

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2021.01.001

·院士论坛·

## 肿瘤免疫与免疫治疗：机遇与挑战

顾炎,曹雪涛(海军军医大学 免疫学研究所暨医学免疫学国家重点实验室,上海 200433)



**曹雪涛** 博士、教授、博士生导师,中国工程院院士、德国科学院院士、美国国家医学科学院院士、美国人文与科学院院士、法国医学科学院院士、英国医学科学院院士。现任南开大学校长、海军军医大学医学免疫学国家重点实验室主任、中国医学科学院免疫治疗中心主任、十三届全国政协教科卫体委员会副主任。曾任中国医学科学院院长、北京协和医学院院长、全球慢性疾病防控联盟主席、亚洲大洋洲免疫学会联盟主席、中国科协生命科学联合体主席、中国免疫学会理事长。目前兼任亚洲大洋洲免疫学会联盟秘书长、中国生物医学工程学会理事长。主要从事免疫与炎症的基础研究、肿瘤等重大疾病的免疫治疗转化应用研究和医学科学发展战略研究等,发现了数种新型免疫分子和细胞亚群,揭示了天然免疫识别与应答调控新机制,提出了免疫炎症消退新观点,鉴定了预测肿瘤转移与患者预后的标志物分子,建立肿瘤免疫治疗新途径并开展树突状细胞疫苗临床试治晚期肿瘤患者III期临床试验。以通信作者发表SCI收录论文250余篇,其中包括*Nature*(2篇)、*Science*(4篇论文,2篇评述)、*Cell*(5篇)。论文SCI他引10 000多次。以第一完成人获国家自然科学二等奖1项(2003年)、上海市自然科学一等奖3项、中国高校十大科技进展5项,曾获何梁何利科学与技术进步奖、教育部长江学者成就奖、中国青年科学家奖、中国工程院光华工程科技奖、中国科学院陈嘉庚科学奖等。获得国家发明专利20余项,获得国家II类新药证书2个。任*Cell*、*Immunity*、*eLife*、*Cell Res*等杂志编委,任*Cell Mol Immunol*共同主编、*Cancer Immunol Res*副主编、中华医学杂志主编、中国肿瘤生物治疗杂志主编。



**顾炎** 博士、副教授、硕士生导师。主要从事促进肿瘤转移前微环境形成的免疫细胞亚群和关键分子的发现和鉴定研究。承担国家自然科学基金项目及上海市青年科技启明星项目,参与国家重点研发计划子课题、上海市科委项目等多项课题。以第一(含共同第一)作者发表SCI论文5篇,总影响因子92.24分,单篇最高32.62分。发现B细胞能够通过分泌病理性抗体促进肿瘤淋巴结转移,研究成果发表于*Nature Med*;发现宿主肺上皮细胞模式识别受体TLR3通过促进中性粒细胞在肺部的募集,诱导肿瘤转移前微环境形成及肿瘤肺转移,研究成果发表在*Cancer Cell*,相关研究入选“*Cell*杂志社2016中国年度论文”,入选中国科学院《2017科学发展报告》并以第一作者撰写其中的“中国科研代表性成果”,以第一作者撰写《中国医学科技发展报告2019》中的“2018年国内免疫学进展”,参与发表包括*Nature*、*Cell*在内的多篇论文。研究成果多次在全国及国际免疫学大会报告,获得2017年上海市免疫学会优秀论文奖、2017年“中国免疫学青年学者奖”,2019年被评为上海市“青年科技启明星”。

**[摘要]** 随着新技术的发展以及研究模式的创新,肿瘤免疫的研究迎来了飞速发展,肿瘤免疫治疗也取得了令人瞩目的临床疗效,共同推动了肿瘤免疫学从机制研究到临床转化、从单一学科到多学科融合的整体提升。然而,肿瘤免疫学研究依然面临着诸多挑战,如临床肿瘤的动物模型复制、肿瘤内在调控的复杂性及其与宿主微环境的关系、免疫治疗靶点的筛选及疗效预测,这些问题限制了肿瘤免疫的深入发展及进一步应用,但也给基础与临床免疫学研究者带来了新的研究机遇。因此,本文从研究模式的转变、研究机制的创新、研究方向的拓展、治疗靶点的筛选与评估、研究技术的革新与应用等五个方面,总结并展望了肿瘤免疫与免疫治疗的研究现状及面临的挑战。

**[关键词]** 肿瘤;肿瘤免疫;免疫治疗;免疫调控;肿瘤微环境;免疫检查点

**[中图分类号]** R730.51 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2021)01-0001-10

**[基金项目]** 国家科技重大专项课题资助项目(No.2017ZX10203206-002);国家自然科学基金资助项目(No.81972683);上海市青年科技启明星计划资助项目(No.19QA1411300)。Project supported by the National Science and Technology Major Project (No.2017ZX10203206-002), the National Natural Science Foundation of China (No.81972683), and the Shanghai Rising-Star Program (No.19QA1411300)

**[作者简介]** 顾炎(1984-),男,博士,副教授,硕士生导师,主要从事免疫学的基础研究,E-mail:guyan@immunol.org

**[通信作者]** 曹雪涛(CAO Xuetao, corresponding author), E-mail: caoxt@immunol.org

## Tumor immunity and immunotherapy: opportunities and challenges

GU Yan, CAO Xuetao (National Key Laboratory of Immunology & Institute of Immunology, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

**[Abstract]** With the development of new technology and the innovation of research mode, tumor immunological research has achieved rapid development, and tumor immunotherapy has also shown remarkable clinical efficacy, jointly promoting the improvement of tumor immunology from mechanism research to clinical transformation and from single discipline to multi-disciplinary integration. However, multiple challenges still exist in tumor immunological research, such as the animal model replication for clinical tumor study, the complexity of tumor intrinsic regulation and its relationship with host microenvironment, and the screening of immunotherapy targets and the prediction of treatment effect. These problems limit the further development and application of tumor immunology, but also bring research opportunities to basic and clinical immunology researchers. Therefore, this review summarizes the research status and challenges as well as looks into the future of tumor immunity and immunotherapy in five aspects: the change of research model, the innovation of mechanism, the exploration of research objects, the screening and evaluation of therapeutic targets, as well as the application and innovation of new technologies.

**[Key words]** tumor; tumor immunity; immunotherapy; immune regulation; tumor microenvironment; immune checkpoint

[Chin J Cancer Biother, 2021, 28(1): 1-10. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2021.01.001]

肿瘤免疫及免疫治疗是近年来肿瘤学及免疫学研究中受到极大关注的领域。肿瘤免疫治疗,尤其是免疫检查点阻断疗法与CAR-T细胞治疗等,在肿瘤治疗中取得了令人瞩目的效果,为重新审视并发掘免疫系统在肿瘤发生发展中的作用提供了极好的机遇<sup>[1-2]</sup>。在层出不穷的创新成果以及与日俱增的国际竞争面前,如何聚焦方向、形成自身的特色与创新,取得受国际同行认可的原创性理论创新和突破性科研成果,是目前面临的亟待解决的重要问题。年末岁初,总结过往,展望未来,从研究模式的转变、研究机制的创新、研究方向的拓展、治疗靶点的筛选与评估、研究技术的革新与应用等五个方面,系统总结了肿瘤免疫与免疫治疗的研究现状及挑战。

### 1 研究模式的转变:推进从临床到动物模型再到临床的研究模式

#### 1.1 研究的现状

动物模型成功模拟了肿瘤的发生、发展及转移过程,是肿瘤研究的利器。目前,动物肿瘤的模式主要分为接种(原位及异位)与自发性肿瘤模型<sup>[3]</sup>。通常采取的策略是动物模型中发现现象、做机制研究,最后临床验证,即“模型研究到临床验证”的模式。然而,动物模型最大的问题在于使用的肿瘤模型往往不能很好地复制临床肿瘤的组织复杂性及遗传异质性<sup>[4]</sup>,从而导致研究的不一致性,尤其是很多在动物模型研究中有效的治疗方法,在临床实际应用中没有效果。因此,推进“从临床到动物模型再到临床”的模式转变十分必要,即从临床发现现象,到动物模型构建、体外机制研究,再到临床

样本研究验证。

在机制研究方面,为更好地验证动物模型实验结果,可以在人的肿瘤细胞系中验证,也可以把人的肿瘤细胞系或肿瘤组织接种到免疫缺陷小鼠体内进行验证。随着3D组织培养技术的发展,全新的肿瘤体外模型不断开发应用。人们能够在三维的框架里,诱导组织分离的具有干性的细胞分化生长成为类器官(organoid)<sup>[5]</sup>。与其他临床模型相比,类器官极好地模拟了肿瘤微环境的异质性,可应用于寻找个体化抗肿瘤疗法,比如化合物库的筛选;体外对免疫细胞进行激活,再应用到患者体内,寻找和筛选肿瘤免疫疗法<sup>[6-7]</sup>。此外,类器官可以研究肿瘤发生发展中肿瘤突变的出现和积累过程;协助阐明病原体与肿瘤病变之间的联系,建立肿瘤发病模型;利用CRISPR/Cas9等技术,筛选肿瘤发生的重要遗传学基础;还可以与免疫细胞和成纤维细胞等共培养,模拟肿瘤微环境<sup>[8-10]</sup>。近期研究<sup>[11]</sup>表明,肿瘤类器官在组织学特征、细胞多样性、基因表达和突变等方面与母本肿瘤间具有极高的相似性,可用于药敏实验,以及通过建立CAR-T等免疫治疗模型来制定个性化治疗。因此,肿瘤类器官具有很好的基础研究和临床应用前景。

#### 1.2 面临的挑战

1.2.1 肿瘤异质性是临床研究的最大难点 临床肿瘤样本的异质性是临床研究遇到的最大困难。这种异质性不但体现在具有不同遗传背景的患者之间,每个患者的肿瘤内部也表现出很大的异质性<sup>[12]</sup>。因此,聚焦具体肿瘤亚型、扩大肿瘤样本和合理利用统计学方法十分必要。尤其是在肿瘤类型的选择



上,找到多种肿瘤共性固然最好,但一种肿瘤、一种亚型采取一种策略,也是非常有意义。

1.2.2 目前的研究模型难以模拟肿瘤微环境 如前所述,类器官等临床研究模型还面临着一些挑战。如缺乏肿瘤微环境,很难模拟肿瘤细胞与微环境细胞间的相互作用。人源化小鼠的利用在一定程度上可解决这个问题,可以利用该小鼠结合类器官、肿瘤组织接种等模拟肿瘤微环境<sup>[13]</sup>。此外,提高效率并降低模型构建时间,以及开发高通量药物和免疫治疗筛选的方法也是模型研究的重点。

1.2.3 动物模型无法模拟临床现象 这也是对临床现象进行深入机制研究中遇到的很大困难。临床现象多种多样,往往出乎意料,但很多现象在小鼠模型上很难复制。小鼠模型有助于机制的阐述,但如果没有合适的小鼠模型也非无路可走。借助于肿瘤体外以及人源化小鼠模型,也可以很好地阐述机制。

## 2 研究机制的创新:肿瘤内在分子调控与宿主免疫微环境

### 2.1 研究的现状

2.1.1 肿瘤基因突变影响免疫微环境 癌基因的激活或抑癌基因的突变不仅对肿瘤细胞本身有内在的影响,还可以对肿瘤与宿主细胞间的相互作用产生影响,参与塑造肿瘤免疫微环境<sup>[14-15]</sup>。肿瘤发生发展过程中的常见突变基因可以参与免疫细胞的募集、激活或抑制。

抑癌基因 p53 的突变可以通过调节炎症性信号通路及免疫细胞的募集来调节肿瘤的免疫微环境<sup>[16]</sup>。p53 的突变或功能缺失可引起核因子  $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B) 信号激活,促进细胞因子的分泌,招募和激活肿瘤相关巨噬细胞等免疫细胞<sup>[17]</sup>;通过激活 ROS,突变的 p53 可以激活 JAK-STAT 信号通路,从而募集巨噬细胞、中性粒细胞等,抑制 CD8<sup>+</sup> T 细胞功能<sup>[18]</sup>。癌基因 MYC 可以诱导 CCL9 和 IL-23 表达,CCL9 介导巨噬细胞的募集、血管生成及 T 细胞、B 细胞的功能失调,IL-23 抑制 NK 细胞和 T 细胞在肿瘤中的聚集<sup>[19]</sup>;激活的 MYC 通过 CCL5 和 IL-1 $\beta$  触发肥大细胞向肿瘤部位的快速募集和激活<sup>[20]</sup>;此外,MYC 可以直接与 CD47 和 PD-L1 基因的启动子结合,抑制 T 细胞和巨噬细胞的抗肿瘤免疫功能<sup>[21]</sup>。突变的 KRAS 通过肿瘤细胞分泌的 GM-CSF 促进中性粒细胞向肿瘤募集<sup>[22]</sup>。肿瘤细胞中 Notch 的异常活化诱导促炎细胞因子 IL-1 $\beta$  和 CCL2 的表达,促进肿瘤相关巨噬细胞的募集<sup>[23]</sup>。WNT/ $\beta$ -catenin 通路的激活可以通过抑制 CCL4、CCL5 等趋化因子的分泌,抑制树突状细胞(dendritic cell, DC)的迁移和 CD8<sup>+</sup> T 细胞的激活,甚至影响免疫治疗效果(如

PD-1 抑制剂治疗)<sup>[24]</sup>。抑癌基因 PTEN 的缺失促进 NF- $\kappa$ B 介导的多种细胞因子的分泌,诱导巨噬细胞、中性粒细胞和调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)在肿瘤中募集<sup>[25]</sup>。

因此,研究肿瘤内在基因突变及功能缺失,有助于阐述肿瘤免疫微环境形成的机制,在一定程度上可以解释不同类型肿瘤之间及肿瘤内部在免疫细胞浸润和激活方面的异质性。

2.1.2 肿瘤代谢重塑与免疫微环境 细胞代谢是调控能量(ATP)产生和生物大分子(核苷酸、氨基酸和脂质等)合成等的重要生命过程<sup>[26]</sup>。线粒体在代谢过程中发挥重要作用,其中的氧化葡萄糖、氨基酸和脂肪酸通过三羧酸循环来产生 ATP,并促进糖、氨基酸和脂肪酸三大代谢物的相互转化<sup>[27]</sup>。脂肪酸合成和脂肪酸氧化为细胞储存、获取能量,也参与细胞膜的产生和脂质信号转导<sup>[28]</sup>。氨基酸中,谷氨酰胺是氮的重要来源,可以合成非必需氨基酸。此外,包括丝氨酸、甘氨酸、支链氨基酸和乳酸在内的代谢产物可以作为能量产生和合成代谢过程的原料<sup>[29]</sup>。

肿瘤代谢异常是肿瘤发生发展的重要特征之一<sup>[30]</sup>。与正常细胞葡萄糖代谢的氧化磷酸化途径相比,肿瘤细胞偏好于有氧糖酵解途径(也称为 Warburg 效应),即利用丙酮酸到乳酸的转化来产生 ATP<sup>[31]</sup>。同时,葡萄糖衍生产生的碳作为重要的碳源,通过代谢中间产物,转变成其他含碳化合物,提供肿瘤细胞增殖所需的物质来源,实现细胞 ATP 生成与生物大分子合成的平衡,称为肿瘤的代谢重编程(metabolic reprogramming)<sup>[32]</sup>。

肿瘤的代谢重编程调控肿瘤免疫微环境是目前的研究热点。肿瘤细胞通过对肿瘤微环境中营养物质的竞争性消耗、代谢产物的抑制作用等因素重塑肿瘤免疫微环境<sup>[33]</sup>。肿瘤细胞可以竞争性消耗微环境中的葡萄糖,从而抑制有效的抗肿瘤免疫,如 T 细胞、NK 细胞、巨噬细胞和 DC 的功能。葡萄糖减少能通过 IRE1 $\alpha$ -XBP1 反应途径抑制线粒体呼吸和细胞因子产生,抑制 CD8<sup>+</sup> T 细胞的产生和功能<sup>[34]</sup>。细胞毒性细胞,如 CD8<sup>+</sup> T 细胞和 NK 细胞,在谷氨酰胺、丝氨酸、甘氨酸或支链氨基酸减少的情况下,杀伤功能受到明显抑制<sup>[35]</sup>。近期研究<sup>[36]</sup>表明,肿瘤竞争性地消耗甲硫氨酸,通过影响 T 细胞组蛋白修饰导致其功能受损。微环境中葡萄糖和谷氨酰胺的减少能通过抑制 T 细胞中 UDP-N-乙酰基葡萄糖胺的合成而促进 Treg 细胞的发育<sup>[37]</sup>。肿瘤代谢过程中产生的代谢产物(如乳酸)也能抑制免疫细胞的功能。肿瘤细胞产生的乳酸作为糖酵解产物,通过诱导血管内皮生长因子的表达和肿瘤相关巨噬细胞的 M2 样极化,促进肿

瘤发展<sup>[38]</sup>;微环境中累积的乳酸抑制T和NK细胞中活化T细胞核因子的上调,导致 $\gamma$ 干扰素产生减少、抑制T细胞和NK细胞的功能和存活,从而介导肿瘤免疫逃逸<sup>[39-40]</sup>。

此外,肿瘤微环境中浸润的免疫细胞本身可以降低微环境中的营养物质水平。例如,葡萄糖可以被调节性DC、髓源性抑制细胞(myeloid-derived suppressor cell, MDSC)和肿瘤邻近内皮细胞高度利用,形成免疫抑制性微环境<sup>[41]</sup>。此外,通过竞争葡萄糖,Treg细胞可以诱导CD4<sup>+</sup>T和CD8<sup>+</sup>T细胞的凋亡<sup>[42]</sup>。另外,免疫抑制性细胞可能通过代谢物的积累抑制有效的抗肿瘤免疫功能。例如,Treg细胞因氧化应激诱导凋亡后,大量释放ATP并转化为腺苷,并通过腺苷和A2A途径阻断抗肿瘤T细胞免疫<sup>[43]</sup>。MDSC通过二巯基甲基乙二醛介导T细胞功能抑制,影响肿瘤免疫治疗效应<sup>[44]</sup>。

## 2.2 面临的挑战

深入研究肿瘤基因变化和免疫微环境之间的关系及潜在机制,可能为抗肿瘤免疫治疗提供新的靶点。然而,大多数研究集中在一个特定的癌基因或抑癌基因上,或集中在原发肿瘤上,缺乏对相关基因相互作用网络的了解,以及对于整个宿主微环境的解析。

在肿瘤代谢研究方面,其代谢动态变化和异质性以及检测手段的缺乏是目前研究的最大难点。肿瘤代谢容易受到环境因素的影响,肿瘤与肿瘤之间、甚至肿瘤不同组织区域间都存在代谢的异质性和动态变化。因此,寻找合适的时间点以及体外检测技术,研究复杂环境及肿瘤内在因素对肿瘤代谢表型的影响成为重大挑战。其次,研究手段的缺乏也是重要的限制因素。目前,检测肿瘤细胞的代谢状态往往依赖以质谱技术为基础的代谢组学检测,检测的可重复性以及后期的验证存在困难。

## 3 研究方向的拓展:宿主微环境与肿瘤转移及转移器官选择性

### 3.1 研究的现状

肿瘤的转移是肿瘤学研究的热点与难点。“种子和土壤”假说揭示了微环境这一“土壤”对于肿瘤转移形成的必要性<sup>[45]</sup>。原位肿瘤可以在肿瘤转移前通过分泌性物质诱导骨髓来源的细胞募集到转移靶器官中,形成转移前微环境(pre-metastatic niche)<sup>[46]</sup>。循环肿瘤细胞到达靶器官后,微环境提供了定植、生存信号、逃避免疫监视和代谢支持,保护肿瘤干细胞表型和细胞可塑性而不受分化信号的影响。而后,微环境通过提供生存信号、促进肿瘤细胞的免疫逃

逸等,可以进一步促进肿瘤转移<sup>[47]</sup>。

肿瘤可以在诸多不同器官中形成转移,如淋巴结、肺、肝、骨及脑等,这涉及肿瘤转移的又一重大科学问题——转移器官选择性<sup>[48]</sup>。不同肿瘤具有不同器官转移的偏好,同一肿瘤转移到不同器官的预后不一样,这与异质性免疫微环境,即不同的器官有不同的组织定居和募集的免疫细胞有关。例如,转移性尿路上皮癌中,转移到肝的肿瘤往往预后较差,而转移到淋巴结的肿瘤更有可能对治疗产生反应<sup>[45]</sup>。肝是免疫耐受器官,诱导产生免疫抑制相关MDSC和肝巨噬细胞(Kupffer细胞),从而抑制CD8<sup>+</sup>和CD4<sup>+</sup>效应T细胞的激活<sup>[49]</sup>。肿瘤肝转移对免疫治疗的反应较差,患者生存期较短,这与CD8<sup>+</sup>T细胞在肝中浸润减少,功能受抑制有关。最新研究<sup>[50]</sup>表明,肿瘤肝转移从体循环虹吸大量激活的CD8<sup>+</sup>T细胞,活化的抗原特异性Fas<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T细胞在肝内与FasL<sup>+</sup>巨噬细胞相互作用后发生凋亡。骨微环境中,休眠的肿瘤细胞表达DKK1(Dickkopf-1)以抑制Wnt信号,抑制增殖相关抗原,逃逸NK细胞的杀伤<sup>[51]</sup>。同时,适应性免疫的抑制也促进骨转移微环境的形成。例如,浆细胞样DC促进Th2型反应,抑制CD8<sup>+</sup>T细胞功能,促进Treg成熟和功能<sup>[52]</sup>。

肺也是多种肿瘤转移的常见部位,也是转移前微环境研究的热点。肺基质细胞在原位肿瘤的驯化下,分泌趋化因子等募集骨髓来源细胞,促进肺基质重塑,介导免疫抑制性微环境形成,有利于循环肿瘤细胞在肺部的定植,进而促进肿瘤肺转移的形成<sup>[53]</sup>。肺泡II型上皮细胞分泌趋化因子,从而招募中性粒细胞<sup>[54]</sup>。中性粒细胞在肺微环境中的功能备受关注,其通过依赖花生四烯酸5-脂氧合酶合成白三烯,支持白三烯B4受体2阳性肿瘤细胞的增殖和定植<sup>[55]</sup>。中性粒细胞也可分泌组织蛋白酶G和中性粒细胞弹性蛋白酶来降解抗肿瘤因子血小板反应素1,从而促进肺转移<sup>[56]</sup>。此外,肺中极化的中性粒细胞可以抑制CD8<sup>+</sup>T细胞的激活,从而抑制抗肿瘤免疫<sup>[57]</sup>。在肿瘤细胞定植后,能够在肺微环境中存活至关重要。VEGFR1<sup>+</sup>骨髓来源造血祖细胞表达的VLA-4与肿瘤诱导的成纤维细胞中的纤维连接蛋白(VLA-4配体)相互作用,为肿瘤细胞提供了适宜的生存土壤<sup>[58]</sup>。肿瘤细胞还利用成纤维细胞产生骨膜蛋白和肌腱蛋白C,诱导Wnt和Notch信号,促进肿瘤细胞存活<sup>[59-60]</sup>。

因此,研究转移靶器官中不同的微环境对于肿瘤转移的影响,尤其是单细胞测序等新技术的引入,有助于更好地理解微环境如何调节细胞的可塑性和



免疫逃逸,有利于阐述肿瘤转移的机制,为转移到不同器官的肿瘤提供不同的治疗策略。

### 3.2 面临的挑战

同样,肿瘤转移微环境的研究面临着诸多挑战:一是不同器官的微环境不一样,细胞组成各异,构成复杂的调控网络,很难找到普遍适用的转移规律,很难单独对其中某一亚群进行研究。二是同一细胞存在表型和功能的高度可塑性,在不同部位、转移的不同阶段的功能变化较大,存在极化现象。例如中性粒细胞,在肿瘤早期和后期的功能以及作用机制都不一样。三是获取临床转移样本非常困难,尤其是在研究转移前微环境,因为转移前组织很难检测,而且通常不会被切除。而转移后的肿瘤组织,多由于处于肿瘤晚期,而失去手术机会。

## 4 治疗靶点的筛选与评估:新抗原、新靶点与有效性

### 4.1 研究的现状

4.1.1 寻找肿瘤新抗原 肿瘤抗原的寻找对于肿瘤免疫至关重要。最常研究的肿瘤特异性抗原(tumor specific antigen, TSA)为非同义单核苷酸变异(single nucleotide variant, SNV)新抗原。其他受到关注的肿瘤抗原来源于基因融合、可变剪接、突变框架移位、内源性逆转录病毒(endogenous retrovirus, ERV)等<sup>[61]</sup>。

SNV新抗原备受关注,其会导致蛋白质的非同义变化,从而触发抗原特异性T细胞反应,其作为肿瘤新抗原具有一定的优势<sup>[62]</sup>。但它们作为疫苗靶点的适用性可能仅限于免疫原性较高的肿瘤,如黑色素瘤等。与SNV新抗原不同,可供选择的TSA不一定局限于基因外显子。肿瘤抗原负荷的预测证明,一些SNV低的肿瘤含有高选择性TSA的表达。例如,透明细胞肾细胞癌是一种免疫检查点抑制剂敏感的肿瘤,具有较低的SNV负荷,但高表达移码突变新抗原和肿瘤特异性ERV抗原<sup>[63]</sup>。因此,研究更多种类的TSA可拓宽治疗性疫苗和免疫治疗效果评估的范围和数量。

ERV存在于多种肿瘤中,其与肿瘤的发生和发展密切相关(如黑色素瘤、卵巢癌、前列腺癌和肾癌等)<sup>[64]</sup>。这些肿瘤富集的ERV可以通过多种机制激活固有和适应性免疫系统。ERV信号通过固有免疫识别受体(如RIG-I)识别病毒RNA,引起下游NF- $\kappa$ B活化和I型干扰素释放,介导炎症反应<sup>[65]</sup>。此外,ERV源性蛋白抗原可诱导B细胞和T细胞介导的适应性免疫反应。因此,肿瘤特异性ERV抗原可用于抗肿瘤细胞治疗和治疗性疫苗,ERV的表达也与临床预后和免疫治疗应答均有很强相关性。近期,多项研究揭示了

肿瘤细胞ERV表达的调控机制。由甲基转移酶METTL3-METTL144蛋白复合物介导的m<sup>6</sup>A RNA甲基化能够抑制肿瘤细胞ERV的表达<sup>[66]</sup>。组蛋白去甲基酶LSD1促进了肿瘤细胞ERV在内的重复元件的表达,导致I型干扰素的激活,从而刺激抗肿瘤T细胞免疫并抑制肿瘤生长<sup>[67]</sup>。

4.1.2 靶向免疫微环境的肿瘤免疫治疗 肿瘤免疫治疗,如免疫检查点阻断疗法、CAR-T细胞治疗等,在肿瘤治疗中取得了较好的效果,提高了部分患者的长期生存率<sup>[68]</sup>。因此,通过靶向肿瘤微环境中的T细胞、髓系细胞和其他细胞来调节抗肿瘤免疫成为目前研究的重点。免疫检查点阻断疗法是近年来肿瘤免疫治疗最为突出的进展,在多种肿瘤中取得了显著疗效,这也驱使研究者寻找更多的免疫检查点分子、研究调控免疫检查点分子表达的机制、寻找预测和提高免疫检查点阻断疗法效果的新策略,最终使该疗法惠及更多肿瘤患者<sup>[69]</sup>。因此类研究及综述较多,本文不进行详细介绍。

4.1.3 寻找预测和提高肿瘤免疫治疗效果的新策略 针对CTLA4或PD-1(PD-L1)的免疫检查点阻断疗法在治疗不同类型肿瘤方面取得了较大突破。然而,只有一部分患者能从中受益。因此,解析免疫治疗抵抗的驱动因素、寻找预测指标至关重要。免疫检查点抑制剂疗效受多种因素的影响,这些因素涉及肿瘤基因组学、宿主遗传学、PD-L1水平、肿瘤微环境以及肠道微生物等<sup>[70]</sup>。

此外,利用新技术解析肿瘤微环境中免疫细胞的异质性,对于开发针对免疫细胞的靶向治疗及预测免疫检查点阻断疗法的效果具有重要的指导意义。以单细胞测序为代表的新技术的发展极大地推动了该领域研究。北京大学张泽民课题组<sup>[71-72]</sup>利用Smart测序技术(Smart-seq)绘制了肺癌和结肠癌中T细胞在单细胞水平的免疫图谱,全面分析了肿瘤浸润T细胞的亚群特征、细胞异质性、组织分布以及药物靶基因的表达,揭示了T细胞在肿瘤微环境中的动态变化。近期,*Nature*发表了来自三家研究机构的关于B淋巴细胞与三级淋巴结构的研究<sup>[73-75]</sup>,发现肿瘤组织中的CD20阳性B细胞和三级淋巴结构密度,以及三级淋巴结构和肿瘤面积比是肿瘤免疫疗法新的预测因子,尤其是在治疗早期阶段。

### 4.2 面临的挑战

测序技术等大规模筛选技术的发展,完善了肿瘤新抗原预测体系,指导后续的免疫治疗。因此,不断革新测序技术寻找合适的抗原、完善参照数据库及评判指标是做好肿瘤抗原预测的关键因素。此外,很多测序预测的抗原并不能被有效地翻译成蛋

白抗原,这也是为什么某些肿瘤的测序预测与实际治疗效应不一致的原因<sup>[61]</sup>。

基于肿瘤微环境的免疫治疗是目前的研究热点,也存在很多悬而未决的问题。例如,为什么只是一部分患者对免疫治疗有效?如何对肿瘤患者进行预筛选以判断免疫治疗的适用性及效果?如何破解肿瘤异质性限制免疫治疗疗效的难题?等等。肿瘤微环境的复杂性以及肿瘤患者的异质性,决定了不能用单一的生物标志物来预测肿瘤免疫治疗的效果。因此,需要建立一个囊括肿瘤-宿主相互作用的多参数的预测模型<sup>[76]</sup>。预测模型需要结合不同类型的数据进行评估,如肿瘤基因组测序、RNA测序以及用于评价PD-L1表达、其他检查点分子表达和反映肿瘤微环境特征的免疫组化检测等。

## 5 研究技术的革新与应用:推进肿瘤研究的不竭动力

随着基因组学、转录组学、蛋白组学、代谢组学等领域新技术的不断发展,尤其是单细胞水平的组学技术,推动着肿瘤免疫学研究从全景式的大规模筛选到单细胞水平的精细检测。此外,多维度、多指标以及活体内成像技术的发展,也极大地推动了细胞间空间定位以及免疫反应的可视化研究。

### 5.1 肿瘤微环境的单细胞研究

5.1.1 单细胞转录组和基因组研究 单细胞转录组测序已成为肿瘤学研究的重要工具。单细胞测序在单细胞水平分析细胞的基因表达特征,根据特征性基因表达,解释新的细胞亚群。目前,主流的商业化单细胞测序方法是Smart-seq2和10×Genomics<sup>[77]</sup>。

单细胞表观基因组学技术与RNA表达和单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism,SNP)数据结合,以确定表观遗传学在基因精确调控中的作用。最近,已研发了大规模平行测序技术,分析单个细胞的表观基因组学,可以超高分辨率了解表观基因组异质性。此外,单细胞多参数法的发展可在单个细胞水平同时分析表观基因组和转录组改变<sup>[78]</sup>。如染色质转座酶可接近性单细胞测序分析(single cell assay for transposase accessible chromatin-seq,scATAC-seq)<sup>[79]</sup>、单细胞亚硫酸氢盐测序(single-cell bisulfite sequencing,scBS)<sup>[80]</sup>或单细胞全基因组亚硫酸氢盐测序(single-cell whole genome bisulfite sequencing,scWGBS)<sup>[81]</sup>。对同一细胞中多个调控水平的分析也是一个快速发展的领域。单细胞甲基化组和转录组测序(single-cell methylome and transcriptome sequencing,scM&T)可使用Smart-seq2和scBS技术在单个细胞水平进行表观遗传学和基因表达模式平行分析。scM&T基于基因组和转录组测序

(genome and transcriptome sequencing,G&T-seq)构建,但不使用多重置换扩增(multiple displacement amplification,MDA)技术进行DNA测序,而是使用scBS来解读DNA甲基化模式<sup>[82]</sup>。其他应用于单个细胞分析的空间转录组学(spatial transcriptomics)技术,如荧光原位测序、序贯荧光原位杂交或多重抗误差校正荧光原位杂交技术等,是另一个快速发展的领域,揭示了空间维度上肿瘤微环境中各组织类型的细胞群体的变化<sup>[83]</sup>。

5.1.2 单细胞蛋白质组学 单细胞蛋白质组学是另一个备受关注的领域。虽然目前还没有用于全蛋白组水平分析的商业检测方法,但已经开发了几种用于单细胞高参数蛋白质分析的技术。质谱流式细胞技术(cytometry by time-of-flight, CyTOF)是利用质谱原理对单细胞进行多参数检测的流式技术,其利用重金属偶联抗体,通过飞行时间电感耦合等离子体质谱分析来定量蛋白质表达。CyTOF结合了传统流式细胞仪的高速分析特征以及质谱检测的高分辨能力,是流式细胞技术发展的新方向<sup>[84]</sup>。空间蛋白组学研究平台CODEX (CO-detection by IndEXing)通过将抗体标记上核酸序列标签,可以在组织切片上进行多抗体的标记,经高分辨率的显微成像,继而对实验图像进行深度挖掘和数据分析,实现肿瘤微环境多参数的深度解析<sup>[85]</sup>。

### 5.2 肿瘤微环境的可视化研究

5.2.1 多重组织成像技术 组织成像的优势是能看到肿瘤及微环境组织原位发生的变化及空间定位关系,这是其他细胞学研究技术所欠缺的,其主要技术有如下四种。

(1)基于酪酰胺信号放大技术的多色免疫荧光:该技术是基于酪酰胺的信号放大技术,能够显著提高检测的灵敏度。同时,该技术可以与其他信号放大系统或传统标记方法联合使用,用于RNA、蛋白质共定位的相关研究<sup>[86]</sup>。

(2)RNAscope:该技术是一种新型RNA原位杂交技术,是组织细胞原位检测RNA的有效工具。RNAscope技术拥有独特的探针设计与背景抑制技术,并且融合传统RNA原位杂交技术与FISH技术的优点,实现单个RNA转录的可视化<sup>[87]</sup>。

(3)CODEX空间蛋白组学研究平台:CODEX技术可以在组织切片上进行多抗体的同时标记,结合高分辨率的显微成像技术,并对实验图像进行深度挖掘和数据分析,实现肿瘤微环境多参数的深度解析<sup>[85]</sup>。

(4)质谱流式组织成像:Hyperion组织质谱成像系统是基于成像质谱流式(imaging mass cytometry, IMC)的技术,由CyTOF发展而来。其与激光刻蚀等技



术相结合,能更加有效地识别、鉴定组织微环境中的生物标志物,在蛋白质定位、蛋白质表达及其相互作用、细胞类型识别、不同细胞在空间组织结构中的相互关系等研究中发挥重要的作用<sup>[88]</sup>。最新研究<sup>[89]</sup>绘制了乳腺癌的单细胞病理学图谱,使用质谱流式组织成像技术同时量化35种标志物,从而获得乳腺癌患者肿瘤组织的多维病理图像;该研究在单细胞水平确定了肿瘤和间质细胞的表型、组织结构和异质性,揭示了肿瘤微环境中的多种细胞特征,并发现了与临床预后相关的乳腺癌新亚群。

5.2.2 活体内细胞的可视化 活体动物光学成像主要基于生物发光与荧光技术,采用分子影像方法评估活体细胞的增殖、存活等生物学行为及其与其他细胞的相互作用。目前,应用较多的是双光子活体成像技术<sup>[90]</sup>。双光子荧光显微镜具有光漂白性小、穿透能力强、分辨率高、多标记检测等多种特点,适用于小动物活体光学成像,在肿瘤生物学、免疫细胞相互作用、免疫治疗可视化等研究中有广泛应用<sup>[91]</sup>。

### 5.3 面临的挑战

单细胞技术在过去几年里发展迅速,但依然存在着一些问题。目前,多种技术在细胞捕获方法、文库制备和测序结果解析方面各不相同。大多数的方案需要单细胞悬液,所以首先要考虑是优化肿瘤分离方法,产生细胞悬液。实体肿瘤的消化会对肿瘤基因表达产生影响,也消除了肿瘤组织的空间信息。细胞群体通常通过后续的原位分析或者流式细胞术等进行验证,但会出现基因表达与蛋白表达不一致的情况,很多低丰度表达的基因往往检测不到,掩盖了某些关键信息。同时,对单细胞测序数据的分析需要专业的生物信息学方法,目前尚无统一的计算方法,甚至是可参照的基因组,为细胞亚群分析带来困难。因此,对于数据的深度挖掘还有所欠缺,没有发现真正不同于以往的细胞亚群,对细胞亚群的功能研究不够。

针对组织成像技术,几种技术的区别就在于抗体偶联的检测基团不一样。其面临的主要问题是抗体的特异性,如何选择合适的抗体至关重要。相对于质谱流式成像CODEX技术的成本较低,但由于其每轮染色的抗体数量有限,操作比较繁琐,耗时较长。质谱流式成像的问题与质谱流式类似,还存在扫描的速度慢、区域小的问题。活体内细胞成像的瓶颈主要在于活体内的分辨率低以及细胞标记技术不成熟。目前的显微镜检测技术很难在检测深度上有所突破,然而,选择强度高、穿透力强、相互干扰小的荧光染料或者蛋白的范围有限,这也是限制活体内

成像技术进一步应用的主要障碍。

## 6 结 语

随着新技术的不断涌现与革新及不同学科间交叉融合的日益紧密,肿瘤免疫研究迎来了飞速的发展,使得不仅对基础理论有了更加深入的认识,在免疫相关疾病发病机制研究、临床转化方面也取得重大进展。但是,肿瘤免疫研究依然面临着诸多难题,需要从基础理论方面对肿瘤发生发展机制及与肿瘤微环境的关系进行更深入的探讨。如今,多学科之间的交叉拓展了肿瘤免疫学研究突破的空间,催生了新理论与新方向,例如系统生物学应用于肿瘤免疫学研究,表观及代谢等调控阐述肿瘤免疫反应原理,新型交叉学科(神经内分泌免疫学等)的出现。此外,新的技术层出不穷,尤其是以基因组学、转录组学、蛋白组学、代谢组学为代表的组学技术以及单细胞测序技术,从广度和精度上提升了肿瘤免疫学研究的空间,为免疫反应机制研究、免疫细胞新亚群的发现等提供了极好的研究手段。展望未来,机遇与挑战并存,虽道路荆棘,但恰逢其时、大有可为。

## [参 考 文 献]

- [1] GALON J, BRUNI D. Tumor immunology and tumor evolution: intertwined histories[J]. *Immunity*, 2020, 52(1): 55-81. DOI: 10.1016/j.immuni.2019.12.018.
- [2] MELERO I, BERMAN D M, AZNAR M A, et al. Evolving synergistic combinations of targeted immunotherapies to combat cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2015, 15(8): 457-472. DOI: 10.1038/nrc3973.
- [3] GENGENBACHER N, SINGHAL M, AUGUSTIN H G. Preclinical mouse solid tumour models: status quo, challenges and perspectives [J]. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17(12): 751-765. DOI: 10.1038/nrc.2017.92.
- [4] OLSON B, LI Y D, LIN Y, et al. Mouse models for cancer immunotherapy research[J]. *Cancer Discov*, 2018, 8(11): 1358-1365. DOI:10.1158/2159-8290.CD-18-0044.
- [5] BAR-EPHRAIM Y E, KRETZSCHMAR K, CLEVERS H. Organoids in immunological research[J]. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20(5): 279-293. DOI:10.1038/s41577-019-0248-y.
- [6] YAN H H N, SIU H C, HO S L, et al. Organoid cultures of early-onset colorectal cancers reveal distinct and rare genetic profiles[J]. *Gut*, 2020, 69(12): 2165-2179. DOI:10.1136/gutjnl-2019-320019.
- [7] GANESH K, WU C, O'ROURKE K P, et al. A rectal cancer organoid platform to study individual responses to chemoradiation [J/OL]. *Nat Med*, 2019, 25(10): 1607-1614[2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7385919/>. DOI: 10.1038/s41591-019-0584-2.
- [8] MICHELS B E, MOSA M H, STREIBL B I, et al. Pooled in vitro and in vivo CRISPR-Cas9 screening identifies tumor suppressors in human colon organoids[J]. *Cell Stem Cell*, 2020, 26(5): 782-792.e7. DOI:10.1016/j.stem.2020.04.003.

- [9] SUN L L, WANG Y Q, CEN J, et al. Modelling liver cancer initiation with organoids derived from directly reprogrammed human hepatocytes[J]. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(8): 1015-1026. DOI: 10.1038/s41556-019-0359-5.
- [10] NEAL J T, LI X N, ZHU J J, et al. Organoid modeling of the tumor immune microenvironment[J/OL]. *Cell*, 2018, 175(7): 1972-1988. e16[2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6656687/>. DOI:10.1016/j.cell.2018.11.021.
- [11] JACOB F, SALINAS R D, ZHANG D Y, et al. A patient-derived glioblastoma organoid model and biobank recapitulates inter-and intratumoral heterogeneity[J/OL]. *Cell*, 2020, 180(1): 188-204.e22[2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7556703/>. DOI:10.1016/j.cell.2019.11.036.
- [12] MARUSYK A, JANISZEWSKA M, POLYAK K. Intratumor heterogeneity: the Rosetta stone of therapy resistance[J/OL]. *Cancer Cell*, 2020, 37(4): 471-484[2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7181408/>. DOI:10.1016/j.ccell.2020.03.007.
- [13] DE LA ROCHERE P, GUIL-LUNA S, DECAUDIN D, et al. Humanized mice for the study of immuno-oncology[J]. *Trends Immunol*, 2018, 39(9): 748-763. DOI:10.1016/j.it.2018.07.001.
- [14] HOU P P, KAPOOR A, ZHANG Q, et al. Tumor microenvironment remodeling enables bypass of oncogenic KRAS dependency in pancreatic cancer[J]. *Cancer Discov*, 2020, 10(7): 1058-1077. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-19-0597.
- [15] ETXEBERRIA I, TEJEIRA A, MONTUENGA L M, et al. Epistatic oncogenic interactions determine cancer susceptibility to immunotherapy[J]. *Cancer Discov*, 2018, 8(7): 794-796. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-18-0573.
- [16] BLAGIH J, BUCK M D, VOUSDEN K H. p53, cancer and the immune response[J]. *J Cell Sci*, 2020, 133(5): 1-13. DOI: 10.1242/jcs.237453.
- [17] COOKS T, PATERAS I S, TARCIC O, et al. Mutant p53 prolongs NF- $\kappa$ B activation and promotes chronic inflammation and inflammation-associated colorectal cancer[J]. *Cancer Cell*, 2013, 24(2): 272. DOI: 10.1016/j.ccr.2013.07.022.
- [18] WÖRMANN S M, SONG L, AI J Y, et al. Loss of P53 function activates JAK2-STAT3 signaling to promote pancreatic tumor growth, stroma modification, and gemcitabine resistance in mice and is associated with patient survival[J]. *Gastroenterology*, 2016, 151(1): 180-193. DOI:10.1053/j.gastro.2016.03.010.
- [19] KORTLEVER R M, SODIR N M, WILSON C H, et al. Myc cooperates with ras by programming inflammation and immune suppression[J/OL]. *Cell*, 2017, 171(6): 1301-1315. e14[2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5720393/>. DOI:10.1016/j.cell.2017.11.013.
- [20] SOUCEK L, LAWLOR E R, SOTO D, et al. Mast cells are required for angiogenesis and macroscopic expansion of Myc-induced pancreatic islet tumors[J]. *Nat Med*, 2007, 13(10): 1211-1218. DOI: 10.1038/nm1649.
- [21] CASEY S C, TONG L, LI Y L, et al. MYC regulates the antitumor immune response through CD47 and PD-L1[J/OL]. *Science*, 2016, 352(6282): 227-231[2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4940030/>. DOI:10.1126/science.aac9935.
- [22] PYLAYEVA-GUPTA Y, LEE K E, HAJDU C H, et al. Oncogenic Kras-induced GM-CSF production promotes the development of pancreatic neoplasia[J/OL]. *Cancer Cell*, 2012, 21(6): 836-847[2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3721510/>. DOI:10.1016/j.ccr.2012.04.024.
- [23] SHEN Q, COHEN B, ZHENG W Y, et al. Notch shapes the innate immunophenotype in breast cancer[J]. *Cancer Discov*, 2017, 7(11): 1320-1335. DOI:10.1158/2159-8290.CD-17-0037.
- [24] RUIZ DE GALARRETA M, BRESNAHAN E, MOLINA-SÁNCHEZ P, et al.  $\beta$ -catenin activation promotes immune escape and resistance to anti-PD-1 therapy in hepatocellular carcinoma[J/OL]. *Cancer Discov*, 2019, 9(8): 1124-1141[2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6677618/>. DOI:10.1158/2159-8290.CD-19-0074.
- [25] CHIAO P J, LING J H. Kras, pten, NF- $\kappa$ B, and inflammation: dangerous liaisons[J]. *Cancer Discov*, 2011, 1(2): 103-105. DOI: 10.1158/2159-8290.cd-11-0115.
- [26] PAVLOVA N N, THOMPSON C B. The emerging hallmarks of cancer metabolism[J/OL]. *Cell Metab*, 2016, 23(1): 27-47[2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4715268/>. DOI:10.1016/j.cmet.2015.12.006.
- [27] ANNESLEY S J, FISHER P R. Mitochondria in health and disease[J/OL]. *Cells*, 2019, 8(7): E680[2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6678092/>. DOI:10.3390/cells8070680.
- [28] LI Z, ZHSNG H. Reprogramming of glucose, fatty acid and amino acid metabolism for cancer progression[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73(2): 377-392. DOI:10.1007/s00018-015-2070-4.
- [29] SIVANAND S, VANDER HEIDEN M G. Emerging roles for branched-chain amino acid metabolism in cancer[J/OL]. *Cancer Cell*, 2020, 37(2): 147-156[2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7082774/>. DOI:10.1016/j.ccell.2019.12.011.
- [30] HANAHAN D, WEINBERG R A. Hallmarks of cancer: the next generation[J]. *Cell*, 2011, 144(5): 646-674. DOI:10.1016/j.cell.2011.02.013.
- [31] SANDERSON S M, LOCASALE J W. Revisiting the Warburg effect: some tumors hold their breath[J/OL]. *Cell Metab*, 2018, 28(5): 669-670[2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6719776/>. DOI:10.1016/j.cmet.2018.10.011.
- [32] FAUBERT B, SOLMONSON A, DEBERARDINIS R J. Metabolic reprogramming and cancer progression[J/OL]. *Science*, 2020, 368(6487): eaaw5473[2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7227780/>. DOI:10.1126/science.aaw5473.
- [33] ANDREJEVA G, RATHMELL J C. Similarities and distinctions of cancer and immune metabolism in inflammation and tumors[J/OL]. *Cell Metab*, 2017, 26(1): 49-70[2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5555084/>. DOI: 10.1016/j.cmet. 2017. 06.004.
- [34] SONG M, SANDOVAL T A, CHAE C S, et al. IRE1 $\alpha$ -XBP1 controls T cell function in ovarian cancer by regulating mitochondrial activity[J]. *Nature*, 2018, 562(7727): 423-428. DOI: 10.1038/s41586-018-0597-x.
- [35] 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[2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4864363/>. DOI:10.1016/j.cell.2015.08.016.
- [36] BIAN Y J, LI W, KREMER D M, et al. Cancer SLC43A2 alters T cell methionine metabolism and histone methylation[J/OL]. *Nature*, 2020, 585(7824): 277-282[2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7227780/>.



- gov/pmc/articles/PMC7486248/. DOI:10.1038/s41586-020-2682-1.
- [37] ARAUJO L, KHIM P, MKHIKIAN H, et al. Glycolysis and glutaminolysis cooperatively control T cell function by limiting metabolite supply to N-glycosylation[J/OL]. *Elife*, 2017, 6: e21330 [2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5257256/>. DOI:10.7554/eLife.21330.
- [38] 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. DOI: 10.1038/nature13490.
- [39] 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. DOI: 10.1016/j.cmet.2016.08.011.
- [40] SCOTT K E, CLEVELAND J L. Lactate wreaks havoc on tumor-infiltrating T and NK cells[J]. *Cell Metab*, 2016, 24(5): 649-650. DOI:10.1016/j.cmet.2016.10.015.
- [41] LEONE R D, POWELL J D. Metabolism of immune cells in cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2020, 20(9): 516-531. DOI:10.1038/s41568-020-0273-y.
- [42] LIU X, MO W, YE J, et al. Regulatory T cells trigger effector T cell DNA damage and senescence caused by metabolic competition [J/OL]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 249[2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5770447/>. DOI:10.1038/s41467-017-02689-5.
- [43] MAJ T, WANG W, CRESPO J, et al. Oxidative stress controls regulatory T cell apoptosis and suppressor activity and PD-L1-blockade resistance in tumor[J/OL]. *Nat Immunol*, 2017, 18(12): 1332-1341 [2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5770150/>. DOI:10.1038/ni.3868.
- [44] BAUMANN T, DUNKEL A, SCHMID C, et al. Regulatory myeloid cells paralyze T cells through cell-cell transfer of the metabolite methylglyoxal[J]. *Nat Immunol*, 2020, 21(5): 555-566. DOI:10.1038/s41590-020-0666-9.
- [45] PEINADO H, ZHANG H Y, MATEI I R, et al. Pre-metastatic niches: organ-specific homes for metastases[J]. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17(5): 302-317. DOI:10.1038/nrc.2017.6.
- [46] LIU Y, CAO X T. Characteristics and significance of the pre-metastatic niche[J]. *Cancer Cell*, 2016, 30(5): 668-681. DOI: 10.1016/j.ccell.2016.09.011.
- [47] GU Y, LIU Y F, FU L, et al. Tumor-educated B cells selectively promote breast cancer lymph node metastasis by HSPA4-targeting IgG[J]. *Nat Med*, 2019, 25(2): 312-322. DOI:10.1038/s41591-018-0309-y.
- [48] NGUYEN D X, BOS P D, MASSAGUÉ J. Metastasis: from dissemination to organ-specific colonization[J]. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9(4): 274-284. DOI:10.1038/nrc2622.
- [49] KUBES P, JENNE C. Immune responses in the liver[J]. *Annu Rev Immunol*, 2018, 36: 247-277. DOI: 10.1146/annurev-immunol-051116-052415.
- [50] YU J L, GREEN M D, LI S S, et al. Liver metastasis restrains immunotherapy efficacy via macrophage-mediated T cell elimination [J]. *Nat Med*, 2021, 27(1): 152-164. DOI:10.1038/s41591-020-1131-x.
- [51] MALLADI S, MACALINAO D G, JIN X, et al. Metastatic latency and immune evasion through autocrine inhibition of WNT[J/OL]. *Cell*, 2016, 165(1): 45-60[2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4808520/>. DOI:10.1016/j.cell.2016.02.025.
- [52] SAWANT A, HENSEL J A, CHANDA D, et al. Depletion of plasmacytoid dendritic cells inhibits tumor growth and prevents bone metastasis of breast cancer cells[J/OL]. *J Immunol*, 2012, 189(9): 4258-4265[2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3531993/>. DOI:10.4049/jimmunol.1101855.
- [53] ALTORKI N K, MARKOWITZ G J, GAO D C, et al. The lung microenvironment: an important regulator of tumour growth and metastasis[J/OL]. *Nat Rev Cancer*, 2019, 19(1): 9-31[2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6749995/>. DOI: 10.1038/s41568-018-0081-9.
- [54] LIU Y F, GU Y, HAN Y M, et al. Tumor exosomal RNAs promote lung pre-metastatic niche formation by activating alveolar epithelial TLR3 to recruit neutrophils[J]. *Cancer Cell*, 2016, 30(2): 243-256. DOI:10.1016/j.ccell.2016.06.021.
- [55] WCULEK S K, MALANCHI I. Neutrophils support lung colonization of metastasis-initiating breast cancer cells[J/OL]. *Nature*, 2015, 528(7582): 413-417[2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4700594/>. DOI:10.1038/nature16140.
- [56] EL RAYES T, CATENA R, LEE S, et al. Lung inflammation promotes metastasis through neutrophil protease-mediated degradation of Tsp-1 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(52): 16000-16005. DOI: 10.1073/pnas.1507294112.
- [57] COFFELT S B, KERSTEN K, DOORNEBAL C W, et al. IL-17-producing  $\gamma\delta$ T cells and neutrophils conspire to promote breast cancer metastasis[J/OL]. *Nature*, 2015, 522(7556): 345-348[2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4475637/>. DOI:10.1038/nature14282.
- [58] KAPLAN R N, RIBA R D, ZACHAROUIS S, et al. VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche[J/OL]. *Nature*, 2005, 438(7069): 820-827[2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2945882/>. DOI:10.1038/nature04186.
- [59] MALANCHI I, SANTAMARIA-MARTÍNEZA, SUSANTO E, et al. Interactions between cancer stem cells and their niche govern metastatic colonization[J]. *Nature*, 2011, 481(7379): 85-89. DOI: 10.1038/nature10694.
- [60] OSKARSSON T, ACHARYYA S, ZHANG X H, et al. Breast cancer cells produce tenascin C as a metastatic niche component to colonize the lungs[J/OL]. *Nat Med*, 2011, 17(7): 867-874[2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4020577/>. DOI: 10.1038/nm.2379.
- [61] SMITH C C, SELITSKY S R, CHAI S J, et al. Alternative tumour-specific antigens[J]. *Nat Rev Cancer*, 2019, 19(8): 465-478. DOI: 10.1038/s41568-019-0162-4.
- [62] DE MATTOS-ARRUDA L, VAZQUEZ M, FINOTELLO F, et al. Neoantigen prediction and computational perspectives towards clinical benefit: recommendations from the ESMO Precision Medicine Working Group[J]. *Ann Oncol*, 2020, 31(8): 978-990. DOI:10.1016/j.annonc.2020.05.008.
- [63] MOTZER R J, ESCUDIER B, MCDERMOTT D F, et al. Nivolumab versus everolimus in advanced renal-cell carcinoma[J]. *N Engl J Med*, 2015, 373(19): 1803-1813. DOI:10.1056/NEJMoa1510665.
- [64] KASSIOTIS G, STOYE J P. Immune responses to endogenous

- retroelements: taking the bad with the good[J]. *Nat Rev Immunol*, 2016, 16(4): 207-219. DOI:10.1038/nri.2016.27.
- [65] CHIAPPINELLI K B, STRISSEL P L, DESRICARD A, et al. Inhibiting DNA methylation causes an interferon response in cancer via dsRNA including endogenous retroviruses[J]. *Cell*, 2015, 162(5): 974-986. DOI: 10.1016/j.cell.2015.07.011.
- [66] CHELMICKI T, ROGER E, TEISSANDIER A, et al. m<sup>6</sup>A RNA methylation regulates the fate of endogenous retroviruses[J/OL]. *Nature*, 2021, 2021: Online ahead of print[2020-12-30]. <https://www.nature.com/articles/s41586-020-03135-1/>. DOI:10.1038/s41586-020-03135-1.
- [67] SHENG W Q, LAFLEUR M W, NGUYEN T H, et al. LSD1 ablation stimulates anti-tumor immunity and enables checkpoint blockade[J]. *Cell*, 2018, 174(3): 549-563. DOI:10.1016/j.cell.2018.05.052.
- [68] HEGDE P S, CHEN D S. Top 10 challenges in cancer immunotherapy [J]. *Immunity*, 2020, 52(1): 17-35. DOI:10.1016/j.immuni.2019.12.011.
- [69] SHARMA P, ALLISON J P. Dissecting the mechanisms of immune checkpoint therapy[J]. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20(2): 75-76. DOI: 10.1038/s41577-020-0275-8.
- [70] HAVEL J J, CHOWELL D, CHAN T A. The evolving landscape of biomarkers for checkpoint inhibitor immunotherapy[J]. *Nat Rev Cancer*, 2019, 19(3): 133-150. DOI:10.1038/s41568-019-0116-x.
- [71] ZHANG L, YU X, ZHENG L T, et al. Lineage tracking reveals dynamic relationships of T cells in colorectal cancer[J]. *Nature*, 2018, 564(7735): 268-272. DOI:10.1038/s41586-018-0694-x.
- [72] GUO X Y, ZHANG Y Y, ZHENG L T, et al. Publisher Correction: Global characterization of T cells in non-small-cell lung cancer by single-cell sequencing[J/OL]. *Nat Med*, 2018, 24(10): 1628[2020-12-30]. <https://www.nature.com/articles/s41591-018-0167-7/>. DOI: 10.1038/s41591-018-0167-7.
- [73] HELMINK B A, REDDY S M, GAO J J, et al. B cells and tertiary lymphoid structures promote immunotherapy response[J]. *Nature*, 2020, 577(7791): 549-555. DOI:10.1038/s41586-019-1922-8.
- [74] CABRITA R, LAUSS M, SANNA A, et al. Author Correction: Tertiary lymphoid structures improve immunotherapy and survival in melanoma[J]. *Nature*, 2020, 577(7791): 561-565. DOI: 10.1038/s41586-019-1914-8/.
- [75] PETITPREZ F, DE REYNIÈS A, KEUNG E Z, et al. B cells are associated with survival and immunotherapy response in sarcoma[J]. *Nature*, 2020, 577(7791): 556-560. DOI:10.1038/s41586-019-1906-8.
- [76] KALBASI A, RIBAS A. Tumour-intrinsic resistance to immune checkpoint blockade[J]. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20(1): 25-39. DOI:10.1038/s41577-019-0218-4.
- [77] PAPALEXI E, SATIJA R. Single-cell RNA sequencing to explore immune cell heterogeneity[J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18(1): 35-45. DOI:10.1038/nri.2017.76.
- [78] STUART T, BUTLER A, HOFFMAN P, et al. Comprehensive integration of single-cell data[J/OL]. *Cell*, 2019, 177(7): 1888-1902. e21[2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6687398/>. DOI:10.1016/j.cell.2019.05.031.
- [79] YU W B, UZUN Y, ZHU Q, et al. scATAC-pro: a comprehensive workbench for single-cell chromatin accessibility sequencing data[J/OL]. *Genome Biol*, 2020, 21(1): 94[2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7169039/>. DOI:10.1186/s13059-020-02008-0.
- [80] CLARK S J, SMALLWOOD S A, LEE H J, et al. Genome-wide base-resolution mapping of DNA methylation in single cells using single-cell bisulfite sequencing (scBS-seq)[J]. *Nat Protoc*, 2017, 12(3): 534-547. DOI:10.1038/nprot.2016.187.
- [81] FARLIK M, SHEFFIELD N C, NUZZO A, et al. Single-cell DNA methylome sequencing and bioinformatic inference of epigenomic cell-state dynamics[J/OL]. *Cell Rep*, 2015, 10(8): 1386-1397[2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4542311/>. DOI:10.1016/j.celrep.2015.02.001.
- [82] ANGERMUELLER C, CLARK S J, LEE H J, et al. Parallel single-cell sequencing links transcriptional and epigenetic heterogeneity[J/OL]. *Nat Methods*, 2016, 13(3): 229-232[2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4770512/>. DOI:10.1038/nmeth.3728.
- [83] ENG C L, LAWSON M, ZHU Q, et al. Transcriptome-scale super-resolved imaging in tissues by RNA seqFISH[J/OL]. *Nature*, 2019, 568(7751): 235-239[2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6544023/>. DOI:10.1038/s41586-019-1049-y.
- [84] TOSEVSKI V, ULASHCHIK E, TROVATO A, et al. CyTOF mass cytometry for click proliferation assays[J/OL]. *Curr Protoc Cytom*, 2017, 81: 7.50.1-7.50.7.50.14[2020-12-30]. <https://currentprotocols.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cpcy.25/>. DOI: 10.1002/cpcy.25.
- [85] GOLTSEV Y, SAMUSIK N, KENNEDY-DARLING J, et al. Deep profiling of mouse splenic architecture with CODEX multiplexed imaging[J/OL]. *Cell*, 2018, 174(4): 968-981[2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6086938/>. DOI:10.1016/j.cell.2018.07.010.
- [86] FAGET L, HNASKO T S. Tyramide signal amplification for immunofluorescent enhancement[J/OL]. *Methods Mol Biol*, 2015, 1318: 161-172[2020-12-30]. [https://link.springer.com/protocol/10.1007%2F978-1-4939-2742-5\\_16/](https://link.springer.com/protocol/10.1007%2F978-1-4939-2742-5_16/). DOI:10.1007/978-1-4939-2742-5\_16.
- [87] WANG F, FLANAGAN J, SU N, et al. RNAscope: a novel in situ RNA analysis platform for formalin-fixed, paraffin-embedded tissues[J/OL]. *J Mol Diagn*, 2012, 14(1): 22-29[2020-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3338343/>. DOI:10.1016/j.jmoldx.2011.08.002.
- [88] CHANG Q, ORNATSKY O I, SIDDIQUI I, et al. Imaging mass cytometry[J]. *Cytometry A*, 2017, 91(2): 160-169. DOI:10.1002/cyto.a.23053.
- [89] JACKSON H W, FISCHER J R, ZANOTELLI V R T, et al. The single-cell pathology landscape of breast cancer[J]. *Nature*, 2020, 578(7796): 615-620. DOI:10.1038/s41586-019-1876-x.
- [90] KAWANO H, KOGURE T, ABE Y, et al. Two-photon dual-color imaging using fluorescent proteins[J]. *Nat Methods*, 2008, 5(5): 373-374. DOI:10.1038/nmeth0508-373.
- [91] SCHWICKERT T A, LINDQUIST R L, SHAKHAR G, et al. In vivo imaging of germinal centres reveals a dynamic open structure [J]. *Nature*, 2007, 446(7131): 83-87. DOI:10.1038/nature05573.

[收稿日期] 2020-12-31

[修回日期] 2021-01-10

[本文编辑] 党瑞山