DOI: 10.13376/j.cbls/2024091

文章编号: 1004-0374(2024)07-0887-11

CD8⁺T细胞在肝细胞癌中的耗竭机制

荆 郭, 詹天诚, 宋万骞, 袁永康, 康 宁*, 张 强* (天津中医药大学, 天津 301617)

摘 要:在肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 中, 抗原的持续刺激会使 CD8⁺T 细胞呈现耗竭状态, 具体表现为 CD8⁺T 细胞表面抑制性受体 (inhibitory receptors, IRs) 持续性表达上调及共表达、表观遗传和转录谱发生改变,以及代谢呈现紊乱状态等,导致 CD8⁺T 细胞的增殖功能衰退,免疫功能逐渐丧失,进而引起 CD8⁺T 细胞死亡,最终使肿瘤细胞发生免疫逃逸。本文综述了目前对 CD8⁺T 细胞耗竭特征及机制的最新研究进展,为靶向耗竭 CD8⁺T 细胞的 HCC 免疫治疗提供借鉴。

关键词:CD8⁺T细胞耗竭;肝细胞癌;抑制性受体;肿瘤微环境 中图分类号:R392.12;R735.7 文献标志码:A

The mechanism of CD8⁺T cell exhaustion in hepatocellular carcinoma

JING Guo, ZHAN Tian-Cheng, SONG Wan-Qian, YUAN Yong-Kang, KANG Ning*, ZHANG Qiang* (Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China)

Abstract: Under continuous antigen stimulation in hepatocellular carcinoma, $CD8^+$ T cells undergo an exhausted state through various mechanisms, which is characterized by sustained upregulation and co-expression of inhibitory receptors on the surface of $CD8^+$ T cells, as well as changes in epigenetic and transcriptional profiles, and metabolic disorders. These factors cause impaired proliferation function of $CD8^+$ T cells, progressive loss of immune function, and ultimately $CD8^+$ T cell death, resulting in immune escape of tumor cells. This article provides a review of the latest research progress on the occurrence, development, characteristics, and potential mechanisms of $CD8^+$ T cell exhaustion in hepatocellular carcinoma. It aims to serve as a reference for further mechanism research and targeted treatment of $CD8^+$ T cell exhaustion in hepatocellular carcinoma.

Key words: CD8⁺ T cell exhaustion; hepatocellular carcinoma; inhibitory receptor; tumor microenvironment

HCC高居全球癌症死因的第四位,也是慢性 肝病患者最常见的死亡原因^[1]。在急性感染、接 种疫苗或慢性感染如乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)、丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)、人类 免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV) 等感染的早期,经短暂的抗原刺激,幼稚T细胞 通过抗原呈递细胞(antigen-presenting cells, APC)与 树突状细胞(dendritic cells, DC)进行抗原的呈递, 激活了T细胞抗原受体(T cell receptor, TCR)下游 的信号转导通路,引起白细胞介素 -2 (interleukin-2, IL-2)的转录和表达。IL-2在共刺激信号的作用下, 稳定了幼稚T细胞mRNA的转录过程。最终,在 肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)中的细 胞因子或趋化因子作用下,形成具有强大增殖能力 和免疫功能的效应性T细胞^[2],其中便包括CD8⁺ T细胞。在抗原被清除或炎症结束后,大部分效应 T细胞被清除,小部分转变为记忆T细胞,该类群 在IL-7和IL-15的驱动下具有独立的自我更新能力, 这使其能够维持长期的免疫功能,当再次面对同类 抗原时能够迅速增殖、分化并发挥免疫效应^[3]。但

收稿日期: 2024-02-06; 修回日期: 2024-04-14 基金项目: 国家自然科学基金项目(82104461, 8227-4221); 国家级大学生创新创业训练计划项目(20231-0063010)

*通信作者: E-mail: zhangqiang7@foxmail.com (张强); kangndd@163.com (康宁)

在 HCC 的发生发展过程中,由于 CD8⁺ T 细胞在 效应期后持续接受肿瘤抗原的刺激,该细胞群会 终止向记忆 T 细胞的分化,而处于一种增殖能力下 降、免疫功能逐渐丧失的异常状态,被称为耗竭性 CD8⁺T 细胞 (exhaustive CD8⁺ T cells, CD8⁺ Tex)^[4],这 种耗竭状态的存在是 HCC 免疫治疗失败的主要原 因之一。

2006年,Barber等^[5]证明了抑制程序性死亡 受体1(programmed cell death protein-1, PD-1)可以 逆转部分 CD8⁺T 细胞的耗竭,改善其增殖能力和 免疫效应,减少肿瘤细胞的免疫逃逸。在 HCC 的 免疫治疗中,虽然 PD-1 抑制剂等免疫检查点阻断 疗法使得 HCC 中处于耗竭阶段的 CD8⁺T 细胞能 够得到部分逆转,但是,当肿瘤负荷进一步增大, CD8⁺T 细胞的耗竭进程将会加速,免疫检查点抑制 剂会失去对抑制性受体的阻断作用而不能产生持久 的治疗效果^[6]。因此,揭示 CD8⁺T 细胞的耗竭机 制是提高 HCC 免疫治疗疗效的关键。

随着研究的深入,人们发现肿瘤抗原的持续暴露、肿瘤代谢微环境、特殊的转录因子、表观遗传修饰以及细胞因子等是导致 CD8⁺ T 细胞耗竭的主要因素。因此,本文深入总结分析 HCC 中 CD8⁺T 细胞的耗竭机制,完成对肝细胞癌中 CD8⁺T 细胞 耗竭的机制概述 (见图 1),并寻找逆转 CD8⁺ T 细 胞耗竭状态的潜在途径,为未来 HCC 的免疫治疗 提供参考与借鉴。

1 抑制性受体的高表达

HCC中的持续性抗原刺激主要通过影响抑制 性受体 (inhibitory receptors, IRs)的表达水平来控制 CD8⁺T细胞的耗竭^[7]。在CD8⁺T细胞耗竭过程中, PD-1、淋巴细胞活化基因3 (lymphocyte activation gene-3, Lag-3)、细胞毒性T淋巴细胞相关蛋4 (cytotoxic T-lymphocyte-associatedantigen-4, CTLA-4)、T细胞免疫球蛋白和ITIM结构蛋白 (T-cell immunoreceptor with Ig and ITIM 结构蛋白 (T-cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains, TIGIT)、 T细胞免疫球蛋白黏蛋白 -3 (T cell immunoglobulin and mucin domain-containing protein 3, Tim-3)等多 种 IRs 持续性高表达,它们通过与肿瘤微环境中的 肿瘤细胞和抗原呈递细胞表达的配体相互作用来阻 碍 CD8⁺T细胞的存活、增殖和功能^[8-9]。

1.1 PD-1

PD-1 属于白细胞表面分化抗原 28 (cluster of differentiation 28, CD28)共受体家族,具有两个配体,

即细胞程序性死亡配体1 (programmed cell death 1 ligand 1, PD-L1) 和 PD-L2^[10]。PD-1 的 胞 内 区 N 端 包含免疫受体酪氨酸抑制基序 (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif, ITIM), 胞内区C端 包含免疫受体酪氨酸开关基序 (immunoreceptor tyrosine- based switch motif, ITSM)^[11]。首先, HCC 中耗竭性 CD8⁺ T 细胞膜上的 PD-1 与其配体 PD-L1 和 PD-L2 结合时, ITIM 与 ITSM 内的酪氨酸残基 被磷酸化,之后 ITIM 和 ITSM 可以分别结合含 Src 同源结构域 2 (Src homology domain 2, SH2) 的酪氨 酸磷酸酶 1 (SH2-containing protein tyrosine phosphatase 1, SHP-1)和 SHP-2^[12]。这两种磷酸酶可以减弱 激酶的活性,从而抑制抗原阳性信号的中间转导途 径,包括磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)、蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB/ Akt)、雷帕霉素靶蛋白 (mechanistic target of rapamycin, mTOR)、大鼠肉瘤蛋白 (rat sarcoma, Ras)、丝裂原 活化蛋白激酶激酶 (mitogen-activated protein kinase kinase, MAPKK/MEK)、细胞外信号调节激酶 (extracellular-signal regulated kinase, ERK)^[13-14], 最终降低 细胞因子和促存活蛋白的产生,抑制 CD8⁺ T 细胞 的免疫功能。其中, ITSM 募集 SHP-2 还可以使 TCR (T 细胞抗原受体)信号转导的主要整合因子 zeta 相关蛋白 70 (zeta-associated protein 70, ZAP70) 脱磷酸并失活,从而抑制 CD8⁺ T 细胞的生长和细 胞因子分泌^[15](图1)。

此外, PD-1 的下游转导信号,如核因子 κB (nuclear factor kappa-B, NF-κB)、活化 T 细胞核因子 1 (nuclear factor-activated T cell 1, NFATc1)、转录因 子 AP-1 (activator protien-1, AP-1)等也可以诱导抑 制性基因的上调,促进其他 IRs 如 CTLA-4、Tim-3 等的产生^[16],来维持 CD8⁺ T 细胞耗竭状态,促进 HCC 的免疫逃逸。

1.2 TIGIT

在 HCC 中, TIGIT 可以螯合白细胞表面分化 抗原 266 (CD226) 受体,阻止其与 CD155 的结合, 减少促炎因子 IL-12 的分泌,增加抗炎因子 IL-10 的分泌,加速耗竭进程^[17]。TIGIT 还可以通过其胞 内区的 ITIM 募集 SHP-1,以抑制 PI3K 和 NF-κB 介导的通路活化,减少 CD8⁺T 细胞因子的释放^[18], 减弱 CD8⁺T 细胞抗肿瘤效应,从而促进其耗竭。

1.3 CTLA-4

CTLA-4 也被称为 CD152, 主要通过三种途径 促进 HCC 中 CD8⁺ T 细胞的耗竭。首先, 它可以通



HCC中CD8⁺T细胞耗竭的机制可分为7个部分:肿瘤代谢微环境、细胞因子(图1A)、持续抗原暴露、抑制性受体、特异性转 录因子、表观遗传学修饰(图1B)和免疫调节细胞(图1C)。在持续的抗原刺激下,Ca²⁺内流增加,NFAT进入CD8⁺ T细胞的细 胞核,形成细胞核易位。随后,NFAT上调转录因子如Nr4a2和Nr4a3的表达,以启动耗竭相关的转录程序,并促进PD-1和其 他IRs的表达,从而激活和维持耗竭状态。这一过程还伴随着TOX的表达,TOX可以通过与DNMT3A结合进行表观遗传学修 饰,以促进耗竭相关区域的基因去甲基化,最终促进多种IRs的表达。PD-1、Lag-3、Tim-3、TIGIT和其他IRs通过与细胞外 结构域中的共刺激受体或配体竞争,释放负调控信号或诱导抑制基因表达来抑制T细胞增殖和细胞因子产生。肿瘤微环境中 的营养缺乏、缺氧状态和免疫抑制代谢产物的积累可导致CD8⁺T细胞的代谢重编程,导致耗竭性CD8⁺T细胞的糖酵解减少, 细胞增殖和细胞因子产生受损,同时促进各种IRs的表达。此外,许多免疫抑制性细胞因子和免疫调节细胞存在于肿瘤微环 境中,它们可以通过促进IRs的表达、诱导负性免疫调节因子的产生以及抑制APC与CD8⁺T细胞之间的相互作用来加速耗竭 性CD8⁺T细胞的功能障碍并降低其免疫功能。MDSCs: 髓源性抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells); DC: 树突状细胞 (dendritic cell); Tregs: 调节性T细胞(regulatory T cells); TAM: 肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages); Lac: 乳 酸(lactic acid); HIF-1: 缺氧诱导因子-1 (hypoxia inducible factor-1); PHD: 脯氨酸羟化酶(prolyl hydroxylase domain); PGC-1α: 过氧化物酶体增殖物激活受体-γ共激活因子-1α (peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1α); ROS: 活性氧 (reactive oxygen species); ARG-1: 精氨酸代谢酶1 (arginase-1); NFAT: 活化T细胞核因子(nuclear factor of activated T cells); IFN-α: 干扰素-α (interferon-α); Tcf-1: 转录因子1 (transcription factor-1); Tcf-7: 转录因子7 (transcription factor-7); Eomes: 脱中胚蛋白(comesodermin); Tim-3: T细胞免疫球蛋白黏蛋白-3 (T cell immunoglobulin mucin-3); NFATC-1: 活化T-细胞 核因子1 (nuclear factor of activated T-cells, cytoplasmic-1); Batf: 碱性亮氨酸拉链转录因子(basic leucine zipper transcription factor); Pdcd1: 程序性细胞死亡蛋白1基因(programmed cell death protein-1 gene); TOX: 胸腺细胞选择相关高迁移率族蛋白 (thymocyte selection-associated high mobility group box protein); TCR: T细胞受体(T cell receptor); CTLA-4: 细胞毒性T淋巴 细胞相关蛋4 (cytotoxic t lymphocyte-associated antigen-4); PD-1: 程序性死亡受体1 (programmed cell death protein-1); Lag-3: 淋巴细胞活化基因3 (lymphocyte activation gene-3); TIGIT: T细胞免疫球蛋白和ITIM结构蛋白(T cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains).

图1 CD8⁺T细胞耗竭的机制概述

过非常规基序 YVKM 抑制 AKT 的活化,阻断下游 信号转导通路^[19](图1)。其次,CTLA-4 还可以抑 制 TCR 与共刺激受体 CD28 及其配体 CD80 或 CD86 的结合,阻止 AKT/PI3K 途径的激活,使 CD8⁺T 细胞增殖和细胞因子的产生受阻。最后,CTLA-4 还可以直接结合 CD80 和 CD86,阻止 CD28 介导的 CD8⁺T 细胞活化,加速 CD8⁺T 细胞耗竭的过程^[20], 从而促进 HCC 的免疫逃逸。

1.4 Lag-3

在 HCC 患者中, Lag-3 在耗竭性 $CD8^+$ T 细胞

889

上的表达明显高于其他免疫成分^[21]。它通过非常规 基序 KIEELE 来传递负调控信号,抑制 IL-2、干扰 素 - γ (interferon- γ , IFN- γ) 的产生,降低 CD8⁺T 细胞 的抗肿瘤效应^[22]。此外, Lag-3 还能够通过促进 IL-2 和信号转导与转录激活因子 5 (signal transducer and activator of transcription 5, STAT5) 的信号转导来 诱导调节性 T 细胞 (regulatory T cells, Tregs) 的分化, 使其分泌一系列抑制性的细胞因子,加速 CD8⁺ T 细胞的耗竭进程^[23]。

1.5 Tim-3

在 HCC 中, Tim-3 在耗竭性 CD8⁺ T 细胞表面 大量表达,当其与配体半乳糖凝集素 9 (galectin 9, GAL9) 或癌胚抗原相关细胞黏附分子 1 (carcinoembryonic antigen related cellular adhesion molecule1, CEACAM1) 结合时, Tim-3 胞内区 C 端的 Tyr256 和 Tyr263 被磷酸化,从而使 HLA-B 关联转录因子 3 (HLA-B associated transcript 3, BAT3) 被释放,引 起酪氨酸激酶 FYN 的募集。BAT3 和 FYN 均可以 抑制 TCR 信号的转导,并能传递负性调节信号抑 制耗竭性 CD8⁺T 细胞的增殖和 IFN- γ 的产生,加 速耗竭过程 ^[24](图 1)。

2 特殊的转录因子

随着基因组技术的发展, CD8⁺T 细胞转录谱 中许多与耗竭相关的重要转录因子也陆续被发现, 如 NFAT、T 细胞转录因子 -1 (transcription factor T cell factor-1, TCF-1)、T 细胞表达 T 盒转录因子 (T-box expressed in T cell, T-bet)、脱中胚蛋白 (eomesodermin, Eomes)、碱性亮氨酸拉链 ATF 样转录因子 (basic leucine zipper ATF-like transcription factor, BATF) 等^[25]。这些与 HCC 中 CD8⁺T 细胞耗竭相关的转 录因子在启动 CD8⁺ T 细胞耗竭、维持持久的耗 竭状态以及促进耗竭性 CD8⁺T 细胞向终末期发 展, 从而促进 HCC 的免疫逃逸等方面均具有重要 作用^[26-27]。

2.1 NFAT

NFAT 是持续性抗原暴露下促进 HCC 中 T 细胞活化的重要转录因子。首先,在持续的 TCR 刺激下, Ca²⁺ 内流增加,这促使 NFAT 进入 T 细胞的 细胞核^[28]。随后, NFAT 通过上调核受体亚家族 4 A 组成员 2 (nuclear receptor subfamily 4 group a member 2, Nr4a2) 和 Nr4a3 等转录因子的表达来启动耗竭相 关的转录程序,促进抑制性受体的表达,激活并维持耗竭状态^[29]。TCR 介导的 Ca²⁺ 内流还可以通过

激活 NFATc1 启动编码 PD-1 的基因 *Pdcd1* 的转录, 引起 PD-1 的表达升高。此外,干扰素 -α (IFN-α) 通 过促进干扰素调节因子 9 (interferon regulatory factor 9, IRF9) 与 *Pdcd1* 启动子的结合使 *Pdcd1* 转录时间 延长,导致 PD-1 的持续性高表达 (图 1)。最后, PD-1 与其配体 PD-L1 和 (或) PD-L2 的相互作用向 CD8⁺T 细胞提供负调控信号,促进其耗竭^[30]。

2.2 T-bet和Eomes

T-bet 和 Eomes 均属于 T-box 家族转录因子, 二者在正常肝脏组织中共同调控效应 T 细胞靶基因 的转录以及诱导 CD8⁺ T 细胞的分化。其中, T-bet 正向调节穿孔素、颗粒酶 B、凋亡趋化因子等,同 时负向调节 IL-2、PD-1 和其他与免疫抑制相关的 基因^[31],增强 CD8⁺ T 细胞的免疫功能。相反, Eomes 可以与 *Pdcd1、Tim-3* 的关键基因组调控元 件结合,从而促进 IRs 的表达。然而在 HCC 的 CD8⁺ T 细胞耗竭过程中,T-bet 主要定位在耗竭性 CD8⁺ T 细胞耗竭过程中,T-bet 主要定位在耗竭性 CD8⁺ T 细胞的细胞质中,无法有效限制 IRs 基因 的表达,而 Eomes 在细胞核中相对更多,这使其在 与 T-bet 竞争共同的 T-box 结合位点时占有优势地 位,从而最终效应表现为 CD8⁺ T 细胞中与耗竭相 关的基因明显上调,促进 IRs 的表达^[32],加速耗竭 进程。

此外,在 CD8⁺ T 细胞耗竭发展过程中, Eomes 与 T-bet 的平衡也逐渐被打破,表现为 Eomes 表达 升高,而 T-bet 表达逐渐降低^[33],从而增强 Eomes 促进 IRs 表达的能力,加速耗竭进程。

2.3 TCF-1

TCF-1 是一种由 Tcf7 基因编码的转录因子,对 HCC 中 T 细胞的免疫记忆和二次免疫应答具有重 要的调节作用^[34]。但在 CD8⁺ T 细胞耗竭过程中, TCF-1 可以抑制参与效应 T 细胞分化的基因 (如 Id2、Prdm1 和 Runx1),并促进与耗竭有关的基因 (如 Eomes、Batf 和 Nfatc1)的表达上调^[35]。此外,TCF-1 在 HCC 的 CD8⁺ T 细胞耗竭过程中可以促进转录 激活因子 c-Myb 的表达,c-Myb 介导 B 淋巴细胞瘤 -2 蛋白 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2) 的产生增加,Bcl-2 抑制 T-bet 的免疫效应,最终促进 CD8⁺ T 细胞进入 终末耗竭状态^[36]。

2.4 BATF

BATF 在 CD8⁺ T 细胞耗竭过程中主要发挥负 向调节作用,它可以与下游效应分子如 IFN-γ、穿 孔素和颗粒酶 B 等结合并抑制其表达^[37],降低 CD8⁺T 细胞的细胞毒性,从而促进 HCC 的发展。

3 肿瘤代谢微环境

在 HCC 的 TME 中,活化的 $CD8^+$ T 细胞在有 氧条件下开始优先利用糖酵解快速生成 ATP, 以满 足低氧状态下的能量供应。同时,糖酵解产生的中 间代谢产物也可以作为分解代谢途径的碳源合成核 苷酸、胆固醇、氨基酸等营养物质。这种 CD8⁺ T 细胞由氧化磷酸化向有氧糖酵解转化的代谢重编 程是它们向耗竭状态转变的基础之一,被称为 "Warburg"效应^[38]。不幸的是,肿瘤细胞的生长同 样也依靠糖酵解,其中,CD8⁺T细胞和肿瘤细胞对 营养物质与氧气等的激烈竞争限制了 CD8⁺ T 细胞 的抗肿瘤效应。除此之外,肿瘤细胞产生的乳酸、 胆固醇等有害代谢产物也会抑制 CD8⁺T 细胞的增 殖与功能^[39-40]。综合耗竭性 CD8⁺ T 细胞在 TME 中 的代谢特点可以得出, TME 主要依靠以下三个方 面影响耗竭性 CD8⁺ T 细胞的代谢重编程过程:(1) 营养物质的缺乏;(2)缺氧;(3)免疫抑制代谢产物 的积累。

3.1 营养物质的缺乏

TME 中葡萄糖和氨基酸的缺乏导致的代谢紊 乱是耗竭性 CD8⁺T 细胞代谢重编程的重要特征之 一。这些不利因素可以通过降低 CD8⁺T 细胞的能 量供应、减少促炎细胞因子的产生以及促进免疫抑 制性的 Tregs 的生成等来加速 CD8⁺T 细胞的耗竭^[41]。 **3.1.1** 糖代谢

HCC 细胞高速低效的有氧糖酵解方式,导致 TME 中葡萄糖大量缺乏^[42]。再者,肿瘤细胞表面 的 PD-L1 可以通过促进 PI3K/Akt/mTOR 信号通路来 增强葡萄糖转运蛋白 (glucose transporters-1, GLUT1) 的合成,使大量的葡萄糖转运入细胞内,提高肿瘤 细胞的有氧糖酵解水平^[43],进一步减少 TME 中葡 萄糖的含量。因此,葡萄糖的缺乏使得 CD8⁺ T 细 胞的有氧糖酵解速率下降,细胞能量供应不足,进 而影响 CD8⁺T 细胞的增殖。

此外,有氧糖酵解水平的下降还会导致 CD8⁺ T 细胞的免疫功能受损。在缺乏有氧糖酵解的条件 下,甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)与 IFN-γ和 IL-2的 mRNA 结合,抑制了这些细胞因子的翻译。而有氧糖酵解 能够降低 GAPDH 结合细胞因子 mRNA 的能力,仅 使 GAPDH 发挥糖酵解的代谢功能,从而使 CD8⁺T 细胞可以产生更高水平的细胞因子(如 IL-2、IFN-γ 等),增强了 CD8⁺T 细胞的抗肿瘤效应^[44]。因此, 葡萄糖的缺乏也进一步降低了 CD8⁺ T 细胞对肿瘤 的抑制作用,加速其耗竭过程,促进 HCC 的发展。 3.1.2 氨基酸代谢

在 HCC 的代谢微环境中,某些氨基酸水平的 紊乱也会加速 CD8⁺T 细胞的耗竭进程。TME 中存 在很多精氨酸代谢酶 1 (arginase-1, ARG-1),肿瘤细 胞会优先利用 ARG-1 摄取精氨酸,加速精氨酸消耗。 而 TME 中缺乏生成精氨酸的关键酶 —— 精氨酸琥 珀酸合成酶 ^[45],因此,肿瘤细胞需要不断摄取外源 性精氨酸,从而造成 TME 中精氨酸的缺乏,这导 致 CD8⁺T 细胞发生 G₀/G₁ 期阻滞,抑制其增殖 ^[46](图 1)。同时,精氨酸耗竭导致多胺的合成不足,促使 Tregs 的产生,引起 CD8⁺T 细胞分泌细胞因子减少, 降低其抗肿瘤效应 ^[47]。

3.2 持续的缺氧环境

在 HCC 中, TME 是一个持续性的缺氧环境, 低氧状态下的 CD8⁺ T 细胞适应性调节主要是通过 缺氧诱导因子 -1 (hypoxia inducible factor-1, HIF-1) 实现的。在缺氧环境下,调控 HIF-1 的关键分子脯 氨酰羟化酶 (prolyl hydroxylase domain, PHD) 失活, PHD 羟基化 HIF-1 α 反应受阻^[48],使 HIF-1 α 从泛 素化酶 VHL-HIF-1 α 复合体中解离出来,从而阻止 了 E3 泛素连接酶 (von Hippel-Lindau, VHL) 介导的 对 HIF-1 α 的蛋白酶体途径的降解^[49]。然而,激活 的 HIF-1 α 参与了 CD8⁺ T 细胞表面的共抑制受体 PD-1 的上调,促进了 CD8⁺ T 细胞耗竭^[50-51]。

此外,缺氧环境还可以通过促进线粒体应激来 快速驱动 CD8⁺ T 细胞耗竭。过氧化物酶体增殖物 激活受体 γ 共激活因子 -1 α (peroxisome proliferatoractivated receptor γ coactivator-1 α , PGC-1 α) 是一种 协调线粒体生物发生和抗氧化活性的转录共激活 因子,有助于减少缺氧状态下线粒体活性氧 (mitochondrial reactive oxygen species, mROS) 的过度 产生。有趣的是,B淋巴细胞诱导成熟蛋白1(B lymphocyte induced maturation protein 1, Blimp-1) 在 终末耗竭的 T 细胞群中显著升高,Blimp-1 能够抑 制 PGC-1 α 的表达,进而持续产生大量 ROS。ROS 会驱动更多负性调节信号 NFAT 的产生,从而通过 抑制 TCR 信号的转导和促进 IRs 的表达来加速 CD8⁺T 细胞耗竭^[52]。

3.3 免疫抑制性的肿瘤代谢产物积累

HCC 细胞的糖酵解可使乳酸在 TME 中大量 积累。乳酸可以通过乳酸脱氢酶产生丙酮酸和还 原型辅酶 I (reduced nicotinamide adenine dinucleotide, NADH),丙酮酸失衡和 NADH/NAD⁺比率升高可 能会阻碍 CD8⁺T 细胞的糖酵解^[53]。同时,乳酸堆 积引起的 pH 过低会下调钙调磷酸酶的活性,阻止 NFAT 的脱磷酸,干扰其向细胞核易位,从而使 CD8⁺T 细胞内通过 NFAT 所产生的 IFN-γ等细胞 因子减少,损害 CD8⁺T 细胞的免疫功能^[54]。

此外,HCC 细胞具有活跃的脂肪酸代谢能力, 脂肪细胞和类脂成纤维细胞积累导致肿瘤微环境中 存在大量脂质^[55-56]。其中,胆固醇的积累可以破坏 脂质代谢并诱导 CD8⁺ T 细胞发生内质网应激,导 致内质网应激相关转录因子 X- 盒结合蛋白 1 (x-box binding protein 1, XBP1)的表达上调。XBP1 会上调 *Pdcd1* 和 *CD244*,从而引起 CD8⁺ T 细胞表面 PD-1 和 CD244 等 IRs 的表达增加,促进 HCC 中 CD8⁺ T 细胞的耗竭^[57]。

4 表观遗传修饰

表观遗传的改变主要表现在 CD8⁺ T 细胞的染 色质可及性、DNA 甲基化、组蛋白乙酰化等方面。 耗竭性 CD8⁺ T 细胞的染色质可及性发生变化,约 有6000个不同的开放的染色质区域^[58-59]。其中与 记忆基因相关的染色质区域关闭, DNA 被重新甲 基化。而耗竭基因相关区域 (如编码 PD-1 的 Pdcd1 基因座)去甲基化,使得相同的转录因子可以与之 结合,诱导耗竭过程的产生^[60]。此外,胸腺细胞选 择相关高迁移率族蛋白 (thymocyte selection-associated high mobility group box protein, TOX) 的发现是 CD8⁺ T 细胞耗竭表观遗传研究领域的一大突破。在 CD8⁺T 细胞耗竭过程中,抗原的持续性刺激激活TCR信号, 之后通过钙调蛋白磷酸酶活化 NFAT,诱导 TOX 的 表达^[61]。首先, TOX 通过结合 DNA 甲基转移酶 3A (DNA methyltransferase 3A, DNMT3A) 来直接 促进耗竭相关区域的基因去甲基化^[62],从而启动 早期耗竭程序相关基因如Nr4a2、Pdcd1、Cd244、 Lag-3、ID3 和 Haver2 的转录^[63]。其次, TOX 可以 促进 PD-1、Tim-3、TIGIT 等多种 IRs 的表达,如 通过促进 PD-1 的内吞循环使 PD-1 易位到 CD8⁺ T 细胞表面,并减少 PD-1 的降解,加速 $CD8^+$ T 细胞 耗竭进程。此外, 高表达的 TOX 还可以中断 Ras 和 PI3K-Akt 途径,减少细胞因子的产生,抑制 CD8⁺ T 细胞的免疫功能^[64],从而促进 HCC 的免疫 逃逸。

5 细胞因子

细胞因子是调节 CD8⁺ T 细胞耗竭的第二类 信号,包括促炎因子和免疫抑制因子,如 IL-10、 TGFβ、IFNα/β、IL-2、IL-21 等^[65]。在 HCC 的 TME 中,大量积累的细胞因子通过影响 TCR 信号转导 通路、影响免疫调节细胞的生成以及免疫活性物质 的释放等机制促进或拮抗 CD8⁺T 细胞的耗竭。

5.1 IL-10

IL-10 是一种能够促进 CD8⁺ T 细胞耗竭的负 性调节因子^[66],在 TME 中可以由 HCC 细胞、树 突状细胞、肿瘤相关巨噬细胞 (tumor-associated macrophages, TAM)、T 细胞等产生^[67]。IL-10 能够 显著诱导肿瘤浸润 CD8⁺ T 细胞中 STAT3 在 Tyr705 和 Ser727 位点的磷酸化,IL-10-STAT3 通路可以促 进 TIM-3⁺ 耗竭性 CD8⁺ T 细胞亚群的产生,并抑制 TCF-1 的表达^[68]。此外,IL-10 可以促进 PD-L1 的 表达,抑制肿瘤组织中 CD8⁺ T 细胞的富集。在 HCC 患者体内,高水平的血清 IL-10 增加了髓源性 抑制细胞 (myeloid-derived suppressor cells, MDSCs) 的数量,抑制了 CD8⁺ T 细胞的活化和免疫效应, 因此,血浆 IL-10 水平升高通常预示 HCC 患者的 预后不良^[69]。

5.2 TGF-β

转化生长因子β(transforming growth factor-β, TGF-β) 是一类促进 CD8⁺ T 细胞耗竭的细胞因子, 可以由 HCC 细胞、巨噬细胞以及 Tregs 产生。 TGF-β 配体二聚体和膜上的 II 型受体和 I 型受体的 复合物结合,使II型受体磷酸化I型受体的激酶结 构域 —— 特征性 Gly-Ser (GS) 序列, 以激活 I 型受 体的激酶活性。随后,I型受体招募并活化下游 的果蝇母本抗十倍体麻痹蛋白 (Drosophila mothers against decapentaplegic protein, Smad), 从而诱导 Smad 蛋白易位到细胞核中聚集并作为负性转录因子抑 制免疫细胞的激活^[70](图1)。此外, TGF-β还能 诱导 TAM 分化为 M2 巨噬细胞以及诱导 Tregs 的产 生,这些负性免疫调节细胞通过分泌抑制性细胞 因子、阻碍 CD8⁺ T 细胞与 APCs 相互作用等方式 降低 CD8⁺ T 细胞的抗肿瘤作用^[71],促进 HCC 的 免疫逃逸。

5.3 IFNa和IFN

IFNα 和干扰素 β (IFNβ) 在调控 HCC 的 CD8⁺ T 细胞耗竭过程中的作用是双向的。IFNα/β 属于促 炎细胞因子,在 HBV、HCV 等感染早期可以通 过促进免疫细胞活化来增强抗病毒免疫^[72]。但在 HCC 中, IFNα/β 会诱导负性免疫调节因子 IL-10、 PD-L1 和 吲 哚 胺 2,3- 双 加 氧 酶 (indoleamine 2,3dioxygenase, IDO) 的产生,导致 CD8⁺ T 细胞的功 能障碍,加速其耗竭的过程^[73]。

6 免疫调节细胞

HCC的 TME 中存在多种免疫调节细胞,包括 Tregs、MDSCs、TAM 等^[74]。它们通过影响效应 T 细胞的活化、细胞因子的释放、促进肿瘤细胞免疫 逃逸等来影响 CD8⁺ T 细胞耗竭^[75]。

6.1 Tregs

Tregs 是一类特殊的 CD4⁺ T 细胞, 生理状态下 可以抑制过度的免疫反应^[76]。在 HCC 中, 大量浸 润的 CD4⁺CD25⁺ Treg 细胞可通过减少颗粒酶 A、B 和穿孔素的释放而损害 CD8⁺ T 细胞的细胞毒性^[77]。 此外, Tregs 还可以分泌一系列的抑制性因子, 如 TGF-β、IL-10 等来抑制 CD8⁺ T 细胞的抗肿瘤效 应^[78]。目前对于 Tregs 如何影响 CD8⁺ T 细胞耗竭 的机制研究尚浅, 除其分泌的细胞因子发挥的免疫 抑制作用外, 还可能与 Tregs 抑制 APCs 的活化和 功能, 阻碍 APCs 与 CD8⁺ T 细胞相互作用, 从而 促进肿瘤免疫逃逸有关^[79-80]。

6.2 MDSCs

MDSCs 是一类具有免疫抑制功能的中性粒细 胞和单核细胞的总称。上文中提到,在HCC中, 缺氧的肿瘤微环境能够激活大量的HIF-1α,HIF-1α 介导外核苷三磷酸二磷酸水解酶 2 (ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 2, ENTPD2) 过表达, ENTPD2 将 ATP 去磷酸化为 ADP,随后去磷酸化 为 5' 腺嘌呤核苷酸 (5'-AMP),5'-AMP 可以在 TME 中诱导 MDSCs 大量产生^[81]。成熟的 MDSCs 能够 产生 IL-6、IL-10、TGF-β、精氨酸酶 -1 和一氧化 氮等负性调节因子^[82],同时还可以上调精氨酸酶的 分泌,加速对精氨酸的摄取,抑制 CD8⁺T 细胞的 免疫功能^[83],加速 CD8⁺T 细胞的耗竭进程。此外, HCC 中高表达的 MDSCs 还可以释放活性氧和含氮 物质,破坏 TCR 信号转导,抑制 CD8⁺T 细胞的活化, 促进 HCC 的免疫逃逸^[84]。

6.3 TAM

TAM 在一系列细胞因子刺激下可以分化为 M2 型 巨 噬 细 胞。M2 型 巨 噬 细 胞 通 过 分 泌 IL-10、 TGF-β 或产生活性氧来抑制 CD8⁺ T 细胞活性^[85]。 此外, M2 巨噬细胞分泌的 TGF-β 又可以促进 TAM 上 Tim-3 的表达,促进 HCC 的发展和免疫耐受^[86]。

7 免疫治疗策略

针对 HCC 中 CD8⁺T 细胞耗竭的可能机制,本 文从下调抑制性受体的表达、改善肿瘤代谢微环境、 减少免疫抑制性细胞因子和免疫调节细胞的产生等 方面总结了一些可行的联合免疫治疗方案。

7.1 减少抑制性受体的表达

在丙型肝炎病毒感染合并 HCC 的患者中, PD-1 联合 CTLA-4 阻断可以维持更加持久的抗肿瘤 效果;PD-1 及其配体 PD-L1 的联合阻断可以在早 期部分逆转 CD8⁺T 细胞的耗竭状态,降低肿瘤负 荷,提高 HCC 患者的总生存率^[87-88];PD-1 与 TIGIT 的联合阻断可以促进 HCC 中 CD8⁺T 细胞 IL-12 等 细胞因子的释放,增强 CD8⁺T 细胞的抗肿瘤效应, 减缓耗竭进程^[89]。其他免疫检查点的联合阻断疗 法如 PD-1+Lag-3、PD-1+Tim-3 等在非小细胞肺癌、 黑色素瘤、慢性淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒感染 中也取得了显著成效^[90-91],但在 HCC 中的具体治 疗效果将依赖于进一步的临床试验研究。

7.2 改善肿瘤代谢微环境

PD-1 联合肿瘤内皮细胞中糖蛋白非转移性黑 色素瘤蛋白 B (glycoprotein nonmetastatic melanoma protein B, GPNMB)的阻断可以抑制肿瘤的生长, 同时增加 IFN-γ的产生,减少 CD8⁺T 细胞中 ROS 的 积累,抑制 CD8⁺T 细胞耗竭进程^[92]; PD-L1 阻断和 HIF-1α抑制剂的联合免疫治疗能够下调 PD-1 的表达, 减少 IL-10 和 IL-6 的分泌,增强 CD8⁺T 细胞的肿 瘤杀伤能力,同时还可以缓解缺氧,改善 HCC 的 代谢微环境,延缓 CD8⁺T 细胞的耗竭进程^[93]。

7.3 减少免疫抑制性细胞因子和免疫调节细胞的产生

TME 中 HCC 细胞产生的血管内皮生长因子 -A (vascular endothelial growth factor-A, VEGF-A)与 PD-1 的联合阻断可以通过减少 Tregs、MDSCs 等抑制 性免疫调节细胞的产生以及下调 PD-1、CTLA-4、 Tim-3 等多种 IRs 的表达来逆转 CD8⁺ T 细胞的耗 竭^[94];抗炎细胞因子 IL-10+PD-1 的联合阻断可以 减少 PD-1 阻断后 IL-10 高表达带来的免疫抑制效 果,有利于恢复耗竭性 CD8⁺ T 细胞的抗肿瘤作用, 改善耗竭状态^[95]。

除此之外,免疫抑制剂联合化疗、放疗、疫苗 等方法均在 HCC 免疫治疗的临床试验中取得了一 定成效^[96-99]。未来将会探索更多的免疫抑制剂与其 他疗法联合使用的可能性,进一步推动 HCC 中针 对逆转 CD8⁺T 细胞耗竭的免疫治疗的研究。

8 总结与展望

在 HCC 肿瘤抗原的长期刺激下,效应 T 细胞 为持续地发挥抗肿瘤作用,在多种因素的驱使下转 变为耗竭性 CD8⁺T 细胞,与肿瘤细胞之间形成"僵 持"状态。抑制性受体持续高表达、转录谱与表观 遗传的改变、肿瘤代谢重编程与免疫微环境的变化 等揭示了 CD8⁺T 细胞耗竭的特征与部分机制,但 这些耗竭相关途径的分子机制仍未完全明晰。虽然 目前以免疫检查点阻断为核心的逆转 HCC 中 CD8⁺ T 细胞耗竭的疗法取得了一定的成效,但临床观察 到耗竭逆转后功能过度亢进的 T 细胞会在肝脏中引 发严重程度不一的自身免疫反应^[100]。因此,如何 在逆转 CD8⁺T 细胞耗竭状态的同时避免严重的自 身免疫反应将成为未来 HCC 免疫治疗亟须解决的 问题之一。

总之,本文所总结的 CD8⁺ T 细胞的耗竭特征 与可能的机制将为 HCC 免疫检查点抑制疗法 (immune checkpoint inhibitors, ICIs)发挥持久性效果, 或者延缓耗竭进程,甚至逆转耗竭方向,恢复 CD8⁺ T 细胞免疫功能提供理论基础,并为今后 HCC 中 CD8⁺ T 细胞耗竭机制的探索提供潜在的研 究方向。

[参考文献]

- Li J, Chen H, Bai L, et al. Identification of CD8⁺ T-cell exhaustion signatures for prognosis in HBV-related hepatocellular carcinoma patients by integrated analysis of single-cell and bulk RNA-sequencing. BMC Cancer, 2024, 24: 53
- [2] Wang Q, Qin Y, Li B. CD8⁺ T cell exhaustion and cancer immunotherapy. Cancer Lett, 2023, 559: 216043
- [3] Wherry EJ, Kurachi M. Molecular and cellular insights into T cell exhaustion. Nat Rev Immunol, 2015, 15: 486-99
- [4] Seimiya T, Otsuka M, Fujishiro M. Overcoming T-cell exhaustion: new therapeutic targets in HCC immunotherapy. Hepatology, 2023, 78: 1009-11
- [5] Barber DL, Wherry EJ, Masopust D, et al. Restoring function in exhausted CD8 T cells during chronic viral infection. Nature, 2006, 439: 682-7
- [6] Jiang W, He Y, He W, et al. Exhausted CD8⁺ T cells in the tumor immune microenvironment: new pathways to therapy. Front Immunol, 2020, 11: 622509
- [7] Martinez GJ, Pereira RM, Äijö T, et al. The transcription factor NFAT promotes exhaustion of activated CD8⁺ T cells. Immunity, 2015, 42: 265-78
- [8] Zarour HM. Reversing T-cell dysfunction and exhaustion

in cancer. Clin Cancer Res, 2016, 22: 1856-64

- [9] Wang S, Wang R, Xu N, et al. SULT2B1-CS-DOCK2 axis regulates effector T-cell exhaustion in HCC microenvironment. Hepatology, 2023, 78: 1064-78
- [10] Wang Q, Bardhan K, Boussiotis VA, et al. The PD-1 interactome. Adv Biol (Weinh), 2021, 5: e2100758
- [11] Riley JL. PD-1 signaling in primary T cells. Immunol Rev, 2009, 229: 114-25
- [12] Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, et al. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. Annu Rev Immunol, 2008, 26: 677-704
- [13] Mclane LM, Abdel-Hakeem MS, Wherry EJ. CD8 T cell exhaustion during chronic viral infection and cancer. Annu Rev Immunol, 2019, 37: 457-95
- [14] Huang Y, Jia A, Wang Y, et al. CD8⁺ T cell exhaustion in anti-tumour immunity: the new insights for cancer immunotherapy. Immunology, 2023, 168: 30-48
- [15] Okazaki T, Chikuma S, Iwai Y, et al. A rheostat for immune responses: the unique properties of PD-1 and their advantages for clinical application. Nat Immunol, 2013, 14: 1212-8
- [16] Quigley M, Pereyra F, Nilsson B, et al. Transcriptional analysis of HIV-specific CD8⁺ T cells shows that PD-1 inhibits T cell function by upregulating BATF. Nat Med, 2010, 16: 1147-51
- [17] Yu X, Harden K, Gonzalez LC, et al. The surface protein TIGIT suppresses T cell activation by promoting the generation of mature immunoregulatory dendritic cells. Nat Immunol, 2009, 10: 48-57
- [18] Johnston RJ, Comps-Agrar L, Hackney J, et al. The immunoreceptor TIGIT regulates antitumor and antiviral CD8⁺ T cell effector function. Cancer Cell, 2014, 26: 923-37
- [19] Parry RV, Chemnitz JM, Frauwirth KA, et al. CTLA-4 and PD-1 receptors inhibit T-cell activation by distinct mechanisms. Mol Cell Biol, 2005, 25: 9543-53
- [20] Odorizzi PM, Wherry EJ. Inhibitory receptors on lymphocytes: insights from infections. J Immunol, 2012, 188: 2957-65
- [21] Zhou G, Sprengers D, Boor PPC, et al. Antibodies against immune checkpoint molecules restore functions of tumorinfiltrating T cells in hepatocellular carcinomas. Gastroenterology, 2017, 153: 1107-19.e10
- [22] Workman CJ, Dugger KJ, Vignali DA. Cutting edge: molecular analysis of the negative regulatory function of lymphocyte activation gene-3. J Immunol, 2002, 169: 5392-5
- [23] Andrews LP, Marciscano AE, Drake CG, et al. LAG3 (CD223) as a cancer immunotherapy target. Immunol Rev, 2017, 276: 80-96
- [24] Wolf Y, Anderson AC, Kuchroo VK. TIM3 comes of age as an inhibitory receptor. Nat Rev Immunol, 2020, 20: 173-85
- [25] Kurachi M, Barnitz RA, Yosef N, et al. The transcription factor BATF operates as an essential differentiation checkpoint in early effector CD8⁺ T cells. Nat Immunol, 2014, 15: 373-83

- [26] Mullen AC, Orlando DA, Newman JJ, et al. Master transcription factors determine cell-type-specific responses to TGF-β signaling. Cell, 2011, 147: 565-76
- [27] Trompouki E, Bowman TV, Lawton LN, et al. Lineage regulators direct BMP and Wnt pathways to cell-specific programs during differentiation and regeneration. Cell, 2011, 147: 577-89
- [28] Heissmeyer V, Macián F, Im SH, et al. Calcineurin imposes T cell unresponsiveness through targeted proteolysis of signaling proteins. Nat Immunol, 2004, 5: 255-65
- [29] Mognol GP, Spreafico R, Wong V, et al. Exhaustionassociated regulatory regions in CD8⁺ tumor-infiltrating T cells. Proc Natl Acad Sci U S A, 2017, 114: E2776-85
- [30] Oestreich KJ, Yoon H, Ahmed R, et al. NFATc1 regulates PD-1 expression upon T cell activation. J Immunol, 2008, 181: 4832-9
- [31] Yan F, WangX, Xie Y, et al. Yangyin Fuzheng Jiedu Prescription exerts anti-tumor immunity in hepatocellular carcinoma by alleviating exhausted T cells. Phytomedicine, 2021, 91: 153722
- [32] Mclane LM, Ngiow SF, Chen Z, et al. Role of nuclear localization in the regulation and function of T-bet and Eomes in exhausted CD8 T cells. Cell Rep, 2021, 35: 109120
- [33] Ma J, Zheng B, Goswami S, et al. PD1^{Hi} CD8⁺ T cells correlate with exhausted signature and poor clinical outcome in hepatocellular carcinoma. J Immunother Cancer, 2019, 7: 331
- [34] Mei Z, Gao X, Pan C, et al. Lenvatinib enhances antitumor immunity by promoting the infiltration of TCF1⁺ CD8⁺ T cells in HCC via blocking VEGFR2. Cancer Sci, 2023, 114: 1284-96
- [35] Ding JT, Yang KP, Zhou HN, et al. Landscapes and mechanisms of CD8⁺ T cell exhaustion in gastrointestinal cancer. Front Immunol, 2023, 14: 1149622
- [36] Zhang J, Lyu T, Cao Y, et al. Role of TCF-1 in differentiation, exhaustion, and memory of CD8⁺ T cells: a review. FASEB J, 2021, 35: e21549
- [37] Sun C, Li D, Wang Z. BATF-mediated regulation of exhausted CD8⁺ T-cell responses and potential implications for chimeric antigen receptor-T therapy. Immunotherapy, 2024, 16: 331-40
- [38] Macintyre AN, Rathmell JC. Activated lymphocytes as a metabolic model for carcinogenesis. Cancer Metab, 2013, 1:5
- [39] Wang K, Zhang Y, Chen ZN. Metabolic interaction: tumor-derived lactate inhibiting CD8⁺ T cell cytotoxicity in a novel route. Signal Transduct Target Ther, 2023, 8: 52
- [40] Franco F, Jaccard A, Romero P, et al. Metabolic and epigenetic regulation of T-cell exhaustion. Nat Metab, 2020, 2: 1001-12
- [41] 钟嘉鑫,林晓榕,胡海.肿瘤微环境代谢重编程调控耗 竭性CD8⁺T细胞研究进展.生物医学转化,2022,3:46-56
- [42] Pan B, Wang Z, Zhang X, et al. Targeted inhibition of RBPJ transcription complex alleviates the exhaustion of

CD8⁺ T cells in hepatocellular carcinoma. Commun Biol, 2023, 6: 123

- [43] Jacobs SR, Herman CE, Maciver NJ, et al. Glucose uptake is limiting in T cell activation and requires CD28mediated Akt-dependent and independent pathways. J Immunol, 2008, 180: 4476-86
- [44] Chang CH, Curtis JD, Maggi LB Jr, et al. Posttranscriptional control of T cell effector function by aerobic glycolysis. Cell, 2013, 153: 1239-51
- [45] Bronte V, Zanovello P. Regulation of immune responses by L-arginine metabolism. Nat Rev Immunol, 2005, 5: 641-54
- [46] Das A, Hoare M, Davies N, et al. Functional skewing of the global CD8 T cell population in chronic hepatitis B virus infection. J Exp Med, 2008, 205: 2111-24
- [47] Geiger R, Rieckmann JC, Wolf T, et al. L-arginine modulates T Cell metabolism and enhances survival and anti-tumor activity. Cell, 2016, 167: 829-42.e13
- [48] Rashid M, Zadeh LR, Baradaran B, et al. Up-down regulation of HIF-1α in cancer progression. Gene, 2021, 798: 145796
- [49] Palazon A, Tyrakis PA, Macias D, et al. An HIF-1α/ VEGF-A axis in cytotoxic T cells regulates tumor progression. Cancer Cell, 2017, 32: 669-83.e5
- [50] Larsen GA, Skjellegrind HK, Berg-Johnsen J, et al. Depolarization of mitochondria in isolated CA1 neurons during hypoxia, glucose deprivation and glutamate excitotoxicity. Brain Res, 2006, 1077: 153-60
- [51] Almeida A, Delgado-Esteban M, Bolaños JP, et al. Oxygen and glucose deprivation induces mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurones but not in astrocytes in primary culture. J Neurochem, 2002, 81: 207-17
- [52] Scharping NE, Rivadeneira DB, Menk AV, et al. Mitochondrial stress induced by continuous stimulation under hypoxia rapidly drives T cell exhaustion. Nat Immunol, 2021, 22: 205-15
- [53] Fischer K, Hoffmann P, Voelkl S, et al. Inhibitory effect of tumor cell-derived lactic acid on human T cells. Blood, 2007, 109: 3812-9
- [54] Brand A, Singer K, Koehl GE, et al. LDHA-associated lactic acid production blunts tumor immunosurveillance by T and NK cells. Cell Metab, 2016, 24: 657-71
- [55] Ho PC, Liu PS. Metabolic communication in tumors: a new layer of immunoregulation for immune evasion. J Immunother Cancer, 2016, 4: 4
- [56] Currie E, Schulze A, Zechner R, et al. Cellular fatty acid metabolism and cancer. Cell Metab, 2013, 18: 153-61
- [57] Ma X, Bi E, Lu Y, et al. Cholesterol induces CD8⁺ T cell exhaustion in the tumor microenvironment. Cell Metab, 2019, 30: 143-56.e5
- [58] Pauken KE, Sammons MA, Odorizzi PM, et al. Epigenetic stability of exhausted T cells limits durability of reinvigoration by PD-1 blockade. Science, 2016, 354: 1160-5
- [59] Sen DR, Kaminski J, Barnitz RA, et al. The epigenetic landscape of T cell exhaustion. Science, 2016, 354: 1165-9

- [60] Youngblood B, Oestreich K J, Ha SJ, et al. Chronic virus infection enforces demethylation of the locus that encodes PD-1 in antigen-specific CD8⁺ T cells. Immunity, 2011, 35: 400-12
- [61] 常媛媛, 颜波, 李榕. T细胞耗竭发生机制及其在免疫治疗中的研究进展. 现代免疫学, 2022, 42: 170-4
- [62] Zeng Z, Wei F, Ren X. Exhausted T cells and epigenetic status. Cancer Biol Med, 2020, 17: 923-36
- [63] Kanev K, Zehn D. Origin and fine-tuning of effector CD8 T cell subpopulations in chronic infection. Curr Opin Virol, 2021, 46: 27-35
- [64] Wang X, He Q, Shen H, et al. TOX promotes the exhaustion of antitumor CD8⁺ T cells by preventing PD1 degradation in hepatocellular carcinoma. J Hepatol, 2019, 71: 731-41
- [65] Stelekati E, Shin H, Doering TA, et al. Bystander chronic infection negatively impacts development of CD8⁺ T cell memory. Immunity, 2014, 40: 801-13
- [66] Wilson EB, Brooks DG. The role of IL-10 in regulating immunity to persistent viral infections. Curr Top Microbiol Immunol, 2011, 350: 39-65
- [67] Shi Y, Song Q, Hu D, et al. Tumor-infiltrating lymphocyte activity is enhanced in tumors with low IL-10 production in HBV-induced hepatocellular carcinoma. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 461: 109-14
- [68] Sun Q, Zhao X, Li R, et al. STAT3 regulates CD8⁺ T cell differentiation and functions in cancer and acute infection. J Exp Med, 2023, 220: e20220686
- [69] Kalathil S, Lugade AA, Miller A, et al. Higher frequencies of GARP⁺CTLA-4⁺Foxp3⁺ T regulatory cells and myeloidderived suppressor cells in hepatocellular carcinoma patients are associated with impaired T-cell functionality. Cancer Res, 2013, 73: 2435-44
- [70] Derynck R, Zhang YE. Smad-dependent and Smadindependent pathways in TGF-β family signalling. Nature, 2003, 425: 577-84
- [71] Zhang F, Wang H, Wang X, et al. TGF-β induces M2-like macrophage polarization via SNAIL-mediated suppression of a pro-inflammatory phenotype. Oncotarget, 2016, 7: 52294-306
- [72] Mcnab F, Mayer-Barber K, Sher A, et al. Type I interferons in infectious disease. Nat Rev Immunol, 2015, 15: 87-103
- [73] Ivashkiv LB, Donlin LT. Regulation of type I interferon responses. Nat Rev Immunol, 2014, 14: 36-49
- [74] Hofmann M, Tauber C, Hensel N, et al. CD8⁺ T cell responses during HCV Infection and HCC. J Clin Med, 2021, 10: 991
- [75] Chen Y, Zhou Y, Yan Z, et al. Effect of infiltrating immune cells in tumor microenvironment on metastasis of hepatocellular carcinoma. Cell Oncol (Dordr), 2023, 46: 1595-604
- [76] Chen F, Gong M, Weng D, et al. Phellinus linteus activates Treg cells via FAK to promote M2 macrophage polarization in hepatocellular carcinoma. Cancer Immunol Immunother, 2024, 73: 18
- [77] Chen C, Wang Z, Ding Y, et al. Tumor microenvironment-

mediated immune evasion in hepatocellular carcinoma. Front Immunol, 2023, 14: 1133308

- [78] Veiga-Parga T, Sehrawat S, Rouse BT. Role of regulatory T cells during virus infection. Immunol Rev, 2013, 255: 182-96
- [79] Albu DI, Wang Z, Huang KC, et al. EP4 antagonism by E7046 diminishes myeloid immunosuppression and synergizes with Treg-reducing IL-2-diphtheria toxin fusion protein in restoring anti-tumor immunity. Oncoimmunology, 2017, 6: e1338239
- [80] Wing JB, Tanaka A, Sakaguchi S. Human FOXP3⁺ regulatory T cell heterogeneity and function in autoimmunity and cancer. Immunity, 2019, 50: 302-16
- [81] Chiu DK, Tse AP, Xu IM, et al. Hypoxia inducible factor HIF-1 promotes myeloid-derived suppressor cells accumulation through ENTPD2/CD39L1 in hepatocellular carcinoma. Nat Commun, 2017, 8: 517
- [82] Ringelhan M, Pfister D, O'connor T, et al. The immunology of hepatocellular carcinoma. Nat Immunol, 2018, 19: 222-32
- [83] Draghiciu O, Lubbers J, Nijman HW, et al. Myeloid derived suppressor cells -- An overview of combat strategies to increase immunotherapy efficacy. Oncoimmunology, 2015, 4: e954829
- [84] Lu T, Gabrilovich DI. Molecular pathways: tumorinfiltrating myeloid cells and reactive oxygen species in regulation of tumor microenvironment. Clin Cancer Res, 2012, 18: 4877-82
- [85] Mariathasan S, Turley SJ, Nickles D, et al. TGFβ attenuates tumour response to PD-L1 blockade by contributing to exclusion of T cells. Nature, 2018, 554: 544-8
- [86] Yan W, Liu X, Ma H, et al. Tim-3 fosters HCC development by enhancing TGF-β-mediated alternative activation of macrophages. Gut, 2015, 64: 1593-604
- [87] Zhu AX, Finn RS, Edeline J, et al. Pembrolizumab in patients with advanced hepatocellular carcinoma previously treated with sorafenib (KEYNOTE-224): a non-randomised, open-label phase 2 trial. Lancet Oncol, 2018, 19: 940-52
- [88] Finn RS, Ryoo BY, Merle P, et al. Pembrolizumab as second-line therapy in patients with advanced hepatocellular carcinoma in KEYNOTE-240: a randomized, doubleblind, phase III trial. J Clin Oncol, 2020, 38: 193-202
- [89] Chu X, Tian W, Wang Z, et al. Co-inhibition of TIGIT and PD-1/PD-L1 in cancer immunotherapy: mechanisms and clinical trials. Mol Cancer, 2023, 22: 93
- [90] Blackburn SD, Shin H, Haining WN, et al. Coregulation of CD8⁺ T cell exhaustion by multiple inhibitory receptors during chronic viral infection. Nat Immunol, 2009, 10: 29-37
- [91] Curran MA, Montalvo W, Yagita H, et al. PD-1 and CTLA-4 combination blockade expands infiltrating T cells and reduces regulatory T and myeloid cells within B16 melanoma tumors. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010, 107: 4275-80
- [92] Sakano Y, Noda T, Kobayashi S, et al. Tumor endothelial cell-induced CD8⁺ T-cell exhaustion via GPNMB in

hepatocellular carcinoma. Cancer Sci, 2022, 113: 1625-38

- [93] Noman MZ, Desantis G, Janji B, et al. PD-L1 is a novel direct target of HIF-1α, and its blockade under hypoxia enhanced MDSC-mediated T cell activation. J Exp Med, 2014, 211: 781-90
- [94] Voron T, Colussi O, Marcheteau E, et al. VEGF-A modulates expression of inhibitory checkpoints on CD8⁺ T cells in tumors. J Exp Med, 2015, 212: 139-48
- [95] Fourcade J, Sun Z, Pagliano O, et al. PD-1 and Tim-3 regulate the expansion of tumor antigen-specific CD8⁺ T cells induced by melanoma vaccines. Cancer Res, 2014, 74: 1045-55
- [96] Karyampudi L, Lamichhane P, Scheid AD, et al. Accumulation of memory precursor CD8 T cells in regressing tumors following combination therapy with vaccine and anti-PD-1 antibody. Cancer Res, 2014, 74:

2974-85

- [97] Soares KC, Rucki AA, Wu AA, et al. PD-1/PD-L1 blockade together with vaccine therapy facilitates effector T-cell infiltration into pancreatic tumors. J Immunother, 2015, 38: 1-11
- [98] Reck M, Bondarenko I, Luft A, et al. Ipilimumab in combination with paclitaxel and carboplatin as first-line therapy in extensive-disease-small-cell lung cancer: results from a randomized, double-blind, multicenter phase 2 trial. Ann Oncol, 2013, 24: 75-83
- [99] Antonia SJ, Villegas A, Daniel D, et al. Overall survival with durvalumab after chemoradiotherapy in stage III NSCLC. N Engl J Med, 2018, 379: 2342-50
- [100] Michot JM, Bigenwald C, Champiat S, et al. Immunerelated adverse events with immune checkpoint blockade: a comprehensive review. Eur J Cancer, 2016, 54: 139-48