

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.09.002

· 专家论坛 ·

LAG-3 及其抑制剂在肿瘤免疫治疗中应用的研究进展

陈秀秀^{1,2}, 于晓杰², 周丽君^{1,2} (1. 安徽医科大学 海军临床学院, 北京 100048; 2. 中国人民解放军总医院 第六医学中心, 北京 100048)

[摘要] 淋巴细胞活化基因3 (lymphocyte-activation gene 3, LAG-3) 又称 CD223, 是一种由 LAG-3 基因编码的含有 498 个氨基酸的 I 型穿膜蛋白, 由胞外区、穿膜区和胞内区三部分组成。LAG-3 主要通过胞外区与配体结合, 负向调控 T 淋巴细胞, 避免 T 细胞过度激活引发自身免疫。与程序性死亡蛋白-1 (programmed cell death 1, PD-1) 和细胞毒性 T 淋巴细胞抗原 4 (cytotoxic T lymphocyte antigen 4, CTLA-4) 一样, LAG-3 是体内重要的免疫检查点, 对人体免疫系统起到平衡调控作用。肿瘤细胞通过高表达 LAG-3 配体逃避机体免疫系统的监视。随着免疫检查点的研究逐渐深入, LAG-3 成为继 PD-1 和 CTLA-4 之后新一代的免疫治疗靶点。本文主要对 LAG-3 的结构、功能及其抑制剂在肿瘤免疫治疗中的应用进行综述, 以期对 LAG-3 的进一步研究提供参考。

[关键词] 淋巴细胞活化基因3 (LAG-3); 肿瘤; 免疫治疗; 免疫检查点抑制剂; 程序性死亡蛋白-1 (PD-1); 细胞毒性 T 淋巴细胞抗原 4 (CTLA-4)

[中图分类号] R392.12; R730.5 [文献标识码] A [文章编号] 1007-385X(2019)09-0941-07

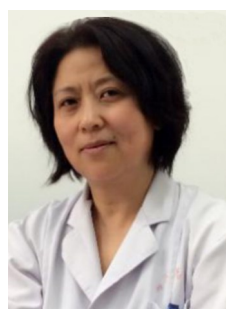
Research progress on the application of LAG-3 and its inhibitors in cancer immunotherapy

CHEN Xiuxiu^{1,2}, YU Xiaojie², ZHOU Lijun^{1,2} (1. Naval Clinical College, Anhui Medical University, Beijing 100048, China; 2. Sixth Medical Center, General Hospital of the Chinese People's Liberation Army, Beijing 100048, China)

[Abstract] Lymphocyte-activation gene 3 (LAG-3), also known as CD223, is a 498-amino-acid type I transmembrane protein encoded by LAG-3 gene, which consists of extracellular, transmembrane and intracellular regions. LAG-3 negatively regulates T lymphocyte by binding extracellular domain to ligand, thus avoiding autoimmunity caused by T cell over-activation. Like programmed cell death 1 (PD-1) and cytotoxic T lymphocyte antigen 4 (CTLA-4), LAG-3 is an important immune checkpoint *in vivo* and plays a balanced regulatory role in human immune system. Tumor cells escape the surveillance of the immune system by over-expressing LAG-3 ligand. With the development in research of immune checkpoints, LAG-3 has become a new generation of immunotherapy targets after PD-1 and CTLA-4. This article reviews the structure and function of LAG-3 and the application of its inhibitors in tumor immunotherapy, in order to provide reference for the further study of LAG-3.

[Key words] lymphocyte activating gene 3 (LAG-3); tumor; immunotherapy; immune checkpoint inhibitor; programmed death protein-1 (PD-1); cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 (CTLA-4)

[Chin J Cancer Biother, 2019, 26(9): 941-947. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.09.002]



周丽君 博士、教授、研究员、博士生导师。解放军总医院第六医学中心 (原海军总医院) 海战伤救治研究中心基础室主任, 中国毒理协会常务理事兼副秘书长, 中国生物技术协会单克隆抗体专业委员会及全军生物技术专业委员会常务委员。从事基因工程抗体相关研究工作近 30 年, 作为课题负责人及技术骨干完成国家“863 计划”、

军队“九五”至“十三五”重点及国家自然科学基金面上 15 项, 申请国家发明专利 10 项, 授权 6 项, 近 5 年以第一完成人获军队科技进步二等奖 2 项; 以第一或通信作者发表 SCI 学术论文 20 余篇。

TRIEBEL 等^[1]于 1990 年首次从人源 MB-F55IIIE5 亚文库中分离出 LAG-3 特异性的 cDNA 克隆, LAG-3 基因定位于人染色体 12p13.3、小鼠中定位在 6 号染色

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (No.31470897, 81602457); 海军总医院创新培育基金资助项目 (No.CXPY201817)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No.31470897, 81602457), and the Naval General Hospital Innovation and Cultivation Fund (No.CXPY201817)

[作者简介] 陈秀秀 (1993-), 女, 硕士生, 主要从事基因工程抗体的研究, E-mail: chenxiuxiu935@163.com

[通信作者] 周丽君 (ZHOU Lijun, corresponding author), E-mail: hz-zhoulj@126.com

体,含有8个外显子,与CD4基因的染色体位置相近。在生理条件下,LAG-3表达在活化的T细胞、自然杀伤细胞(natural killer,NK)细胞、B细胞和树突状细胞(dendritic cell,DC)的细胞膜上^[1-4],在人类肿瘤患者中,LAG-3高表达在肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte,TIL)表面^[5-6]。LAG-3主要通过3种方式来调节T细胞的免疫应答:通过负调节直接抑制T细胞增殖和活化;通过促进调节性T细胞(regulatory T cell,Treg)的抑制功能间接抑制T细胞应答;通过调节抗原提呈细胞(antigen presenting cell,APC)的功能防止T细胞活化^[7]。近年来,多项研究^[8-12]显示,LAG-3在多种肿瘤中发挥免疫调节作用,包括白血病、非小细胞肺癌、结肠癌、胰腺癌以及头颈部细胞癌等。LAG-3已成为继CTLA-4/PD-1/PD-L1之后新型的肿瘤免疫治疗靶点,深入研究LAG-3分子在肿瘤发生发展中的作用机制对开展以其为靶点的新型治疗方法具有重要意义。本文将从LAG-3的结构、功能及其抑制剂在肿瘤免疫治疗中的应用进行阐述。

1 LAG-3的结构

LAG-3分子由胞外区、穿膜区和胞内区3部分组成。胞外区由D1、D2、D3和D44个免疫球蛋白结构域组成(图1)^[13-15]。D1区属于V系免疫球蛋白超家族(immunoglobulin superfamily,IgSF),D2、D3和D4区属于C2系IgSF^[1]。D1结构域中包括一个由富含脯氨酸的30个氨基酸组成的环状结构,具有种属特异性。在穿膜金属蛋白酶ADAM10和ADAM17的作用下,胞膜上的LAG-3分子在连接肽处断裂为2个部分:可溶性的LAG-3(soluble LAG-3,sLAG-3)和穿膜-胞质部分^[16]。LAG-3的胞质区由3部分组成:丝氨酸磷酸化位点、“KIEELE”基序和谷氨酸-脯氨酸双肽重复序列(EP序列),其中KIEELE基序是在其他蛋白质中均没有出现过的高度保守序列,参与LAG-3分子胞内信号转导^[14]。

至今,已发现LAG-3的配体有5种(图2)。在定量细胞黏附实验中,将转染了LAG-3的COS-7细胞和⁵¹Cr标记的Daudi B淋巴细胞共培养,首次发现两者之间可以形成一个花环结构,该花环的形成特异性地依赖LAG-3与主要组织相容性复合体II类分子(major histocompatibility complex class II,MHC class II)的相互作用,用抗LAG-3或HLA-DR的抗体可以破坏此花环形成,证实LAG-3的配体为MHC class II;该团队还通过体外诱变实验证实了LAG-3

中D1环的氨基酸残基参与了LAG-3与MHC class II的相互作用^[17-19]。

LAG-3的另外4种配体分别为肝窦内皮细胞凝集素(liver sinusoidal endothelial cell lectin,LSEctin)、半乳糖凝集素-3(galectin-3)、 α -突触核蛋白原纤维(α -synuclein fibrils, α -Syn fibrils)和纤维蛋白样蛋白1(fibrinogen-like protein 1,FGL1)。LSEctin属于C型凝集素超家族(C-type lectin superfamily,CL-SF)成员之一,是一种在肝脏中高表达的II型穿膜蛋白^[20]。2014年,XU等^[21]采用表面等离子共振(surface plasmon resonance,SPR)技术,发现LSEctin与LAG-3明显结合,其亲和力和略低于LSEctin和抗LSEctin的单克隆抗体,采用细胞染色方法,发现LSEctin可以与瞬时转染了LAG-3的293T细胞结合,证实LSEctin是LAG-3的配体之一。Galectin-3是半乳糖凝集素家族中独特的一员,2015年,THEODORE等^[22]采用免疫共沉淀的方法发现Galectin-3与LAG-3相互作用,在体外抑制CD8⁺T细胞分泌IFN- γ ,证明Galectin-3是LAG-3的配体之一。 α -Syn fibrils是一种蛋白质聚集体,存在于震颤麻痹患者大脑黑质中,是突触核蛋白家族成员之一^[23-24],2016年MAO等^[25]研究发现,病理性 α -Syn fibrils通过与LAG-3结合在细胞间传递,用LAG-3抗体阻断两者的结合可以显著降低病理性 α -Syn fibrils的毒性和其在细胞间的传递,提示 α -Syn fibrils是LAG-3的配体。2019年陈列平团队^[26]发现FGL1是LAG-3的T细胞抑制功能的配体,提出一条新的肿瘤免疫逃逸通路FGL1-LAG-3,阻断FGL1与LAG-3的相互作用可以增强T淋巴细胞的抗肿瘤作用,对肿瘤免疫疗法的研究具有重要指导意义。

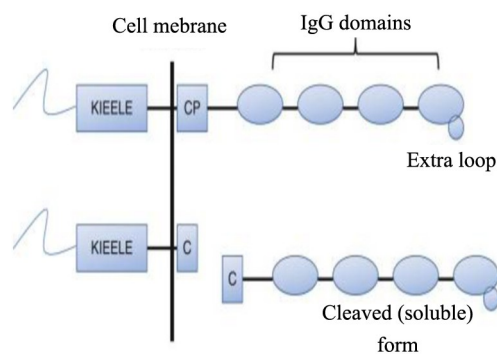


图1 LAG-3结构示意图^[13-15]

2 LAG-3的生物学功能

LAG-3最早被研究的功能为负向调控T淋巴细胞。2003年HUARD等^[27]研究表明,在人CD4⁺T细胞中阻断LAG-3会使白介素2(interleukin-2,IL-2)、IL-4、IFN- γ 和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor alpha,TNF- α)的分泌增加。WORKMAN等^[28]在体外用超抗原葡萄球菌肠毒素B(staphylococcal enterotoxin B,SEB)刺激LAG-3缺陷型CD4⁺OT-II⁺TCR转基因T细胞,结果表明,LAG-3缺陷型OT-II⁺T细胞比LAG-3阳性OT-II⁺T细胞在SEB刺激后产生更多的细胞因子,如IFN- γ 和IL-2。2006年CASATI等^[29]研究发现,sLAG-3与MHC class II结合,介导APC活化,从而激活CD8⁺T淋巴细胞,促进CD8⁺T淋巴细胞的产生和增殖,表明sLAG-3可以与LAG-3分子竞争结合MHC class II,从而抑制LAG-3发挥负调控作用。JOSEPH等^[30]研究发现,幼稚CD8⁺T细胞不表达LAG-3,在用血凝素(hemagglutinin,HA)刺激后,CD8⁺T细胞的LAG-3表达量增加。并且在C3-HA自身耐受小鼠模型中,腹腔注射抗LAG-3抗体,结果显示HA特异性的CD8⁺T细胞数量增加,IFN- γ 的分泌量增加,表明阻断LAG-3可以增强CD8⁺T细胞的聚集以及细胞因子的分泌。

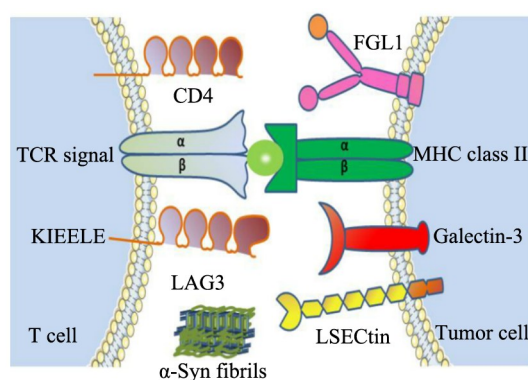


图2 LAG-3配体模式图^[17-19]

LAG-3可以增强Treg的抑制功能。在自身免疫性肺血管炎疾病的动物模型中,阻断LAG-3使得Treg的抑制功能丧失,表明LAG-3分子对于该模型中的Treg功能发挥是必要的^[31]。DO等^[32]在进行IL-27/LAG-3轴增强Foxp3⁺Treg的抑制功能和治疗功效的研究中发现,在体外和体内分别用IL-27刺激后,Treg活化表达LAG-3,可以抑制早期T细胞活化和减轻肠道炎症,Treg的功能得到改善,提示IL-27刺激可能通过LAG-3来调节Treg抑制功能,揭示了LAG-3在IL-27介导的Treg功能增强中发挥重要作用,为通过靶向IL-27/

LAG-3治疗炎性肠病提供了重要的理论基础。

此外,LAG-3负向调控TIL,且抗LAG-3抗体具有增强抗肿瘤免疫的作用^[33]。JUNKO等^[34]分离出卵巢癌患者的NY-ESO-1特异性CD8⁺T淋巴细胞,与LAG-3⁺PD-1⁻或LAG-3⁻PD-1⁻亚群相比,CD8⁺LAG-3⁺PD-1⁺T淋巴细胞的IFN- γ 和TNF- α 分泌减少,表明LAG-3/PD-1负向调控NY-ESO-1特异性CD8⁺T细胞的功能。KATHERINE等^[35]构建了CT26小鼠结肠癌模型,发现LAG-3抑制了TIL的增殖和细胞周期,导致TIL功能低下,提示应进一步研究LAG-3分子的潜在治疗意义。ZHOU等^[36]分析了肝细胞癌患者中的TIL,使用流式细胞术检测TIL上PD-1和LAG-3的表达,结果显示同一患者的肿瘤组织中TIL上PD-1和LAG-3的表达水平显著高于癌旁组织和外周血,在肿瘤浸润性APC中高表达LAG-3的配体,阻断PD-1和LAG-3与其配体的结合可以增强TIL的增殖以及细胞因子的分泌,增强抗肿瘤免疫,表明LAG-3抑制了TIL的抗肿瘤活性。

LAG-3与浆细胞样树突状细胞(plasmacytoid dendritic cell,pDC)上的MHC class II结合抑制pDC的成熟。有研究^[37-38]显示,pDC的LAG-3 mRNA水平高于静息和活化状态下的T细胞中LAG-3 mRNA水平,且LAG-3分子高表达在pDC细胞膜表面。为了探讨LAG-3在体内对pDC的作用,该团队发现用抗原刺激后,LAG-3缺陷小鼠的pDC的数量和其扩增能力均明显强于Rag1阴性小鼠,表明LAG-3是pDC活化的负调节剂。

3 LAG-3与肿瘤免疫治疗

免疫检查点的发现为许多恶性肿瘤患者提供了新的治疗方案,如抗PD-1 pembrolizumab和抗CTLA-4的ipilimumab抗体疗法,已经被证明是一种非常有可能的肿瘤治疗方法。然而,目前这些药物的耐药性和副作用已经显现出来^[39-40],且在临床中患者对ipilimumab的反应率仅为15%,对抗PD-1/PD-L1抗体的反应率低于40%^[41]。为了克服临床耐药性和副作用,提高不同检查点抑制剂协同用药的抗肿瘤效果,研究者们将注意力转向另一个免疫检查点——LAG-3。

SENG等^[42]建立了B16黑色素瘤小鼠模型、MC38结肠腺癌小鼠模型和Sa1N纤维肉瘤小鼠模型,双重阻断LAG-3/PD-1组的大多数小鼠肿瘤消失,流式细胞术结果表明联合用药组小鼠的CD4⁺和CD8⁺的T细胞数量显著增加。HUANG等^[43]将卵巢癌荷瘤小鼠C57BL/6随机分组并分别给予抗PD-1、抗LAG-3和抗PD-1/LAG-3治疗,结果显示双重阻

断LAG-3和PD-1,肿瘤的生长受到抑制,CD4⁺和CD8⁺的TIL的数量显著升高,增强了抗肿瘤免疫应答。MARINA等^[44]在慢性淋巴细胞白血病的小鼠模型中双重阻断PD-1和LAG-3,慢性淋巴白血病细胞数量和百分比在小鼠血液和脾脏中都显著下降,且双重阻断组的小鼠血清中IL-2、IL-23和TNF- α 水平升高,免疫应答恢复,证明了双重靶向PD-1和LAG-3成功地控制了小鼠中的慢性白血病细胞的增殖。本课题组^[45]筛选到一株新型的全人源抗LAG-3抗体,并且该抗体在MC38结肠腺癌小鼠模型中具有抗肿瘤效果。

基于LAG-3在基础研究中取得的显著效果,其抑制剂在临床中的应用得到了广泛关注。截至2019年,已有1种LAG-3融合蛋白和11种LAG-3抑制剂作为抗癌治疗药物处于临床试验中或者正在招募参与者(数据来源<https://www.Clinical-Trials.gov>),见表1。IMP321(Prima BioMed/Immutep)是第1个进入临床试验的LAG-3融合蛋白,IMP321是一种可溶性二聚体重组蛋白,可以与MHC class II结合,介导APC活化^[46]。IMP321的I期临床试验成功结束,主要用于治疗晚期肾细胞癌和晚期胰腺癌^[47]。BRIGNONE等^[48]进行了IMP321与化疗药物紫杉醇联合用于治疗转移性乳腺癌的I/II期试验,显示出50%的客观反应率。ROMANO等^[49]的I期试验将IMP321与MART-1联合用于晚期黑色素瘤的治疗,虽然根据实体瘤的评估标准未观察到良好的临床效果,但观察到MART-1特异性CD8⁺T细胞数量增加。

BMS-986016是由Bristol-Myers Squibb开发的一种抗LAG-3的全人源IgG4单克隆抗体,主要与抗PD-1/PD-L1联合使用治疗多种实体瘤和血液系统恶性肿瘤,并取得了良好效果。在使用抗PD-1/PD-L1疗法难以治疗的黑色素瘤患者中(临床试验注册号NCT01968109),BMS-986016和nivolumab(抗PD-1)联合用药的效果显著,且其安全性接近于nivolumab单一疗法。LAG525是由Novartis公司研发的一种人源化抗LAG-3的IgG4单克隆抗体,I/II期试验将LAG525作为单一疗法或与新型抗PD-1抑制剂(PDR001)(NCT02460224)联合使用,旨在对患有晚期/转移性实体瘤(如非小细胞肺癌、黑色素瘤)的患者进行LAG525的剂量毒性研究,以确定最大耐受剂量,评估其安全性。II期试验将涉及LAG525或LAG525/PDR001联合使用的剂量评估,获得晚期肿瘤患者的总体反应率。此外,还有多种靶向

LAG-3的其他抗体药物正处于临床试验中的各个阶段,TESARO与Anaptysbio合作开发了一种抗LAG-3拮抗剂—TSR-033,该药物于2017年招募I期临床试验志愿者,并预计于2021年5月结束,主要用于晚期实体瘤和血液系统恶性肿瘤的治疗。

双重阻断LAG-3和PD-1可以显著增强抗肿瘤免疫,因此,开发双特异性抗LAG-3/PD-1靶向药物具有广泛的临床应用前景。MacroGenics公司开发了一种双特异性药物—MGD013,该药物使用双亲和再靶向(dual-affinityre-targeting, DART[®])技术生成,可同时结合LAG-3和PD-1,阻断免疫检查点的抑制功能,激活T细胞,增强抗肿瘤免疫。此外,F-star公司利用模块化抗体技术(modular antibody technology[™])研发了另一种双特异性抗体药物—FS118,该药物可以同时靶向LAG-3和PD-L1两个免疫检查点,其I期临床试验于2018年4月16日正式启动(临床试验注册号NCT03440437),预计招募51例曾接受过PD-L1治疗的18岁以上患者,对其药代动力学和活性指标进行检测,以评估其安全性和耐受性。综上,LAG-3作为一种新型免疫治疗靶点,在肿瘤的免疫治疗中发挥着重要的临床意义。

4 结 语

免疫检查点抑制剂给肿瘤治疗带来了革新,针对LAG-3和PD-1的药物联合使用具有良好的抗肿瘤效果,国外已经陆续开展了相应的临床试验。然而,对于LAG-3的研究,仍然有很多问题亟待解决。其一,LAG-3与配体结合后发挥的生物学功能仍不清楚,其负向调控T细胞功能的具体机制有待于进一步研究;其二,LAG-3是否还有其它潜在配体,是否可以作为疾病的诊断和预后疗效评估的标志分子;其三,LAG-3是否可以通过调控NK细胞或B细胞来发挥抗肿瘤作用,有待进一步研究;其四,不同免疫检查点抑制剂发挥协同作用的分子机制尚不清楚,仍需寻找最优的免疫检查点组合,发挥联合用药的最大抗肿瘤效果和最小副作用;最后,是否可以利用现代先进的生物技术,来优化LAG-3抑制剂的分子结构,降低生产成本,使其更好地应用于临床中。综上所述,LAG-3是一个具有潜力的靶向分子,在生物学功能和发挥疗效的具体机制中存在很多未知环节,仍需要更多的深入研究,以期使LAG-3抑制剂能够更早地应用于临床患者,造福人类。

表1 LAG-3免疫治疗的临床试验(来源于 <https://www.ClinicalTrials.gov>)

抗体名称	公司名称	药物形式	首次批准 试验日期	临床试验疾病
IMP321	Prima BioMed/Immutep	融合蛋白	2005.9	I期:IV期肾细胞癌;III期和IV期黑色素瘤;胰腺肿瘤;实体瘤;腹膜癌 II期:非小细胞肺癌;头颈部鳞癌;IV期乳腺癌
BMS 986016	Bristol-Myers Squibb	全人源 IgG4	2013.1	I期:成胶质细胞瘤;神经胶质肉瘤;胃癌;食道癌;胃食管癌;复发性脑肿瘤 II期:血液肿瘤;黑色素瘤;胃食管癌;脊索瘤
GSK2831781	GlaxoSmithKline	人源化 IgG1	2014.7	I期:银屑病
LAG525	Novartis	人源化 IgG4	2015.6	I期:晚期实体瘤 II期:小细胞肺癌;胃腺癌;食管腺癌;抗前列腺腺癌;软组织肉瘤;卵巢腺癌;神经内分泌肿瘤;弥漫性大B细胞淋巴瘤
RENG3767	Regeneron Pharmaceuticals	全人源铰链 IgG4	2016.11	I期:恶性肿瘤
BI-754111	Boehringer Ingelheim	人源化 IgG4	2017.1	I期:非小细胞肺癌;头颈部肿瘤 II期:转移性肿瘤
TSR-033	Tesaro, Inc.	人源化 IgG4	2017.8	晚期实体瘤
MGD013	MacroGenics	双特异 DART 蛋白	2017.8	I期:晚期转移性实体瘤;血液肿瘤
FS118	F-star.Delta Limited	双特异性蛋白	2018.4	I期:晚期转移性肿瘤
Sym022	Symphogen A/S	全人源 IgG4	2018.5	I期:转移性肿瘤;实体肿瘤;淋巴瘤
INCAGN023 85	Incyte. Biosciences Interna- tional Sàrl	Fc 工程性 IgG1	2018.6	I期:宫颈癌;胃癌;食道癌;肝细胞癌;黑色素瘤(排除 Uveal 黑色素瘤);默克尔细胞癌;间皮瘤;MSI 结直肠癌;非小细胞肺癌;卵巢癌;头颈部鳞状细胞癌小细胞肺癌;肾细胞癌;三阴性乳腺癌;尿路上皮癌;弥漫性大B细胞淋巴瘤
EOC202	EddingPharm OncologyCo., LTD.	人重组融合 蛋白	2018.9	I期:成人实体瘤

[参 考 文 献]

- TRIEBEL F, JITSUKAWA S, BAIXERAS E, et al. LAG-3, a novel lymphocyte activation gene closely related to CD4[J/OL]. J Exp Med, 1990, 171(5): 1393-1405[2019-05-29]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2187904/>. DOI:10.1084/jem.171.5.1393.
- HE Y, RIVARD C J, ROZEBOOM L, et al. Lymphocyte-activation gene-3, an important immune checkpoint in cancer[J]. Cancer Sci, 2016,107(9):1193-1197. DOI:10.1111/cas.12986.
- GROSSO J F, KELLEHER C C, HARRIS T J, et al. LAG-3 regulates CD8⁺ T cell accumulation and effector function in murine self- and tumor-tolerance systems[J/OL]. J Clin Invest, 2007, 117(11): 3383-3392[2019-05-29]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2000807/>. DOI:10.1172/JCI31184.
- ANDREAE S, PIRAS F, BURDIN N, et al. Maturation and activation of dendritic cells induced by lymphocyte activation gene-3 (CD223) [J]. J Immunol, 2002, 168(8): 3874-3880. DOI: 10.4049/jimmunol.168.8.3874.
- SOLINAS C, GARAUD S, DE SILVA P, et al. Immune checkpoint molecules on tumor-infiltrating lymphocytes and their association with tertiary lymphoid structures in human breast cancer[J/OL]. Front Immunol, 2017, 8: 1412[2019-05-29]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5670348/>. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01412.
- MATSUZAKI J, GNJATIC S, MHAWECH-FAUCEGLIA P, et al. Tumor-infiltrating NY-ESO-1-specific CD8⁺ T cells are negatively regulated by LAG-3 and PD-1 in human ovarian cancer[J/OL]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010, 107(17): 7875-7880[2019-05-29]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2867907/>. DOI:10.1073/pnas.1003345107.
- JOLLER N, KUCHROO V K. Tim-3, lag-3, and TIGIT[J/OL]. Curr Top Microbiol Immunol, 2017, 410: 127-156[2019-05-29]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5902028/>. DOI: 10.1007/82_2017_62.
- SHAPIRO M, HERISHANU Y, KATZ B Z, et al. Lymphocyte activation gene 3: a novel therapeutic target in chronic lymphocytic leukemia[J/OL]. Haematologica, 2017, 102(5): 874-882[2019-05-29].

- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5477606/>. DOI: 10.3324/haematol.2016.148965.
- [9] TASSI E, GRAZIA G, VEGETTI C, et al. Early effector T lymphocytes coexpress multiple inhibitory receptors in primary non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Res*, 2017, 77(4): 851-861. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-1387.
 - [10] DENG W W, MAO L, YU G T, et al. LAG-3 confers poor prognosis and its blockade reshapes antitumor response in head and neck squamous cell carcinoma[J / OL]. *Oncoimmunology*, 2016, 5(11): e1239005[2019-05-29]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5139652/>. DOI:10.1080/2162402X.2016.1239005.
 - [11] MENG Q D, LIU Z J, RANGELOVA E, et al. Expansion of tumor-reactive T cells from patients with pancreatic cancer[J]. *J Immunother*, 2016, 39(2): 81-89. DOI:10.1097/CJI.0000000000000111.
 - [12] BURUGU S, DANCOSOK A R, NIELSEN T O. Emerging targets in cancer immunotherapy[J]. *Semin Cancer Biol*, 2018, 52(Pt 2): 39-52. DOI:10.1016/j.semcancer.2017.10.001.
 - [13] GOLDBERG M V, DRAKE C G. LAG-3 in cancer immunotherapy[J/OL]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2011, 344: 269-278[2019-05-29]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4696019/>. DOI:10.1007/82_2010_114.
 - [14] WORKMAN C J, DUGGER K J, VIGNALI D A. Cutting edge: molecular analysis of the negative regulatory function of lymphocyte activation gene-3[J]. *J Immunol*, 2002, 169(10): 5392-5395. DOI: 10.4049/jimmunol.169.10.5392.
 - [15] ANDERSON A C, JOLLER N, KUCHROO V K. Lag-3, Tim-3, and TIGIT: co-inhibitory receptors with specialized functions in immune regulation[J]. *Immunity*, 2016, 44(5): 989-1004. DOI:10.1016/j.immuni.2016.05.001
 - [16] LI N, WANG Y, FORBES K, et al. Metalloproteases regulate T-cell proliferation and effector function via LAG-3[J]. *EMBO J*, 2007, 26(2): 494-504. DOI: 10.1038/sj.emboj.7601520
 - [17] HUARD B, PRIGENT P, TOURNIER M, et al. CD4/major histocompatibility complex class II interaction analyzed with CD4- and lymphocyte activation gene-3 (LAG-3)-Ig fusion proteins[J]. *Eur J Immunol*, 1995, 25(9): 2718-2721. DOI:10.1002/eji.1830250949.
 - [18] HUARD B, MASTRANGELI R, PRIGENT P, et al. Characterization of the major histocompatibility complex class II binding site on LAG-3 protein[J/OL]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997, 94(11): 5744-5749[2019-05-29]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC20850/>. DOI:10.1073/pnas.94.11.5744.
 - [19] BAIXERAS E, HUARD B, MIOSSEC C, et al. Characterization of the lymphocyte activation gene 3-encoded protein. A new ligand for human leukocyte antigen class II antigens[J/OL]. *J Exp Med*, 1992, 176(2): 327-337[2019-05-29]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2119326/>. DOI:10.1084/jem.176.2.327.
 - [20] YANG J, WANG H, WANG M, et al. Involvement of LSECtin in the hepatic natural killer cell response[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 476(1): 49-55. DOI:10.1016/j.bbrc.2016.05.072
 - [21] XU F, LIU J, LIU D, et al. LSECtin expressed on melanoma cells promotes tumor progression by inhibiting antitumor T-cell responses[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(13): 3418-3428. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-13-2690.
 - [22] KOUO T, HUANG L Q, PUCSEK A B, et al. Galectin-3 shapes anti-tumor immune responses by suppressing CD8⁺ T cells via LAG-3 and inhibiting expansion of plasmacytoid dendritic cells[J / OL]. *Cancer Immunol Res*, 2015, 3(4): 412-423[2019-05-29]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4390508/>. DOI:10.1158/2326-6066.CIR-14-0150.
 - [23] GOEDERT M. Alpha-synuclein and neurodegenerative diseases[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2001, 2(7): 492-501. DOI:10.1038/35081564.
 - [24] GOEDERT M, SPILLANTINI M G, DEL TREDICI K, et al. 100 years of Lewy pathology[J]. *Nat Rev Neurol*, 2013, 9(1): 13-24. DOI:10.1038/nrneurol.2012.242.
 - [25] MAO X B, OU M T, KARUPPAGOUNDER S S, et al. Pathological α -synuclein transmission initiated by binding lymphocyte-activation gene 3[J/OL]. *Science*, 2016, 353(6307): aah3374[2019-05-29]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5510615/>. DOI:10.1126/science.aah3374.
 - [26] WANG J, SANMAMED M F, DATAR I, et al. Fibrinogen-like protein 1 is a major immune inhibitory ligand of LAG-3[J]. *Cell*, 2019, 176(1-2): 334-347. DOI: 10.1016/j.cell.2018.11.010
 - [27] HUARD B, TOURNIER M, HERCEND T, et al. Lymphocyte-activation gene 3/major histocompatibility complex class II interaction modulates the antigenic response of CD4⁺ T lymphocytes[J]. *Eur J Immunol*, 1994, 24(12): 3216-3221. DOI:10.1002/eji.1830241246.
 - [28] WORKMAN C J, VIGNALI D A. The CD4-related molecule, LAG-3 (CD223), regulates the expansion of activated T cells[J]. *Eur J Immunol*, 2003, 33(4): 970-979. DOI:10.1002/eji.200323382.
 - [29] CASATI C, CAMISASCHI C, RINI F, et al. Soluble human LAG-3 molecule amplifies the in vitro generation of type 1 tumor-specific immunity[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(8): 4450-4460. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-2728.
 - [30] GROSSO J F, KELLEHER C C, HARRIS T J, et al. LAG-3 regulates CD8⁺ T cell accumulation and effector function in murine self- and tumor-tolerance systems[J/OL]. *J Clin Invest*, 2007, 117(11): 3383-3392[2019-05-29]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2000807/>. DOI:10.1172/JCI31184.
 - [31] HUANG C T, WORKMAN C J, FLIES D, et al. Role of LAG-3 in regulatory T cells[J]. *Immunity*, 2004, 21(4): 503-513. DOI: 10.1016/j.immuni.2004.08.010.
 - [32] DO J S, VISPERAS A, SANOGO Y O, et al. An IL-27/Lag3 axis enhances Foxp3⁺ regulatory T cell-suppressive function and therapeutic efficacy[J / OL]. *Mucosal Immunol*, 2016, 9(1): 137-145[2019-05-29]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4662649/>. DOI:10.1038/mi.2015.45.
 - [33] HE Y Y, RIVARD C J, ROZEBOOM L, et al. Lymphocyte-activation gene-3, an important immune checkpoint in cancer[J]. *Cancer Sci*, 2016, 107(9): 1193-1197. DOI:10.1111/cas.12986.
 - [34] MATSUZAKI J, GNJATIC S, MHAWECH-FAUCEGLIA P, et al. Tumor-infiltrating NY-ESO-1-specific CD8⁺ T cells are negatively regulated by LAG-3 and PD-1 in human ovarian cancer[J/OL]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(17): 7875-7880[2019-05-29]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2867907/>. DOI:10.1073/pnas.1003345107.
 - [35] WAUGH K A, LEACH S M, MOORE B L, et al. Molecular profile of tumor-specific CD8⁺ T cell hypofunction in a transplantable murine cancer model[J/OL]. *J Immunol*, 2016, 197(4): 1477-1488[2019-05-29]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4976021/>. DOI: 10.4049/jimmunol.1600589.

- [36] ZHOU G Y, SPRENGERS D, BOOR P P C, et al. Antibodies against immune checkpoint molecules restore functions of tumor-infiltrating T cells in hepatocellular carcinomas[J]. *Gastroenterology*, 2017, 153(4): 1107-1119.e10. DOI:10.1053/j.gastro.2017.06.017.
- [37] COLONNA M, TRINCHIERI G, LIU Y J. Plasmacytoid dendritic cells in immunity[J]. *Nat Immunol*, 2004, 5(12): 1219-1226. DOI: 10.1038/ni1141.
- [38] WORKMAN C J, WANG Y, EL KASMI K C, et al. LAG-3 regulates plasmacytoid dendritic cell homeostasis[J/OL]. *J Immunol*, 2009, 182(4): 1885-1891[2019-05-29]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2675170/>. DOI:10.4049/jimmunol.0800185.
- [39] EGGERMONT A M, CHIARION-SILENI V, GROB J J, et al. Adjuvant ipilimumab versus placebo after complete resection of high-risk stage III melanoma (EORTC 18071): a randomised, double-blind, phase 3 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2015, 16(5): 522-530. DOI: 10.1016/S1470-2045(15)70122-1.
- [40] LARKIN J, CHIARION-SILENI V, GONZALEZ R, et al. Combined nivolumab and ipilimumab or monotherapy in untreated melanoma[J/OL]. *N Engl J Med*, 2015, 373(1): 23-34[2019-05-29]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5698905/>. DOI: 10.1056/NEJMoa1504030.
- [41] GONG J, CHEHRAZI-RAFFLE A, REDDI S, et al. Development of PD-1 and PD-L1 inhibitors as a form of cancer immunotherapy: a comprehensive review of registration trials and future considerations[J/OL]. *J Immunother Cancer*, 2018, 6(1): 8[2019-05-29]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5778665/>. DOI: 10.1186/s40425-018-0316-z.
- [42] WOO S R, TURNIS M E, GOLDBERG M V, et al. Immune inhibitory molecules LAG-3 and PD-1 synergistically regulate T-cell function to promote tumoral immune escape[J/OL]. *Cancer Res*, 2012, 72(4): 917-927[2019-05-29]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3288154/>. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1620.
- [43] HUANG R Y, EPPOLITO C, LELE S, et al. LAG3 and PD1 co-inhibitory molecules collaborate to limit CD8⁺ T cell signaling and dampen antitumor immunity in a murine ovarian cancer model[J/OL]. *Oncotarget*, 2015, 6(29): 27359-27377[2019-05-29]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4694995/>. DOI:10.18632/oncotarget.4751.
- [44] WIERZ M, PIERSON S, GUYONNET L, et al. Dual PD1/LAG3 immune checkpoint blockade limits tumor development in a murine model of chronic lymphocytic leukemia[J/OL]. *Blood*, 2018, 131(14): 1617-1621[2019-05-29]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5887766/>. DOI:10.1182/blood-2017-06-792267.
- [45] YU X J, HUANG X, CHEN X X, et al. Characterization of a novel anti-human lymphocyte activation gene 3 (LAG-3) antibody for cancer immunotherapy[J]. *MAbs*, 2019: 1-10. DOI: 10.1080/19420862.2019.1629239.
- [46] FOUGERAY S, BRIGNONE C, TRIEBEL F. A soluble LAG-3 protein as an immunopotentiator for therapeutic vaccines: Preclinical evaluation of IMP321[J]. *Vaccine*, 2006, 24(26): 5426-5433. DOI: 10.1016/j.vaccine.2006.03.050.
- [47] BRIGNONE C, ESCUDIER B, GRYGAR C, et al. A phase I pharmacokinetic and biological correlative study of IMP321, a novel MHC class II agonist, in patients with advanced renal cell carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(19): 6225-6231. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-0068.
- [48] BRIGNONE C, GUTIERREZ M, MEFTI F, et al. First-line chemioimmunotherapy in metastatic breast carcinoma: combination of paclitaxel and IMP321 (LAG-3Ig) enhances immune responses and antitumor activity[J/OL]. *J Transl Med*, 2010, 8: 71[2019-05-29]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2920252/>. DOI: 10.1186/1479-5876-8-71.
- [49] ROMANO E, MICHIELIN O, VOELTER V, et al. MART-1 peptide vaccination plus IMP321 (LAG-3Ig fusion protein) in patients receiving autologous PBMCs after lymphodepletion: results of a Phase I trial[J/OL]. *J Transl Med*, 2014, 12: 97[2019-05-29]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4021605/>. DOI:10.1186/1479-5876-12-97.

[收稿日期] 2019-06-10

[修回日期] 2019-07-18

[本文编辑] 王映红