

DOI: 10.13376/j.cblls/2024048

文章编号: 1004-0374(2024)04-0448-08

自然杀伤细胞相关的CRC免疫微环境

常娟娟¹, 杨志琴¹, 聂尊珍², 郭英^{1,2,3*}

(1 西北大学生命科学学院, 西安 710069; 2 西安大兴医院, 西安 710016; 3 延安大学, 延安 716000)

摘要: 自然杀伤细胞 (natural killer cell, NK 细胞) 是先天淋巴细胞的一个亚群, 具有多种细胞毒性机制, 可通过产生细胞因子调节免疫应答, 进而杀伤病毒感染的正常细胞和肿瘤细胞。但是在肿瘤微环境中, NK 细胞浸润减少, 且表型发生变化, 活性降低, 杀伤肿瘤细胞的功能受到抑制。因此, NK 细胞是免疫治疗领域的研究热点, 而免疫检查点研究显示在肿瘤中 NK 细胞功能耗竭可被逆转。结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 是一种常见的消化系统恶性肿瘤, 死亡率排名第二。相比于传统的手术治疗、放化疗, 免疫治疗在 CRC 中取得了一定的成效。其中免疫检查点抑制剂以 PD-1/PD-L1 单抗为代表, 在具有微卫星不稳定性 (MSI) 的 CRC 患者中疗效显著, 但是对大多数转移性 CRC 患者效果甚微。本文对 CRC 微环境中的 NK 细胞功能受损及其影响因素进行总结, 并重点阐述免疫检查点研究新进展, 以期为 CRC 治疗提供新的思路。

关键词: 自然杀伤细胞; 结直肠癌; 肿瘤微环境; 免疫检查点

中图分类号: Q253; R730.51 **文献标志码:** A

Natural killer cell associated immune microenvironment in colorectal cancer

CHANG Juan-Juan¹, YNAG Zhi-Qin¹, NIE Zun-Zhen², GUO Ying^{1,2,3*}

(1 College of Life Sciences, Northwest University, Xi'an 710069, China; 2 Xi'an Daxing Hospital, Xi'an 710016, China; 3 Yan'an University, Yan'an 716000, China)

Abstract: Natural killer cells (NK cells) are a subgroup of innate lymphocytes with a variety of cytotoxic mechanisms, which can regulate immune responses by producing cytokines to kill virus-infected normal cells or tumor cells. However, in the tumor microenvironment, the low infiltration and the changed phenotype of NK cells leads to reduced activity to kill tumor cells. So NK cells are hotspots in immunotherapy, and immune checkpoints studies have shown that the depletion of NK cells in tumors can be reversed. Colorectal cancer (CRC) is the second leading cause of cancer related deaths in the world. Compared with traditional surgery, chemoradiotherapy, immunotherapy has made great breakthroughs in the treatment of colorectal cancer. Immune checkpoint inhibitors targeting PD-1/PD-L1 are effective in colorectal cancer patients with microsatellite instability (MSI), but have no remarkable efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. In this paper, the functional impairment of NK cells in the microenvironment of colorectal cancer and its influencing factors were summarized, and the research progress of new immune checkpoints was highlighted, hoping to provide new ideas for the treatment of colorectal cancer.

Key words: natural killer cells; colorectal cancer; tumor microenvironment; immune checkpoint

自然杀伤细胞 (natural killer cell, NK 细胞) 是先天性淋巴样细胞 (innate lymphoid cells, ILC) 家族的细胞毒性成员, 是一类具有主要组织相容性复合体 I (major histocompatibility complex I, MHC-I) 非依赖性, 无需抗原呈递细胞刺激, 可以直接杀伤肿瘤细胞的固有免疫细胞, 因此是抵御癌症的第一道

防线^[1]。NK 细胞的活化及杀伤能力主要受其表面抑制性受体和激活性受体的调控, 活化的 NK 细胞

收稿日期: 2023-11-02; 修回日期: 2024-01-15

基金项目: 国家自然科学基金项目(82260319)

*通信作者: E-mail: yingguo2nd@aliyun.com

可以直接释放细胞毒性颗粒裂解肿瘤细胞, 并分泌 γ 干扰素 (interferon- γ , IFN- γ) 和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 激活适应性免疫应答^[2], 还可以产生细胞因子和趋化因子以及与其他免疫细胞相互作用调节免疫反应。因此, NK 细胞在抑制肿瘤发生发展过程中发挥重要作用^[3], NK 细胞相关免疫疗法受到越来越多的关注。

结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 是一种常见的消化系统恶性肿瘤, CRC 在恶性肿瘤中发病率排名第三, 死亡率排名第二^[4-5]。CRC 发病隐匿, 被诊断时往往已在中晚期, 恶性程度高, 术后易复发, 且长期生存率和预后比较差, 治疗方式有手术治疗、放化疗、靶向治疗和免疫治疗等, 目前相关研究取得了重大突破。CRC 最常见的致病因素为染色体不稳定、癌基因或抑癌基因的突变或者 DNA 错配修复途径受损而导致的微卫星不稳定性 (microsatellite instability, MSI)^[6]。尽管炎症是 CRC 肿瘤发生的驱动力, 但 CRC 也可以引发炎症, 影响肿瘤微环境中的细胞间相互作用, 以促进局部肿瘤的生长; 然而, 这种作用也可能是有益的, 因为 MSI 阳性的 CRC 与瘤内免疫细胞浸润增加和对检查点免疫治疗更好的反应性有关^[7]。浸润增加的免疫细胞包括 T 细胞和 NK 细胞, NK 细胞在防止肿瘤复发中起关键作用并且是重要的预后因素。相比 T 细胞, NK 细胞能够直接识别并快速杀死肿瘤细胞, 并且 NK 细胞体内存活时间短、不可预期风险低, 这是其在抗肿瘤治疗中的独特优势; 明确 NK 细胞在 CRC 微环境中功能受损的分子机制及其影响因素, 有助于更好地指导 CRC 治疗。本文就 NK 细胞相关 CRC 微环境予以综述。

1 NK细胞简介及功能

1.1 NK细胞简介

NK 细胞是机体固有免疫系统中具有直接杀伤功能的细胞毒性淋巴细胞, 不受 MHC 限制, 无需抗原致敏, 直接杀伤肿瘤细胞和病毒感染细胞, 并且具有调节其他免疫细胞和促进组织生长的作用^[8]。人体中的 NK 细胞为 CD3⁺CD56⁺ NK 细胞, 其在发育过程中主要可分为两种细胞亚型 CD56^{dim} 和 CD56^{bright}, 前者在功能上比后者成熟^[9]。CD56^{dim} NK 细胞表现出更强的细胞毒性, 通过表达大量的 CD16 受体, 分泌穿孔素和颗粒酶等细胞毒性分子杀伤靶细胞^[10]; CD56^{bright} NK 细胞的主要作用是释放细胞因子 (如 TNF- α 、IFN- γ) 和通过免疫调节杀

伤肿瘤细胞^[11]。研究显示, 在 CRC 患者中, 外周血中的 CD56^{dim} NK 细胞表型发生改变, 而 CD56^{bright} NK 细胞表型不变^[12]。以上研究表明, NK 细胞不同亚群在肿瘤发展中发挥不同的作用, 因此区分不同亚群非常必要。

1.2 NK细胞独特的生物学特性: 自我识别和杀伤功能

NK 细胞作为先天免疫的主要效应细胞之一, 无需抗原致敏, 而是通过表达抑制性和活化性受体识别靶细胞, 进而发挥杀伤靶细胞的作用。这种 NK 细胞与靶细胞之间的相互作用由抑制性信号与活化性信号之间的平衡决定^[13]。在正常免疫监视下, NK 细胞表达抑制性受体, 对健康细胞不发挥毒性作用, 这些抑制性受体包括杀伤细胞免疫球蛋白样受体 (killer cell immunoglobulin-like receptors, KIRs) 和 CD94/NKG2A 异源二聚体, 它们主要识别经典和非经典的 MHC 类分子^[14]。另外, 健康细胞不表达 NK 细胞激活性受体的配体, 而是表达高水平的 MHC-I 类分子, 也称为人类白细胞抗原 (human leukocyte antigen, HLA); HLA 可与 NK 细胞的抑制性受体结合, 防止 NK 细胞攻击健康细胞^[15]。当细胞发生癌变或受到病毒感染时, MHC-I 类分子表达下调或缺失, 使细胞逃避 CD8⁺ T 细胞的攻击, 并表达 NK 细胞活化性受体 (如 NCR 和 NKG2D) 配体^[16]。伴随抑制信号的减弱和激活信号的增强, NK 细胞的活化性受体, 如天然细胞毒性受体 (包括 NKP46、NKP30 和 NKP44)、NKG2D 和 DNAM-1 等, 识别靶细胞表面的活化性受体配体, 激活 NK 细胞进而杀伤靶细胞^[17]。而 NK 细胞的抑制性受体, 包括 LILRB1 (也称为 LIR1)、CD161、KLRG1、SIGLEC7、SIGLEC9、PD-1、TIGIT、LAG-3 和 TIM-3 等, 可以抑制 NK 细胞的活化状态^[18]。

NK 细胞杀伤靶细胞的机制: (1) NK 细胞产生裂解颗粒 (如穿孔素和颗粒酶), 诱导靶细胞凋亡; (2) NK 细胞表达 FasL 结合靶细胞表面相应受体 Fas, 激活 Fas 信号通路诱导靶细胞凋亡; (3) NK 细胞杀伤靶细胞的同时释放大量可溶性细胞因子, 尤其是 IFN- γ , 增强机体的适应性免疫应答; (4) NK 细胞表达 CD16, 与肿瘤抗体 Fc 段结合, 介导抗体依赖性细胞介导的细胞毒性 (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC) 作用; (5) NK 细胞与树突状细胞、巨噬细胞和 T 细胞相互作用, 调节免疫反应^[19]。以上机制说明 NK 细胞在杀伤肿瘤细胞及治疗 CRC 中具有突出的优势和应用潜能。

2 CRC微环境中的NK细胞功能受损

CRC 中的肿瘤免疫微环境 (tumor immune microenvironment, TIME) 包括肿瘤细胞周围的血管、细胞外基质、成纤维细胞、淋巴细胞、骨髓源性抑制细胞 (MDSCs) 和信号分子等, 与肿瘤的发生、发展和转移密切相关^[20]。在 CRC 微环境中, NK 细胞的表面表型会发生改变并且功能受到抑制^[17], 主要表现为 NK 细胞表面抑制性受体表达增多, 活化性受体表达减少, 如图 1 所示。另外, 与周围正常组织相比, 在 CRC 肿瘤组织中没有显著的 NK 细胞浸润^[21]。这表明 CRC 微环境中 NK 细胞不能聚集到肿瘤组织中, 使得发育中的肿瘤可以逃避 NK 细胞介导的免疫监视; 尤其是 NK 细胞表型和功能的改变造成其免疫原性丧失, 无法识别肿瘤细胞。研究发现, 使用 EGFR 抑制剂可增加 CRC 中 T 细胞和 NK 细胞的浸润, 并且 T 细胞和 NK 细胞的浸润程度与参加手术治疗的 CRC 肝转移患者的生存期呈正相关^[22]。因此, 增加肿瘤中 NK 细胞的浸润可能是治疗 CRC 的新方法。

2.1 CRC微环境中NK细胞表面抑制性受体表达上调

如前所述, NK 细胞的活化是通过抑制性和活化性受体来调控的。在胃肠癌 (包括 CRC) 患者中, 肿瘤浸润性 NK 细胞的抑制性受体 NKG2A 和 TIGIT 的表达增加, 并与 NK 细胞毒性减弱、疾病分期和生存期相关^[23]。研究发现, 阻断 NKG2A 或 TIGIT 可促进 NK 细胞和 CD8⁺T 细胞效应功能, 并增强抗肿瘤免疫应答^[24-25]。TIM-3 是近年来研究较多的免疫检查点分子, 在 CD8⁺T 细胞和 NK 细胞中均有表达^[26], 并且在胃癌和 CRC 中表达升高; 阻断 TIM-3 可以缓解免疫抑制, 并显示出一定的治

疗效果^[27]。在肿瘤微环境中, NK 细胞抗肿瘤功能减弱不仅受到抑制性受体表达升高的影响, 激活性受体及相关配体的表达降低也会减弱 NK 细胞的杀伤功能。

2.2 CRC微环境中NK细胞表面活化性受体表达降低

NK 细胞的活化性受体在识别和清除肿瘤细胞中起着至关重要的作用。NKG2D 是 NK 细胞主要的活化受体, 在 NK 细胞成熟和激活过程中表达上调^[28]。在接受根治性肿瘤切除术的 CRC 患者中, NKG2D 在循环 NK 和 NKT 细胞中表达增加, 说明在 TIME 中 NK 和 NKT 细胞 NKG2D 的表达受到抑制^[29]。另外研究表明 NK 细胞的其他活化性受体, CD16、NKP30、NKP44、NKP46 和 DNAM-1, 在 CRC 肿瘤组织中也呈现出低表达^[30]。以上研究表明, 在 CRC 肿瘤微环境中, NK 细胞活化性受体表达降低。

3 CRC微环境对NK细胞的影响

3.1 CRC肿瘤细胞表达的配体影响NK细胞的功能

在 TIME 中, NK 细胞功能受到抑制不仅是受到自身受体表达改变的影响, 肿瘤细胞表面表达的 NK 细胞配体也会影响 NK 细胞的功能。例如, 在 CRC 肿瘤微环境中, HLA-E (抑制性受体 NKG2A 的配体) 在癌组织中的表达高于癌周组织, 可通过与受体 NKG2A 结合, 抑制 NK 细胞活化和杀伤能力^[31-32]。这表明 NK 细胞抑制性受体的配体上调可以增强抑制信号。不仅 NK 细胞抑制性受体受到配体调节, 活化性受体也受到可溶性配体的影响。在 CRC 肿瘤微环境中, 肿瘤细胞可以异质地表达 NKG2D 的配体 MHC-I 类多肽相关序列 A (MHC class I polypeptide related sequence A, MICA) 和 UL16 结合蛋白^[33]; 研究证明, NK 细胞连续暴露于可溶性形式的 MICA 可导致 NK 细胞毒性降低^[34]。作为应激蛋白, MICA 和 MICB 在细胞毒性淋巴细胞中对识别激活通路至关重要, 其水解、脱落将造成可溶性 MICA 和 MICB 增加, 进而导致肿瘤逃逸^[35]。

3.2 CRC肿瘤微环境中免疫细胞对NK细胞功能的影响

3.2.1 T细胞

在癌症患者中, NK 细胞负责识别早期转化的癌细胞, 而癌细胞的进化使 NK 细胞受体重新分布, 影响 NK 细胞对肿瘤的敏感性。同时, NK 细胞产生趋化因子诱导肿瘤炎症反应, 而树突状细胞则招募肿瘤新抗原并将其呈递给 CD8⁺T 细胞, 抑制肿瘤的生长^[36]。但是在 MHC 诱导的免疫逃逸中, 癌

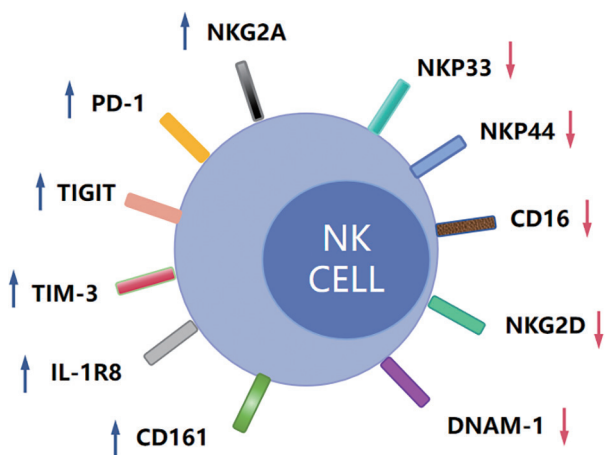


图1 结直肠癌中的NK细胞功能受损

细胞可以通过下调 MHC-I 表达来逃避 CD8⁺ T 细胞的识别, 但与此同时, MHC-I 的下调会激活 NK 细胞的杀伤功能进而裂解癌细胞^[37]。因此, NK 细胞和 T 细胞可以相互补充, 共同发挥抗肿瘤的作用。

T 细胞和 NK 细胞之间的串扰与良好的预后相关。研究发现, 在 CRC 中, NK 细胞和 CD8⁺ T 细胞的浸润与患者生存期延长相关^[38]。T-NK 细胞协同作用为改善免疫抑制性的 TIME 提供了广阔的应用前景。例如, 在小鼠模型中观察到 NK 细胞的激活取决于肿瘤部位 CD8⁺ T 细胞的重新激活, 而 T 细胞和 NK 细胞的协作可以有效清除癌细胞^[39]。

3.2.2 巨噬细胞

巨噬细胞是肿瘤中最丰富的免疫细胞亚群, 存在于肿瘤发展的各个阶段, 在肿瘤免疫调节中发挥重要作用。在恶性肿瘤中, 巨噬细胞表现出异质性, 可被极化为抑制肿瘤生长的 M1 型或促进肿瘤生长的 M2 型^[40]。在 TIME 中, 巨噬细胞产生促炎或免疫抑制细胞因子, 影响 NK 细胞的成熟和功能。例如, 巨噬细胞释放促炎细胞因子 (如 IL-12、IL-15、IL-18 和 TNF- α), 可以促进 NK 细胞杀伤肿瘤^[41]; 而表达趋化因子受体 (如 CX3CR1), 则可以抑制 NK 细胞释放细胞杀伤因子 (IFN- γ 和 TNF- α)^[42]。据报道, 巨噬细胞表达 ICAM-1 可以阻止巨噬细胞募集和 M2 型极化, 进而抑制人类结肠癌肿瘤细胞的转移; 而 LFA-1 是 NK 细胞高表达的一种整合素, 可与 ICAM-1 结合并介导 NK 细胞在炎症部位的黏附和迁移^[43]。因此, 在 TIME 中, 巨噬细胞和 NK 细胞之间存在极其复杂的关系, 其相互作用机制研究可以为 CRC 的免疫治疗提供新的视角。

3.2.3 中性粒细胞

中性粒细胞是肿瘤微环境的重要组成部分, 其在肿瘤微环境中发挥促肿瘤和抗肿瘤的双重功能^[44]。研究发现, NK 细胞可以影响中性粒细胞的功能: 在乳腺癌小鼠模型中, 当 NK 细胞不存在时, 中性粒细胞抑制肿瘤转移; 而当 NK 细胞存在时, 中性粒细胞促进肿瘤转移^[45]。另外, 在 CRC 小鼠模型中, 中性粒细胞通过下调 CCR1 的表达, 抑制

肿瘤中 NK 细胞的浸润, 同时抑制 NK 细胞激活受体 NKP46 和 NKG2D 的表达, 促进小鼠体内肿瘤的生长^[46]。在肿瘤微环境中, 中性粒细胞可释放中性粒细胞胞外陷阱 (neutrophil extracellular traps, NETs), 通过驱动血管生成、细胞外基质重塑和肿瘤细胞增殖促进肿瘤生长^[44]。Teijeira 等^[43] 研究发现, NETs 包裹肿瘤细胞, 阻断免疫细胞与肿瘤细胞的接触, 抑制 CD8⁺ T 细胞和 NK 细胞对肿瘤细胞的杀伤作用。以上研究表明, 中性粒细胞可以通过 NETs 抑制 NK 细胞的功能。

3.3 CRC 肿瘤微环境中其他因素对 NK 细胞功能的影响

在肿瘤微环境中, 细胞间的相互作用、可溶性细胞因子的释放以及营养和氧气的缺乏等多种因素的存在均能影响肿瘤部位 NK 细胞的活性。例如, 在 TIME 中, 肿瘤相关成纤维细胞 (CAFs) 通过分泌 IL-8 募集单核细胞, 促进巨噬细胞 M2 极化, 进而抑制 NK 细胞的功能^[47]。另外, 调节性 T 细胞 (Tregs)、肿瘤相关巨噬细胞 (TAMs) 和骨髓源性抑制细胞 (MDSCs) 等肿瘤浸润性的免疫抑制细胞, 均已被证明通过多种机制抑制 NK 细胞的功能^[48]。伴随肿瘤细胞的增殖, 营养需求不断增加, 肿瘤细胞通过上调糖酵解、葡萄糖消耗和乳酸生成来适应环境, 限制微环境中营养和氧气的可用性, 并导致肿瘤浸润性 NK 细胞功能受损^[49]; 肿瘤微环境中乳酸的积累和低 pH 也可以减弱 NK 细胞的细胞毒性, 并抑制 IFN- γ 的分泌^[50]。肿瘤细胞、Tregs、MDSCs 和其他基质细胞还可表达细胞因子 TGF- β , 研究发现其在 CRC 小鼠模型中可减弱 NK 细胞毒性^[51]。

4 NK 细胞相关免疫检查点

NK 细胞的效应功能依赖于抑制信号和激活信号的平衡。在 TIME 中, 阻断免疫检查点可以恢复 NK 细胞的抗肿瘤能力。免疫检查点抑制剂单独和联合应用已进入临床试验 (表 1)。下文重点介绍新发现的免疫检查点分子 IL-1R8、TIM3、TIGIT 在 CRC 中的研究现状。

表1 免疫检查点抑制剂联合应用治疗CRC的临床试验

药物名称	联合用药	联合用药的靶点	临床	NCT识别号
CYAD-101 (NKR-2)	Tislelizumab	PD-1	I	NCT03310008
Relatlimab	Nivolumab	PD-1	II	NCT03642067
INT230-6	Anti-PD-1	PD-1	II	NCT03058289
Anti-PD-L1	Pembrolizumab	PD-1	II	NCT03436563

4.1 IL-1R8

IL-1R8 (也称为 TIR8 或 SIGIRR) 是 TIR 超家族的一员, 是抑制 TLR 和 ILR 信号转导的负调节因子和人 IL-37 的共受体, 其在消化道癌、肾、肺、肝和淋巴器官等组织上皮细胞中广泛表达^[52-53], 也在淋巴样细胞中表达, 如单核细胞、T 细胞、B 细胞、NK 细胞和树突状细胞^[54-56]。在人溃疡性结肠炎和小鼠结肠炎中, 上皮细胞中的 IL-1R8 表达下调^[57-58]; 而在结肠炎相关的癌变过程中, 与 IL-1R8 正常小鼠相比, IL-1R8 缺陷小鼠存活率降低, 体重减轻, 肠道出血加重^[59-60], 表明 IL-1R8 可抑制肿瘤发展。

但也有研究发现, IL-1R8 在特定癌症模型中表现为促进肿瘤发展。研究发现, IL-1R8 可作为检查点分子调节 NK 细胞效应功能, 发挥抑制性受体功能^[61]。在体外 NK 细胞活化评估中, IL-1R8 缺陷与颗粒酶 B、IFN- γ 和 FasL 的高表达和释放相关^[62]。在 NK 细胞中敲除 IL-1R8 可以激活 NK 细胞的杀伤功能, 抑制肿瘤进展和转移^[61]; 在肿瘤浸润性 IL-1R8 缺陷型 NK 细胞中也观察到, NK 细胞效应功能增强^[63]。因此, IL-1R8 在 NK 细胞功能调节中起重要作用, 可以调控 NK 细胞的抗肿瘤免疫应答, 有望成为治疗 CRC 的新靶点, 但详细作用机制仍需进一步研究。

4.2 TIM-3

TIM-3 作为 T 细胞免疫球蛋白黏蛋白分子 (T cell immunoglobulin and mucin domain containing molecule, TIM) 家族的一员, 是一种抑制性受体, 在 CD4⁺ T 细胞、CD8⁺ T 细胞、调节性 T 细胞、B 细胞、NK 细胞、NKT 细胞和髓系细胞等免疫细胞中均表达^[64-65]。TIM-3 是 T 细胞和 NK 细胞的负调控因子, 通过与其配体 (如半乳糖凝集素 -9、高迁移率组蛋白 B1、磷脂酰丝氨酸和癌胚抗原细胞黏附分子 1) 结合, 可以引起 T 细胞和 NK 细胞的耗竭, 诱导免疫耐受^[66]。在成熟的静息 CD56^{dim} NK 细胞中, TIM-3 在 NK 细胞激活时表达上调, 以响应细胞因子的刺激, 其高表达是效应 NK 细胞产生 IFN- γ 和脱颗粒的标志物^[27]。另外 Gleason 等^[67] 研究证明, 高水平的 TIM-3 影响 NK 细胞分泌 IFN- γ 的能力并减弱 NK 细胞杀伤功能; 而阻断 TIM-3 可以恢复 NK 细胞的功能, 增强其分泌 IFN- γ 的能力和抗肿瘤功能。在癌症患者的外周 NK 细胞中可观察到 TIM-3 高表达以及 NK 细胞功能耗竭, 阻断 TIM-3 可以逆转 NK 细胞耗竭进而杀伤肿瘤细胞^[27]。TIM-3 在 CRC NK 细胞耗竭中的作用机制尚未阐明,

需要进一步的研究。

在临床上, 抗 TIM-3 抗体和抗 PD-1 抗体已被联合应用于多种恶性肿瘤 (包括 CRC) 的治疗, 并表现出良好的抗肿瘤活性^[68]。TIM-3 在 CRC 患者 CD8⁺ T 细胞中的过表达抑制了 T 细胞活性, 而阻断 TIM-3 可能促进 T 细胞抗肿瘤功能^[69]。这些研究结果表明, TIM-3 作为免疫检查点为 CRC 的治疗提供了更多的可能性。

4.3 TIGIT

TIGIT (T cell immunoglobulin and ITIM domain), 是 Ig 超家族的一种受体, 在多种人类癌症中表达, 包括黑色素瘤、非小细胞肺癌和 CRC^[70]。研究发现, TIGIT 是一种具有抑制功能的新型免疫检查点分子, 在 T 细胞和 NK 细胞中表达^[71]。在耗竭的 NK 细胞、T 细胞和 CRC 肿瘤细胞中, TIGIT 表达量显著升高^[72]。TIGIT 通过其细胞质结构域转导信号, 触发对 NK 细胞和 T 细胞的抑制作用, 显著抑制 NK 细胞的功能、IFN- γ 的产生和颗粒酶极化^[73-74]。与野生小鼠相比, 在敲除 NK 细胞 TIGIT 基因的小鼠肿瘤模型中, 肿瘤生长得到抑制, 并且肿瘤浸润的 CD8⁺ T 细胞和 NK 细胞表面的 CD107a、TNF、IFN- γ 、CD226 表达均上调, 说明缺乏 TIGIT 可以逆转 NK 细胞耗竭的状态, 恢复其抗肿瘤功能^[24]。同样在 CRC 中, 肿瘤内的 TIGIT 可通过抑制 NK 和 CD8⁺ T 细胞的功能促进肿瘤的生长, 而阻断 TIGIT 可以恢复 NK 和 CD8⁺ T 细胞的抗肿瘤功能^[75]。因此, TIGIT 有望成为 CRC 治疗的潜在靶点。

在结直肠癌移植小鼠模型中, TIGIT 阻断与 PD-1 阻断相结合可导致协同抗肿瘤作用^[76]。根据这一结果, GSEA 计算分析显示, TIGIT 在 CRC 中的表达可以负向调节 NK 细胞中的细胞因子-细胞因子受体相互作用通路、趋化因子信号转导和细胞毒功能^[77]。但是, 在 CRC 中, TIGIT 导致 NK 细胞耗竭的机制还需要进一步研究验证, 从而为 CRC 治疗提供更确切的依据。

5 结论和未来展望

NK 细胞的效应功能以及对靶细胞的杀伤作用受到活化性和抑制性受体的调节。在 CRC 微环境中, 受到免疫抑制微环境的影响, NK 细胞转化为功能失调的细胞, 表现为活化性受体表达减少, 抑制性受体表达升高, 影响其抗肿瘤功能。使用免疫受体抑制剂阻断检查点分子 (如 IL-1R8、TIM-3、TIGIT), 可以恢复 NK 细胞的抗肿瘤功能。基于 NK 细胞免

疫检查点的联合应用也为CRC的治疗带来了新希望。

总的来说,在CRC肿瘤微环境中,促进肿瘤组织中NK细胞的浸润以及上调NK细胞的杀伤功能是基于NK细胞治疗CRC的关键。深入了解NK细胞的特征和功能以及发掘新的免疫检查点,将有助于更好地设计CRC免疫疗法。

[参 考 文 献]

- [1] Guillerey C. Roles of cytotoxic and helper innate lymphoid cells in cancer. *Mamm Genome*, 2018, 29: 777-89
- [2] Bald T, Krummel MF, Smyth MJ, et al. The NK cell-cancer cycle: advances and new challenges in NK cell-based immunotherapies. *Nat Immunol*, 2020, 21: 835-47
- [3] Prager I, Liesche C, van Ooijen H, et al. NK cells switch from granzyme B to death receptor-mediated cytotoxicity during serial killing. *J Exp Med*, 2019, 216: 2113-27
- [4] Keum N, Giovannucci E. Global burden of colorectal cancer: emerging trends, risk factors and prevention strategies. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, 16: 713-32
- [5] Siegel RL, Miller KD, Wagle NS, et al. Cancer statistics, 2023. *CA Cancer J Clin*, 2023, 73: 17-48
- [6] Krabbendam L, Heesters BA, Kradolfer CMA, et al. Identification of human cytotoxic ILC3s. *Eur J Immunol*, 2021, 51: 811-23
- [7] Andre T, Shiu KK, Kim TW, et al. Pembrolizumab in microsatellite-instability-high advanced colorectal cancer. *N Engl J Med*, 2020, 383: 2207-18
- [8] Chiossone L, Dumas PY, Vienne M, et al. Natural killer cells and other innate lymphoid cells in cancer. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18: 671-88
- [9] Perera Molligoda Arachchige AS. Human NK cells: from development to effector functions. *Innate Immun*, 2021, 27: 212-29
- [10] Fauriat C, Long EO, Ljunggren HG, et al. Regulation of human NK-cell cytokine and chemokine production by target cell recognition. *Blood*, 2010, 115: 2167-76
- [11] Takahashi E, Kuranaga N, Satoh K, et al. Induction of CD16⁺ CD56^{bright} NK cells with antitumor cytotoxicity not only from CD16⁻ CD56^{bright} NK cells but also from CD16⁻ CD56^{dim} NK cells. *Scand J Immunol*, 2007, 65: 126-38
- [12] Krijgsman D, de Vries NL, Skovbo A, et al. Characterization of circulating T-, NK-, and NKT cell subsets in patients with colorectal cancer: the peripheral blood immune cell profile. *Cancer Immunol Immunother*, 2019, 68: 1011-24
- [13] 田志刚, 陈永艳. NK细胞的发育、分化与识别机制. *中国免疫学杂志*, 2009, 25: 31-4
- [14] Hervier B, Russick J, Cremer I, et al. NK cells in the human lungs. *Front Immunol*, 2019, 10: 1263
- [15] Handgretinger R, Lang P, André MC. Exploitation of natural killer cells for the treatment of acute leukemia. *Blood*, 2016, 127: 3341-9
- [16] Ferretti E, Carlomagno S, Pesce S, et al. Role of the main non HLA-specific activating NK receptors in pancreatic, colorectal and gastric tumors surveillance. *Cancers (Basel)*, 2020, 12: 3705
- [17] Barrow AD, Martin CJ, Colonna M. The natural cytotoxicity receptors in health and disease. *Front Immunol*, 2019, 10: 909
- [18] Cózar B, Greppi M, Carpentier S, et al. Tumor-infiltrating natural killer cells. *Cancer Discov*, 2021, 11: 34-44
- [19] Crinier A, Narni-Mancinelli E, Ugolini S, et al. SnapShot: natural killer cells. *Cell*, 2020, 180: 1280-1280.e1
- [20] Chen Y, Zheng X, Wu C. The role of the tumor microenvironment and treatment strategies in colorectal cancer. *Front Immunol*, 2021, 12: 792691
- [21] Halama N, Braun M, Kahlert C, et al. Natural killer cells are scarce in colorectal carcinoma tissue despite high levels of chemokines and cytokines. *Clin Cancer Res*, 2011, 17: 678-89
- [22] Donadon M, Hudspeth K, Cimino M, et al. Increased infiltration of natural killer and T cells in colorectal liver metastases improves patient overall survival. *J Gastrointest Surg*, 2017, 21: 1226-36
- [23] Fionda C, Scarno G, Stabile H, et al. NK cells and other cytotoxic innate lymphocytes in colorectal cancer progression and metastasis. *Int J Mol Sci*, 2022, 23: 7859
- [24] André P, Denis C, Soulas C, et al. Anti-NKG2A mAb is a checkpoint inhibitor that promotes anti-tumor immunity by unleashing both T and NK cells. *Cell*, 2018, 175: 1731-43.e13
- [25] Zhang Q, Bi J, Zheng X, et al. Blockade of the checkpoint receptor TIGIT prevents NK cell exhaustion and elicits potent anti-tumor immunity. *Nat Immunol*, 2018, 19: 723-32
- [26] Ju Y, Hou N, Meng J, et al. T cell immunoglobulin-and mucin-domain-containing molecule-3 (Tim-3) mediates natural killer cell suppression in chronic hepatitis B. *J Hepatol*, 2010, 52: 322-9
- [27] Wolf Y, Anderson AC, Kuchroo VK. TIM3 comes of age as an inhibitory receptor. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20: 173-85
- [28] Abel AM, Yang C, Thakar MS, et al. Natural killer cells: development, maturation, and clinical utilization. *Front Immunol*, 2018, 9: 1869
- [29] Krijgsman D, Roelands J, Andersen MN, et al. Expression of NK cell receptor ligands in primary colorectal cancer tissue in relation to the phenotype of circulating NK- and NKT cells, and clinical outcome. *Mol Immunol*, 2020, 128: 205-18
- [30] Marchalot A, Mjösberg J. Innate lymphoid cells in colorectal cancer. *Scand J Immunol*, 2022, 95: e13156
- [31] Eugène J, Jouand N, Ducoin K, et al. The inhibitory receptor CD94/NKG2A on CD8⁺ tumor-infiltrating lymphocytes in colorectal cancer: a promising new druggable immune checkpoint in the context of HLA-E/β2m overexpression. *Mod Pathol*, 2020, 33: 468-82
- [32] Kaiser BK, Pizarro JC, Kerns J, et al. Structural basis for NKG2A/CD94 recognition of HLA-E. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105: 6696-701

- [33] Maccalli C, Scaramuzza S, Parmiani G. TNK cells (NKG2D⁺ CD8⁺ or CD4⁺ T lymphocytes) in the control of human tumors. *Cancer Immunol Immunother*, 2009, 58: 801-8
- [34] Ghazvinian Z, Abdolahi S, Tokhanbigli S, et al. Contribution of natural killer cells in innate immunity against colorectal cancer. *Front Oncol*, 2022, 12: 1077053
- [35] Ferrari de Andrade L, Tay RE, Pan D, et al. Antibody-mediated inhibition of MICA and MICB shedding promotes NK cell-driven tumor immunity. *Science*, 2018, 359: 1537-42
- [36] Huntington ND, Cursons J, Rautela J. The cancer-natural killer cell immunity cycle. *Nat Rev Cancer*, 2020, 20: 437-54
- [37] Myers JA, Miller JS. Exploring the NK cell platform for cancer immunotherapy. *Nat Rev Clin Oncol*, 2021, 18: 85-100
- [38] Sconocchia G, Eppenberger S, Spagnoli GC, et al. NK cells and T cells cooperate during the clinical course of colorectal cancer. *Oncoimmunology*, 2014, 3: e952197
- [39] Shanker A, Verdeil G, Buferne M, et al. CD8 T cell help for innate antitumor immunity. *J Immunol*, 2007, 179: 6651-62
- [40] Zhou J, Tang Z, Gao S, et al. Tumor-associated macrophages: recent insights and therapies. *Front Oncol*, 2020, 10: 188
- [41] Gaggero S, Witt K, Carlsten M, et al. Cytokines orchestrating the natural killer-myeloid cell crosstalk in the tumor microenvironment: implications for natural killer cell-based cancer immunotherapy. *Front Immunol*, 2020, 11: 621225
- [42] Zhou Y, Cheng L, Liu L, et al. NK cells are never alone: crosstalk and communication in tumour microenvironments. *Mol Cancer*, 2023, 22: 34
- [43] Teijeira Á, Garasa S, Gato M, et al. CXCR1 and CXCR2 chemokine receptor agonists produced by tumors induce neutrophil extracellular traps that interfere with immune cytotoxicity. *Immunity*, 2020, 52: 856-71.e8
- [44] Jaillon S, Ponzetta A, Di Mitri D, et al. Neutrophil diversity and plasticity in tumour progression and therapy. *Nat Rev Cancer*, 2020, 20: 485-503
- [45] Li P, Lu M, Shi J, et al. Dual roles of neutrophils in metastatic colonization are governed by the host NK cell status. *Nat Commun*, 2020, 11: 4387
- [46] Valayer A, Brea D, Lajoie L, et al. Neutrophils can disarm NK cell response through cleavage of NKp46. *J Leukoc Biol*, 2017, 101: 253-9
- [47] Zhang R, Qi F, Zhao F, et al. Cancer-associated fibroblasts enhance tumor-associated macrophages enrichment and suppress NK cells function in colorectal cancer. *Cell Death Dis*, 2019, 10: 273
- [48] Vitale M, Cantoni C, Pietra G, et al. Effect of tumor cells and tumor microenvironment on NK-cell function. *Eur J Immunol*, 2014, 44: 1582-92
- [49] Vuletić A, Mirjačić Martinović K, Tišma Miletić N, et al. Cross-talk between tumor cells undergoing epithelial to mesenchymal transition and natural killer cells in tumor microenvironment in colorectal cancer. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 750022
- [50] Harmon C, Robinson MW, Hand F, et al. Lactate-mediated acidification of tumor microenvironment induces apoptosis of liver-resident NK cells in colorectal liver metastasis. *Cancer Immunol Res*, 2019, 7: 335-46
- [51] Otegbeye F, Ojo E, Moreton S, et al. Inhibiting TGF- β signaling preserves the function of highly activated, *in vitro* expanded natural killer cells in AML and colon cancer models. *PLoS One*, 2018, 13: e0191358
- [52] Polentarutti N, Rol GP, Muzio M, et al. Unique pattern of expression and inhibition of IL-1 signaling by the IL-1 receptor family member TIR8/SIGIRR. *Eur Cytokine Netw*, 2003, 14: 211-8
- [53] Thomassen E, Renshaw BR, Sims JE. Identification and characterization of SIGIRR, a molecule representing a novel subtype of the IL-1R superfamily. *Cytokine*, 1999, 11: 389-99
- [54] Garlanda C, Riva F, Polentarutti N, et al. Intestinal inflammation in mice deficient in Tir8, an inhibitory member of the IL-1 receptor family. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101: 3522-6
- [55] Lech M, Garlanda C, Mantovani A, et al. Different roles of Tir8/Sigirr on toll-like receptor signaling in intrarenal antigen-presenting cells and tubular epithelial cells. *Kidney Int*, 2007, 72: 182-92
- [56] Xiao H, Gulen MF, Qin J, et al. The Toll-interleukin-1 receptor member SIGIRR regulates colonic epithelial homeostasis, inflammation, and tumorigenesis. *Immunity*, 2007, 26: 461-75
- [57] Kadota C, Ishihara S, Aziz MM, et al. Down-regulation of single immunoglobulin interleukin-1R-related molecule (SIGIRR)/TIR8 expression in intestinal epithelial cells during inflammation. *Clin Exp Immunol*, 2010, 162: 348-61
- [58] Khan MA, Steiner TS, Sham HP, et al. The single IgG IL-1-related receptor controls TLR responses in differentiated human intestinal epithelial cells. *J Immunol*, 2010, 184: 2305-13
- [59] Takeda K, Tsutsui H, Yoshimoto T, et al. Defective NK cell activity and Th1 response in IL-18-deficient mice. *Immunity*, 1998, 8: 383-90
- [60] Wald D, Qin J, Zhao Z, et al. SIGIRR, a negative regulator of Toll-like receptor-interleukin 1 receptor signaling. *Nat Immunol*, 2003, 4: 920-7
- [61] Molgora M, Bonavita E, Ponzetta A, et al. IL-1R8 is a checkpoint in NK cells regulating anti-tumour and anti-viral activity. *Nature*, 2017, 551: 110-4
- [62] Mariotti FR, Supino D, Landolina N, et al. IL-1R8: a molecular brake of anti-tumor and anti-viral activity of NK cells and ILC. *Semin Immunol*, 2023, 66: 101712
- [63] Souza-Fonseca-Guimaraes F, Huntington ND. A new checkpoint for natural killer cell activation. *Immunol Cell Biol*, 2018, 96: 5-7
- [64] Gao X, Zhu Y, Li G, et al. TIM-3 expression characterizes regulatory T cells in tumor tissues and is associated with lung cancer progression. *PLoS One*, 2012, 7: e30676
- [65] He Y, Cao J, Zhao C, et al. TIM-3, a promising target for

- cancer immunotherapy. *Onco Targets Ther*, 2018, 11: 7005-9
- [66] Khan M, Arooj S, Wang H. NK cell-based immune checkpoint inhibition. *Front Immunol*, 2020, 11: 167
- [67] Gleason MK, Lenvik TR, McCullar V, et al. Tim-3 is an inducible human natural killer cell receptor that enhances interferon gamma production in response to galectin-9. *Blood*, 2012, 119: 3064-72
- [68] Makaremi S, Asadzadeh Z, Hemmat N, et al. Immune checkpoint inhibitors in colorectal cancer: challenges and future prospects. *Biomedicines*, 2021, 9: 1075
- [69] Xu B, Yuan L, Gao Q, et al. Circulating and tumor-infiltrating Tim-3 in patients with colorectal cancer. *Oncotarget*, 2015, 6: 20592-603
- [70] Rousseau A, Parisi C, Barlesi F. Anti-TIGIT therapies for solid tumors: a systematic review. *ESMO Open*, 2023, 8: 101184
- [71] Harjunpää H, Guillerey C. TIGIT as an emerging immune checkpoint. *Clin Exp Immunol*, 2020, 200: 108-19
- [72] Fathi M, Pustokhina I, Kuznetsov SV, et al. T-cell immunoglobulin and ITIM domain, as a potential immune checkpoint target for immunotherapy of colorectal cancer. *IUBMB Life*, 2021, 73: 726-38
- [73] Liu S, Zhang H, Li M, et al. Recruitment of Grb2 and SHIP1 by the ITT-like motif of TIGIT suppresses granule polarization and cytotoxicity of NK cells. *Cell Death Differ*, 2013, 20: 456-64
- [74] Stanietzky N, Rovis TL, Glasner A, et al. Mouse TIGIT inhibits NK-cell cytotoxicity upon interaction with PVR. *Eur J Immunol*, 2013, 43: 2138-50
- [75] Zhou XM, Li WQ, Wu YH, et al. Intrinsic expression of immune checkpoint molecule TIGIT could help tumor growth *in vivo* by suppressing the function of NK and CD8⁺ T cells. *Front Immunol*, 2018, 9: 2821
- [76] Dixon KO, Schorer M, Nevin J, et al. Functional anti-TIGIT antibodies regulate development of autoimmunity and antitumor immunity. *J Immunol*, 2018, 200: 3000-7
- [77] Wen J, Mao X, Cheng Q, et al. A pan-cancer analysis revealing the role of TIGIT in tumor microenvironment. *Sci Rep*, 2021, 11: 22502