号转导机制等目前尚不十分清楚。

## 2 TIM-3分子的表达调节及功能

### 2.1 生理情况下TIM-3的表达调节及功能

生理情况下,TIM-3组成性地或以可诱导的方式表达于T细胞、天然免疫细胞及其他细胞上。Naïve T细胞不表达TIM-3,T细胞活化后TIM-3表达上调,与其配体galectin-9结合后可诱导Th1、CTL细胞的凋亡,从而诱导免疫耐受<sup>[14]</sup>。Naïve的巨噬细胞及NK细胞也不表达或低表达TIM-3,而在细胞活化后TIM-3表达上调,高表达的TIM-3反过来抑制免疫细胞的功能。基于上述事实,TIM-3也被认为是一个细胞活化的标记<sup>[13]</sup>。而在另外一些细胞,如单核细胞上TIM-3组成性高表达,在经由Toll样受体激活单核细胞后TIM-3表达降低、IL-12分泌升高,提示TIM-3在naïve状态下参与维持单核细胞稳态<sup>[19]</sup>。上述事实表明,生理情况下TIM-3既可标记或推动免疫细胞的活化又可防止其过度活化,发挥一种检查点的作用<sup>[13]</sup>,或者称刹车(brake)作用<sup>[20]</sup>,以维持免疫细胞的稳态。

### 2.2 病理情况下TIM-3的表达调节及功能

然而遗憾的是,如同免疫稳态调节分子CTLA-4、PD-1等一样,病理情况下TIM-3表达失调,持续地高表达或过表达,导致免疫抑制及肿瘤、病毒的免疫逃避。TIM-3表达失调的机制目前尚不清楚,可能与抗原的持续刺激有关<sup>[21]</sup>。

TIM-3在T细胞、NK细胞等免疫细胞上的高表达与肿瘤及病毒感染的相关性激发了人们对该分子应用前景的关注。TIM-3在PD-1治疗耐受患者中的表达上调更加突出了TIM-3的应用开发价值<sup>[22]</sup>。已知T细胞尤其是CD8<sup>+</sup>CTL细胞在抗肿瘤及抗感染免疫中发挥关键作用。Linedale等<sup>[23]</sup>研究发现,在鳞状细胞癌转移组织的浸润淋巴细胞中,TIM-3在CD8<sup>+</sup>T细胞上的表达显著高于外周血的CD8<sup>+</sup>T细胞;Pauline等<sup>[24]</sup>研究发现,与外周CD8<sup>+</sup>T细胞相比,滤泡性淋巴瘤组织浸润的CD8<sup>+</sup>T细胞高表达TIM-3,且TIM-3的高表达与T细胞中细胞因子表达降低、ERK信号通路的抑制相关。在慢性感染患者如HIV感染患者中,HIV抗原特异性CD8<sup>+</sup>T细胞上TIM-3的高表达与细胞的细胞因子表达降低、细胞增殖减弱等耗竭表型密切相关,在体外用抗人TIM-3抗体(clone 2E2)阻断TIM-3的活性可显著逆转CD8<sup>+</sup>T细胞的脱颗粒及细胞毒性<sup>[25]</sup>。除了T细胞,最近Schwartz等<sup>[26]</sup>研究发现TIM-3是HIV患者中pDC功能耗竭的一个标记,负性调节pDC中IFN- $\alpha$ 的表达,其机制可能为TIM-3通过在细胞膜内干扰TLR9的功能,同时募集IRF7及p85到溶酶体内的降解有关。此外TIM-3也参与了NK细胞免疫耐受的诱导。Wang等<sup>[27]</sup>研究发现,胃癌患者NK细胞上TIM-3的表达升高,且其表达水平与疾病的进展相关。Tallerico等<sup>[28]</sup>的研究表明,黑色素瘤患者NK细胞上TIM-3的表达与疾病的生存期长短有关,体外实验表明TIM-3抗体可以逆转NK细胞的肿瘤抑制功能。上述研究证明了TIM-3在肿瘤免疫及感染中的耐受诱导功能,靶向TIM-3的药物研究也在如火如荼地进行当中。

值得注意的是,TIM-3除了表达于免疫细胞,也有直接表达于肿瘤细胞的报道。2010年,Kikushige等<sup>[29]</sup>发现,TIM-3表达于急性髓样白血病(acute myeloid leukemia,AML)的干细胞上(leukemic stem cells,LSCs),TIM-3<sup>+</sup>的人AML细胞能在免疫缺陷小鼠重建AML,而TIM-3<sup>-</sup>的人AML细胞则不能。且用抗鼠TIM-3的抗体(ATIK2a)能够显著减少白血病细胞数量(burden)、抑制AML的活性。此外,Zhuang等<sup>[30]</sup>用免疫组化的方法证实TIM-3表达于肺癌细胞,且其表达量与疾病的预后有关。Shang等<sup>[31]</sup>用免疫组化的方法研究发现TIM-3表达于骨肉瘤患者的肿瘤细胞上,并推测其功能与上皮细胞的间质样转化(EMT)



有关。TIM-3在肿瘤细胞中的信号功能有待进一步验证。

### 3 TIM-3分子对免疫细胞活化的精细化调节

#### 3.1 TIM-3抑制免疫细胞活化的信号

因为TIM-3分子胞内段不含有明显的抑制性基序,该分子介导免疫细胞功能抑制的机制是本领域研究者面临的一个挑战。如前所述,TIM-3胞内段含有6个保守的酪氨酸残基,这些酪氨酸残基可组成SH<sub>2</sub>结合结构域<sup>[7]</sup>,该结构域可促使TIM-3募集含SH<sub>2</sub>结构的接头蛋白如SHB等,介导信号转导功能<sup>[32]</sup>。SH<sub>2</sub>-结合结构域内酪氨酸残基的磷酸化尤其是Y256、Y263两个酪氨酸被Src激酶<sup>[21]</sup>或ITK激酶磷酸化<sup>[7]</sup>后,可通过影响SH<sub>2</sub>-结合结构域的构象引发对接头蛋白的结合或解离。2012年Kuchroo等<sup>[33]</sup>研究发现,HLA-B-associated transcript 3 (Bat3)与TIM-3胞内段的SH<sub>2</sub>结合结构域结合,可阻断TIM-3抑制信号的传递。在有配体如galectin-9结合的情况下,Y256、Y263位酪氨酸发生磷酸化,Bat3脱离TIM-3的SH<sub>2</sub>结合结构域;随后TIM-3的SH<sub>2</sub>结合结构域结合含有SH<sub>2</sub>的Src激酶,介导后续对TCR活化的抑制功能。可见Bat3发挥一种类似“safety catch”的功能。2016年笔者团队发现,在巨噬细胞中TIM-3可以与含有SH<sub>2</sub>结构域的STAT1分子结合,阻止STAT1的核转位进而阻止STAT1-miR155-SOCS1信号通路介导的巨噬细胞向M1的极化<sup>[8]</sup>;在巨噬细胞中还发现,TIM-3可以通过促进Nrf2的泛素化降解来负性调控巨噬细胞对李斯特菌的吞噬及杀伤功能<sup>[34]</sup>。近年来,Kuchroo教授的课题组<sup>[18]</sup>发现,TIM-3与细胞膜表面的CEACAM1分子相互作用,后者作为共受体介导TIM-3抑制性信号的传递。

#### 3.2 TIM-3在特定环境下对免疫细胞的活化作用

尽管多数的研究证实了TIM-3对免疫细胞活化的抑制作用,然而另一些报道则显示了不同的结果。Lee等<sup>[21]</sup>通过SH<sub>2</sub>蛋白芯片筛选与TIM-3结合的含SH<sub>2</sub>蛋白的接头蛋白,鉴定出Src激酶家族的Fyn、Lck分子与TIM-3存在相互作用,且参与了TIM-3胞内酪氨酸的磷酸化调节。该课题组研究认为,在有TCR刺激的情况下,TIM-3与Fyn、P815的相互作用协同促进TCR-PLC- $\gamma$ 1-NFAT/AP-1-NF- $\kappa$ B对T细胞的活化作用,进而促进IL-12的产生。值得注意的是,上述结果是基于TIM-3过表达的实验。该课题组同时还发现,在用激动性抗体交联TIM-3的情况下,TIM-3却又出现对Th1细胞的抑制功能。因此,他们最后认为,“while expression of TIM-3 on T cells can initially augment T-cell activa-

tion, crosslinking of the protein, at least under these conditions, leads to rapid inhibition of T-cell activation”。对于如何解释该研究发现的TIM-3对T细胞的刺激活化效应与以往报道的不同,该研究小组推测认为:(1)TIM-3早期促进T细胞活化,随着活化的进展反馈性推动耗竭相关基因的表达;(2)TIM-3可能既具有抑制功能,也具有激活功能,取决于不同的配受体结合模式。然而笔者课题组用Jurkat细胞进行的研究显示,TIM-3促进CD3/CD28介导的Jurkat细胞分泌IL-2,而TIM-3抑制PMA/PHA介导的Jurkat细胞分泌IL-2,提示在不同的信号通路中TIM-3可能作用于不同的接头蛋白,从而发挥不同的功能。

Gorman等<sup>[35]</sup>在用李斯特菌进行的感染模型中发现,TIM-3的敲除导致CD8<sup>+</sup>T细胞对感染的初次及再次应答能力均削弱、IFN- $\gamma$ 的表达水平也降低,该课题组认为TIM-3对于CD8<sup>+</sup>T细胞的恰当活化是需要的。对于TIM-3在耗竭性T细胞表面发挥抑制性的功能,该研究小组解释认为这可能与具体的微环境及刺激原的不同有关,在短暂的抗原刺激下TIM-3发挥促进T细胞活化的作用,而在持续的抗原刺激下T细胞的功能发生耗竭,TIM-3发挥免疫抑制作用。还有解释认为,CD8<sup>+</sup>T细胞在功能耗竭的情况下基因表达谱较正常功能的CD8<sup>+</sup>T发生显著变化,导致TIM-3的信号通路发生改变<sup>[36]</sup>。除了对T细胞活化的刺激作用,早在2007年Kuchroo教授课题组<sup>[37]</sup>的研究显示,在galectin-9刺激下,TIM-3可以通过上调DC中NF- $\kappa$ B的水平促进TNF- $\alpha$ 等炎症介质的释放。这与上面报道的TIM-3通过结合HMGB1抑制DC抗肿瘤活性的功能<sup>[17]</sup>完全相反,表明即使在同一细胞上TIM-3调节功能也可完全不同。此外日本的一个课题组2012年报道<sup>[38]</sup>,TIM-3在NK-92细胞的高表达伴随着IFN- $\alpha$ 分泌水平的升高;体外用TIM-3的配体galectin-9蛋白刺激能显著增强TIM-3高表达于NK-92细胞,而不是低表达或不表达TIM-3的NK-92细胞的IFN- $\gamma$ 的分泌水平。这结果与前面报道的TIM-3抑制NK细胞功能的结论相反<sup>[27-28]</sup>,提示与DC一样,TIM-3对NK细胞的作用方向取决于具体的时空环境,它既可以作为一个活化标志分子推动免疫细胞的活化,也可以在过度表达的情况下抑制NK等免疫细胞的功能<sup>[13]</sup>。

综合上述现象发现,TIM-3可以通过推动并适时抑制免疫细胞的过度活化维持免疫稳态,发挥“生理性调节功能”,然而在肿瘤等慢性炎症刺激下,TIM-3的高表达伴随着免疫细胞功能耗竭等“病理性表型”的出现,中和性抗体可以阻断TIM-3的信号从而逆转

恢复免疫细胞的功能。这为靶向TIM-3的治疗提供了理论依据,但当然也可能干预了TIM-3的部分“生理功能”,从而带来副作用。TIM-3是否通过不同的受体、不同的接头蛋白介导了不同的功能目前尚不清楚。尽管目前尚不完全清楚TIM-3的精细调控方式,但该分子必定通过其内在的机制维持免疫的稳态<sup>[39]</sup>,或者被肿瘤细胞滥用<sup>[8,40]</sup>。认识并掌握其内在调控机制必将为后续应用研究奠定基础。

#### 4 TIM-3靶向药物的研发

鉴于TIM-3在肿瘤免疫耐受中的重要作用,多家研究机构及制药公司正在抓紧研发靶向TIM-3的治疗性抗体。TESARO公司与AnaptysBio合作利用哺乳动物细胞表面展示技术,从ABEL文库筛选到抗人TIM-3抗体,并利用体外突变成熟技术(somatic hypermutation, SHM)增强其亲合力。结果表明该抗体(TSR-022)在MLR中能增强IL-2的释放,与PD-1抗体有明显的协同作用,中和效果高于市售(Biolegend)的人TIM-3中和抗体(2E2)。在MC38肿瘤模型中,替代抗体(抗小鼠PD-1抗体及抗小鼠TIM-3抗体)显示出协同抗肿瘤的效果。2016年5月10日, TESARO公司已成功向美国食品药品监督管理局(FDA)提交了TSR-022抗体的新药临床试验(IND)申请,该公司的国内合作伙伴为药明康德集团企业。除此之外,国内还有多家研发机构正在致力于TIM-3靶向药物的研发。

#### 5 TIM-3分子免疫细胞活化调节研究的挑战

肿瘤或慢性病毒感染中TIM-3的高表达导致免疫细胞功能的抑制,因而该分子被视为一个潜在的免疫干预靶点。近几年靶向PD-1的免疫治疗策略取得了令人鼓舞的效果,作为一个潜在的新免疫治疗靶点的TIM-3抗体(TSR-022)也已向FDA申请临床实验。在PD-1治疗耐受患者中发现TIM-3的表达升高的报道,更提高了人们对TIM-3应用前景的预期。尽管如此,TIM-3研究过程中遇到的一些不确定性、争论性的问题尚需要进一步的探讨。具体包括:(1)TIM-3广泛表达于多种免疫细胞以及非免疫细胞,且有多个不同的配体分子,不同的配受体是否介导不同的功能尚不十分清楚;(2)TIM-3在同一细胞的不同分化及活化阶段可能具有不同的功能,在一些免疫细胞活化的早期阶段,TIM-3仅仅标记免疫细胞的活化还是推动免疫细胞的活化目前尚不确定;(3)因为TIM-3的胞内段较短,TIM-3传递信号的机制尚不清楚,在不同的辅助刺激存在的情况下,TIM-3是否通过募集不同的接头蛋白从而介导不同的功能需要

进一步证明,对该问题的回答可望对精确认识TIM-3的调控机制提供有价值的理论依据;(4)在众多的免疫调控分子中,TIM-3如何在分工及作用时相上与其他免疫调控分子相互协调?

总之,靶向免疫调控分子的治疗策略给肿瘤等免疫相关疾病的治疗带来了新的手段。精确认识这类免疫调控分子的生理功能,以及疾病情况下的表达调控方式及作用机制、不同免疫调控分子作用方式、作用时相之间的关系等科学问题,必将为推动这类免疫治疗策略的发展奠定扎实的基础。本文探讨了TIM-3分子在研究过程中面临的一些挑战,要精确阐明其调控机制尚需付出艰苦的努力。如果TIM-3在演化过程中获得了多种不同的免疫调节功能,认识其作用方式的多样性机制必将对将来的应用研究提供有益的帮助。

#### [参考文献]

- [1] BOUTROS C, TARHINI A, ROUTIER E, et al. Safety profiles of anti-CTLA-4 and anti-PD-1 antibodies alone and in combination[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2016, 13(8): 473-486. DOI: 10.1038/nrclinonc.2016.58.
- [2] HAHN A W, GILL D M, PAL S K, et al. The future of immune checkpoint cancer therapy after PD-1 and CTLA-4[J]. *Immunotherapy*, 2017, 9(8): 681-692. DOI: 10.2217/imt-2017-0024.
- [3] MCLNTIRE J J, UMETSU S E, AKBARI O, et al. Identification of Tapr (an airway hyperreactivity regulatory locus) and the linked Tim gene family[J]. *Nat Immunol*, 2001, 2(12): 1109-1116. DOI: 10.1038/ni739.
- [4] KUCHROO V K, MEYERS J H, UMETSU D T, et al. TIM family of genes in immunity and tolerance[J/OL]. *Adv Immunol*, 2006, 91: 227-249[2017-09-10]. [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065-2776\(06\)91006-2](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065-2776(06)91006-2). DOI: 10.1016/S0065-2776(06)91006-2.
- [5] SHIN D S, RIBAS A. The evolution of checkpoint blockade as a cancer therapy: what's here, what's next? [J/OL]. *Curr Opin Immunol*, 2015, 33: 23-35[2017-09-10]. [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0952-7915\(15\)00007-2](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0952-7915(15)00007-2). DOI: 10.1016/j.coi.2015.01.006.
- [6] CAO E, ZANG X, RAMAGOPAL U A, et al. T cell immunoglobulin mucin-3 crystal structure reveals a galectin-9-independent ligand-binding surface[J]. *Immunity*, 2007, 26(3): 311-321. DOI: 10.1016/j.immuni.2007.01.016
- [7] VAN DE WEYER P S, MUEHLFEIT M, KLOSE C, et al. A highly conserved tyrosine of Tim-3 is phosphorylated upon stimulation by its ligand galectin-9[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 351(2): 571-576. DOI: 10.1016/j.bbrc.2006.10.079
- [8] JIANG X, ZHOU T, XIAO Y, et al. Tim-3 promotes tumor-promoting M2 macrophage polarization by binding to STAT1 and suppressing the STAT1-miR-155 signaling axis[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2016, 5(9): e1211219[2017-09-10]. <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/2162402X.2016.1211219>. DOI: 10.1080/2162402X.2016.1211219.
- [9] GENG H, ZHANG G M, LI D, et al. Soluble form of T cell Ig mucin 3 is an inhibitory molecule in T cell-mediated immune response

- [J]. *J Immunol*, 2006, 176(3): 1411-1420. DOI: 10.4049/jimmunol.176.3.1411.
- [10] CLAYTON K L, DOUGLAS-VAIL M B, NUR-UR RAHMAN A K, et al. Soluble T cell immunoglobulin mucin domain 3 is shed from CD8<sup>+</sup> T cells by the sheddase ADAM10, is increased in plasma during untreated HIV infection, and correlates with HIV disease progression[J]. *J Virol*, 2015, 89(7): 3723-3736. DOI: 10.1128/JVI.00006-15.
- [11] SHARMA S, SUNDARARAJAN A, SURYAWANSHI A, et al. T cell immunoglobulin and mucin protein-3 (Tim-3)/Galectin-9 interaction regulates influenza A virus-specific humoral and CD8 T-cell responses[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(47): 19001-19006. DOI: 10.1073/pnas.1107087108.
- [12] HANSEN J A, HANASH S M, TABELLINI L, et al. A novel soluble form of Tim-3 associated with severe graft-versus-host disease [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2013, 19(9):1323-1330. DOI: 10.1016/j.bbmt.2013.06.011.
- [13] HAN G, CHEN G, SHEN B, et al. Tim-3: an activation marker and activation limiter of innate immune cells[J/OL]. *Front Immunol*, 2013, 4: 449[2017-09-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC24339828>. DOI: 10.3389/fimmu.2013.00449.
- [14] ZHU C, ANDERSON A C, SCHUBART A, et al. The Tim-3 ligand galectin-9 negatively regulates T helper type 1 immunity[J]. *Nat Immunol*, 2005, 6(12): 1245-1252. DOI: 10.1038/ni1271.
- [15] KANG C W, DUTTA A, CHANG L Y, et al. Apoptosis of tumor infiltrating effector TIM-3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> T cells in colon cancer[J/OL]. *Sci Rep*, 2015, 5: 15659[2017-09-10]. <https://www.nature.com/articles/srep15659>. DOI: 10.1038/srep15659.
- [16] NAKAYAMA M, AKIBA H, TAKEDA K, et al. Tim-3 mediates phagocytosis of apoptotic cells and cross-presentation[J]. *Blood*, 2009, 113(16): 3821-3830. DOI: 10.1182/blood-2008-10-185884.
- [17] CHIBA S, BAGHDADI M, AKIBA H, et al. Tumor-infiltrating DCs suppress nucleic acid-mediated innate immune responses through interactions between the receptor TIM-3 and the alarmin HMGB1 [J]. *Nat Immunol*, 2012, 13(9): 832-842. DOI: 10.1038/ni.2376.
- [18] HUANG Y H, ZHU C, KONDO Y, et al. CEACAM1 regulates TIM-3-mediated tolerance and exhaustion[J]. *Nature*, 2015, 517(7534): 386-390. DOI: 10.1038/nature13848.
- [19] ZHANG Y, MA C J, WANG J M, et al. Tim-3 regulates pro- and anti-inflammatory cytokine expression in human CD14<sup>+</sup> monocytes [J]. *J Leukoc Biol*, 2012, 91(2): 189-196 DOI: 10.1189/jlb.1010591.
- [20] ANDERSON A C. Tim-3 puts on the brakes[J]. *J Leukoc Biol*, 2012, 91(2): 183-185. DOI: 10.1189/jlb.0811423.
- [21] LEE J, SU E W, ZHU C, et al. Phosphotyrosine - dependent coupling of Tim-3 to T-cell receptor signaling pathways[J]. *Mol Cell Biol*, 2011, 31(19):3963-3974. DOI: 10.1128/MCB.05297-11.
- [22] ROMERO D. Immunotherapy: PD-1 says goodbye, TIM-3 says hello[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2016, 13(4): 202-203. DOI: 10.1038/nrclinonc.2016.40.
- [23] LINEDALE R, SCHMIDT C, KING B T, et al. Elevated frequencies of CD8 T cells expressing PD-1, CTLA-4 and Tim-3 within tumour from perineural squamous cell carcinoma patients[J/OL]. *PLoS One*, 2017, 12(4): e0175755[2017-09-10]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0175755>. DOI:10.1371/journal.pone.0175755.
- [24] PAULINE G, CATHERINE D, CAMILLE F, et al. Impaired functional responses in follicular lymphoma CD8<sup>+</sup> TIM-3<sup>+</sup> T lymphocytes following TCR engagement[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2016, 5(10): e1224044[2017-09-10]. <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/2162402X.2016.1224044?src=recsys>. DOI: 10.1080/2162402X.2016.1224044.
- [25] JONES R B, NDHLOVU L C, BARBOUR J D, et al. Tim-3 expression defines a novel population of dysfunctional T cells with highly elevated frequencies in progressive HIV-1 infection[J]. *J Exp Med*, 2008, 205(12): 2763-2779. DOI: 10.1084/jem.20081398.
- [26] SCHWARTZ J A, CLAYTON K L, MUJIB S, et al. Tim-3 is a marker of plasmacytoid dendritic cell dysfunction during HIV infection and is associated with the recruitment of IRF7 and p85 into lysosomes and with the submembrane displacement of TLR9[J]. *J Immunol*, 2017, 198(8): 3181-3194. DOI: 10.4049/jimmunol.1601298.
- [27] WANG Z, ZHU J, GU H, et al. The clinical significance of abnormal Tim-3 expression on nk cells from patients with gastric cancer [J]. *Immunol Invest*, 2015, 44(6): 578-589. DOI: 10.3109/08820139.2015.1052145.
- [28] TALLERICO R, CRISTIANI C M, STAAF E, et al. IL-15, TIM-3 and NK cells subsets predict responsiveness to anti-CTLA-4 treatment in melanoma patients[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2016, 6(2): e1261242 [2017-09-11]. <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/2162402X.2016.1261242?journalCode=koni20>. DOI: 10.1080/2162402X.2016.1261242.
- [29] KIKUSHIGE Y, SHIMA T, TAKAYANAGI S, et al. TIM-3 is a promising target to selectively kill acute myeloid leukemia stem cells[J]. *Cell Stem Cell*, 2010, 7(6): 708-717. DOI: 10.1016/j.stem.2010.11.014.
- [30] ZHUANG X, ZHANG X, XIA X, et al. Ectopic expression of TIM-3 in lung cancers: a potential independent prognostic factor for patients with NSCLC[J]. *Am J Clin Pathol*, 2012, 137(6): 978-985. DOI: 10.1309/AJCP9Q6OVLVSHTMY.
- [31] SHANG Y, LI Z, LI H, et al. TIM-3 expression in human osteosarcoma: Correlation with the expression of epithelial-mesenchymal transition-specific biomarkers[J]. *Oncol Lett*, 2013, 6(2): 490-494. DOI: 10.3892/ol.2013.1410.
- [32] ANNEREN C, LINDHOLM C K, KRIZ V, et al. The FRK/RAK-SHB signaling cascade: a versatile signal-transduction pathway that regulates cell survival, differentiation and proliferation[J]. *Curr Mol Med*, 2003, 3(4): 313-324 .DOI: 10.2174/1566524033479744.
- [33] RANGACHARI M, ZHU C, SAKUISHI K, et al. Bat3 promotes T cell responses and autoimmunity by repressing Tim-3-mediated cell death and exhaustion[J]. *Nat Med*, 2012, 18(9): 1394-1400. DOI: 10.1038/nm.2871.
- [34] WANG Z, SUN D, CHEN G, et al. Tim-3 inhibits macrophage control of *Listeria monocytogenes* by inhibiting Nrf2[J/OL]. *Sci Rep*, 2017, 7: 42095[2017-09-11]. <https://www.nature.com/articles/srep42095>. DOI: 10.1038/srep42095.
- [35] GORMAN J V, STARBECK-MILLER G, PHAM N L, et al. Tim-3 directly enhances CD8 T cell responses to acute listeria monocytogenes infection[J]. *J Immunol*, 2014, 192(7): 3133-3142. DOI: 10.4049/jimmunol.1302290.
- [36] DOERING T A, CRAWFORD A, ANGELOSANTO J M, et al. Network analysis reveals centrally connected genes and pathways in



- volved in CD8<sup>+</sup> T cell exhaustion versus memory[J]. *Immunity*, 2012, 37(6): 1130-1144. DOI: 10.1016/j.immuni.2012.08.021.
- [37] ANDERSON A C, ANDERSON D E, BREGOLI L, et al. Promotion of tissue inflammation by the immune receptor Tim-3 expressed on innate immune cells[J]. *Science*, 2007, 318(5853): 1141-1143. DOI: 10.1126/science.1148536.
- [38] GLEASON M K, LENVIK T R, McCULLAR V, et al. Tim-3 is an inducible human natural killer cell receptor that enhances interferon gamma production in response to galectin-9[J]. *Blood*, 2012, 119(13): 3064-3072. DOI: 10.1182/blood-2011-06-360321. Epub 2012 Feb 8.
- [39] JIANG X, YU J, SHI Q, et al. Tim-3 promotes intestinal homeostasis in DSS colitis by inhibiting M1 polarization of macrophages[J]. *Clin Immunol*, 2015, 160(2): 328-335. DOI: 10.1016/j.clim. 2015. 07.008.
- [40] YAN W, LIU X, MA H, et al. Tim-3 fosters HCC development by enhancing TGF- $\beta$ -mediated alternative activation of macrophages [J]. *Gut*, 2015, 64(10): 1593-1604. DOI: 10.1136/gutjnl-2014-307671.
- [收稿日期] 2017-10-11 [修回日期] 2017-11-10  
[本文编辑] 韩丹

· 读者·作者·编者·

## 常见参考文献著录格式示例

### 1 专著

著录格式: 主要责任者. 题名[文献类型标志]. 其他责任者(例如翻译者). 版本项(1版不著录). 出版地: 出版者, 出版年: 起页—止页.

- [1] ABRAMS W B, BEERS M H, BERKOW R. 默克老年病手册[M]. 陈灏珠, 王赞舜, 刘厚钰, 等. 译. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 22-25.

### 2 专著析出文献

著录格式: 析出文献主要责任者. 文献题名[文献类型标志]//专著主要责任者. 专著题名. 版本项. 出版地: 出版者, 出版年: 起页—止页.

- [1] WEINSTEIN L, SWARTZ M N. Pathogenic properties of invading microorganisms[M]//SODERMAN W A Jr, SODEMAN W A. Pathologic physiology: mechanisms of disease. Philadelphia: Saunders, 1974: 457-472.

### 3 期刊文献

著录格式: 主要责任者. 题名[文献类型标志]. 刊名, 出版年, 卷号(期号): 起页—止页. 数字对象唯一标识符.

- [1] NOBLES K N, GUAN Z, XIAO K, et al. The active conformation of beta-arrestin 1: direct evidence for the phosphate sensor in the N-domain and conformational differences in the active states of beta-arrestins 1 and-2[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(29): 21370-21381. DOI: 10.1074/jbc.M611483200.

### 4 专利文献

著录格式: 专利申请者或所有者. 专利题名: 专利国别, 专利号[文献类型标志]. 公告日期或公开日期.

- [1] 钱其军, 李琳芳, 吴红平, 等. 一种多功能免疫杀伤转基因细胞(PIK)、其制备方法及应用: 中国, 2010101496839[P]. 2010-10-14.

### 5 学位论文

著录格式: 责任者. 题名[文献类型标志]. 学位授予单位所在地: 学位授予单位, 年.

- [1] 曹新广. Cathepsin L和Cystatin B的表达与大肠癌生物学行为的关系[D]. 郑州, 郑州大学, 2007.

### 6 电子文献

著录格式: 主要责任者. 题名[文献类型标志/文献载体标志]. 刊名, 出版年, 卷号(期号): 起页—止页(更新或修改日期)[引用日期]. 获取和访问路径. 数字对象唯一标识符.

- [1] KALOS M, LEVINE B L, PORTER D L, et al. T cells with chimeric antigen receptors have potent antitumor effects and can establish memory in patients with advanced leukemia[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2011, 3: 95ra73[2016-06-08]. <http://stm.sciencemag.org/content/3/95/95ra73.long>. DOI: 10.1126/scitranslmed.3002842.
- [2] HOPKINSON A. UNIMARC and metadata: Dublin core[EB/OL]. [1999-12-08]. <http://www.ifla.org/IV/ifla64/138-161e.htm>.