

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2019.12.016

· 综述 ·

肿瘤免疫治疗中改善 CAR-T 细胞耗竭的研究进展

Advances in improving CAR-T cell exhaustion in cancer immunotherapy

王润清, 杨丽黎 综述; 李琳, 侯宗柳 审阅(昆明医科大学附属延安医院 中心实验室, 云南省肿瘤防治研究重点实验室, 云南 昆明 650000)

[摘要] 嵌合抗原受体 T(chimeric antigen receptor T, CAR-T) 细胞是一种通过基因工程表达受体的 T 细胞, 能够识别特定的抗原, 是目前最具潜力的靶向肿瘤治疗方法。然而, 作为抗癌免疫系统中主要效应细胞之一的 CD8⁺T 细胞在肿瘤中发挥作用时, 通常处于耗竭状态, 而这种功能缺陷的 CD8⁺T 细胞是杀伤肿瘤的障碍。肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)中存在许多抑制性因素, 例如耗竭性 T 细胞表面高表达的抑制性受体、免疫抑制细胞群、抑制性因子、转录因子、代谢因素等都对 T 细胞的分化及耗竭有重要影响。当然, CAR 的结构和共刺激域也对 CAR-T 细胞整体功能发挥着重要作用。本文着重总结近年有关 CD8⁺T 细胞耗竭的机制及改善策略的研究进展, 为增强 CAR-T 细胞的抗肿瘤效应提供了潜在思路。

[关键词] CAR-T; T 细胞耗竭; 恶性肿瘤; 免疫治疗

[中图分类号] R730.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)12-1392-08

近年来, 中国恶性肿瘤发病率与日俱增, 嵌合抗原受体 T(chimeric antigen receptor T, CAR-T) 细胞作为肿瘤免疫治疗最有前景的研究进展之一, 其应用正受到人们的广泛关注。然而, 肿瘤抑制微环境能通过多种免疫抑制机制下调 CAR-T 细胞抗肿瘤反应及杀伤效果, 阻碍 CAR-T 细胞的生物学特性和免疫功能。因此, 研究 T 细胞耗竭的机制旨在维持或恢复 CD8⁺T 细胞在癌症中的杀伤效率, 对建立高效的免疫治疗方案至关重要。本文主要从肿瘤抑制微环境角度分析影响 CAR-T 细胞耗竭的因素并对相关改善策略加以综述。

1 T 细胞耗竭概念及特征

细胞毒性 CD8⁺T 细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)被认为是适应性免疫系统中最主要的效应细胞类型之一, 在清除体内病原体和肿瘤中起着关键作用^[1]。T 细胞耗竭的概念最早在淋巴细胞脉丛从脑膜炎病毒小鼠感染模型中提出^[2]。此后, 人们认识到在其他慢性感染以及肿瘤中也发生了 CTL 耗竭^[3]。慢性感染和肿瘤中持续的高抗原性和炎症刺激可导致 CTL 以递进方式丧失功能, 这种状态称为“耗竭”。

耗竭性 CD8⁺T 细胞(exhausted CD8⁺T cell, Tex)是 T 细胞在慢性感染和肿瘤中的一种特殊分化状态^[4]。通过比较效应 T 细胞、记忆 T 细胞与耗竭性 CTL 细胞的基因表达谱, 发现 Tex 细胞具有独特的分子特征, 其 CD43、CD69 及抑制性受体表达水平升高, 效应 T 细胞相关分子 CD62L 和 CD127 表达降低, 与 T 细胞无能截然不同^[5-6]。耗竭早期以 IL-2 分泌减

少、细胞毒性降低和增殖能力受损为主; 进展到晚期, 其 TNF- α 和 IFN- γ 产生能力也明显受损^[7]。

2 参与 CD8⁺T 细胞耗竭的影响因素

2.1 细胞表面抑制性受体

癌症中耗竭性 T 细胞常见的高表达的胰岛素受体底物(insulin receptorsubstrate, IRS)包括 PD-1、CTLA-4、TIM-3、LAG-3 和 Tigit 等。这些在免疫反应中具有抑制性免疫调节作用的位点, 也被称为免疫检查点。

PD-1 及其配体(PD-L1)是 T 细胞耗竭中最主要的抑制性受体, 两者的相互作用可以诱导下游脾脏酪氨酸激酶(SYK)和磷酸酰基醇-3 激酶(PI3K)磷酸化, 从而抑制下游信号传导和 T 细胞的生物学功能, 包括细胞增殖和细胞毒性。这种相互作用导致肿瘤特异性 T 细胞耗竭和凋亡, 从而限制其抗肿瘤作用^[8]。另外, PD-1 对其他淋巴细胞亚群的功能也有所影响, 如促进 Tregs 的增殖和免疫抑制作用, 抑制 B 细胞和 NK 细胞的活性等。CTLA-4 与 PD-1 都属于 B7 蛋白家族的抑制性受体。当 CTLA-4 与共刺激配体 CD80 和 CD86 结合后, 会向 T 细胞提供抑制信号, 降低 IL-2

[基金项目] 重点研发计划-科技入滇专项(国际合作)(No.2017IB005)。Project supported by the Key R & D plan - Science and technology into Yunnan project (International Cooperation)

[作者简介] 王润清(1993-), 女, 硕士生, 主要从事肿瘤精准靶向免疫治疗的研究, E-mail:254007854@qq.com

[通信作者] 侯宗柳(HOU Zong Liu, corresponding author), 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事干细胞与肿瘤免疫的研究, E-mail: HZL579@163.com

的产生,从而降低 T 细胞的功能^[9-10]。且 PD-1 与 CTLA-4 的激活还可抑制 T 细胞中 AKT 信号通路,增加葡萄糖转运酶 1 的表达,导致糖酵解增加,最终通过损伤 T 细胞的糖代谢和功能,使其功能耗竭^[11]。LAG-3 是一种结构类似于 CD4 的 MHC-II 类配体,与 APC 上的 MHC-II 类配体结合可传递 Treg 介导的免疫抑制信号^[12],以降低 T 细胞的增殖和效应功能。正 T 淋巴细胞免疫球蛋白黏蛋白-3(T cell immunoglobulin mucin-3, TIM-3)是一种糖蛋白,可表达在 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞、Tregs 和 DCs 表面,主要与 Galectin-9 结合来诱导 T 细胞凋亡^[13-14]。近年来, TIGIT 在 T 细胞耗竭中的作用中也得到证实:它通过和 CD155 以高亲和力和结合发挥有效的免疫抑制作用,并与 CD112 和其他同源配体以低亲和力和结合发挥相互作用^[15-16]。总之,这些抑制性受体分子的作用机制复杂,共同影响 CTL 耗竭的严重程度。

2.2 免疫抑制细胞群

肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)中一般包含 Tregs、TAMs、MDSCs、DCs 等免疫抑制细胞群,共同组成了细胞免疫治疗的屏障。Tregs 是维持体内免疫反应和预防自身免疫性疾病的 CD4⁺ T 细胞抑制亚群^[17-18],可产生免疫抑制分子(如 IL-10、IL-35、TGF- β 、IDO 和腺苷等),从而诱导 CTL 耗竭^[3]。在 TME 中, TAMs 倾向于向 M2 型转化,不产生 IL-12,但产生趋化因子 CCL22,从而激活 Tregs 来抑制 T 细胞功能^[19]。TAMs 也可通过 PD-L1 引起 T 细胞凋亡,并产生能够阻碍 T 细胞产生 L-精氨酸能力的精氨酸酶 1(ARG1)。其中, L-精氨酸在 T 细胞活化中是必要条件^[20-21]。MDSCs 在炎症和癌症时会显著扩增,高表达一些免疫抑制因子,如 ARG1 和 iNOS,并增加 NO、ARG、ROS、TGF- β 等的产生,从而抑制 T 细胞、TAMs 和 DCs,以及诱导 Tregs 和上调其 CTLA-4 的表达^[3]。此外,产生 IL-10 的细胞,如某些 DCs 可刺激 MDSCs 上调其表面的 PD-L1 表达,通过 PD-1/PD-L1 途径导致 CTL 功能障碍^[15]。

2.3 免疫抑制因子

免疫抑制因子(如 IL-10、IL35 和 TGF- β 等)是 T 细胞耗竭的关键因素,它们可由肿瘤细胞、TAMs 和 Tregs 分泌。IL-10 可诱导 Tregs 的产生以及 DCs 高表达 PD-L1,从而介导 T 细胞耗竭^[15]。此外, Tregs 来源的 IL-10 和 IL-35 可直接作用于终末分化转录因子 B 淋巴细胞诱导的成熟蛋白 1(Blimp-1)来诱导多种 IRS 的表达使 CTL 功能障碍^[22]。TGF- β 也是一种有助于 Tregs 活化和肿瘤血管生成的细胞因子^[23],能阻碍干扰素介导的 MHC-II 类分子表达,抑制 APCs 的分化与成熟,并能通过抑制编码关键功能性细胞因子

(如穿孔素、颗粒酶和细胞毒素)的基因直接抑制 CTL 的细胞毒性^[24]。TGF- β 还可通过升高 mir-23a 和下调参与 T 细胞分化的关键转录因子 Blimp-1,抑制 CTL 的效应功能^[25]。

2.4 转录因子

与耗竭相关的关键转录因子主要有中胚层上皮素(eomes)、T-box 转录因子 Tbx21 (T-bet)、Th17 细胞相关转录因子(BATF)、活化 T 细胞的核因子(nuclear factor of activated T cell, NFAT)、Blimp-1 和 P-选择素糖蛋白配体(P-selectin glycoprotein ligand, PSGL1)等。最近,研究人员通过单细胞测序又发现一种新基因 Layilin,它在 Tex 细胞中上调,并在体外可抑制 CTL 的功能^[26]。此外, CHEN 等^[27]研究发现了一种称为 NFAT 的调节基因表达的转录因子,其功能是打开下游可降低 T 细胞对肿瘤反应的基因,从而使 T 细胞耗竭。其中, NR4A 是其中一种下游基因编码的转录因子,其缺乏可降低 PD-1 和 Tim-3 的表达,并且敲除 NR4A 的 CAR-T 细胞改善了自身对肿瘤的反应。最近,该研究小组^[28]又发现, TOX 和 TOX2 这 2 种 DNA 结合蛋白与 NR4A 转录因子一起高度表达,表明 NFAT 或 NR4A 可能也控制了 TOX 的表达。因此,在 CTL 细胞中抑制 NR4A 家族成员的功能可能是癌症免疫治疗一个很有前景的策略。

2.5 代谢因素

必需代谢物质如葡萄糖和必需氨基酸等的过度消耗,大量脂肪酸、乳酸的过度产生,癌细胞产生的 ROS、肿瘤细胞造成的缺氧酸性微环境等都可能降低 CTL 的细胞功能^[29]。肿瘤细胞可持续性上调糖酵解通路中多个酶(如己糖激酶、磷酸果糖激酶、丙酮酸激酶等)的转录,产生大量乳酸来直接抑制 T 细胞,更重要的是会与 T 细胞竞争对其功能至关重要的能量来源来降低其代谢适应性。同时, TME 通常缺氧,会诱导 T 细胞中线粒体质量的降低和氧化磷酸化的减少^[30]。并且 T 细胞自身的葡萄糖水平可能不足以进行糖酵解,这会导致其代谢方面的压力,促使自身耗竭。此外,大量参与能量代谢和柠檬酸循环的基因会在 Tex 细胞中转录下调,其他代谢途径的转录改变还包括溶质、离子通道和水通道蛋白等。这些结果表明, Tex 细胞中的生物能量缺乏会影响该细胞群的功能反应性和生存率^[6]。此外,营养缺乏方面,尤其是氨基酸,如色氨酸可激活调节 T 细胞活性的综合应激反应等。吲哚胺 2,3 双加氧酶(IDO)可催化色氨酸降解为犬尿氨酸,肿瘤细胞和 MDSCs 均可以表达 IDO,可活化一般性调控阻遏蛋白激酶 2 和抑制 mTOR,导致 T 细胞增殖和存活受阻^[31]。因此,代谢干预有望改善免疫疗法的有效性。

3 改善 CAR-T 细胞耗竭在免疫治疗中的应用

3.1 克服肿瘤微环境中的免疫抑制因素

3.1.1 阻断细胞表面抑制性受体 近年来,检查点阻断是抵抗 T 细胞耗竭应用最广泛和最成功的策略之一。其中,针对 PD-1、PD-L1 和 CTLA-4 的药物已被独立使用,并与 CAR-T 细胞疗法结合使用,并在许多患者中获得成功^[32]。目前,还有其他高效检查点抑制剂正在进行测试,以支持 CAR-T 细胞的抗肿瘤活性。由于 PD-1/PD-L1 抑制剂在多种肿瘤中具有显著的临床疗效和低毒性,许多研究人员给予了其大量关注。控制 PD-1 在 CAR-T 细胞上表达的策略包括联合使用 PD-1/PD-L1 阻断抗体,通过 CAR-T 本身分泌可阻断 PD-1/PD-L1 的抗体,或基因修饰敲除 CAR-T 细胞的 PD-1。SUAREZ 等^[33]设计了可分泌靶向 PD-L1 抗体的 CAR-T 细胞。在肾细胞癌的人源化小鼠模型中,他们发现此类 CAR-T 细胞与无 PD-L1 抗体分泌的 CAR-T 细胞相比,其活性和细胞毒性显著提高,并显著减小了肿瘤。同样,RAFIQ 等^[34]设计了能够分泌 RMP1-14(PD-1 抗体)scFv 的 CAR-T 细胞,发现在实体瘤和血液瘤的小鼠模型中,此 CAR-T 细胞与标准 CAR-T 细胞相比,持续性更久,抗肿瘤效果更强,全身毒副作用更小。基于此,这种方法为 CAR-T 治疗提供了新的平台。研究者可实现患者的个体化治疗,建立可分泌不同抗体的 CAR-T 细胞。此外,还可利用基因编辑技术来改善 CAR-T 细胞的抗肿瘤活性,包括敲除 PD1、CTLA-4、TIM-3、LAG-3 等。例如,CRISPR-Cas9 系统用于产生了具有 PD-1 和 CTLA-4 双敲除的通用 CAR,有效控制了 CAR-T 细胞的活性^[35]。REN 等^[35-36]利用敲除了 PD-1 的 PS-CA CAR-T 细胞,在体外实验以及小鼠前列腺癌模型的体内实验中均显示出增强的抗肿瘤效果。

目前,新一代的 CAR-T 细胞在临床中的试用,为肿瘤免疫治疗提供了新型的治疗手段。尽管尚未确定最具安全性和有效性的检查点组合,但这些临床前数据证明,免疫检查点阻断与 CAR-T 细胞组合治疗是改善 CAR-T 细胞治疗患者的更合理的治疗策略。

3.1.2 抑制免疫抑制细胞群 清除 Tregs 与 CAR-T 细胞的治疗相结合也已证明在动物模型中可增强血液瘤和实体瘤的抗肿瘤效果。这可能与 Tregs 产生的抑制性细胞因子(如 TGF- β 和 IL-10)减少有关^[37-38]。相关小鼠乳腺癌模型的研究^[39]表明,靶向 TAMs 可能对治疗进展期癌症有效,因为 TAMs 与抗炎活性和肿瘤免疫逃避有关。通过施用 poly(I:C)刺激 Toll 样受体 3(TLR-3)信号转导,在小鼠肿瘤模型中完成促肿

瘤 TAMs 向抗肿瘤巨噬细胞(如 M1 巨噬细胞)的转化^[40],从而降低 M2 型 TAMs 促进 CTL 耗竭的作用。此外,清除 MDSCs 也可改善 T 细胞的耗竭,如一项使用 GD2-CAR T 细胞的研究^[41]显示,在异种移植肉瘤模型中,单独的 GD2-CAR-T 细胞没有抗肿瘤作用,但通过联合全反式维甲酸根除 MDSCs,降低其抑制能力,显著提高了 CAR-T 细胞的抗肿瘤能力。

3.1.3 抑制免疫抑制因子 一种调节 TME 信号的可行性策略是直接抑制 TGF- β 、IL-10 和/或 IL-4 信号。最近在慢性淋巴细胞白血病(Chronic lymphocytic leukemia, CLL)中,来那度胺被证明可通过阻断 CXCL12-CXCR4-S727-Stat3 信号通路介导的 IL-10 反应和抑制 T 细胞中 IL-10 诱导的 Stat3 磷酸化来逆转 T 细胞功能的耗竭^[42]。此外,Tregs 来源的 IL-10 和 IL-35 的缺失可导致耗竭基因标志物的显著下调以及记忆相关转录谱的上调等^[23]。因此,这为小分子抑制剂阻断 IL-10 以及 IL-35 或者敲除 CAR-T 细胞中 IL-10 和 IL-35 的基因等策略提供了理论基础。另外,已研究出几种基因修饰策略使 T 细胞对抗肿瘤抑制微环境,包括转基因表达显性失活受体或信号转换器,可将 T 细胞抑制信号转化为刺激信号。例如,KLOSS 等^[43]利用前列腺癌小鼠模型设计了共表达显性失活的 TGF- β II 型受体(TGF- β RII)的 PSMA CAR-T 细胞,该方法阻断了 TGF- β 信号的传导,改善了 PSMA CAR-T 细胞的增殖能力、耗竭程度以及抗肿瘤能力等。但显性失活受体仅保护 T 细胞免受免疫抑制环境的影响,“信号转换器”还可提供直接的阳性抑制信号。所以开关受体是将抑制性细胞因子信号转化为刺激信号的另一种方式,即由抑制性因子受体的胞外信号域与激活分子的胞内信号域融合。例如,MOHAMMED 等^[44]研发了一种用于以 IL-4 水平升高为特征的胰腺癌治疗系统,设计了一种 muc1 载体,与细胞因子开关受体(4/7ICR)共存。该 4/7ICR 由 IL-7 的刺激细胞内域和 IL-4 胞外抑制性受体组成。与没有开关受体的 muc1 细胞相比,4/7 ICR muc1CAR-T 细胞明显抑制肿瘤生长,未显示耗竭性标志。另一种策略是使融合蛋白不与 T 细胞结合,而是与肿瘤本身结合。最近,研究^[45]发现,在表达 TGF- β 的尿路上皮癌中应用一种 PD-L1/TGF- β RII 融合蛋白,可同时阻断 PD-L1 在 TME 中的表达和与 PD-1 的结合。并且在 TGF- β 的抗体药物研发中,多数研究者选择了 TGF- β 与 PD-1/PD-L1 的联合疗法,例如 M7824,它是一种抗 PD-L1/TGF- β 的融合蛋白,即这种药物同时具有靶向 PD-L1 和靶向 TGF- β 的功能^[46]。因此,这样的多靶点联合治疗很可能会成为未来靶向药物研发的主要方向。

3.1.4 抑制与耗竭相关的转录因子 转录因子如 T-bet 和 Eomes 参与了 T 细胞命运的决定,进一步揭示了 T 细胞耗竭的机制。Eomes 和 PD-1 表达都高的 T 细胞已被证明处于最终耗竭阶段,而那些 T-bet 含量高和 PD-1 含量中等的 T 细胞尽管显示出其他典型的耗竭特征,但似乎仍保持着增殖潜能^[3]。因此,联合使用 CD19 CAR-T 细胞和 PD-1 阻断剂治疗难治性大 B 细胞淋巴瘤 (DLBCL) 患者时,发现患者外周血中 CAR-T 细胞的 PD-1 水平和 Eomes 表达均降低,取得了显著的临床效果^[47]。此外,研究者^[27]在小鼠模型中证明,敲除 Nr4a 家族蛋白的 CAR-T 细胞具有更强的效应功能,可有效缩小肿瘤。进一步研究^[28]显示,敲除两个新发现的转录因子 TOX 和 TOX2,改善了 CAR-T 细胞对黑色素瘤的反应。这项工作表明,针对患者的 NR4A 和 TOX 因子的策略也许可扩展到基于 CAR-T 细胞免疫疗法对实体瘤的治疗。此外,在 CAR-T 细胞治疗的同时使用小分子药物抑制 TOX 和 NR4A,这种联合策略或许可增强对黑色素瘤等实体瘤的疗效。这为接下来解决 CAR-T 疗法的 T 细胞耗竭问题打开了思路,为改进 CAR-T 疗法提供了潜在的新靶标。

3.1.5 其他小分子抑制因子 其他一些增强 CAR-T 细胞功能的策略包括抑制小分子抑制因子(如 IDO、腺苷和 VEGF 等)。氟达拉滨和环磷酰胺可减少 IDO 表达,进而改善 CAR-T 细胞疗效^[48]。其次,CAR-T 细胞联合 IDO 抑制剂用药可能是化疗和免疫治疗无效的恶性肿瘤患者的重要选择。研究^[49]表明,通过联合使用 IDO1 抑制剂和 EGFR VIII CAR-T 细胞,会明显减缓异种移植结肠癌小鼠模型中的肿瘤生长。在一项原发性黑色素瘤模型中使用 Her2 CAR-T 细胞的研究^[50]中,靶向腺苷 2A 受体可与检查点阻断剂联合来显著增强 CAR-T 细胞的临床应用价值。另一种潜在策略是利用靶向基因编辑将 CAR 构建体插入 T 细胞抑制性基因座中^[51-52]。例如,可将 CAR 的基因序列插入腺苷 2A 受体基因座中^[53],从而降低富含腺苷的环境对 CAR-T 细胞的免疫抑制。此外,靶向 VEGF 的 CAR-T 也在多个临床前实体瘤模型(例如黑色素瘤)中,表现出显著的抗癌效率^[54]。

3.2 调节 T 细胞代谢

由于糖酵解是影响 T 细胞代谢的一个标志,因此研究者在培养 T 细胞时使用了糖酵解抑制剂,观察到记忆性 T 细胞数量增多,同时细胞增殖能力增强,耗竭性标志物减少^[55]。PD-1 与 PD-L1 的相互作用也可调节早期糖酵解水平和线粒体的改变,抑制转录辅激活因子 PGC-1 α ,通过 PGC-1 α 的过度表达改善 Tex 细胞的生物能量学,从而逆转其功能^[56]。并且在实验

模型中,抗 PD-1 或抗 CTLA-4 单克隆抗体可增强耗竭性 CTL 细胞的糖酵解能力和效应功能^[57-58]。此外,氨基酸如谷氨酰胺和精氨酸对 T 细胞增殖以及抵抗耗竭至关重要,但二者通常在肿瘤微环境中被耗尽^[59]。例如,在体外 T 细胞活化期间抑制谷氨酰胺降解已被证明可促进记忆 CD8⁺ T 细胞分化,降低 T 细胞向终末耗竭阶段分化^[60]。目前,临床上也正在测试作为谷氨酰胺酶抑制剂的 CB-839,能有效抑制谷氨酰胺溶解,在三阴性乳腺癌和血液恶性肿瘤的临床前模型中具有良好的活性^[61-62]。研究^[59]证明,在体外培育的 CAR-T 细胞中补充精氨酸和防止精氨酸降解可改善其存活能力以及抗肿瘤活性,还可促使其向记忆型 T 细胞分化。TME 中免疫细胞的脂质代谢在协调免疫抑制作用时也同样发挥着重要作用。目前临床上测试的胆固醇酯化酶 ACAT1 抑制剂 avasimibe 可阻断胆固醇酯化来改善 CTL 细胞的细胞毒性和增殖活性^[63];并且在小鼠黑色素瘤模型中已证明 avasimibe 与 PD-1 抑制剂可协同根除肿瘤^[63]。其他措施如二甲双胍可通过降低天冬氨酸的消耗来抑制线粒体的功能,从而减少肿瘤的氧气消耗,降低 TME 中的缺氧水平等^[64]。总之,不大量研究表明,免疫代谢是影响 CAR-T 细胞疗法和其他过继性免疫疗法治疗结果的关键因素,调节 T 细胞的代谢状态是抵抗 T 细胞耗竭以及增强其抗肿瘤功能的有效策略。

3.3 其他改善措施

除了以上改善措施,还有其他新发现的措施来延缓 CAR-T 细胞的耗竭。首先,CAR 的共刺激域会对 CAR-T 细胞的耗竭产生影响,例如,与 CD28 相比较,4-1BB 可以通过诱导嵌合抗原受体的 tonic 信号通路来改善 T 细胞耗竭^[65]。有项研究还强调具有 CD28 共刺激性结构域的 CAR 可优先诱导 T 细胞的有氧糖酵解,而具有 4-1BB 共刺激性结构域的 CAR 诱导线粒体的生物合成和增强脂肪酸的氧化磷酸化^[66]。这些发现解释了 CAR 共刺激域对 T 细胞持久性和耗竭性的影响机制,并为未来 CAR-T 细胞的设计提供了依据。此外,基因整合位点从根本上会影响 T 细胞的激活和增殖,因此也会显著影响 CAR-T 细胞的功能。EYQUEM 等^[51]证明,使用 CRISPR / CAS9 系统将 CD19 CAR 特异性插入 T 细胞受体 α 恒定 (TRAC) 基因座会导致 T 细胞中均一表达 CAR。从机制上讲,针对 TRAC 基因座的特异性插入可以预防 CAR 强直性信号传导,改善 CAR-T 细胞的持久性和记忆性,延缓 CTL 细胞的分化和耗竭。FRAIETTA 等^[67]报道了一个 CLL 患者通过注射 CD19 CAR-T 治疗并达到明显缓解的病例,发现该患者体内 94% 的 CAR-T 细胞来自同一个克隆,该群细胞染色体被病

毒载体介导的CAR插入破坏了甲基胞嘧啶双加氧酶TET2基因,同时TET2第2个等位基因发生亚型突变,并且此群细胞表现为偏向中枢记忆表型的分化趋势,细胞毒性增强。QASIM等^[68]通过使用转录激活因子样效应核酸酶(TALENS)介导的T细胞受体 α 链(TRAC)和CD52基因位点的基因编辑技术产生了通用CAR-T细胞,证明了其持久性和抗肿瘤活性增强。将CAR靶向递送到T细胞基因组中有望产生表型上更有能力的细胞,从而增强其抗肿瘤效率,然而需要进一步研究以确定这种技术的可行性和安全性。

4 结 语

肿瘤免疫治疗的主要目的是减轻免疫抑制作用或恢复和增强机体正常的抗肿瘤免疫功能。靶向CTL已成为肿瘤免疫治疗最有潜力的策略之一。尽管近年来的研究加深了研究者对细胞耗竭的理解提供了重要进展,但对其机制的理解大多来自慢性病毒感染模型。由于近期研究^[66]证明,癌症与慢性感染中的T细胞耗竭之间存在着显著差异,因此研究者对T细胞耗竭在癌症中的相关机制仍不明确,以及对如何最有效地逆转这种状态的策略仍然是不完整的。目前针对如何改善CTL的耗竭性还存在许多需要待解决的问题。例如,免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors, ICIS)虽然已广泛应用于多种癌症并对晚期癌症显示出良好疗效^[69-70],但这种作用仅限于少数临床对象,而且对大多数实体瘤患者的效果却收效甚微;而且临床使用ICIS时会引起免疫相关的副作用,如肺炎、结肠炎等^[71]。并且随着一些新兴技术的研发,尤其是编辑人体细胞中的多个基因等所导致的不良后果还不明确。除此以外,研究者还需要注意CAR载体的设计也会影响其安全性, CAR-T细胞的分选和培养方案也会影响其性能。虽然很多实验结果还不能应用于临床,但每一点新发现都可以作为理论基础来改善CAR-T免疫疗法。笔者确信恢复耗竭性CTL的功能对CAR-T细胞治疗来说可被视为一种有希望的策略。

[参 考 文 献]

- [1] KAECH S M, CUI W G. Transcriptional control of effector and memory CD8⁺ T cell differentiation[J/OL]. *Nat Rev Immunol*, 2012, 12(11): 749-761[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4137483/>. DOI:10.1038/nri3307.
- [2] GALLIMORE A, GLITHERO A, GODKIN A, et al. Induction and exhaustion of lymphocytic choriomeningitis virus-specific cytotoxic T lymphocytes visualized using soluble tetrameric major histocompatibility complex class I-peptide complexes[J/OL]. *J Exp Med*, 1998, 187(9): 1383-1393[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2212278/>. DOI:10.1084/jem.187.9.1383.
- [3] WHERRY E J, KURACHI M. Molecular and cellular insights into T cell exhaustion[J/OL]. *Nat Rev Immunol*, 2015, 15(8): 486-499 [2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4889009/>. DOI:10.1038/nri3862.
- [4] JOHN WHERRY E. T cell exhaustion[J]. *Nat Immunol*, 2011, 12(6): 492-499. DOI:10.1038/ni.2035.
- [5] ZUNIGA E I, MACAL M, LEWIS G M, et al. Innate and adaptive immune regulation during chronic viral infections[J/OL]. *Annu Rev Virol*, 2015, 2(1): 573-597[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4785831/>. DOI: 10.1146/annurev-virology-100114-055226.
- [6] WHERRY E J, HA S J, KAECH S M, et al. Molecular signature of CD8⁺ T cell exhaustion during chronic viral infection[J]. *Immunity*, 2007, 27(4): 670-684. DOI:10.1016/j.immuni.2007.09.006.
- [7] WHERRY E J, AHMED R. Memory CD8 T-cell differentiation during viral infection[J/OL]. *J Virol*, 2004, 78(11): 5535-5545[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC415833/>. DOI: 10.1128/JVI.78.11.5535-5545.2004.
- [8] JIANG Y S, CHEN M, NIE H, et al. PD-1 and PD-L1 in cancer immunotherapy: clinical implications and future considerations[J/OL]. *Hum Vaccin Immunother*, 2019, 15(5): 1111-1122[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6605868/>. DOI: 10.1080/21645515.2019.1571892.
- [9] CHAMBERS C A, KUHNS M S, EGEN J G, et al. CTLA-4-mediated inhibition in regulation of T cell responses: mechanisms and manipulation in tumor immunotherapy[J]. *Annu Rev Immunol*, 2001, 19: 565-594. DOI:10.1146/annurev.immunol.19.1.565.
- [10] TEFT W A, KIRCHHOF M G, MADRENAS J. A molecular perspective of CTLA-4 function[J]. *Annu Rev Immunol*, 2006, 24: 65-97. DOI:10.1146/annurev.immunol.24.021605.090535.
- [11] 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/OL]. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(21): 9543-9553[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1265804/>. DOI: 10.1128/MCB.25.21.9543-9553.2005.
- [12] 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.
- [13] ANDERSON A C, JOLLER N, KUCHROO V K. Lag-3, tim-3, and TIGIT: Co-inhibitory receptors with specialized functions in immune regulation[J/OL]. *Immunity*, 2016, 44(5): 989-1004[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4942846/>. DOI:10.1016/j.immuni.2016.05.001.
- [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] POPOVIC A, JAFFEE E M, ZAIDI N. Emerging strategies for combination checkpoint modulators in cancer immunotherapy[J/OL]. *J Clin Invest*, 2018, 128(8): 3209-3218[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6063475/>. DOI:10.1172/JCI120775.
- [16] GAO J, ZHENG Q Q, XIN N, et al. CD155, an onco-immunologic molecule in human tumors[J/OL]. *Cancer Sci*, 2017, 108(10): 1934-1938[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/>

- PMC5623745/. DOI:10.1111/cas.13324.
- [17] TEIJARO J R, NG C, LEE A M, et al. Persistent LCMV infection is controlled by blockade of type I interferon signaling[J/OL]. *Science*, 2013, 340(6129): 207-211[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3640797/>. DOI: 10.1126/science.1235214.
- [18] TERAWAKI S, CHIKUMA S, SHIBAYAMA S, et al. IFN- α directly promotes programmed cell death-1 transcription and limits the duration of T cell-mediated immunity[J]. *J Immunol*, 2011, 186(5): 2772-2779. DOI:10.4049/jimmunol.1003208.
- [19] CURIEL T J, COUKOS G, ZOU L H, et al. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival[J]. *Nat Med*, 2004, 10(9): 942-949. DOI:10.1038/nm1093.
- [20] KUANG D M, ZHAO Q Y, PENG C, et al. Activated monocytes in peritumoral stroma of hepatocellular carcinoma foster immune privilege and disease progression through PD-L1[J/OL]. *J Exp Med*, 2009, 206(6): 1327-1337[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2715058/>. DOI:10.1084/jem.20082173.
- [21] RODRIGUEZ P C, QUICENO D G, ZABALETA J, et al. Arginase I production in the tumor microenvironment by mature myeloid cells inhibits T-cell receptor expression and antigen-specific T-cell responses[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(16): 5839-5849. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-04-0465.
- [22] KIM Y J, PARK S J, BROXMEYER H E. Phagocytosis, a potential mechanism for myeloid-derived suppressor cell regulation of CD8+ T cell function mediated through programmed cell death-1 and programmed cell death-1 ligand interaction[J/OL]. *J Immunol*, 2011, 187(5): 2291-2301[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3159723/>. DOI:10.4049/jimmunol.1002650.
- [23] SAWANT D V, YANO H, CHIKINA M, et al. Adaptive plasticity of IL-10⁺ and IL-35⁺ T_{reg} cells cooperatively promotes tumor T cell exhaustion[J/OL]. *Nat Immunol*, 2019, 20(6): 724-735[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6531353/>. DOI: 10.1038/s41590-019-0346-9.
- [24] KATZ L H, LI Y, CHEN J S, et al. Targeting TGF- β signaling in cancer[J/OL]. *Expert Opin Ther Targets*, 2013, 17(7): 743-760 [2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3745214/>. DOI:10.1517/14728222.2013.782287.
- [25] LIN R, CHEN L, CHEN G, et al. Targeting miR-23a in CD8+ cytotoxic T lymphocytes prevents tumor-dependent immunosuppression [J/OL]. *J Clin Invest*, 2014, 124(12): 5352-5367[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4348954/>. DOI:10.1172/JCI76561.
- [26] ZHENG C H, ZHENG L T, YOO J K, et al. Landscape of infiltrating T cells in liver cancer revealed by single-cell sequencing[J]. *Cell*, 2017, 169(7): 1342-1356.e16. DOI:10.1016/j.cell.2017.05.035.
- [27] CHEN J, LÓPEZ-MOYADO I F, SEO H, et al. NR4A transcription factors limit CAR T cell function in solid tumours[J/OL]. *Nature*, 2019, 567(7749): 530-534[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6546093/>. DOI:10.1038/s41586-019-0985-x.
- [28] 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. DOI:10.1038/s41586-019-1324-y.
- [29] HERBEL C, PATSOUKIS N, BARDHAN K, et al. Clinical significance of T cell metabolic reprogramming in cancer[J/OL]. *Clin Transl Med*, 2016, 5(1): 29[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4980327/>. DOI:10.1186/s40169-016-0110-9.
- [30] YANG Z Z, PRICE-TROSKA T, NOVAK A J, et al. The exhausted intratumoral T cell population in B-cell non-Hodgkin lymphoma is defined by LAG-3, PD-1 and tim-3 expression[J]. *Blood*, 2015, 126(23): 2661. DOI:10.1182/blood.v126.23.2661.2661.
- [31] BROCHEZ L, CHEVOLET I, KRUSE V. The rationale of indoleamine 2, 3-dioxygenase inhibition for cancer therapy[J]. *Eur J Cancer*, 2017, 76: 167-182. DOI:10.1016/j.ejca.2017.01.011.
- [32] MOON E K, WANG L C, DOLFI D V, et al. Multifactorial T-cell hypofunction that is reversible can limit the efficacy of chimeric antigen receptor-transduced human T cells in solid tumors[J/OL]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(16): 4262-4273[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4134701/>. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-2627.
- [33] SUAREZ E R, CHANG D K, SUN J S, et al. Chimeric antigen receptor T cells secreting anti-PD-L1 antibodies more effectively regress renal cell carcinoma in a humanized mouse model[J/OL]. *Oncotarget*, 2016, 7(23): 34341-34355[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5085160/>. DOI: 10.18632/oncotarget.9114.
- [34] RAFIQ S, YEKU O O, JACKSON H J, et al. Targeted delivery of a PD-1-blocking scFv by CAR-T cells enhances anti-tumor efficacy in vivo[J/OL]. *Nat Biotechnol*, 2018, 36(9): 847-856[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6126939/>. DOI: 10.1038/nbt.4195.
- [35] REN J T, ZHANG X H, LIU X J, et al. A versatile system for rapid multiplex genome-edited CAR T cell generation[J/OL]. *Oncotarget*, 2017, 8(10): 17002-17011[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5370017/>. DOI:10.18632/oncotarget.15218.
- [36] REN J T, LIU X J, FANG C Y, et al. Multiplex genome editing to generate universal CAR T cells resistant to PD1 inhibition[J/OL]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(9): 2255-2266[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5413401/>. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-1300.
- [37] LIU Y J, WANG L Q, PREDINA J, et al. Inhibition of p300 impairs Foxp3⁺ T regulatory cell function and promotes antitumor immunity [J/OL]. *Nat Med*, 2013, 19(9): 1173-1177[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3793393/>. DOI: 10.1038/nm.3286.
- [38] ZHOU Q, MUNGER M E, HIGHFILL S L, et al. Program death-1 signaling and regulatory T cells collaborate to resist the function of adoptively transferred cytotoxic T lymphocytes in advanced acute myeloid leukemia[J/OL]. *Blood*, 2010, 116(14): 2484-2493[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2953885/>. DOI:10.1182/blood-2010-03-275446.
- [39] FANG Z X, WEN C W, CHEN X L, et al. Myeloid-derived suppressor cell and macrophage exert distinct angiogenic and immunosuppressive effects in breast cancer[J/OL]. *Oncotarget*, 2017, 8(33): 54173-54186[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5589571/>. DOI:10.18632/oncotarget.17013.
- [40] VIDYARTHI A, KHAN N, AGNIHOTRI T, et al. TLR-3 stimulation skews M2 macrophages to M1 through IFN- $\alpha\beta$ signaling and restricts tumor progression[J/OL]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1650

- [2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6060442/>. DOI:10.3389/fimmu.2018.01650.
- [41] LONG A H, HIGHFILL S L, CUI Y Z, et al. Reduction of MDSCs with all-trans retinoic acid improves CAR therapy efficacy for sarcomas[J/OL]. *Cancer Immunol Res*, 2016, 4(10): 869-880[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5050151/>. DOI:10.1158/2326-6066.CIR-15-0230.
- [42] SHAIM H, ESTROV Z, HARRIS D, et al. The CXCR4-STAT3-IL-10 pathway controls the immunoregulatory function of chronic lymphocytic leukemia and is modulated by lenalidomide[J/OL]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1773[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5775272/>. DOI:10.3389/fimmu.2017.01773.
- [43] KLOSS C C, LEE J, ZHANG A, et al. Dominant-negative TGF- β receptor enhances PSMA-targeted human CAR T cell proliferation and augments prostate cancer eradication[J/OL]. *Mol Ther*, 2018, 26(7): 1855-1866[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6037129/>. DOI:10.1016/j.ymthe.2018.05.003.
- [44] MOHAMMED S, SUKUMARAN S, BAJGAIN P, et al. Improving chimeric antigen receptor-modified T cell function by reversing the immunosuppressive tumor microenvironment of pancreatic cancer[J/OL]. *Mol Ther*, 2017, 25(1): 249-258[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5363304/>. DOI: 10.1016/j.ymthe.2016.10.016.
- [45] GRENGA I, DONAHUE R N, GARGULAK M L, et al. Anti-PD-L1/TGF β R2 (M7824) fusion protein induces immunogenic modulation of human urothelial carcinoma cell lines, rendering them more susceptible to immune-mediated recognition and lysis[J/OL]. *Urol Oncol*, 2018, 36(3): 93.e1-93.93.e11[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5835162/>. DOI:10.1016/j.urolonc.2017.09.027.
- [46] KNUDSON K M, HICKS K C, LUO X L, et al. M7824, a novel bi-functional anti-PD-L1/TGF β Trap fusion protein, promotes anti-tumor efficacy as monotherapy and in combination with vaccine[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2018, 7(5): e1426519[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5927523/>. DOI: 10.1080/2162402X.2018.1426519.
- [47] CHONG E A, MELENHORST J J, LACEY S F, et al. PD-1 blockade modulates chimeric antigen receptor (CAR)-modified T cells: refueling the CAR[J/OL]. *Blood*, 2017, 129(8): 1039-1041[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5391777/>. DOI:10.1182/blood-2016-09-738245.
- [48] NINOMIYA S, NARALA N, HUYE L, et al. Tumor indoleamine 2, 3-dioxygenase (IDO) inhibits CD19-CAR T cells and is downregulated by lymphodepleting drugs[J/OL]. *Blood*, 2015, 125(25): 3905-3916[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4473118/>. DOI:10.1182/blood-2015-01-621474.
- [49] HUANG Q, XIA J J, WANG L, et al. MiR-153 suppresses IDO1 expression and enhances CAR T cell immunotherapy[J/OL]. *J Hematol Oncol*, 2018, 11(1): 58[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5914051/>. DOI:10.1186/s13045-018-0600-x.
- [50] BEAVIS P A, HENDERSON M A, GIUFFRIDA L, et al. Targeting the adenosine 2A receptor enhances chimeric antigen receptor T cell efficacy[J/OL]. *J Clin Invest*, 2017, 127(3): 929-941[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5330718/>. DOI: 10.1172/JCI89455.
- [51] EYQUEM J, MANSILLA-SOTO J, GIAVRIDIS T, et al. Targeting a CAR to the TRAC locus with CRISPR/Cas9 enhances tumour rejection[J/OL]. *Nature*, 2017, 543(7643): 113-117[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5558614/>. DOI: 10.1038/nature21405.
- [52] ROTH T L, PUIG-SAUS C, YU R, et al. Reprogramming human T cell function and specificity with non-viral genome targeting[J/OL]. *Nature*, 2018, 559(7714): 405-409[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6239417/>. DOI:10.1038/s41586-018-0326-5.
- [53] MIRZAEI H R, POURGHADAMYARI H, RAHMATI M, et al. Gene-knocked out chimeric antigen receptor (CAR) T cells: Tuning up for the next generation cancer immunotherapy[J]. *Cancer Lett*, 2018, 423: 95-104. DOI:10.1016/j.canlet.2018.03.010.
- [54] WU X Q, LI J J, CONNOLLY E M, et al. Combined anti-VEGF and anti-CTLA-4 therapy elicits humoral immunity to galectin-1 which is associated with favorable clinical outcomes[J/OL]. *Cancer Immunol Res*, 2017, 5(6): 446-454[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5509159/>. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-16-0385
- [55] FRAIETTA J A, LACEY S F, ORLANDO E J, et al. Determinants of response and resistance to CD19 chimeric antigen receptor (CAR) T cell therapy of chronic lymphocytic leukemia[J/OL]. *Nat Med*, 2018, 24(5): 563-571[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6117613/>. DOI:10.1038/s41591-018-0010-1.
- [56] BENGSCHE B, JOHNSON A L, KURACHI M, et al. Bioenergetic insufficiencies due to metabolic alterations regulated by the inhibitory receptor PD-1 are an early driver of CD8(+) T cell exhaustion[J/OL]. *Immunity*, 2016, 45(2): 358-373[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4988919/>. DOI:10.1016/j.immuni.2016.07.008.
- [57] SISK A P J, RATHMELL J C. PKCs sweeten cell metabolism by phosphorylation of Glut1[J]. *Mol Cell*, 2015, 58(5): 711-712. DOI: 10.1016/j.molcel.2015.05.025.
- [58] CHANG C H, QIU J, O'SULLIVAN D, et al. Metabolic competition in the tumor microenvironment is a driver of cancer progression[J/OL]. *Cell*, 2015, 162(6): 1229-1241[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4864363/>. DOI:10.1016/j.cell.2015.08.016.
- [59] GEIGER R, RIECKMANN J C, WOLF T, et al. L-arginine modulates T cell metabolism and enhances survival and anti-tumor activity[J/OL]. *Cell*, 2016, 167(3): 829-842. e13[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5075284/>. DOI:10.1016/j.cell.2016.09.031.
- [60] NABE S, YAMADA T, SUZUKI J, et al. Reinforce the antitumor activity of CD8⁺ T cells via glutamine restriction[J/OL]. *Cancer Sci*, 2018, 109(12): 3737-3750[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6272119/>. DOI:10.1111/cas.13827.
- [61] GROSS M I, DEMO S D, DENNISON J B, et al. Antitumor activity of the glutaminase inhibitor CB-839 in triple-negative breast cancer[J]. *Mol Cancer Ther*, 2014, 13(4): 890-901. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-13-0870.
- [62] DELABARRE B, HUROV J, CIANCHETTA G, et al. Action at a distance: allosteric and the development of drugs to target cancer cell metabolism[J]. *Chem Biol*, 2014, 21(9): 1143-1161. DOI: 10.1016/j.chembiol.2014.08.007.
- [63] YANG W, BAI Y B, XIONG Y, et al. Potentiating the antitumour re-

- sponse of CD8(+) T cells by modulating cholesterol metabolism[J/OL]. *Nature*, 2016, 531(7596): 651-655[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4851431/>. DOI: 10.1038/nature17412.
- [64] SHARPING N E, MENK A V, WHETSTONE R D, et al. Efficacy of PD-1 blockade is potentiated by metformin-induced reduction of tumor hypoxia[J/OL]. *Cancer Immunol Res*, 2017, 5(1): 9-16[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5340074/>. DOI:10.1158/2326-6066.CIR-16-0103.
- [65] LONG A H, HASO W M, SHERN J F, et al. 4-1BB costimulation ameliorates T cell exhaustion induced by tonic signaling of chimeric antigen receptors[J/OL]. *Nat Med*, 2015, 21(6): 581-590[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4458184/>. DOI:10.1038/nm.3838.
- [66] KAWALEKAR O U, O'CONNOR R S, FRAIETTA J A, et al. Distinct signaling of coreceptors regulates specific metabolism pathways and impacts memory development in CAR T cells[J]. *Immunity*, 2016, 44(3): 712. DOI:10.1016/j.immuni.2016.02.023.
- [67] FRAIETTA J A, NOBLES C L, SAMMONS M A, et al. Disruption of TET2 promotes the therapeutic efficacy of CD19-targeted T cells[J/OL]. *Nature*, 2018, 558(7709): 307-312[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6320248/>. DOI: 10.1038/s41586-018-0178-z.
- [68] QASIM W, ZHAN H, SAMARASINGHE S, et al. Molecular remission of infant B-ALL after infusion of universal TALEN gene-edited CAR T cells[J]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(374): eaaj2013. DOI: 10.1126/scitranslmed.aaj2013.
- [69] NAYAK L, IWAMOTO F M, LACASCE A, et al. PD-1 blockade with nivolumab in relapsed/refractory primary central nervous system and testicular lymphoma[J/OL]. *Blood*, 2017, 129(23): 3071-3073[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5766844/>. DOI:10.1182/blood-2017-01-764209.
- [70] FERRIS R L, BLUMENSCHHEIN G Jr, FAYETTE J, et al. Nivolumab for recurrent squamous-cell carcinoma of the head and neck[J/OL]. *N Engl J Med*, 2016, 375(19): 1856-1867[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5564292/>. DOI: 10.1056/NEJMoa1602252.
- [71] CAPPELLI L C, GUTIERREZ A K, BAER A N, et al. Inflammatory arthritis and sicca syndrome induced by nivolumab and ipilimumab[J/OL]. *Ann Rheum Dis*, 2017, 76(1): 43-50[2019-07-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5333990/>. DOI: 10.1136/annrheumdis-2016-209595.

[收稿日期] 2019-07-10

[修回日期] 2019-12-02

[本文编辑] 王映红