

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.10.001

· 专家论坛 ·

干细胞样 CD8⁺ T 细胞：肿瘤免疫疗法的新生力量

徐姝婷, 杨超[△], 邓刘福(上海交通大学药学院 创新免疫治疗全国重点实验室, 上海市药物靶标发现及递送前沿科学研究基地, 上海 200240)



邓刘福 博士、教授、博士生导师, 上海交通大学药学院创新免疫治疗全国重点实验室课题组组长, 兼任中国免疫学会肿瘤免疫与生物治疗分会委员、中国抗癌协会肿瘤生物治疗专委会委员、中国医药教育协会肿瘤免疫治疗专委会委员、《中国药理学通报》青年编委等。研究方向聚焦于肿瘤中 CD8⁺ T 细胞应答规律和感知特征, 揭示肿瘤中 CD8⁺ T 细胞干性程序和功能状态的维持与演变机制, 建立提高肿瘤免疫治疗和放疗疗效的新策略。主持国家自然科学基金面上项目、上海市科委重点项目和上海交通大学医学院医工交叉重点项目等多项研究课题, 荣获国家海外高层次人才计划项目、山东省科技进步二等奖 1 项。近 5 年代表性研究成果以通信作者身份发表在 *Immunity*、*Sci Transl Med*、*Sci Adv* 等国际知名期刊上, 入选 2022 年爱思唯尔 (Elsevier) 中国高被引学者。

[摘要] CD8⁺ T 细胞是抗肿瘤免疫应答的主要执行者。通过重塑 CD8⁺ T 细胞杀伤肿瘤细胞的能力, 免疫疗法已在抗肿瘤领域取得重大突破, 但临床获益仅局限于部分患者和癌症类型。如何克服 CD8⁺ T 细胞功能障碍是肿瘤免疫疗法亟待解决的关键问题。近年来, 多项研究揭示了 CD8⁺ T 细胞的干性调控机制, 发现了干细胞样 CD8⁺ T 细胞具有自我更新和增殖能力, 阐明了该细胞亚群在维持持续性肿瘤免疫治疗应答中的重要性。本文论述了干细胞样 CD8⁺ T 细胞的分子与功能特征、CD8⁺ T 细胞干性的细胞内外影响因素, 归纳总结了目前靶向 CD8⁺ T 细胞的干性重编程策略, 进一步展望了靶向 CD8⁺ T 细胞干性程序来提高肿瘤免疫疗法疗效的思路和方法。

[关键词] 肿瘤免疫; 肿瘤免疫治疗; CD8⁺ T 细胞; T 细胞干性与耗竭

[中图分类号] R730.51; R392.12 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2023)10-0855-07

Stem cell-like CD8⁺ T cells: a new pioneer in cancer immunotherapy

XU Shuting, YANG Chao[△], DENG Liufu (National Key Laboratory of Innovative Immunotherapy, Shanghai Advanced Scientific Research Base for Drug Target Discovery and Delivery, School of Pharmacy, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

[Abstract] CD8⁺ T cells are the major players in anti-tumor immune responses. Immune therapies have made significant breakthroughs in the field of cancer treatment by reshaping the ability of CD8⁺ T cells to kill tumor cells. But clinical benefits have been limited to some patients and certain cancer types. The key to improving cancer immunotherapy depends on how to overcome the CD8⁺ T cell dysfunctions. In recent years, quite a few researches have revealed the stemness regulation mechanisms of CD8⁺ T cells, discovered that stem-like CD8⁺ T cells possess self-renewal and proliferation abilities and stated the importance of this cell subgroup in maintaining sustained cancer immunotherapy responses. In this paper, we will review the molecular and functional characteristics of stem-cell like CD8⁺ T cells, and the intrinsic and extrinsic influencing factors of CD8⁺ T cell stemness, summarize the present stemness reprogramming strategies targeting CD8⁺ T cells, and further look into the ideas and methods of improving the therapeutic efficacy of cancer immunotherapy through targeting CD8⁺ T cells stemness programs.

[Key words] cancer immunology; cancer immunotherapy; CD8⁺ T cell; T cell stemness and exhaustion

[Chin J Cancer Biother, 2023, 30(10): 855-861. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.10.001]

[基金项目] 国家自然科学基金 (No. 81771682, No. 82071741)

[作者简介] 徐姝婷 (1998—), 女, 硕士生, 主要从事肿瘤中 CD8⁺ T 细胞干性维持机制的研究, E-mail: 121170910026@sjtu.edu.cn; 杨超 (1992—), 男, 博士, 主要从事肿瘤中 CD8⁺ T 细胞干性维持机制的研究, E-mail: doubaoer@sjtu.edu.cn; [△]为共同第一作者

[通信作者] 邓刘福, E-mail: dengliufu@sjtu.edu.cn

肿瘤细胞逃避宿主免疫监视和免疫清除是肿瘤发生发展的主要机制,以增强宿主免疫系统功能为目的的抗肿瘤免疫疗法,是继传统放化疗和手术治疗之后的新型肿瘤治疗手段^[1]。肿瘤免疫疗法主要包括免疫检查点阻断(immune checkpoint blockade, ICB)疗法、过继细胞治疗和免疫疫苗等,具有不良反应少、特异性强等优势,在肿瘤治疗领域取得了令人瞩目的效果^[2-3]。然而,肿瘤免疫治疗也面临着瓶颈,如肿瘤患者的部分响应性及复发难题等,限制了免疫疗法的临床应用。CD8⁺ T细胞是抗肿瘤免疫应答的关键执行者,肿瘤免疫治疗的效果也有赖于CD8⁺ T细胞的持久性杀伤作用^[4]。研究^[5-6]发现,以T细胞特异性杀伤功能为基础的嵌合抗原受体基因修饰的T(CAR-T)细胞疗法在临床肿瘤治疗后复发的原因除了与靶抗原丢失有关外,也与CAR-T细胞在肿瘤内存在持续性功能受损密切相关。此外,肿瘤内CD8⁺ T细胞低反应状态是肿瘤恶性进展和肿瘤治疗预后变差的关键原因。总之,肿瘤浸润的CD8⁺ T细胞的功能障碍和耗竭命运制约了抗肿瘤应答和免疫治疗的持久性^[7-8]。因此,解决CD8⁺ T细胞持久性难题,逆转其肿瘤内耗竭命运,是肿瘤免疫治疗领域研究的焦点。新近鉴定的干细胞样CD8⁺ T细胞亚群,具有较强自我更新能力,可源源不断地向杀伤性细胞群体分化,成为肿瘤免疫治疗的新生力量^[9-10]。本文从干细胞样CD8⁺ T细胞入手,围绕其分子与功能特征、形成的主要因素及如何强化其作用等几个方面,系统性地分析总结其在肿瘤免疫治疗中的作用,并探讨其未来的发展方向。

1 耗竭性CD8⁺ T细胞与干细胞样CD8⁺ T细胞

1.1 耗竭性CD8⁺ T细胞

肿瘤特异性细胞毒性CD8⁺ T细胞杀伤功能的持久性决定了抗肿瘤免疫应答的强度和力度^[11]。然而研究^[7,12]发现,肿瘤内CD8⁺ T细胞在持续性肿瘤抗原刺激下会发生功能受损,表现为自我增殖能力变差、肿瘤杀伤功能减弱等特征,称为CD8⁺ T细胞耗竭,其肿瘤内耗竭命运无法被逆转。不同于记忆T细胞和效应T细胞,耗竭性T细胞亚群具有完全不同的表观遗传学特征和基因表达谱,通常有以下典型的分子学表达特征:(1)高表达抑制性受体分子,如PD-1、免疫球蛋白和免疫受体酪氨酸抑制基序的T细胞免疫受体(T-cell immunoreceptor with immunoglobulin and ITIM domain, TIGIT)等^[13],这些抑制性受体分子通过与其配体结合,对CD8⁺ T细胞内的信号通路产生负向调节,最终影响T细胞的反应性;(2)表达耗竭相关的多种转录因子,如胸腺细胞选择相关高迁移率族蛋白(thymocyte

selection-associated high mobility group box protein, TOX)^[14-17]、核受体家族4A(nuclear receptor subfamily 4 group A, NR4A)^[18-19]等,参与调控CD8⁺ T细胞耗竭分化;(3)相比于记忆CD8⁺ T细胞和效应CD8⁺ T细胞,耗竭性CD8⁺ T细胞会发生代谢重编程,主要表现为线粒体合成受阻及功能紊乱、糖酵解水平低下等特征,这些代谢方式的改变促进了CD8⁺ T细胞功能进一步受损,有助于肿瘤细胞免疫逃逸等^[20-21]。

有赖于单细胞高通量测序技术的发展,发现肿瘤内耗竭性CD8⁺ T细胞是一群高度异质性的细胞,表现为抑制性受体不同程度的表达和T细胞分化相关转录因子的差异性表达^[9]。而干细胞样CD8⁺ T细胞亚群,作为一群特殊的耗竭性CD8⁺ T细胞亚群,在荷瘤小鼠以及肿瘤患者体内被广泛发现,已将肿瘤免疫治疗带入了一个全新的发展阶段^[9,22-23]。

1.2 干细胞样CD8⁺ T细胞

肿瘤细胞具有持续增殖的能力,这要求肿瘤特异性CD8⁺ T细胞应同样具有可以持续自我更新和增殖的能力。终末耗竭性CD8⁺ T细胞是耗竭性CD8⁺ T细胞分化的终末阶段,其肿瘤杀伤功能完全丧失。干细胞样CD8⁺ T细胞亚群,具有记忆样CD8⁺ T细胞的特征,兼顾自我更新能力和向效应细胞分化的潜力,是保障持久性抗肿瘤T细胞免疫应答的关键^[10,24-25]。从分子特征上来看,这群细胞高表达T细胞因子-1(T cell factor-1, TCF-1)^[26]与信号转导淋巴细胞激活分子家族成员6,相较于终末耗竭性CD8⁺ T细胞,该群细胞的抑制性受体分子表达水平较低^[9]。虽然干细胞样CD8⁺ T细胞效应的细胞因子分泌能力不强,但作为效应细胞分化的来源,可以提高肿瘤内杀伤细胞的数量而“逆转”耗竭性CD8⁺ T细胞的功能受损,以维持长时间的肿瘤杀伤^[10]。

研究^[27-28]表明,具有长寿命、高增殖能力的干细胞样CD8⁺ T细胞可以实现更持久的免疫应答反应,从而介导更强的抗肿瘤效果。借助荷瘤小鼠免疫治疗研究模型,研究^[22,29]发现,TCF-1⁺CD8⁺ T细胞亚群是响应ICB疗法的关键细胞亚群。进一步在临床组织标本中分析发现,这群细胞所占CD8⁺ T细胞的比率同患者的生存率及预后效果呈明显的正相关。因此,干细胞样CD8⁺ T细胞在肿瘤免疫治疗领域中具有重要潜力,越来越多的学者^[23,25,30]开始聚焦于这群细胞的形成和维持规律,以及在肿瘤治疗中的临床应用研究。

2 影响肿瘤内CD8⁺ T细胞干性的因素

2.1 细胞内部因素

大量研究结果^[7,20,31]表明,调控肿瘤耗竭性CD8⁺ T细胞分化的内在因素包括T细胞分化相关转录因子、

表观遗传学及代谢程序相关调控分子等。然而,多数研究集中于肿瘤内耗竭性CD8⁺T细胞群体,并未进一步区分亚群,因此,需要阐明影响干细胞样CD8⁺T细胞形成和维持的内在机制。转录因子被视为调控T细胞命运的重要因素,在CD8⁺T细胞干性形成和维持方面具有促进或抑制作用。干细胞样CD8⁺T细胞内高表达的转录因子TCF-1,不仅可以促进干细胞样CD8⁺T细胞形成,也可以维持CD8⁺T细胞的干性以促进其自我更新^[23,27]。研究^[32]发现,转录因子c-Myb可通过转录因子间的相互作用调控干细胞样CD8⁺T细胞状态,其可通过增强TCF-1的活性提高CD8⁺T细胞干性特征,同时通过抑制ZEB2阻碍CD8⁺T细胞的终末耗竭分化,从而促进T细胞治疗的持久性、增强抗肿瘤效果。赖氨酸去甲基化酶1(LSD1)作为关键的表观调控因子,也与CD8⁺T细胞干性密切相关^[33]。另外,还有一些转录因子被认为是CD8⁺T细胞干性形成的抑制因子,如干扰素调节因子4(interferon regulator factor 4, IRF4)可以通过抑制TCF-1表达促进CD8⁺T细胞终末耗竭,限制慢性感染过程中记忆样CD8⁺T细胞的形成^[34];而敲除转录因子B淋巴细胞诱导成熟蛋白1(BLIMP1),将更有利于CD8⁺T细胞形成耗竭前体细胞群^[35]。根据目前的研究,调控肿瘤内CD8⁺T细胞分化的转录因子众多,诸如TOX、BACH2(BTB domain and CNC homolog 2)等转录因子在CD8⁺T细胞分化过程中的调控机制逐渐被发现和阐明^[36]。在慢性病感染和肿瘤发生过程中,转录因子BACH2在表观遗传学层面上可以维持TCF-1高表达的CD8⁺T细胞的干细胞样状态,并且可以促进长期存活TCF-1高表达的前体细胞的分化^[36]。此外,因研究模型和实验条件的不同,发现T细胞分化相关转录因子的调控功能极具差异性和复杂性。通过在小鼠CAR-T细胞中过表达碱性亮氨酸拉链ATF样转录因子(basic leucine zipper ATF-like transcription factor, BATF),表明其可以在T细胞活化早期阶段与IRF4产生协同作用,以抵抗T细胞的耗竭性分化^[37];在另一研究^[38]中证实,CAR-T细胞缺失BATF,可通过抵抗T细胞耗竭并促进中央记忆细胞群形成而赋予更强的抗肿瘤应答能力。CAR-T细胞目前的发展遭遇瓶颈,T细胞干性的丧失和扩增能力较弱是CAR-T细胞疗法产生耐药的主要原因。最近的研究结果^[39]显示,转录因子阳性调节结构域锌指蛋白1(positive regulatory domain zinc finger protein 1, PRDM1)和NR4A3的双重敲除使这一表型的干细胞样CAR-T细胞扩增,这是单独敲除PRDM1或NR4A3无法达到的效果。

总之,干细胞样CD8⁺T细胞形成和维持的内在转录因子调控网络依然不甚明晰,其在调控CD8⁺T

细胞干性方面的作用应该从多个视角看待,肿瘤内CD8⁺T细胞的命运可能受制于多种转录因子间的相互作用。从全局方面正确认识不同转录因子的调控机制才能有望在表观遗传学水平上重编程CD8⁺T细胞干性,为肿瘤免疫治疗提供新的靶点。

2.2 细胞外部因素

肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)和淋巴结是影响干细胞样CD8⁺T细胞形成和维持的主要外因。TME中的肿瘤抗原是T细胞发挥杀伤功能的重要靶标。研究^[40]发现,干细胞样CD8⁺T细胞的命运与T细胞上的TCR信号强度和肿瘤免疫原性密切相关,低亲和力抗原刺激可上调TCF-1⁺CD8⁺T细胞表达CCR6,其与ICB在肿瘤患者中的疗效不存在相关性;而高亲和力抗原刺激形成的TCF-1⁺CD8⁺T细胞,与ICB的疗效密切相关。此外,TME中的免疫细胞相互作用也是影响CD8⁺T细胞干性的重要原因。在肾癌、前列腺癌和膀胱癌的组织标本中发现,CD11c⁺MHC-II⁺DC群可以形成支持TCF-1⁺CD8⁺T细胞的免疫生态,促进T细胞的干性维持,而同样作为抗原提呈细胞的CD68⁺CD11b⁺巨噬细胞,却与TCF-1⁺CD8⁺T细胞的数量和分布不存在明显相关性^[41]。TME中还存在多种多样的细胞因子,这些细胞因子同样调控CD8⁺T细胞干性的维持。TME中的IL-2、IL-21和IL-33等都被证明可以促进干细胞样CD8⁺T细胞的增殖^[33,42-43]。研究^[44]指出,诱导TME中I型IFN的分泌是激活抗肿瘤免疫反应的经典思路,CD8⁺T细胞通过将I型IFN分泌到TME中来上调转录因子TCF-1的表达。研究^[45]发现,肿瘤内三级淋巴结构(tertiary lymphoid structure, TLS)作为特殊的异位淋巴器官,其内CD8⁺T细胞干性较高,表明TLS形成的微环境为干细胞样CD8⁺T细胞维持提供了重要的支持作用。作为效应细胞的前体,TME内干细胞样CD8⁺T细胞在次级分化过程中,也有赖于与CCR7⁺DC产生细胞间交流,其通过分泌CXCL6和IL-15促进效应T细胞形成和维持^[46]。值得注意的是,干细胞样CD8⁺T细胞不仅存在于肿瘤内,也存在于肿瘤引流淋巴结中,这些CD8⁺T细胞亚群得益于传统I型DC(cDC1)的协助,也表现出典型的记忆样CD8⁺T细胞的特征^[47]。在理解肿瘤内与肿瘤引流淋巴结内干细胞样CD8⁺T细胞的相关性方面,通过TCR测序和表型鉴定发现,肿瘤内干细胞样CD8⁺T细胞正是来源于肿瘤引流淋巴结^[48-50]。

以上研究表明,干细胞样CD8⁺T细胞通过多种方式在肿瘤组织与淋巴结中形成互通与循环。然而,TME具有高度异质性,如何影响干细胞样CD8⁺T细胞的形成和维持仍然需要进一步的研究。通过靶向调节淋巴结和TME促进肿瘤内干细胞样CD8⁺T细胞的浸润和维持能力、逆转杀伤性CD8⁺T细胞的持续性功能受损,不失为CD8⁺T细胞干性重编程的重要策略。

3 新型免疫疗法助力CD8⁺T细胞干性重编程

影响CD8⁺T细胞干性的因素众多,阐明T细胞干性形成和维持的调控机制,亦为CD8⁺T细胞干性重编程提供了重要思路。干扰素基因刺激因子(stimulator of interferon gene, STING)激动剂因具有免疫系统的激活效应在抗肿瘤免疫治疗应用中潜力巨大。研究^[44]发现,cGAS-STING通路激活可以通过I型IFN调控CD8⁺T细胞干性增强,这为STING激动剂的临床应用提供了强有力的理论支持。此外,本课题组研究^[51]发现,CD8⁺T细胞干性维持能力是调控肿瘤免疫性别差异的关键因素,内在的雄激素受体(androgen receptor, AR)信号通路显著抑制干细胞样CD8⁺T细胞维持能力,深化了靶向AR信号通路提高抗肿瘤免疫应答的应用策略。同时,近年来随着抗体工程、基因工程等技术的发展,新型免疫疗法不断涌现,也为CD8⁺T细胞干性重编程提供了新的思路与方向。

3.1 工程化细胞因子介导CD8⁺T细胞干性重编程

细胞因子在维持生理免疫稳态和调节病理生理过程中发挥重要作用^[52],鉴于其在免疫反应中的调控作用,许多细胞因子已成为治疗各种类型肿瘤的候选药物。然而,由于脱靶引起的毒性和差强人意的疗效致使细胞因子在临床应用受到了极大限制^[53]。随着结构生物学与合成生物学的发展,研究者^[54]构建了多种超级细胞因子、蛋白融合细胞因子等,赋予了新型治疗细胞因子的长半衰期、强特异性和低免疫原性等优点。由于天然细胞因子在TME中对CD8⁺T细胞的干性分化具有重要作用,因此,多种新型细胞因子的构建方法也被用于CD8⁺T细胞干性重编程。H9T是一种工程化的IL-2激动剂,其与IL-2R γ 的结合能力较低,可诱导较少的STAT5磷酸化,能够在不驱动终末耗竭分化的情况下促进CD8⁺T细胞扩增并且维持TCF-1的表达,从而促进干细胞样状态的维持^[55]。研究者^[56]通过将IL-10和IgG1-Fc进行结构重组,发现重组的融合蛋白(IL-10-Fc)不仅半衰期延长,还实现了对耗竭性CD8⁺T细胞的代谢重编程,其通过上调线粒体丙酮酸载体依赖的氧化磷酸化进行代谢重编程,极大地提高了抗肿瘤免疫反应;进一步与过继T细胞转移免疫疗法协同作用,可显著抑制小鼠实体瘤生长并达到持久治愈。此外,优化后的IL-18、IL-21等在调节CD8⁺T细胞干性方面也发挥了重要作用^[42,57]。

然而,工程化的细胞因子在实际临床应用中仍存在许多问题。细胞因子的作用对象在全身各系统中广泛存在,这使得工程化细胞因子在肿瘤治疗中需要具备一定的肿瘤特异性靶向效果。研究者^[58]以

IL-12为例,为实现肿瘤靶向性,通过肿瘤内高表达的基质金属蛋白酶14(MMP14)将细胞因子IL-12受体胞外端连接在IL-12的外侧构成遮蔽肽,形成IL-12前体以减少肿瘤外组织的活性。然而,MMP14逐渐被证明不仅存在于肿瘤组织中,在脂肪等其他组织中也有不同程度的表达^[59]。此外,偶联受体胞外端使得细胞因子过于“庞大”,也成为该类细胞因子在临床应用中的缺陷。因此,基于肿瘤靶向性的新型细胞因子设计在提高CD8⁺T细胞抗肿瘤免疫应答能力方面,仍然需要更加深入的探索。

3.2 ICB疗法介导CD8⁺T细胞干性重编程

免疫检查点是可以调节免疫系统应答能力的一系列分子,为维持免疫系统的稳定提供了保障。但一些肿瘤细胞可以利用这种机制,向表达免疫检查点的免疫细胞转导抑制性信号,从而逃避机体的杀伤作用^[60]。近年来,靶向免疫检查点的ICB疗法和联合免疫疗法不断涌现。在前文中提到,耗竭性CD8⁺T细胞会高表达PD-1、TIGIT等抑制性受体分子,这为ICB疗法在诱导CD8⁺T细胞干性重编程方面提供了重要的理论支持。阻断耗竭性CD8⁺T细胞或其相互作用细胞(如肿瘤细胞、DC等)的免疫检查点,一方面可以阻断抑制性信号,从而恢复T细胞的杀伤功能;另一方面,CD8⁺T细胞失去了配体的信号转导后,下游与干性相关的基因也可能发生表达改变。然而,即便是目前应用最广泛的抗PD-1/PD-L1的ICB疗法也只对少部分患者产生良好的治疗作用,在临床应用方面ICB疗法仍存在较大的不确定性^[53]。目前,许多科学家^[61]将ICB药物与细胞因子融合蛋白联合使用,从而改善该疗法的效果。研究人员^[62]发现,PD1-IL2v可以促进干细胞样、肿瘤反应性CD8⁺T细胞增殖,但单独治疗可能会产生肿瘤复发的倾向,而将其与抗PD-L1抗体联合用药,这种基于免疫检查点的双重阻断疗法可以通过重编程巨噬细胞而显著改善治疗效果,防止肿瘤复发。此外,将IL-21与抗PD-1抗体融合以靶向肿瘤反应性T细胞,这种融合蛋白可以更有效地诱导活化的CD8⁺T细胞分化为具有干细胞样CD8⁺T细胞^[11]。同时,针对多种新型免疫检查点(如LAG3、TIGIT等)的靶向药物也被深入研究,其在重编程CD8⁺T细胞干性方面的应用前景有待于进一步研究^[63]。

然而,上述融合蛋白在实际应用中往往不能取得理想的治疗效果。原因是许多荷瘤小鼠或肿瘤患者的肿瘤处于“免疫荒漠”状态,如何将“冷肿瘤”转换为“热肿瘤”是提高融合蛋白治疗效果的关键。因此,考虑将放疗等传统疗法与融合蛋白治疗相结合,一方面可以改善肿瘤反应性,另一方面也可以克服肿瘤耐受性,因而可以将融合蛋白调节CD8⁺T细胞干性作为未来的治疗方向。

3.3 肿瘤疫苗介导CD8⁺T细胞干性重编程

传统疫苗用于预防多种疾病,而近年来发展的肿瘤疫苗则是希望通过增强人体自身免疫力来对抗肿瘤。研究^[3, 64-65]表明,肿瘤疫苗可以使肿瘤发生消退并延长患者的生存期。尽管现有的免疫疗法已取得显著成果,肿瘤疫苗依然因其独特优势而被广泛重视,其可以靶向除肿瘤特异性表面抗原外的细胞内抗原,通过活化CD8⁺T细胞起到初步杀伤肿瘤细胞的作用,而后杀伤的肿瘤细胞又会释放更多的肿瘤相关抗原,经抗原提呈细胞提呈给T细胞,继而引发更为广泛的肿瘤特异性T细胞免疫应答^[66-67]。研究^[68]发现,使用肿瘤特异性新抗原构建的类人猿的腺病毒疫苗增加了小鼠多功能新抗原特异性CD8⁺T细胞数量,进而提高了抗PD-1抗体治疗的响应性,还促进了干细胞样TCF-1⁺CD8⁺T细胞在肿瘤引流淋巴结内的聚集。这一新肿瘤疫苗的应用实现了CD8⁺T细胞的干性重编程,为克服PD-1阻断疗法的耐药提供了可能性。此外,LYNN等^[69]通过自装配纳米颗粒包裹的疫苗平台,构建了肿瘤新抗原和Toll样受体7/8激动剂(SNP-7/8a)的共转染纳米疫苗,皮下或者静脉注射该疫苗后可以促进免疫系统产生更多的干细胞样CD8⁺T细胞和效应T细胞^[70]。

总之,肿瘤疫苗在促进全身肿瘤消退和提高患者生存期方面效果显著。然而,如何监测接种疫苗患者体内交叉引发的肿瘤特异性T细胞应答强度,如何优化个体化肿瘤疫苗以安全有效地促进干细胞样CD8⁺T细胞形成,是肿瘤疫苗研发面临的重要课题。

4 结 语

肿瘤的治疗一直是科学界探讨的热点话题,随着多种治疗方法的不断涌现,肿瘤免疫治疗凭借其固有的优势脱颖而出,成为近年来炙手可热的治疗方式。细胞毒性CD8⁺T细胞在多种免疫治疗方法中发挥着重要作用,然而,长期接受抗原刺激等原因导致肿瘤内CD8⁺T细胞处于耗竭状态。本文探讨了一类具有持续自我增殖能力与高肿瘤特异性杀伤功能的干细胞样CD8⁺T细胞,这类细胞作为肿瘤治疗的新生力量为探索免疫疗法更多的可能性带来了希望。明晰干细胞样CD8⁺T细胞形成和维持的内外影响因素,是引领干细胞样CD8⁺T细胞疗法的先决条件。目前,调控CD8⁺T细胞干性和耗竭的内在分子机制正逐渐被认知,决定其命运的转录因子调控网络还需深入挖掘;此外,干细胞样CD8⁺T细胞在肿瘤内和淋巴结中的空间特征及与其他免疫细胞的互作规律也亟待进一步阐明。随着对肿瘤免疫治疗中干细胞样CD8⁺T细胞研究的进展和深入,通过靶向增强TME内CD8⁺T细胞干性潜能的治疗新策

略将越发精准高效。因此,基于CD8⁺T细胞干性重编程的抗肿瘤诊疗策略还有很大的研究空间需要被探索与期待。

[参 考 文 献]

- [1] KHALIL D N, SMITH E L, BRENTJENS R J, *et al.* The future of cancer treatment: immunomodulation, CARs and combination immunotherapy[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2016, 13(5): 273-290. DOI: 10.1038/nrclinonc.2016.25.
- [2] WALDMAN A D, FRITZ J M, LENARDO M J. A guide to cancer immunotherapy: from T cell basic science to clinical practice[J]. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20(11): 651-668. DOI: 10.1038/s41577-020-0306-5.
- [3] LIN M J, SVENSSON-ARVELUND J, LUBITZ G S, *et al.* Cancer vaccines: the next immunotherapy frontier[J]. *Nat Cancer*, 2022, 3(8): 911-926. DOI: 10.1038/s43018-022-00418-6.
- [4] CHEN D S, MELLMAN I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle[J]. *Immunity*, 2013, 39(1): 1-10. DOI: 10.1016/j.immuni.2013.07.012.
- [5] SHAH N N, FRY T J. Mechanisms of resistance to CAR T cell therapy[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2019, 16(6): 372-385. DOI: 10.1038/s41571-019-0184-6.
- [6] LARSON R C, MAUS M V. Recent advances and discoveries in the mechanisms and functions of CAR T cells[J]. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21(3): 145-161. DOI: 10.1038/s41568-020-00323-z.
- [7] PHILIP M, SCHIETINGER A. CD8⁺T cell differentiation and dysfunction in cancer[J]. *Nat Rev Immunol*, 2022, 22(4): 209-223. DOI: 10.1038/s41577-021-00574-3.
- [8] 朱波. 肿瘤免疫治疗耐药机制与克服策略[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2023, 30(3): 187-195. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2023.03.001.
- [9] VAN DER LEUN A M, THOMMEN D S, SCHUMACHER T N. CD8⁺T cell states in human cancer: insights from single-cell analysis[J]. *Nat Rev Cancer*, 2020, 20(4): 218-232. DOI: 10.1038/s41568-019-0235-4.
- [10] ZEHN D, THIMME R, LUGLI E, *et al.* 'Stem-like' precursors are the fount to sustain persistent CD8⁺T cell responses[J]. *Nat Immunol*, 2022, 23(6): 836-847. DOI: 10.1038/s41590-022-01219-w.
- [11] D'DONNELL J S, TENG M W L, SMYTH M J. Cancer immunoeediting and resistance to T cell-based immunotherapy[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2019, 16(3): 151-167. DOI: 10.1038/s41571-018-0142-8.
- [12] MCLANE L M, ABDEL-HAKEEM M S, WHERRY E J. CD8 T cell exhaustion during chronic viral infection and cancer[J]. *Annu Rev Immunol*, 2019, 37: 457-495. DOI: 10.1146/annurev-immunol-041015-055318.
- [13] WHERRY E J, KURACHI M. Molecular and cellular insights into T cell exhaustion[J]. *Nat Rev Immunol*, 2015, 15(8): 486-499. DOI: 10.1038/nri3862.
- [14] SCOTT A C, DÜNDAR F, ZUMBO P, *et al.* TOX is a critical regulator of tumour-specific T cell differentiation[J]. *Nature*, 2019
- [15] KHAN O, GILES J R, MCDONALD S, *et al.* TOX transcriptionally and epigenetically programs CD8⁺T cell exhaustion[J]. *Nature*, 2019, 571(7764): 211-218. DOI: 10.1038/s41586-019-1325-x.
- [16] ALFEI F, KANEV K, HOFMANN M, *et al.* TOX reinforces the phenotype and longevity of exhausted T cells in chronic viral

- infection[J]. *Nature*, 2019, 571(7764): 265-269. DOI: 10.1038/s41586-019-1326-9.
- [17] YAO C, SUN H W, LACEY N E, *et al.* Single-cell RNA-seq reveals TOX as a key regulator of CD8⁺ T cell persistence in chronic infection[J]. *Nat Immunol*, 2019, 20(7): 890-901. DOI: 10.1038/s41590-019-0403-4.
- [18] LIU X D, WANG Y, LU H P, *et al.* Genome-wide analysis identifies NR4A1 as a key mediator of T cell dysfunction[J]. *Nature*, 2019, 567(7749): 525-529. DOI: 10.1038/s41586-019-0979-8.
- [19] CHEN J, LÓPEZ-MOYADO I F, SEO H, *et al.* NR4A transcription factors limit CAR T cell function in solid tumours[J]. *Nature*, 2019, 567(7749): 530-534. DOI: 10.1038/s41586-019-0985-x.
- [20] FRANCO F, JACCARD A, ROMERO P, *et al.* Metabolic and epigenetic regulation of T-cell exhaustion[J]. *Nat Metab*, 2020, 2(10): 1001-1012. DOI: 10.1038/s42255-020-00280-9.
- [21] DUMAUTHIOZ N, TSCHUMI B, WENES M, *et al.* Enforced PGC-1 α expression promotes CD8 T cell fitness, memory formation and antitumor immunity[J]. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18(7): 1761-1771. DOI: 10.1038/s41423-020-0365-3.
- [22] SIDDIQUI I, SCHAEUBLE K, CHENNUPATI V, *et al.* Intratumoral Tcf1⁺PD-1⁺CD8⁺ T cells with stem-like properties promote tumor control in response to vaccination and checkpoint blockade immunotherapy[J]. *Immunity*, 2019, 50(1): 195-211.e10. DOI: 10.1016/j.immuni.2018.12.021.
- [23] KALLIES A, ZEHN D, UTZSCHNEIDER D T. Precursor exhausted T cells: key to successful immunotherapy?[J]. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20(2): 128-136. DOI: 10.1038/s41577-019-0223-7.
- [24] MILLER B C, SEN D R, AL ABOSY R, *et al.* Subsets of exhausted CD8(+) T cells differentially mediate tumor control and respond to checkpoint blockade[J]. *Nat Immunol*, 2019, 20(3): 326-336. DOI: 10.1038/s41590-019-0312-6.
- [25] KRISHNA S, LOWERY F J, COPELAND A R, *et al.* Stem-like CD8 T cells mediate response of adoptive cell immunotherapy against human cancer[J]. *Science*, 2020, 370(6522): 1328-1334. DOI: 10.1126/science.abb9847.
- [26] DANIEL T, CHARMOY M, CHENNUPATI V, *et al.* T cell factor 1-expressing memory-like CD8⁺ T cells sustain the immune response to chronic viral infections[J]. *Immunity*, 2016, 45(2): 415-427. DOI: 10.1016/j.immuni.2016.07.021.
- [27] CHAN J D, LAI J Y, SLANEY C Y, *et al.* Cellular networks controlling T cell persistence in adoptive cell therapy[J]. *Nat Rev Immunol*, 2021, 21(12): 769-784. DOI: 10.1038/s41577-021-00539-6.
- [28] GATTINONI L, SPEISER D E, LICHTERFELD M, *et al.* T memory stem cells in health and disease[J]. *Nat Med*, 2017, 23(1): 18-27. DOI: 10.1038/nm.4241.
- [29] IM S J, HASHIMOTO M, GERNER M Y, *et al.* Defining CD8⁺ T cells that provide the proliferative burst after PD-1 therapy[J]. *Nature*, 2016, 537(7620): 417-421. DOI: 10.1038/nature19330.
- [30] MEYRAN D, ZHU J J, BUTLER J, *et al.* T_{STEM}-like CAR-T cells exhibit improved persistence and tumor control compared with conventional CAR-T cells in preclinical models[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2023, 15(690): eabk1900[2023-08-08]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37018415/>. DOI: 10.1126/scitranslmed.abk1900.
- [31] BELK J A, DANIEL B, SATPATHY A T. Epigenetic regulation of T cell exhaustion[J]. *Nat Immunol*, 2022, 23(6): 848-860. DOI: 10.1038/s41590-022-01224-z.
- [32] GAUTAM S, FIORAVANTI J, ZHU W, *et al.* The transcription factor c-Myb regulates CD8⁺ T cell stemness and antitumor immunity[J]. *Nat Immunol*, 2019, 20(3): 337-349. DOI: 10.1038/s41590-018-0311-z.
- [33] LIU Y, DEBO B, LI M F, *et al.* LSD1 inhibition sustains T cell invigoration with a durable response to PD-1 blockade[J/OL]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 6831[2023-08-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8613218/>. DOI: 10.1038/s41467-021-27179-7.
- [34] MAN K, GABRIEL S S, LIAO Y, *et al.* Transcription factor IRF4 promotes CD8⁺ T cell exhaustion and limits the development of memory-like T cells during chronic infection[J]. *Immunity*, 2017, 47(6): 1129-1141.e5. DOI: 10.1016/j.immuni.2017.11.021.
- [35] SHIN H, BLAKBURN S D, INTLEKOFER A M, *et al.* A role for the transcriptional repressor blimp-1 in CD8⁺ T cell exhaustion during chronic viral infection[J]. *Immunity*, 2009, 31(2): 309-320. DOI: 10.1016/j.immuni.2009.06.019.
- [36] YAO C, LOU G H, SUN H W, *et al.* BACH2 enforces the transcriptional and epigenetic programs of stem-like CD8⁺ T cells[J]. *Nat Immunol*, 2021, 22(3): 370-380. DOI: 10.1038/s41590-021-00868-7.
- [37] SEO H, GONZÁLEZ-AVALOS E, ZHANG W D, *et al.* BATF and IRF4 cooperate to counter exhaustion in tumor-infiltrating CAR T cells[J]. *Nat Immunol*, 2021, 22(8): 983-995. DOI: 10.1038/s41590-021-00964-8.
- [38] ZHANG X Y, ZHANG C Z, QIAO M M, *et al.* Depletion of BATF in CAR-T cells enhances antitumor activity by inducing resistance against exhaustion and formation of central memory cells[J]. *Cancer Cell*, 2022, 40(11): 1407-1422.e7. DOI: 10.1016/j.ccell.2022.09.013.
- [39] JUNG I Y, NARAYAN V, MCDONALD S, *et al.* BLIMP1 and NR4A3 transcription factors reciprocally regulate antitumor CAR T cell stemness and exhaustion[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2022, 14(670): eabn7336[2023-08-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10257143/>. DOI: 10.1126/scitranslmed.abn7336.
- [40] BURGER M L, CRUZ A M, CROSSLAND G E, *et al.* Antigen dominance hierarchies shape TCF1⁺ progenitor CD8 T cell phenotypes in tumors[J]. *Cell*, 2021, 184(19): 4996-5014.e26. DOI: 10.1016/j.cell.2021.08.020.
- [41] JANSEN C S, PROKHNEVSKA N, MASTER V A, *et al.* An intratumoral niche maintains and differentiates stem-like CD8 T cells[J]. *Nature*, 2019, 576(7787): 465-470. DOI: 10.1038/s41586-019-1836-5.
- [42] LI Y, CONG Y N, JIA M M, *et al.* Targeting IL-21 to tumor-reactive T cells enhances memory T cell responses and anti-PD-1 antibody therapy[J/OL]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 951[2023-08-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7878483/>. DOI: 10.1038/s41467-021-21241-0.
- [43] MARX A F, KALLERT S M, BRUNNER T M, *et al.* The alarmin interleukin-33 promotes the expansion and preserves the stemness of Tcf-1⁺ CD8⁺ T cells in chronic viral infection[J]. *Immunity*, 2023, 56(4): 813-828.e10. DOI: 10.1016/j.immuni.2023.01.029.
- [44] LI W W, LU L, LU J J, *et al.* cGAS-STING-mediated DNA sensing maintains CD8⁺ T cell stemness and promotes antitumor T cell therapy[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2020, 12(549): eaay9013[2023-08-08]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32581136/>. DOI: 10.1126/scitranslmed.aay9013.

- [45] CABRITA R, LAUSS M, SANNA A, *et al.* Tertiary lymphoid structures improve immunotherapy and survival in melanoma[J]. *Nature*, 2020, 577(7791): 561-565. DOI: 10.1038/s41586-019-1914-8.
- [46] DI PILATO M, KFURI-RUBENS R, PRUESSMANN J N, *et al.* CXCR6 positions cytotoxic T cells to receive critical survival signals in the tumor microenvironment[J]. *Cell*, 2021, 184(17): 4512-4530.e22. DOI: 10.1016/j.cell.2021.07.015.
- [47] SCHENKEL J M, HERBST R H, CANNER D, *et al.* Conventional type I dendritic cells maintain a reservoir of proliferative tumor-antigen specific TCF-1⁺ CD8⁺ T cells in tumor-draining lymph nodes[J]. *Immunity*, 2021, 54(10): 2338-2353.e6. DOI: 10.1016/j.immuni.2021.08.026.
- [48] CONNOLLY K A, KUCHROO M, VENKAT A, *et al.* A reservoir of stem-like CD8⁺ T cells in the tumor-draining lymph node preserves the ongoing antitumor immune response[J/OL]. *Sci Immunol*, 2021, 6(64): eabg7836[2023-08-08]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34597124/>. DOI: 10.1126/sciimmunol.abg7836.
- [49] HUANG Q, WU X, WANG Z, *et al.* The primordial differentiation of tumor-specific memory CD8⁺ T cells as bona fide responders to PD-1/PD-L1 blockade in draining lymph nodes[J]. *Cell*, 2022, 185(22): 4049-4066.e25. DOI: 10.1016/j.cell.2022.09.020.
- [50] PROKHNEVSKAN, CARDENAS M A, VALANPARAMBIL R M, *et al.* CD8⁺ T cell activation in cancer comprises an initial activation phase in lymph nodes followed by effector differentiation within the tumor[J]. *Immunity*, 2023, 56(1): 107-124. e5. DOI: 10.1016/j.immuni.2022.12.002.
- [51] YANG C, JIN J, YANG Y, *et al.* Androgen receptor-mediated CD8⁺ T cell stemness programs drive sex differences in antitumor immunity[J]. *Immunity*, 2022, 55(7): 1268-1283.e9. DOI: 10.1016/j.immuni.2022.05.012.
- [52] SAXTON R A, GLASSMAN C R, GARCIA K C. Emerging principles of cytokine pharmacology and therapeutics[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2023, 22(1): 21-37. DOI: 10.1038/s41573-022-00557-6.
- [53] TOPALIAN S L, DRAKE C G, PARDOLL D M. Immune checkpoint blockade: a common denominator approach to cancer therapy[J]. *Cancer Cell*, 2015, 27(4): 450-461. DOI: 10.1016/j.ccell.2015.03.001.
- [54] SCHELLER J, ENGELOWSKI E, MOLL J M, *et al.* Immunoreceptor engineering and synthetic cytokine signaling for therapeutics[J]. *Trends Immunol*, 2019, 40(3): 258-272. DOI: 10.1016/j.it.2019.01.001.
- [55] MO F, YU Z Y, LI P, *et al.* An engineered IL-2 partial agonist promotes CD8⁺ T cell stemness[J]. *Nature*, 2021, 597(7877): 544-548. DOI: 10.1038/s41586-021-03861-0.
- [56] GUO Y G, XIE Y Q, GAO M, *et al.* Metabolic reprogramming of terminally exhausted CD8⁺ T cells by IL-10 enhances anti-tumor immunity[J]. *Nat Immunol*, 2021, 22(6): 746-756. DOI: 10.1038/s41590-021-00940-2.
- [57] ZHOU T, DAMSKY W, WEIZMAN O E, *et al.* IL-18BP is a secreted immune checkpoint and barrier to IL-18 immunotherapy[J]. *Nature*, 2020, 583(7817): 609-614. DOI: 10.1038/s41586-020-2422-6.
- [58] XUE D Y, MOON B, LIAO J, *et al.* A tumor-specific pro-IL-12 activates preexisting cytotoxic T cells to control established tumors[J/OL]. *Sci Immunol*, 2022, 7(67): eabi6899[2023-08-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9009736/>. DOI: 10.1126/sciimmunol.abi6899.
- [59] KRUGLIKOV I L, JOFFIN N, SCHERER P E. The MMP14-caveolin axis and its potential relevance for lipoedema[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2020, 16(11): 669-674. DOI: 10.1038/s41574-020-0395-z.
- [60] RIBAS A, WOLCHOK J D. Cancer immunotherapy using checkpoint blockade[J]. *Science*, 2018, 359(6382): 1350-1355. DOI: 10.1126/science.aar4060.
- [61] YI M, ZHENG X L, NIU M K, *et al.* Combination strategies with PD-1/PD-L1 blockade: current advances and future directions[J/OL]. *Mol Cancer*, 2022, 21(1): 28[2023-08-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8780712/>. DOI: 10.1186/s12943-021-01489-2.
- [62] TICHET M, WULLSCHLEGER S, CHRYPLEWICZ A, *et al.* Bispecific PD1-IL2v and anti-PD-L1 break tumor immunity resistance by enhancing stem-like tumor-reactive CD8⁺ T cells and reprogramming macrophages[J]. *Immunity*, 2023, 56(1): 162-179.e6. DOI: 10.1016/j.immuni.2022.12.006.
- [63] MARIN-ACEVEDO J A, DHOLARIA B, SOYANO A E, *et al.* Next generation of immune checkpoint therapy in cancer: new developments and challenges[J/OL]. *J Hematol Oncol*, 2018, 11(1): 39[2023-08-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5856308/>. DOI: 10.1186/s13045-018-0582-8.
- [64] PENG M, MO Y, WANG Y, *et al.* Neoantigen vaccine: an emerging tumor immunotherapy[J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 128. DOI: 10.1186/s12943-019-1055-6.
- [65] 石刚, 邓洪新. 肿瘤治疗性疫苗的研发现状与展望[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2023, 30(7): 541-551. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.07.001.
- [66] BLASS E, OTT P A. Advances in the development of personalized neoantigen-based therapeutic cancer vaccines[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2021, 18(4): 215-229. DOI: 10.1038/s41571-020-00460-2.
- [67] MACKENZIE K J, CARROLL P, MARTIN C A, *et al.* cGAS surveillance of micronuclei links genome instability to innate immunity[J/OL]. *Nature*, 2017, 548(7668): 461-465[2023-08-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5870830/>. DOI: 10.1038/nature23449.
- [68] D'ALISE A M, BRASU N, DE INTINIS C, *et al.* Adenoviral-based vaccine promotes neoantigen-specific CD8⁺ T cell stemness and tumor rejection[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2022, 14(657): eabo7604[2023-08-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9844517/>. DOI: 10.1126/scitranslmed.abo7604.
- [69] LYNN G M, SEDLIK C, BAHAROM F, *et al.* Peptide-TLR-7/8a conjugate vaccines chemically programmed for nanoparticle self-assembly enhance CD8 T-cell immunity to tumor antigens[J/OL]. *Nat Biotechnol*, 2020, 38(3): 320-332[2023-08-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7065950/>. DOI: 10.1038/s41587-019-0390-x.
- [70] BAHAROM F, RAMIREZ-VALDEZ R A, TOBIN K K S, *et al.* Intravenous nanoparticle vaccination generates stem-like TCF1⁺ neoantigen-specific CD8⁺ T cells[J/OL]. *Nat Immunol*, 2021, 22(1): 41-52[2023-08-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7746638/>. DOI: 10.1038/s41590-020-00810-3.

[收稿日期] 2023-08-10

[修回日期] 2023-08-23

[本文编辑] 党瑞山, 沈志超