

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.09.051

耗竭性 T 细胞在肿瘤中的作用 *

李 卿^{1,2} 王红梅^{1,3,4} 张瑜娟^{1,3,4} 刘安文² 闵卫平^{1,4,Δ}

(1 南昌大学医学院免疫与生物治疗研究所 江西 南昌 330006; 2 南昌大学第二附属医院肿瘤科 江西 南昌 330006;
3 南昌大学基础医学院 江西 南昌 330006; 4 江西省医学科学院 江西 南昌 330006)

摘要:耗竭性 T 细胞(exhausted T cells)是一群效应功能减弱,持续表达抑制性受体的 T 细胞,在肿瘤中表现为 T 细胞功能缺陷状态,主要特征为一系列抑制性受体表达增加及细胞因子分泌减少。耗竭性 T 细胞主要通过细胞表面的抑制性分子,细胞因子和免疫调节细胞类型改变等参与肿瘤免疫负调控,从而引起肿瘤免疫逃逸。而 T 细胞耗竭状态并非不可逆转,应用相应单克隆抗体靶向免疫调控点可以有效逆转耗竭性 T 细胞,恢复机体抗肿瘤免疫反应,提高肿瘤控制率。因此,通过逆转肿瘤患者体内的耗竭性 T 细胞可能是肿瘤免疫治疗的新途径之一。

关键词:耗竭性 T 细胞;肿瘤;免疫负调控;免疫调控点

中图分类号:R730.231 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)09-1788-05

The Role of Exhausted T Cells in Tumor*

LI Qing^{1,2}, WANG Hong-mei^{1,3,4}, ZHANG Yu-juan^{1,3,4}, LIU An-wen², MIN Wei-ping^{1,4,Δ}

(1 Institute of Immunotherapy of Nanchang University, Nanchang, Jiangxi, 330006, China; 2 Department of Oncology, The Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang, Jiangxi, 330006, China;
3 Basic medicine of Nanchang University, Nanchang, Jiangxi, 330006, China; 4 Jiangxi Academy of Medical Sciences; Institute of Immunotherapy of Nanchang University, Nanchang, Jiangxi, 330006, China)

ABSTRACT: T cell exhaustion is defined by poor effector function, sustained expression of inhibitory receptors and decrease of cytokine. It is a state of T cell dysfunction that arises during cancer. T cell exhaustion is associated with negative immunoregulatory pathways which can be grouped into three main categories: cell surface inhibitory receptors, cytokine and immunoregulatory cell types. It can induce immune escape in tumor. But exhausted T cells is not irreversible. Blocking the appropriate pathways with monoclonal antibody may reverse the dysfunction of exhausted T cells, improve the anti-tumor immunity and tumor control probability. It is a new immunotherapy to treat cancer by reversing the exhausted T cells in cancer patients.

Key words: Exhausted T cells; Tumor; Negative immunoregulation; Immune check point

Chinese Library Classification(CLC): R730.231 **Document Code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)09-1788-05

前言

耗竭性 T 细胞是一种 T 细胞功能缺陷的状态,常在慢性感染和肿瘤中发生。其定义为一系列效应功能减弱,持续表达抑制性受体的 T 细胞。主要特征为一系列抑制性受体表达增加及细胞因子分泌减少^[1]。耗竭性 T 细胞同时伴有涉及 T 细胞趋化、粘附、迁移的相关基因表达改变,转录因子表达谱改变及代谢功能缺陷等特征^[2]。

耗竭性 T 细胞首先在慢性病毒感染的小鼠体内发现。在动物模型和许多慢性病毒感染、炎症、寄生虫感染及肿瘤患者体内发现都存在 T 细胞耗竭状态^[3]。急性感染过程中,免疫系统识别外源性抗原后表达多种细胞因子如肿瘤坏死因子(TNF)、干扰素 γ (IFN γ)、白介素 -2(IL-2)和其他细胞毒效应分子,这些表型都是有效效应 T 细胞的标志。但是当出现慢性感

染时,如艾滋病病毒(human immunodeficiency virus, HIV)、丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染过程中由于病毒长期持续高表达,导致 T 细胞缺乏上述多功能表型,同时抑制性受体表达增加,即为 T 细胞耗竭状态。其中抑制性受体包括程序性死亡因子 1(programmed cell death protein 1, PD1; 即 CD279),淋巴细胞活化基因 3 蛋白(lymphocyte activation gene 3 protein, LAG3),T 细胞免疫球蛋白及粘蛋白域蛋白 -3(T cell immunoglobulin domain and mucin domain protein 3, TIM3; 也称为 HVACR2)以及 CD160 等^[4]。同样,当 T 细胞长期暴露于肿瘤抗原时也表达上述抑制性受体,如肿瘤浸润 CD8+T 细胞表面 PD1、B/T 淋巴细胞衰减因子(B- and T-lymphocyte attenuator, BTLA, 即 CD272)、TIM3、LAG3、细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 4(cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4, CTLA4, 即 CD152)等抑制性受体表达增加^[5],这些抑制性受体起到负免疫

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81160286; 91229119);江西省研究生创新基金项目(YC2014-B024)

作者简介:李卿(1983-),博士研究生,主治医师,主要研究方向:肿瘤免疫治疗,电话:18070131366, E-mail:qli0427@163.com

Δ 通讯作者:闵卫平, E-mail: weiping.min@gmail.com

(收稿日期:2016-04-28 接受日期:2016-05-23)

调控点作用,抑制 T 细胞功能,使机体对肿瘤产生免疫耐受。

1 耗竭性 T 细胞参与免疫负调控的机制

T 细胞耗竭和免疫负调节通路有关,主要通过以下三个方面参与免疫负调控:细胞表面的抑制性分子(如 PD1),细胞因子(如 IL-10)和免疫调节细胞类型改变(如 Treg 细胞)。

1.1 细胞表面抑制性分子

耗竭性 T 细胞功能丢失是一个逐渐发展的过程,随着耗竭严重程度的增加,T 细胞表面抑制性受体表达的数量和种类也增多^[36]。不管是在动物模型还是在人体内,持续高表达多种抑制性受体是耗竭性 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞的一个最主要特征^[3]。PD1 及其配体是 T 细胞耗竭过程中最主要的抑制性受体。PD-1 (CD279)是免疫球蛋白超家族的一个 55kd 的单体型 I 型跨膜糖蛋白,属于 B7 家族蛋白成员。PD-L1 (也曾命名为 B7-H1/CD274)和 PD-L2(B7-DC)是 PD-1 结合配体,也是一种 B7 超家族成员。PD-L1 广泛表达在 T 细胞、B 细胞、单核细胞、巨噬细胞、树突状细胞及一些非淋巴组织上,在肺癌、肝癌、乳腺癌、鳞状细胞癌及卵巢癌组织等癌组织上也可见广泛表达,而在肿瘤邻近的正常组织中仅低水平表达,提示它参与肿瘤发生发展,并在削弱抗肿瘤免疫反应中有重要作用^[7]。当 T 细胞表面的 PD-1 与肿瘤细胞表面的 PD-L 耦联后,可导致 T 细胞胞质区的 ITSM 结构域的 Tyr 磷酸化,磷酸化的 Tyr 即可募集 SHP-1 和 SHP-2 (Src homology region 1, 2, Src 同源结构域 1 和 2),SHP-2 可以使 TCR 相关 CD3 ζ 和 ZAP70 (zeta chain associated protein kinase 70)去磷酸化,导致下游信号受到抑制,包括阻断 PI3K 和 Akt 的活性,干扰糖代谢及 IL-2 的分泌,削弱 TCR/CD28 信号对免疫细胞的活化作用^[8],最终抑制 T 淋巴细胞增殖和相关细胞因子的分泌。

在慢性 LCMV 病毒感染过程中阻断该通路可以恢复病毒特异性 CD8⁺ T 细胞反应从而使病毒量下降。在感染和非感染性疾病包括肿瘤中,PD1 通路都会产生限制抗原特异性 T 细胞作用^[3]。肿瘤细胞表达 PD1 配体,通过激活 T 细胞的 PD1 使之转化为耗竭性 T 细胞,使肿瘤能够逃避细胞毒性 T 细胞的免疫杀伤^[9]。临床实验已证实,阻断 PD-1 通路是肿瘤免疫治疗的重要手段,已取得一定的免疫治疗效果^[10]。

除了 PD-1 通路,许多其他细胞表面抑制分子也参与共同调节 T 细胞耗竭^[11]。在慢性病毒感染动物模型及患者中发现,病毒特异的耗竭性 CD8⁺ T 细胞可表达 LAG3、CD244(2B4)、CD160、TIM3、CTLA4(CD152)、BTLA(CD272)及其他抑制性受体^[12]。CD8⁺ T 细胞功能缺陷的程度和其表面抑制性受体的共表达谱及其受体表达的数量相关^[13]。功能缺陷的肿瘤特异性 T 细胞往往表达 PD-1 和 LAG3^[13],或者同时表达 PD-1 和 TIM3^[14]。CD4⁺ T 细胞在慢性病毒感染过程及肿瘤中也会出现表型改变及功能丧失,如抑制性受体 PD-1、LAG-3 过表达,IFN- γ 及 TNF- α 产生减少等。但是其与 CD8⁺ T 细胞表达谱并不完全相同,如 CD4⁺ T 细胞出现 GATA-3、Bcl-6 和 Helios 的改变,CD8⁺ T 细胞则没有出现这一改变。并且 CD4⁺ T 细胞功能缺陷出现较 CD8⁺ T 细胞更早。

目前对不同抑制性受体下游通路作用机制仍不清楚,但研究显示不同抑制性受体可以调节不同的细胞功能。例如,PD-1

通路可以影响耗竭性 CD8⁺ T 细胞的存活和增殖^[15]。LAG3 可以影响细胞周期但对细胞存活和凋亡无影响,CD244 (2B4)和 CD160 可以影响耗竭性 CD8⁺ T 细胞的细胞毒作用及细胞因子的产生^[11]。CTLA-4 可以竞争性和 CD28 共刺激配体结合。PD-1 能募集磷酸酶如 SHP-1、SHP-2 或 SHIP 形成 TCR 临近信号复合物从而抑制信号传导^[16]。PD-1 和 CTLA-4 可以通过不同分子机制抑制丝氨酸-苏氨酸激酶 Akt^[17]。

1.2 细胞因子

T 细胞耗竭另一个最重要的特征是产生细胞因子的能力逐渐下降,首先表现为 CD8⁺ T 细胞的变化,在慢性病毒感染过程中随着抗原或病毒量的增加,在耗竭早期 T 细胞分泌 IL-2 的能力、增殖能力及体外杀伤能力下降。发展至耗竭中期,T 细胞产生肿瘤坏死因子的能力下降。至 T 细胞严重耗竭时,表现为产生 IFN- γ 等细胞因子分泌功能障碍,直至最后耗竭性 T 细胞死亡^[18]。相反起抑制作用的 IL-10、TGF- β 等细胞因子表达升高。IL-10 在持续病毒感染过程中和 T 细胞功能缺失有关,阻断 IL-10 可以促进 T 细胞反应,提高病毒控制率^[19]。TGF- β 也可促进 T 细胞耗竭发生,在慢性 LCMV 感染模型中,阻断 T 细胞接收 TGF- β 信号的能力可以提高 CD8⁺ T 细胞功能,阻止严重 T 细胞耗竭发生^[20]。IL-2 是促进 T 细胞存活和活化最主要的细胞因子,加入外源性的 IL-2 可以提高耗竭性 T 细胞的反应性^[21]。过继输注活化 T 细胞或基因修饰的 T 细胞治疗肿瘤时同时用外源性 IL-2 治疗可以提高抗肿瘤免疫反应,IL-2 可以促进产生强烈的抗原反应,有助于阻断 T 细胞耗竭^[22]。但也有研究证实 " γ -链 " 细胞因子如 IL-2、IL-4、IL-7、IL-9、IL-15 可以体外诱导 PD1 及 TIM3 表达升高^[23]。另外,IL-7 和 IL-21 也可以抑制耗竭性 T 细胞的产生^[24]。不同细胞因子对耗竭性 T 细胞的影响还需进一步证实。

1.3 免疫调节细胞

调节性 T 细胞 (Regulatory T cells, Tregs)是与免疫抑制相关的一群免疫调节细胞,可以抑制免疫反应,使得机体抗肿瘤免疫能力下降^[25]。免疫抑制微环境中的 Treg、MDSCs、galectin3 和 iNOS 等和诱导 T 细胞耗竭过程有关。研究显示,肿瘤组织间大部分 FOXP3⁺ 的 Tregs 细胞表达 TIM3, TIM3⁺ Tregs 往往先于耗竭性 CD8⁺ T 细胞出现,在诱导耗竭性 CD8⁺ T 细胞过程中起着重要作用。最近有研究提出一种 "耗竭性 Tregs" 的概念,即 CD4⁺ FoxP3⁺ Tim3⁺ T 细胞亚群,该亚群 T 细胞往往同时表达 PD-1^[26]。在体内同时阻断 TIM3 和 PD-1 信号通路可以使 TIM3⁺ Treg 细胞抑制功能相关分子下调^[27], IFN γ 和 IL-2 信号相关 Runx1 基因上调^[28]。肿瘤浸润 Treg 细胞和 PD1 阳性细胞显著正相关,肿瘤浸润淋巴细胞中 PD1⁺ 和 FOXP3⁺ 细胞比例增加和肾透明细胞癌远处转移及不良预后有关,肿瘤浸润淋巴细胞中 PD1⁺ 和 FOXP3⁺ 比例越高,肾透明细胞癌总生存率越低^[29]。

2 耗竭性 T 细胞在肿瘤中的状态

在肿瘤发生发展过程中,由于慢性肿瘤抗原的持续刺激,T 细胞表现出耗竭表型^[30]。在人类黑色素瘤、卵巢癌、肝癌、乳腺癌、前列腺癌等恶性肿瘤中均存在 PD1⁺ 的肿瘤浸润 T 细胞 (tumor infiltrating lymphocytes, TILs), PD1⁺ TILs 产生细胞因子的能力下降,细胞毒活性下降^[31]。除肿瘤浸润淋巴细胞之外,其

他转移病灶中的 T 细胞也可出现功能缺失,不能有效分泌细胞因子,同时 PD-1、CTLA-4 和 TIM-3 等抑制性受体明显上调^[14]。但是,肿瘤特异性 T 细胞与病毒特异性 T 细胞表达的抑制性分子并不完全相同,如 TIM3 和 CTLA4 在肿瘤特异性 T 细胞中明显升高,而 CD160 主要在病毒特异性 T 细胞表面上调。肿瘤特异性 T 细胞表达更多的 mRNA 编码颗粒酶 B(GZMB)和颗粒溶素(GNLY),但淋巴细胞趋化因子 XCL1 相对减少。Baitsch L 等用基因芯片检测黑色素瘤患者外周血及转移病灶中肿瘤特异性 T 细胞基因表达,有 773 个基因表达出现异常,其中转移病灶中肿瘤特异性 T 细胞的耗竭性相关基因表达增高。不同部位的耗竭性 T 细胞抑制性受体表达谱也有所不同,这可能与它所在的肿瘤微环境有关,且抑制性受体表达越多,其功能缺陷程度越明显^[32]。

尽管在肿瘤和病毒感染过程中免疫反应不完全相同,但是临床前研究证实,在慢性病毒感染模型中的免疫调节靶点和肿瘤发生过程中有一定的重叠,最主要的即为抗 PD-1 靶点。研究证实,大部分黑色素瘤、卵巢癌、肺癌样本中 PD-L1 都表达升高^[33],PD1 主要是通过和肿瘤细胞表面的 PD-L1 结合从而抑制 T 细胞介导的抗肿瘤免疫反应。另外,在慢性病毒感染模型中其他的免疫治疗靶点如 IL-10、IL-21 和 I 型 IFN 也有可能成为肿瘤免疫治疗的新靶点。

临床已有一些关于 PD-1 和 PD-L1 水平与肿瘤预后相关性研究^[8],同时对 PD-L1 是否可以作为治疗前预测 PD-1 通路抑制剂治疗反应的分子标志进行了相应研究^[34]。肿瘤中 PD-L1 表达水平和不良预后有关,最近的临床资料显示,在肿瘤浸润免疫细胞中 PD-L1 的表达和抗 PD-L1 免疫治疗反应呈正相关,即肿瘤浸润免疫细胞中 PD-L1 表达越高,抗 PD-L1 免疫治疗效果越好^[34]。当然,我们还需对肿瘤患者体内 PD-1 及 PD-L1 在淋巴组织或非淋巴组织中的分布做进一步研究以指导免疫负调控点抑制剂在临床中的应用。

3 耗竭性 T 细胞的逆转

活化的 PD1 可以调节病毒或肿瘤特异性耗竭性 T 细胞,而阻断 PD-1 或 PD-L1 可以恢复 T 细胞的效应功能,减少病毒负载量或肿瘤负荷。在慢性 LCMV 感染过程中,给予抗 PD-L1 或抗 PD-1 抗体可以增加 CD8⁺T 细胞的增殖、细胞因子产物及细胞毒活性,同时减少病毒负载量^[35],该研究首次提出耗竭性 T 细胞并不是一个不可逆的终末过程,而是可以被逆转的,因此如果靶向适当的通路,耗竭性 CD8⁺T 细胞的严重功能缺陷可以被逆转从而提高病毒感染的控制率。逆转后的 T 细胞 STAT1、STAT5 及 ERK1/2 信号通路活化,可以恢复分泌 IL-2、IFN- γ 和 TNF α 等细胞因子的能力。临床前研究证实,在动物肿瘤模型中,单独或联合阻断 PD-1 通路可以有效逆转部分耗竭性 T 细胞,恢复强大的抗肿瘤免疫反应,提高肿瘤控制率^[36]。在小鼠黑色素瘤模型中,抗 PD-1 抗体可以阻止 B16 黑色素瘤细胞血行转移速度;同样在 BALB/C 小鼠结肠癌模型中,抗 PD-1 抗体使其向肺转移速度减慢^[37]。Scott E 等将转染 PD-L1 的头颈鳞癌细胞接种小鼠后,肿瘤恶性程度较未转染肿瘤细胞明显升高,给予抗 PD-L1 治疗联合 T 细胞治疗可以有效控制肿瘤生长^[38]。另外,同时阻断 PD-1 和 LAG-3 通路^[11]、PD-1 和 CTLA-4^[39]

或 PD-1 和 TIM-3^[40]均可以显著恢复 T 细胞功能。

针对不同靶点的单克隆抗体如抗 PD-1 抗体、抗 CTLA4 抗体对 TILs 的作用并不相同,抗 PD1 抗体主要影响细胞代谢,而抗 CTLA-4 抗体主要影响细胞周期和效应细胞记忆,而两者联合治疗可以改变 T 细胞的效应通路^[41]。其中,PD-1 通路抑制剂是联合治疗中的基础,了解 PD-1 和其他通路如其他抑制性受体、细胞外的免疫调节通路、放疗等之间的关系,有助于选用不同的联合治疗方式治疗肿瘤。

4 临床针对耗竭性 T 细胞的治疗进展

上述耗竭性 T 细胞相关免疫负调控分子如 PD-1(CD279)、LAG3、CD244 (2B4)、CD160、TIM3、CTLA4 (CD152)、BTLA (CD272)在肿瘤中患者体内表达升高,由于大多数免疫调控点都是从受体-配体相互作用开始启动,因此应用相应单克隆抗体靶向这些免疫调控点可能可以有效逆转耗竭性 T 细胞,尤其是解除对 TILs 的抑制,达到肿瘤免疫治疗的目的。这些抗体和之前的单克隆抗体不同之处在于,他们不是直接针对肿瘤细胞,而是靶向淋巴细胞受体及配体,目的在于提高肿瘤患者体内的抗肿瘤免疫反应能力。在一系列针对 T 细胞抑制性受体的单克隆抗体(统称为检查点阻断剂)临床试验中,这些检查点阻断剂的确显示出显著的治疗效果。

4.1 抗 CTLA 单克隆抗体

两个最主要的人源化抗 CTLA4 单克隆抗体 Ipilimumab 和 Tremelimumab 于 2000 年进入临床试验。在 Tremelimumab 治疗晚期黑色素瘤的 III 期临床试验中,和标准治疗达卡巴嗪相比并没有生存获益^[42]。但 Ipilimumab (Yervoy)在一项 III 期三臂临床试验中,比较黑色素瘤特异性 gp100 疫苗、Ipilimumab、gp100 联合 Ipilimumab 治疗晚期黑色素瘤效果,Ipilimumab 单独治疗及联合治疗组获得 3.5 个月的生存获益,并且 18%经 Ipilimumab 治疗的患者生存期超过 2 年,而单独 gp100 组仅有 5%,提示以免疫为基础的治疗可能可以重塑肿瘤患者的免疫系统,从而在治疗结束之后仍可以长期抑制肿瘤生长^[43]。基于该临床试验,2010 年美国 FDA 及欧洲 EMA 批准 Ipilimumab 用于治疗转移性黑色素瘤,该药物成为首个投入临床应用的负调节通路抑制剂。

4.2 抗 PD-1 单克隆抗体

抗 PD-1 抗体是另一类重要的单克隆抗体。首个全人源化 IgG4 PD1 抗体 Nivolumab (Opdivo, 百时美施贵宝)在 I 期临床试验中显示对大肠癌、肾癌、非小细胞肺癌和黑色素瘤均有抗肿瘤活性,使转移病灶中肿瘤浸润淋巴细胞明显增多^[40]。2014 年 12 月,FDA 加速批准 Nivolumab 用于治疗晚期黑色素瘤。另外,在 Nivolumab 治疗肺鳞癌患者的单臂研究中,对 117 名曾接受以铂类为基础的化疗并出现疾病进展的晚期肺鳞癌患者予以 Nivolumab 治疗,结果显示 15%的患者达到客观缓解,且持续超过 6 个月以上^[44]。2015 年 4 月 FDA 再次批准 Nivolumab 治疗晚期肺鳞癌。

默克公司的 PD1 抗体 pembrolizumab (Keytruda)和 Nivolumab 具有相似的治疗效果且毒性相当,于 2014 年 9 月批准用于经 ipilimumab 或 BRAF 抑制剂治疗后的二线治疗。其他抗 PD-1 抗体如 pidilizumab、MEDI0680(AMP-514)也相继进

入临床试验,将来会有更多的 PD-1 抗体用于临床治疗。

4.3 联合治疗

肿瘤细胞表面的多种抑制性配体可以和肿瘤浸润淋巴细胞表面的抑制性受体结合,淋巴细胞表面的抑制性受体如 LAG3 (CD223), 2B4 (CD244), BTLA (CD272), TIM3 (HAVcr2) 和 A2aR 表达升高都可以抑制淋巴细胞活性,诱导淋巴细胞无能。在此理论上,采用两种或两种以上免疫检查点阻断剂可能可以进一步提高抗肿瘤免疫反应。由于 PD-1 和 CTLA4 信号通路是通过不同的机制阻断 T 细胞反应,同时阻断两条通路可以产生协同作用^[17]。Wolchok 等报道了联合治疗黑色素瘤的 I 期临床研究,研究证实同时阻断 PD1 和 CTLA4 治疗黑色素瘤可以进一步提高临床反应性,53% 的患者获得客观缓解,肿瘤缩小 80% 以上,并且没有增加毒性反应^[45]。这两种靶向药物联合治疗取得成功,也为其他的免疫调节靶点药物开启了大门。

目前 PD-1 通道阻滞剂是最主要的免疫治疗方法,以此为中心联合其他治疗方法治疗肿瘤是需要进一步深入的方向之一。联合阻断多个免疫负调控分子(如 CTLA4、LAG3、TIM3 等)、联合阻断细胞因子(如 IL-10、TGF- β 、IL-35 等)、联合其他有效抗肿瘤疫苗(如 DC 疫苗、DNA 疫苗等)、或联合过继免疫治疗、联合传统的放化疗治疗肿瘤可能是未来肿瘤治疗的新希望。

5 展望

肿瘤免疫治疗的特点在于选择性的靶向免疫系统,重建抗肿瘤免疫功能。但肿瘤免疫治疗仍在起步阶段,抗 PD-1 抗体虽然可以提高部分患者客观缓解率,仍有大多数患者并没有达到完全缓解,甚至对有些患者无效。因此,针对耗竭性 T 细胞的免疫治疗还需进一步研究,如何提高免疫治疗后的持久免疫反应? 对于不同肿瘤哪些联合治疗更有效? 这些问题都需要进一步研究和探索。

参考文献(References)

- Wherry EJ. T cell exhaustion [J]. *Nature immunology*, 2011, 131(6): 492-499
- Wherry EJ, Ha SJ, Kaech SM, et al. Molecular signature of cd8+ t cell exhaustion during chronic viral infection [J]. *Immunity*, 2007, 27(4): 670-684
- Virgin HW, Wherry EJ, Ahmed R. Redefining chronic viral infection [J]. *Cell*, 2009, 138(1): 30-50
- Kuchroo VK, Anderson AC, Petrovas C. Coinhibitory receptors and cd8 t cell exhaustion in chronic infections [J]. *Curr Opin HIV AIDS*, 2014, 9(5): 439-445
- Crespo J, Sun H, Welling TH, et al. T cell anergy, exhaustion, senescence, and stemness in the tumor microenvironment[J]. *Current opinion in immunology*, 2013, 25(2): 214-221
- Wherry EJ, Blattman JN, Murali-Krishna K, et al. Viral persistence alters cd8 t-cell immunodominance and tissue distribution and results in distinct stages of functional impairment[J]. *Journal of virology*, 2003, 77(8): 4911-4927
- Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, et al. Pd-1 and its ligands in tolerance and immunity[J]. *Annual review of immunology*, 2008, 26: 677-704
- Ohaegbulam KC, Assal A, Lazar-Molnar E, et al. Human cancer immunotherapy with antibodies to the pd-1 and pd-l1 pathway [J]. *Trends in molecular medicine*, 2015, 21(1): 24-33
- Hirano F, Kaneko K, Tamura H, et al. Blockade of b7-h1 and pd-1 by monoclonal antibodies potentiates cancer therapeutic immunity [J]. *Cancer research*, 2005, 65(3): 1089-1096
- Brahmer JR, Drake CG, Wollner I, et al. Phase i study of single-agent anti-programmed death-1 (mdx-1106) in refractory solid tumors: Safety, clinical activity, pharmacodynamics, and immunologic correlates[J]. *Journal of clinical oncology*, 2010, 28(19): 3167-3175
- Blackburn SD, Shin H, Haining WN, et al. Coregulation of cd8+ t cell exhaustion by multiple inhibitory receptors during chronic viral infection[J]. *Nature immunology*, 2009, 10(1): 29-37
- Crawford A, Wherry EJ. The diversity of costimulatory and inhibitory receptor pathways and the regulation of antiviral t cell responses[J]. *Current opinion in immunology*, 2009, 21(2): 179-186
- Matsuzaki J, Gnjjatic S, Mhawech-Fauceglia P, et al. Tumor-infiltrating ny-eso-1-specific cd8+ t cells are negatively regulated by lag-3 and pd-1 in human ovarian cancer [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(17): 7875-7880
- Sakuishi K, Apetoh L, Sullivan JM, et al. Targeting tim-3 and pd-1 pathways to reverse t cell exhaustion and restore anti-tumor immunity [J]. *The Journal of experimental medicine*, 2010, 207(10): 2187-2194
- Blackburn SD, Crawford A, Shin H, et al. Tissue-specific differences in pd-1 and pd-l1 expression during chronic viral infection: Implications for cd8 t-cell exhaustion [J]. *Journal of virology*, 2010, 84(4): 2078-2089
- Okazaki T, Maeda A, Nishimura H, et al. Pd-1 immunoreceptor inhibits b cell receptor-mediated signaling by recruiting src homology 2-domain-containing tyrosine phosphatase 2 to phosphotyrosine [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001, 98(24): 13866-13871
- Parry RV, Chemnitz JM, Frauwirth KA, et al. Ctla-4 and pd-1 receptors inhibit t-cell activation by distinct mechanisms[J]. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(21): 9543-9553
- Pauken KE, Wherry EJ. Overcoming t cell exhaustion in infection and cancer[J]. *Trends in immunology*, 2015, 36(4): 265-276
- Brooks DG, Trifilo MJ, Edelman KH, et al. Interleukin-10 determines viral clearance or persistence in vivo [J]. *Nature medicine*, 2006, 12(11): 1301-1309
- Tinoco R, Alcalde V, Yang Y, et al. Cell-intrinsic transforming growth factor-beta signaling mediates virus-specific cd8+ t cell deletion and viral persistence in vivo[J]. *Immunity*, 2009, 31(1): 145-157
- Blattman JN, Grayson JM, Wherry EJ, et al. Therapeutic use of il-2 to enhance antiviral t-cell responses in vivo[J]. *Nature medicine*, 2003, 9(5): 540-547
- Balkhi MY, Ma Q, Ahmad S, et al. T cell exhaustion and interleukin 2 downregulation[J]. *Cytokine*, 2015, 71(2): 339-347
- Zhang ZN, Zhu ML, Chen YH, et al. Elevation of tim-3 and pd-1 expression on t cells appears early in hiv infection, and differential tim-3 and pd-1 expression patterns can be induced by common gamma-chain cytokines [J]. *BioMed research international*, 2015, 2015: 916936

- [24] Pellegrini M, Calzascia T, Toe JG, et al. Il-7 engages multiple mechanisms to overcome chronic viral infection and limit organ pathology [J]. *Cell*, 2011, 144(4): 601-613
- [25] Byrne WL, Mills KH, Lederer JA, et al. Targeting regulatory t cells in cancer[J]. *Cancer research*, 2011, 71(22): 6915-6920
- [26] Gupta S, Thornley TB, Gao W, et al. Allograft rejection is restrained by short-lived tim-3+pd-1+foxp3+ tregs[J]. *The Journal of clinical investigation*, 2012, 122(7): 2395-2404
- [27] Sakuishi K, Ngiew SF, Sullivan JM, et al. Tim3foxp3 regulatory t cells are tissue-specific promoters of t-cell dysfunction in cancer[J]. *Oncoimmunology*, 2013, 2(4): e23849
- [28] Ono M, Yaguchi H, Ohkura N, et al. Foxp3 controls regulatory t-cell function by interacting with aml1/runx1[J]. *Nature*, 2007, 446(7136): 685-689
- [29] Kang MJ, Kim KM, Bae JS, et al. Tumor-infiltrating pd1-positive lymphocytes and foxp3-positive regulatory t cells predict distant metastatic relapse and survival of clear cell renal cell carcinoma[J]. *Translational oncology*, 2013, 6(3): 282-289
- [30] Kim PS, Ahmed R. Features of responding t cells in cancer and chronic infection [J]. *Current opinion in immunology*, 2010, 22(2): 223-230
- [31] Ahmadzadeh M, Johnson LA, Heemskerk B, et al. Tumor antigen-specific cd8 t cells infiltrating the tumor express high levels of pd-1 and are functionally impaired[J]. *Blood*, 2009, 114(8): 1537-1544
- [32] Baitsch L, Baumgaertner P, Devevre E, et al. Exhaustion of tumor-specific cd8 (+) t cells in metastases from melanoma patients[J]. *The Journal of clinical investigation*, 2011, 121(6): 2350-2360
- [33] Konishi J, Yamazaki K, Azuma M, et al. B7-h1 expression on non-small cell lung cancer cells and its relationship with tumor-infiltrating lymphocytes and their pd-1 expression [J]. *Clinical cancer research*, 2004, 10(15): 5094-5100
- [34] Herbst RS, Soria JC, Kowanzet M, et al. Predictive correlates of response to the anti-pd-1 antibody mpd13280a in cancer patients [J]. *Nature*, 2014, 515(7528): 563-567
- [35] Barber DL, Wherry EJ, Masopust D, et al. Restoring function in exhausted cd8 t cells during chronic viral infection[J]. *Nature*, 2006, 439(7077): 682-687
- [36] Fourcade J, Sun Z, Benallaoua M, et al. Upregulation of tim-3 and pd-1 expression is associated with tumor antigen-specific cd8+ t cell dysfunction in melanoma patients [J]. *The Journal of experimental medicine*, 2010, 207(10): 2175-2186
- [37] Iwai Y, Terawaki S, Honjo T. Pd-1 blockade inhibits hematogenous spread of poorly immunogenic tumor cells by enhanced recruitment of effector t cells[J]. *International immunology*, 2005, 17(2): 133-144
- [38] Strome SE, Dong H, Tamura H, et al. B7-h1 blockade augments adoptive t-cell immunotherapy for squamous cell carcinoma [J]. *Cancer research*, 2003, 63(19): 6501-6505
- [39] Nakamoto N, Cho H, Shaked A, et al. Synergistic reversal of intrahepatic hcv-specific cd8 t cell exhaustion by combined pd-1/ctla-4 blockade[J]. *PLoS pathogens*, 2009, 5(2): e1000313
- [40] Jin HT, Anderson AC, Tan WG, et al. Cooperation of tim-3 and pd-1 in cd8 t-cell exhaustion during chronic viral infection[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(33): 14733-14738
- [41] Gubin MM, Zhang X, Schuster H, et al. Checkpoint blockade cancer immunotherapy targets tumour-specific mutant antigens [J]. *Nature*, 2014, 515(7528): 577-581
- [42] Ribas A. Clinical development of the anti-ctla-4 antibody tremelimumab[J]. *Seminars in oncology*, 2010, 37(5): 450-454
- [43] Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma[J]. *The New England journal of medicine*, 2010, 363(8): 711-723
- [44] Rizvi NA, Mazieres J, Planchard D, et al. Activity and safety of nivolumab, an anti-pd-1 immune checkpoint inhibitor, for patients with advanced, refractory squamous non-small-cell lung cancer (checkmate 063): A phase 2, single-arm trial[J]. *The Lancet Oncology*, 2015, 16(3): 257-265
- [45] Wolchok JD, Kluger H, Callahan MK, et al. Nivolumab plus ipilimumab in advanced melanoma [J]. *The New England journal of medicine*, 2013, 369(2): 122-133

(上接第 1772 页)

- [14] Park EJ, Park M. Effectiveness of a Case-Based Computer Program on Students' Ethical Decision Making [J]. *J Nurs Educ*, 2015, 54(11): 633-640
- [15] Hashim R, Azam N, Shafi M, et al. Perceptions of undergraduate medical students regarding case based learning and tutorial format[J]. *J Pak Med Assoc*, 2015, 65(10): 1050-1055
- [16] Bhardwaj P, Bhardwaj N, Mahdi F, et al. Integrated teaching program using case-based learning [J]. *Int J Appl Basic Med Res*, 2015, 5(Suppl 1): S24-S28
- [17] Vora MB, Shah CJ. Case-based learning in pharmacology: Moving from teaching to learning[J]. *Int J Appl Basic Med Res*, 2015, 5(Suppl 1): S21-S23
- [18] Behar-Horenstein LS, Catalanotto FA, Nascimento MM. Anticipated and Actual Implementation of Case-Based Learning by Dental Faculty Members During and After Training [J]. *J Dent Educ*, 2015, 79(9): 1049-1060
- [19] Aljarallah B, Hassan MS. Problem based learning (PBL) vs. Case based curriculum in clinical clerkship, Internal Medicine innovated Curriculum, Student prospective[J]. *Int J Health Sci(Qassim)*, 2015, 9(2): 147-152
- [20] El-Sappagh S, Elmogy M, Riad AM. A fuzzy-ontology-oriented case-based reasoning framework for semantic diabetes diagnosis [J]. *Artif Intell Med*, 2015, 65(3): 179-208