

代谢重编程在调控肿瘤免疫微环境中的作用*

孙林冲** 高平**

(中国科学技术大学生命科学学院, 合肥 230027)

摘要 肿瘤免疫治疗的成功揭示了宿主免疫在抵抗癌细胞增殖方面的重要作用以及抗肿瘤免疫治疗的可行性。但是具有免疫抑制作用的肿瘤微环境仍然是限制肿瘤免疫治疗进展的重要瓶颈。肿瘤微环境会诱发肿瘤细胞代谢发生重编程, 此过程会导致肿瘤细胞与宿主免疫细胞竞争利用营养物质, 肿瘤细胞来源的代谢产物或废物可通过多种方式影响免疫细胞的激活及效应功能的发挥, 最终达到促使肿瘤细胞存活及增殖的目的。因此, 本文就微环境条件下肿瘤细胞代谢重编程及其代谢产物对免疫微环境的影响展开讨论, 以期能为肿瘤免疫治疗提供理论基础及新的思路。

关键词 肿瘤代谢, 代谢产物, 免疫微环境, 肿瘤免疫治疗
学科分类号 R73

DOI: 10.16476/j.pibb.2017.0252

几乎所有的生命系统都能根据微环境的变化而调节代谢方式。因此, 任何条件下, 细胞都需要随时监测周围微环境的变化并改变自己的代谢所需。然而, 对于不同的细胞而言, 代谢适应的方式是不一样的。正常细胞主要是将葡萄糖等物质由胞外摄入胞内进行糖代谢, 然后在线粒体内以氧化磷酸化产生 ATP 的方式进行能量代谢; 但机体发生癌变所诱发的肿瘤细胞则是另外一种代谢方式, 主要表现为大量摄取胞外的葡萄糖利用糖酵解方式产能; 并且在氧气充足的条件下仍然利用糖酵解这样一种既不经济又不高效的方式为自身提供能量, 即有氧糖酵解(Warburg effect)。肿瘤细胞的代谢状态不仅仅是自身长期决策的结果, 同时也会影响周围细胞的命运, 比如肿瘤相关的成纤维细胞、内皮细胞以及天然免疫和适应性免疫系统内的免疫细胞; 随着肿瘤的生长, 微环境内的免疫细胞均会发生一系列的代谢重编程并导致表型改变^[1]。近年来, 肿瘤免疫治疗领域取得了系列突破性的进展, 人们可以通过提高肿瘤细胞的免疫原性和对效应细胞的杀伤敏感性来增强机体抗肿瘤免疫应答, 这也成为近年来科学家及制药公司的研究热点。由此产生的一个重大的科学问题是: 肿瘤细胞的代谢重编程对肿瘤免疫以及肿瘤治疗将产生怎样的影响? 毋庸置疑, 认

识微环境中肿瘤细胞与免疫细胞的代谢异同及代谢产物的差异对于肿瘤的早期诊断及肿瘤免疫治疗具有重要的意义。

1 肿瘤细胞与免疫细胞的代谢重编程概要

肿瘤在发生发展过程中会形成特定的肿瘤微环境, 主要分为两大类: 社会微环境和物理微环境。社会微环境包括: 免疫细胞、成纤维细胞、内皮细胞、细胞外基质等; 物理微环境包括: 低氧微环境、营养压力微环境、低 pH 微环境、氧化压力微环境等。作为社会微环境中的两大主要组分, 肿瘤细胞与免疫细胞在微环境中会经历类似的物理微环境; 在肿瘤发生发展过程中二者必然会对周围本就极少的营养物质进行争夺以达到利于自身生长或者发挥功能的目的。

ATP 是细胞不断生长、分裂增殖的原始动力。细胞主要通过吸收胞外的葡萄糖以两种模式产

* 科技部重点基础研究发展计划(2014CB910600)和国家自然科学基金委(81530076, 31571472, 81372148)资助项目。

** 通讯联系人。Tel: 0551-63607012

孙林冲。E-mail: sunlc@mail.ustc.edu.cn

高平。E-mail: pgao2@ustc.edu.cn

收稿日期: 2017-07-03, 接受日期: 2017-07-04

生 ATP。其一是: 通过细胞质中的糖酵解方式将葡萄糖转变成丙酮酸, 在此过程中, 通过糖酵解形成的中间代谢产物会将磷酸基团转移到 ADP 上形成 ATP; 其二是: 线粒体中进行的三羧酸循环(tricarboxylic acid, TCA)产生的还原当量烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NADH)和黄素腺嘌呤二核苷酸(flavin adenine dinucleotide, FADH₂)通过将电子传递到电子传递链上支持氧化磷酸化(oxidative phosphorylation, OXPHOS), 产生 ATP。葡萄糖产生的丙酮酸通过转换成 acetyl-CoA 进入 TCA 循环, 因此将糖酵解与 TCA 二者联系起来。同时, 细胞还可以通过谷氨酰胺代谢或者脂肪酸 β -氧化等产生的代谢产物进入 TCA 循环进而通过 OXPHOS 产生 ATP。细胞在产生 ATP 的同时, 还会通过糖代谢、脂代谢、氨基酸代谢等不同的代谢途径产生多种中间代谢产物, 为细胞存活、增殖提供生物大分子及建筑模块。

那么, 肿瘤细胞以及免疫细胞在微环境条件下的代谢模式如何? 在有限的营养条件下如何争夺营养物质供其生存? 各自排出的代谢中间产物以及所谓的“代谢废物”又会发挥什么样的功能? 对于这些科学问题的探讨及回答将有助于寻找特异的代谢通路、代谢产物、代谢酶作为靶点, 从而为临床上肿瘤免疫治疗提供新的思路及方法。

1.1 肿瘤细胞代谢重编程

肿瘤是异质性疾病, 其细胞与结构的异质性赋予它复杂的代谢模式。肿瘤细胞主要利用糖酵解途径快速地为自身生长提供 ATP, 同时也可通过磷酸戊糖途径(pentose phosphate pathway, PPP)以及丝氨酸代谢途径等为细胞复制提供生物大分子。同时, 肿瘤细胞也会大量利用谷氨酰胺、脂类物质等促进自身的增殖。低氧条件下, 肿瘤细胞主要通过糖酵解途径产生丙酮酸, 进而生成乳酸而非进入线粒体转变为 Acetyl-CoA 产生 ATP; 在氧气充足的条件下, 肿瘤细胞仍然优先利用糖酵解方式产生 ATP, 也就是大家熟知的有氧糖酵解(Warburg effect); 同样的, 肿瘤细胞可以根据外界营养物质如葡萄糖、谷氨酰胺、丝氨酸、精氨酸、脂肪酸的浓度及含量, 来选择不同的代谢方式产生 ATP 及生物大分子供自己利用^[1]。例如: 葡萄糖或谷氨酰胺缺失的营养压力条件下, 肿瘤细胞会激活癌基因 cMyc, 通过调控丝氨酸合成通路 PHGDH、PSAT1、PSPH 等代谢酶的表达, 利用剩余的主要

能源物质谷氨酰胺或者葡萄糖支持丝氨酸从头合成途径, 通过维持氧化还原稳态等支持肿瘤细胞在营养压力条件下的存活^[2]。此外, 血清饥饿条件下, 肿瘤细胞可激活 mTORC2-AKT-SPI 信号通路, 上调酮体分解代谢限速酶 OXCT1 的表达, 通过酮体分解产生的代谢产物进入 TCA 循环为细胞存活提供 ATP^[3]。在低氧或者营养压力条件下, 肿瘤细胞通过摄取最小的二碳脂肪酸即乙酰乙酸来生成乙酰辅酶 A 为自身存活提供能量及生物大分子如脂肪酸等, 促进自身存活^[4-7]。因此, 肿瘤细胞的代谢方式是复杂多变的, 它会根据自身所处环境的不同选择最优的代谢方式供自己存活。有趣的是, 这些复杂多变的代谢方式在免疫细胞中也同样存在。

1.2 免疫细胞代谢模式

免疫系统包含多种多样的免疫细胞, 这些细胞在机体稳态时处于静止状态, 而在机体受到感染、炎症或者其他外界物质刺激情况下会迅速被激活并做出反应。目前的研究表明免疫细胞在静止状态与激活状态下对于能量的利用具有明显差异。

以在清除病原体及杀伤癌症中发挥重要作用的 T 细胞为例, T 细胞会根据不同的激活状态, 表现出完全不同的代谢模式。初始 T 细胞(Naive T cell)代谢基本静止, 表现为零增殖, 因此只需要维持最基本的营养摄取、最小的糖酵解速率和最少的生物合成, 主要以 OXPHOS 的方式产生 ATP。一旦被外界刺激激活为效应 T 细胞(effector T cell), 它就呈现为代谢激活状态, 营养物质吸收增加, 糖酵解速率上调, 蛋白质、脂类和核苷酸合成累积, 同时线粒体的耗氧呼吸下调, 最终 T 细胞获得生长及增殖能力并产生子代细胞发挥效应杀伤功能。而记忆 T 细胞(memory T cell)的代谢模式与初始 T 细胞类似, 维持基本的营养摄取, 较低的糖酵解速率并依赖 OXPHOS 提供 ATP; 但是它还会表现出增加的线粒体质量, 因此与初始 T 细胞和记忆 T 细胞相比, 会表现出较高的耗氧呼吸, 这样的代谢模式也为机体被再次感染能够迅速激活发挥效应功能提供能量基础^[8]。

此外, 激活的中性粒细胞(neutrophils)、M1 型巨噬细胞(M1 macrophage)、iNOS-表达的树突状细胞(dendritic cell)主要依赖糖酵解模式供能; 调节性 T 细胞(treg cell)、M2 型巨噬细胞(M2 macrophage)主要依赖 FAO 来源的 OXPHOS 方式供能^[9]。因此, 不同的代谢模式可以通过影响不同免疫细胞的分化与功能来影响肿瘤微环境下肿瘤的发生发展。

2 肿瘤细胞代谢产物对免疫细胞及功能的影响

肿瘤细胞吸收与代谢产出的营养物质复杂多

变, 以下就肿瘤微环境条件下肿瘤细胞主要的营养物质, 如糖、脂肪酸及其被细胞吸收利用产生的糖代谢中间产物(图 1)、脂肪酸代谢产物(图 2)及氨基酸(图 3)等对不同免疫细胞的影响进行相关介绍.

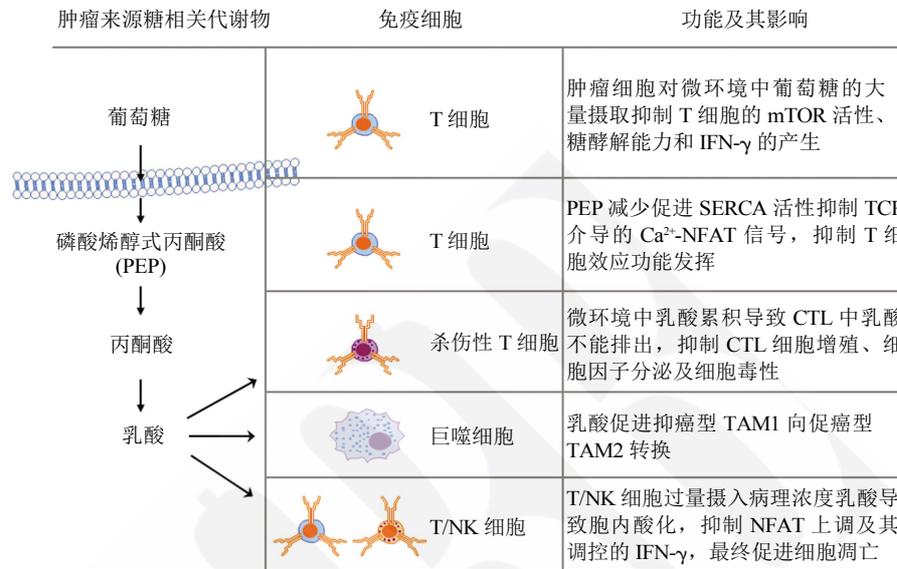


Fig. 1 Effect of tumor derived glucose metabolites on immune cells

图 1 肿瘤来源糖相关代谢产物对代表性免疫细胞功能的影响

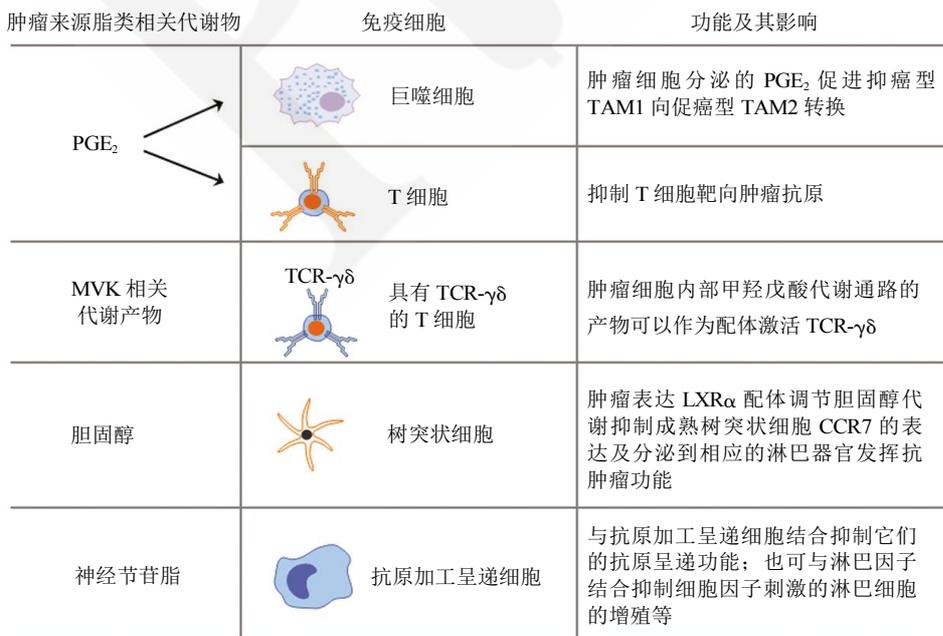


Fig. 2 Effect of tumor derived lipid metabolites on immune cells

图 2 肿瘤来源脂类相关代谢物对代表性免疫细胞功能的影响

肿瘤相关氨基酸	免疫细胞	功能及其影响
精氨酸	 巨噬细胞	巨噬细胞中诱导表达 ARG 可以通过合成聚胺促进肿瘤的血管生成
犬尿酸 (色氨酸代谢产物)	 T 细胞	微环境中色氨酸被肿瘤细胞大量代谢利用后会导致色氨酸缺乏, 引发效应 T 细胞的凋亡

Fig. 3 Effect of tumor related amino acids on immune cells

图 3 肿瘤相关氨基酸对代表性免疫细胞功能的影响

2.1 肿瘤细胞与免疫细胞竞争利用微环境中葡萄糖

葡萄糖是肿瘤细胞吸收最多、消耗最多、最为依赖的营养物质, 而且也是 T 细胞活化、分化、发挥功能所必需的重要能源物质^[10-11]. T 细胞杀伤肿瘤细胞是通过抗原识别来实现的, 而且抗原强度决定 T 细胞激活的程度, T 细胞效应功能越强, 越需获取更多的营养物质进行代谢以支持效应功能的发挥. T 细胞杀伤能力的缺失被认为是抗原缺失、激活缓慢或者被其他细胞抑制导致的. 那么在肿瘤微环境条件下, T 细胞的功能如何? 其与肿瘤细胞对葡萄糖的利用存在怎样一种关系并不清楚. 在小鼠的肉瘤模型中, Chang 等^[12]发现, 肿瘤通过竞争性摄取葡萄糖抑制肿瘤浸润 T 细胞的功能, 即使在足够的肿瘤抗原供 T 细胞识别的情况下仍然如此; 肿瘤对微环境中葡萄糖的大量摄取会通过影响 T 细胞的代谢模式抑制 T 细胞的 mTOR 活性、糖酵解能力和 IFN- γ 的产生. 已知 PD-L1 抑制 T 细胞功能是通过 PD-1 来实现的, 但是在这篇文章中, 作者发现在小鼠肿瘤模型中, PD-L1 抗体抑制肿瘤进展是通过干预 PD-L1/mTOR 对糖代谢的调节来实现的. 该现象表明, 代谢竞争是导致 T 细胞高度抑制的新机制, 同时 PD-L1 检查点阻断治疗后可以通过代谢方式增强 T 细胞糖酵解能力进而杀伤肿瘤(图 1).

尽管该篇文章表明肿瘤微环境条件下葡萄糖的竞争性摄取是导致 T 细胞功能损坏的原因. 但是, 肿瘤细胞与 T 细胞对氨基酸、脂肪酸和其他代谢物或者生长因子的摄取以及细胞表面相应转运载体的表达, 仍是影响 T 细胞功能发挥的重要因素. 因此, 如何破坏肿瘤细胞代谢的同时提高免疫细胞获取营养物质的能力将是抗肿瘤免疫疗法新的挑战

与机遇.

2.2 肿瘤来源的糖代谢产物对免疫细胞及功能的影响

2.2.1 乳酸(lactate)

肿瘤细胞内通过有氧糖酵解产生大量的乳酸, 长期以来一直被认为是代谢废物(waste product), 但是近年来逐渐发现其是肿瘤细胞适应低氧微环境的代谢模式所产生的代谢产物, 因此乳酸可以作为细胞增殖的报告分子(reporter). 而肿瘤免疫领域的研究表明, 肿瘤分泌的乳酸可以通过影响免疫细胞的功能促进肿瘤的发生发展. 早期临床水平的研究发现, 随着病人肿瘤负荷程度的增加, 血清中的乳酸水平明显增加. 进一步研究表明, 乳酸而非乳酸盐可以通过酸化微环境, 导致 CTL(cytotoxic T lymphocytes)细胞中的乳酸不能排出进而抑制 CTL 细胞的增殖、细胞因子的分泌及细胞毒性^[13-15]. 肿瘤微环境条件下与肿瘤相近的巨噬细胞可以高表达 VEGF、ARG1, 且是通过 HIF-1 α 实现的. 分析肿瘤细胞培养基组分发现, 代谢产物乳酸是介导 HIF-1 α 在常氧下稳定从而激活 VEGF、ARG1 的重要上游物质, 最终使肿瘤相关巨噬细胞(TAM)以 M2 型极化, TAM2 分泌的 ARG1 促进肿瘤的生长^[16](图 1).

此外, 乳酸还会影响 T 细胞和 NK 细胞功能(图 1). 肿瘤细胞和 T 细胞竞争性利用微环境中葡萄糖会导致 T 细胞分泌的细胞因子 IFN- γ 减少, 而且此过程导致的 PEP 会影响 NFAT 信号^[17]. 而 Brand 等^[18]发现乳酸也会在此过程中发挥重要作用. 人和鼠的黑色素瘤内部均呈现 Warburg 表型及高浓度的乳酸水平. 在具有免疫活性的 C57BL/6 小鼠中, LDHA 低表达组与对照组相比, 成瘤能力

明显减慢、且肿瘤内浸润性分泌 IFN- γ 的 CD8⁺ T 细胞和 NK 细胞明显增多；而在缺失淋巴细胞和 NK 细胞的 Rag2^{+/+} γ c^{-/-} 小鼠中，LDHA 低表达组与对照组相比成瘤能力几无差别。表明肿瘤细胞产生的乳酸可以通过抑制 T 细胞和 NK 细胞 IFN- γ 的分泌促进肿瘤发生。机制研究表明，T 细胞和 NK 细胞过量摄入病理浓度的乳酸会导致胞内酸化并抑制转录因子 NFAT 上调，从而导致 NFAT 调控的 IFN- γ 产生减少并促进细胞凋亡(图 1)。上述现象表明肿瘤微环境中较高的乳酸含量及相伴的酸化微环境会抑制免疫细胞功能导致免疫逃逸^[18]。

2.2.2 磷酸烯醇式丙酮酸(phosphoenolpyruvate, PEP)

如前文 2.1 所述，肿瘤细胞内糖酵解的高速运转会降低肿瘤内部 T 细胞对葡萄糖的利用，从而抑制肿瘤内部 T 细胞的效应功能。已有研究表明，葡萄糖缺失可以影响胞内 Ca²⁺ 信号介导的 T 细胞受体(T cell receptor, TCR)激活；机制研究表明，胞内糖酵解可以维持胞质内 Ca²⁺ 浓度。LC-QE-MS 代谢流分析表明，葡萄糖代谢产生的中间代谢产物 PEP 通过抑制 sarco/ER Ca²⁺-ATPase (SERCA) 活性来维持 T 细胞受体介导的 Ca²⁺-NFAT 信号，从而促使 T 细胞效应功能的发挥。进一步，如果在 CD4 和 CD8 阳性 T 细胞中过表达生成 PEP 的代谢酶 PCK1，可以明显上调 T 细胞的效应功能，抑制肿瘤生长，延长黑色素瘤荷瘤小鼠的存活时间^[17]。该项研究揭示了新的 T 细胞功能性的代谢检查点，而且肿瘤内部的 T 细胞可以通过代谢重组增强 T 细胞的抗肿瘤活性，为肿瘤免疫治疗提供新的模式(图 1)。

2.3 肿瘤来源的脂代谢产物对免疫细胞及功能的影响

2.3.1 前列腺素 E2(prostaglandin E2, PGE₂)

花生四烯酸是肿瘤细胞内必需脂肪酸相关的一类重要二十碳四烯酸，它是合成前列腺素的重要底物。PGE₂ 是胞内重要的细胞生长和调节因子，也是炎症反应中一类活性很强的炎症介质，纳克水平的 PGE₂ 就能引起炎症反应^[19]。已知 PGE₂ 是众多 PG 中唯一可以促进肿瘤细胞存活、增殖、浸润、转移以及血管生成的介质，同时肿瘤细胞内部的 PGE₂ 还可通过自分泌及旁分泌方式影响微环境中的其他细胞，比如破坏免疫反应。肿瘤细胞内部的 PGE₂ 可以诱导具有免疫抑制功能的 IL-10 的释放^[20]；肿瘤细胞分泌的 PGE₂ 可以使具有肿瘤抑制效果的

M1 型巨噬细胞向促癌的 M2 型巨噬细胞转换^[21](图 2)。近期 Reis e Sousa 小组的研究表明，小鼠黑色素瘤模型中 Braf 突变会上调 COX2 (cyclooxygenases 2)的酶活导致 PGE₂ 积累，进而促进肿瘤的发展。分泌的 PGE₂ 可以刺激骨髓样细胞分泌促癌的 CXCL1、IL-6 和粒细胞集落刺激因子 (granulocyte-colony-stimulating factor, G-CSF)、抑制脂多糖(LPS)刺激的骨髓样细胞分泌 TNF- α 和 IL-12、抑制 I 型干扰素依赖的固有免疫细胞的激活、抑制 T 细胞靶向肿瘤抗原，进而达到免疫逃逸促进肿瘤发生的目的(图 2)。同时，在小鼠黑色素瘤或者结肠癌移植瘤模型中，利用阿司匹林 (aspirin)或者塞来昔布(celecoxib)抑制 PGE₂ 的产生可以协同增强 anti-PD-1 介导的抗肿瘤反应。已知 COX 的抑制剂可以降低结肠癌、胃癌、乳腺癌和黑色素瘤的发病率，这也为它们联合临床抗肿瘤免疫治疗，尤其是免疫检查点阻断疗法提供可能性^[22]。

2.3.2 甲羟戊酸及胆固醇代谢(mevalonate and cholesterol metabolism)

近年来发现甾醇代谢与固有免疫和适应性免疫密切相关。而甲羟戊酸(mevalonate, MVK)代谢通路主要以乙酰辅酶 A、NADPH、ATP 等为原料通过 ACAT1/2、HMGCR、MVK、PMVK、MVD 和 IDI1/2 等一系列代谢酶合成甾醇、类异戊二烯 (isoprenoid)及不同形式的胆固醇，这些代谢物对于肿瘤的发生发展至关重要。

表达 TCR- $\gamma\delta$ 受体的 T 细胞是一种特殊的 T 细胞亚群(多数 T 细胞表达含 $\alpha\beta$ 链的 TCR)，主要分布在淋巴组织以及皮肤、肠道系统相关的淋巴系统中，可以识别肿瘤细胞表面的未知抗原。2003 年瑞士的 Gennaro De Libero 实验组发现，肿瘤细胞内部甲羟戊酸代谢通路的产物可以作为配体激活 TCR- $\gamma\delta$ ，在肿瘤细胞内阻断 MVK 通路限速酶 HMGCR 后，可以明显降低 MVK 通路下游代谢产物的含量并减少被 TCR- $\gamma\delta$ 识别的可能性。而过表达 HMGCR 或者使用药物处理肿瘤细胞后，可以明显增强 TCR- $\gamma\delta$ 的识别能力(图 2)。因此，该篇文章认为肿瘤细胞如果持续高表达 MVK 代谢通路产物是比较危险的信号，因为它激活了免疫反应且为肿瘤免疫治疗提供了新的抗肿瘤靶标^[23]。

胆固醇是细胞膜表面的重要组成部分，快速增殖的细胞需要更多的膜结构以及更多的胆固醇合成。脂筏结构的组成以及内在的信号复合体也需要

胆固醇的参与。已知, 内质网膜上的胆固醇含量与抗病毒的 I 型 IFN γ 应答相关, 巨噬细胞内低表达的胆固醇含量可以诱发 IFN γ 反应, 保护小鼠免于病毒感染^[24]。因此, 肿瘤细胞中高表达胆固醇可以保护肿瘤细胞逃避免疫监视及其他治疗手段, 例如, 肿瘤细胞的胆固醇可以修饰膜表面肿瘤相关抗原鞘糖脂(glycosphingolipids, GSLs), 使鞘糖脂发生构象改变, 不易被抗体识别^[25-26]。2016 年中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所许琛琦研究组与李伯良研究组合作发现: T 细胞代谢通路中的胆固醇酯化酶 ACAT1 是一个很好的调控靶点, 抑制 ACAT1 的活性可以大大提高杀伤性 T 细胞的抗肿瘤功能。因为 ACAT1 被抑制后, 杀伤性 T 细胞膜上的游离胆固醇水平提高, 从而让 T 细胞肿瘤抗原免疫应答变得更加高效。同时, 科研人员还利用 ACAT1 的小分子抑制剂 avasimibe 在小鼠模型中治疗肿瘤, 发现该抑制剂具有很好的抗肿瘤效应; 并且 avasimibe 与现有的肿瘤免疫治疗临床药物 anti-PD-1 联用后效果更佳^[27]。

核内转录因子 LXR α 主要参与脂代谢与胆固醇代谢稳态的调节, 可以被氧化的胆固醇(羟固醇)所激活^[28-29]。树突状细胞通过分泌 CCR7(CC chemokine receptor-7)到淋巴器官起始免疫应答, 发挥抗肿瘤作用; Villablanca 等^[30]发现, 人源和鼠源肿瘤中均表达 LXR α 配体, 并抑制成熟树突状细胞 CCR7 的表达及分泌到相应的淋巴器官(图 2), 确实在人源肿瘤中检测到的树突状细胞多为 CD83⁺CCR7⁺ 树突状细胞; 如果在小鼠成瘤实验中表达灭活 LXR α 配体的酶 SULT2B1b(sulfotransferase 2B1b), 分泌 CCR7 到淋巴器官的树突状细胞增多, 可以明显抑制肿瘤的生长。以上结果表明胆固醇代谢的产物参与肿瘤细胞的免疫逃逸, 阻断肿瘤细胞表达的 LXR α 有可能是一种不错的抗肿瘤免疫治疗的手段。

2.3.3 神经节苷脂(ganglioside)

神经节苷脂主要存在于中枢神经系统, 是神经细胞膜中属于鞘糖脂的重要结构组分和功能组分。在神经母细胞瘤、淋巴瘤、黑色素瘤、白血病中, 肿瘤细胞膜表面的神经节苷脂常脱落到微环境中, 作为信号分子调节免疫细胞功能。比如: 神经节苷脂可以与抗原加工呈递细胞结合抑制它们的抗原呈递功能; 与淋巴因子结合抑制细胞因子刺激的淋巴细胞的增殖; 改变细胞表面受体分子阻断生长刺激信号的传递; 插入靶细胞的细胞膜影响胞内的信号

传递等^[31](图 2)。

2.4 肿瘤来源的氨基酸及其代谢产物对免疫细胞及功能的影响

2.4.1 精氨酸(arginine)

L- 精氨酸是成年哺乳动物体内的条件型必需氨基酸, 它主要用于合成蛋白质、肌酸和胍基丁胺。在细胞内, 主要通过精氨酸酶(arginase, ARG)和一氧化氮合酶(nitric-oxide synthase, NOS)反应分别生成尿素、L- 鸟氨酸和一氧化氮、L- 瓜氨酸^[32]。

多数肿瘤中会过量产生 NO(一氧化氮), 而这也是促进肿瘤新血管生成、增殖、转移、耐受 DNA 损伤药物以及抗肿瘤免疫的重要机制之一^[33-34]。在结肠癌、乳腺癌、肺癌及前列腺癌患者中均检测到高表达的 ARG 活性。小鼠的巨噬细胞如果转染大鼠来源的 ARG1 则可以明显促进体内与巨噬细胞共培养的肿瘤细胞的生长^[35]。巨噬细胞中诱导表达 ARG 可以通过合成聚胺促进肿瘤的血管生成^[36], 因此肿瘤内部高表达 ARG 除了可以通过聚胺合成新生血管外, 还可抑制浸润肿瘤内的 T 细胞应答, 发挥抗肿瘤免疫的效果(图 3)。

此外, 多数肿瘤细胞内缺乏生成精氨酸的关键酶 ASS1(argininosuccinate synthetase 1), 因此会导致胞内精氨酸合成能力的缺失, 在这种情况下肿瘤细胞就会利用外源性的精氨酸来弥补胞内关键代谢酶不足所带来的精氨酸的缺乏。实验发现, 肿瘤微环境中肿瘤细胞吸收的精氨酸主要是由肿瘤相关的骨髓细胞(巨噬细胞、单核细胞、髓样抑制细胞、中性粒细胞等)提供^[37-38]。这些免疫细胞提供精氨酸帮助肿瘤细胞耐受精氨酸缺乏的微环境。而通过蛋白质组学、代谢组学等大数据分析的最新研究表明: 激活的 T 细胞消耗大量的精氨酸并且迅速代谢为下游产物, 且外源补加精氨酸可以增加胞内精氨酸及其下游产物的含量, 通过结合转录因子(BAZ1B、PSIP1 和 TSN)以代谢产物结合蛋白的模式诱导糖酵解向 OXPHOS 的转换, 促进 T 细胞的存活及记忆性细胞的数量, 增加抗肿瘤免疫应答^[39]。上述研究表明, 肿瘤细胞及激活的 T 细胞均需要大量消耗微环境中的精氨酸维持自身的生存或者促进功能的发挥, 因此我们不能单纯靶向微环境中的精氨酸代谢, 因为可能在杀伤肿瘤的同时会抑制 T 细胞的功能, 这还需要更多的实验来优化出最理想的抗肿瘤免疫条件。

2.4.2 犬尿酸(kynurenine)

色氨酸是生物体进行蛋白质合成和其他生命代

谢活动所必需的必需氨基酸。色氨酸降解主要由两种不同的双加氧酶 IDO1(indoleamine-2, 3-dioxygenase) 和 TDO2(tryptophan-2, 3-dioxygenase)将色氨酸转化为犬尿酸^[40]。色氨酸可以快速通过细胞膜被肿瘤细胞利用且多数实体瘤高表达 IDO1 和 TDO2^[40]。因为 T 细胞激活对于外周环境中的色氨酸浓度异常敏感, 因此微环境中色氨酸被肿瘤细胞大量代谢利用后会导致色氨酸缺乏, 引发效应 T 细胞的凋亡^[41](图 3)。此外, 犬尿酸还可作为配体激活 AHR(aryl hydrocarbon receptor), 以依赖 AHR 的方式促进调节性 T 细胞表型, 最终抑制抗肿瘤免疫反应^[42]。

3 总结与展望

抗肿瘤免疫治疗为临床上治疗癌症提供了可能性, 与传统的化疗、放疗和手术疗法相比, 它对肿瘤的治疗周期可以更长而且副作用更小, 尤其适用于不适合手术且有广泛转移的恶性肿瘤患者。但是充分了解肿瘤微环境条件下肿瘤细胞逃避肿瘤免疫应答的机制十分必要。通过调节肿瘤细胞与免疫细胞内的代谢反应, 调控免疫应答已逐渐成为目前抗肿瘤免疫疗法的热点。微环境中的营养物质以及细胞分泌的代谢产物均可影响周围细胞的命运。例如, 肿瘤细胞通过消耗微环境中的葡萄糖、分泌乳酸酸化微环境、高表达细胞膜组分胆固醇、分泌神经节苷脂以及快速吸收利用胞外氨基酸等方式抑制免疫细胞发挥功能进行免疫逃逸。

肿瘤微环境中除了目前研究比较广泛的葡萄糖、氨基酸、脂质这些大分子以外, 还存在多种维生素及微量元素, 如维生素 C、锌、铜等。这些微量营养物可以是多种代谢酶的辅因子, 也可以与胞内蛋白组成复合物、参与代谢循环、发挥信号转导功能等; 但是它们在肿瘤内以及免疫细胞中发挥怎样的功能并不清楚。

肿瘤相关的炎症可以逃避免疫监视创造免疫抑制的微环境促进肿瘤生长, 因此肿瘤免疫治疗的最大难题是如何通过检查点抑制剂抵抗免疫抑制的微环境达到杀伤肿瘤的目的。一些治疗方法将肿瘤代谢作为检查点进行靶向以达到杀伤肿瘤的目的, 但是免疫细胞也需要代谢激活来发挥抗肿瘤功能。肿瘤细胞与 T 细胞均会大量利用胞外的精氨酸、乙酰乙酸及丝氨酸等^[39, 43-45], 因此, 靶向肿瘤代谢所导致的能量改变势必会影响抗肿瘤的免疫细胞功能及活性。因此, 如何找到肿瘤细胞特有的代谢通路、代谢产物以及代谢酶作为靶点进行特异性阻

断, 并在抑制肿瘤与维持免疫细胞活性之间找到平衡的治疗方法是目前通过靶向代谢进行抗肿瘤免疫治疗亟待解决的问题。

参 考 文 献

- [1] Pavlova N N, Thompson C B. The emerging hallmarks of cancer metabolism. *Cell Metabolism*, 2016, **23**(1): 27-47
- [2] Sun L C, Song L B, Wan Q F, *et al.* cMyc-mediated activation of serine biosynthesis pathway is critical for cancer progression under nutrient deprivation conditions. *Cell Research*, 2015, **25**(4): 429-444
- [3] Huang D, Li T T, Wang L, *et al.* Hepatocellular carcinoma redirects to ketolysis for progression under nutrition deprivation stress. *Cell Research*, 2016, **26**(10): 1112-1130
- [4] Schug Z T, Vande Voorde J, Gottlieb E. The metabolic fate of acetate in cancer. *Nature Reviews Cancer*, 2016, **16**(11): 708-717
- [5] Schug Z T, Peck B, Jones D T, *et al.* Acetyl-CoA synthetase 2 promotes acetate utilization and maintains cancer cell growth under metabolic stress. *Cancer Cell*, 2015, **27**(1): 57-71
- [6] Comerford S A, Huang Z, Du X, *et al.* Acetate dependence of tumors. *Cell*, 2014, **159**(7): 1591-1602
- [7] Mashimo T, Pichumani K, Vemireddy V, *et al.* Acetate is a bioenergetic substrate for human glioblastoma and brain metastases. *Cell*, 2014, **159**(7): 1603-1614
- [8] Pearce E L, Poffenberger M C, Chang C H, *et al.* Fueling immunity: insights into metabolism and lymphocyte function. *Science*, 2013, **342**(6155): 1242-454
- [9] Pearce E L, Pearce E J. Metabolic pathways in immune cell activation and quiescence. *Immunity*, 2013, **38**(4): 633-643
- [10] Greiner E F, Guppy M, Brand K. Glucose is essential for proliferation and the glycolytic enzyme-induction that provokes a transition to glycolytic energy-production. *Journal of Biological Chemistry*, 1994, **269**(50): 31484-31490
- [11] Palmer C S, Ostrowski M, Balderson B, *et al.* Glucose metabolism regulates T cell activation, differentiation, and functions. *Frontiers in Immunology*, 2015, **6**(1): 1-6
- [12] Chang C H, Qiu J, O'sullivan D, *et al.* Metabolic competition in the tumor microenvironment is a driver of cancer progression. *Cell*, 2015, **162**(6): 1229-1241
- [13] Fischer K, Hoffmann P, Voelkl S, *et al.* Inhibitory effect of tumor cell-derived lactic acid on human T cells. *Blood*, 2007, **109**(9): 3812-3819
- [14] Goetze K, Walenta S, Ksiazkiewicz M, *et al.* Lactate enhances motility of tumor cells and inhibits monocyte migration and cytokine release. *International Journal of Oncology*, 2011, **39**(2): 453-463
- [15] Gottfried E, Kunz-Schughart L A, Ebner S, *et al.* Tumor-derived lactic acid modulates dendritic cell activation and antigen expression. *Blood*, 2006, **107**(5): 2013-2021
- [16] Colegio O R, Chu N Q, Szabo A L, *et al.* Functional polarization of tumour-associated macrophages by tumour-derived lactic acid. *Nature*, 2014, **513**(7519): 559-563

- [17] Ho P C, Bihuniak J D, Macintyre A N, *et al.* Phosphoenolpyruvate is a metabolic checkpoint of anti-tumor T cell responses. *Cell*, 2015, **162**(6): 1217–1228
- [18] Brand A, Singer K, Koehl G E, *et al.* LDHA-associated lactic acid production blunts tumor immunosurveillance by T and NK cells. *Cell Metabolism*, 2016, **24**(5): 657–671
- [19] Wang D Z, Dubois R N. Eicosanoids and cancer. *Nature Reviews Cancer*, 2010, **10**(3): 181–193
- [20] Kalinski P. Regulation of immune responses by prostaglandin E2. *Journal of Immunology*, 2012, **188**(1): 21–28
- [21] Luan B, Yoon Y S, Le Lay J, *et al.* CREB pathway links PGE₂ signaling with macrophage polarization. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, **112**(51): 15642–15647
- [22] Zelenay S, Van Der Veen A G, Bottcher J P, *et al.* Cyclooxygenase-dependent tumor growth through evasion of immunity. *Cell*, 2015, **162**(6): 1257–1270
- [23] Gober H J, Kistowska M, Angman L, *et al.* Human T cell receptor gammadelta cells recognize endogenous mevalonate metabolites in tumor cells. *J Exp Med*, 2003, **197**(2): 163–168
- [24] York A G, Williams K J, Argus J P, *et al.* Limiting cholesterol biosynthetic flux spontaneously engages type I IFN signaling. *Cell*, 2015, **163**(7): 1716–1729
- [25] Li H Y, Appelbaum F R, Willman C L, *et al.* Cholesterol-modulating agents kill acute myeloid leukemia cells and sensitize them to therapeutics by blocking adaptive cholesterol responses. *Blood*, 2003, **101**(9): 3628–3634
- [26] Novak A, Binnington B, Ngan B, *et al.* Cholesterol masks membrane glycosphingolipid tumor-associated antigens to reduce their immunodetection in human cancer biopsies. *Glycobiology*, 2013, **23**(11): 1230–1239
- [27] Yang W, Bai Y, Xiong Y, *et al.* Potentiating the antitumor response of CD8(+) T cells by modulating cholesterol metabolism. *Nature*, 2016, **531**(7596): 651–655
- [28] Peet D J, Janowski B A, Mangelsdorf D J. The LXRs: a new class of oxysterol receptors. *Current Opinion in Genetics & Development*, 1998, **8**(5): 571–575
- [29] Janowski B A, Grogan M J, Jones S A, *et al.* Structural requirements of ligands for the oxysterol liver X receptors LXRalpha and LXRbeta. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96**(1): 266–271
- [30] Villablanca E J, Raccosta L, Zhou D, *et al.* Tumor-mediated liver X receptor-alpha activation inhibits CC chemokine receptor-7 expression on dendritic cells and dampens antitumor responses. *Nature Medicine*, 2010, **16**(1): 98–105
- [31] Wondimu A, Liu Y H, Su Y, *et al.* Gangliosides drive the tumor infiltration and function of myeloid-derived suppressor cells. *Cancer Research*, 2014, **74**(19): 5449–5457
- [32] Bronte V, Zanovello P. Regulation of immune responses by L-arginine metabolism. *Nature Reviews Immunology*, 2005, **5**(8): 641–654.
- [33] Bogdan C. Nitric oxide and the immune response. *Nat Immunol*, 2001, **2**(10): 907–916
- [34] Xu W, Liu L, Smith G C, *et al.* Nitric oxide upregulates expression of DNA-PKcs to protect cells from DNA-damaging anti-tumour agents. *Nature Cell Biology*, 2000, **2**(6): 339–345
- [35] Chang C I, Liao J C, Kuo L. Macrophage arginase promotes tumor cell growth and suppresses nitric oxide-mediated tumor cytotoxicity. *Cancer Research*, 2001, **61**(3): 1100–1106
- [36] Davel L E, Jansis M A, De La Torre E, *et al.* Arginine metabolic pathways involved in the modulation of tumor-induced angiogenesis by macrophages. *FEBS Letters*, 2002, **532** (1–2): 216–220
- [37] Sica A, Porta C, Morlacchi S, *et al.* Origin and functions of tumor-associated myeloid cells (TAMCs). *Cancer Microenvironment: Official Journal of the International Cancer Microenvironment Society*, 2012, **5**(2): 133–149
- [38] Phillips M M, Sheaff M T, Szlosarek P W. Targeting arginine-dependent cancers with arginine-degrading enzymes: opportunities and challenges. *Cancer Res Treat*, 2013, **45** (4): 251–262
- [39] Geiger R, Rieckmann J C, Wolf T, *et al.* L-Arginine modulates T cell metabolism and enhances survival and anti-tumor activity. *Cell*, 2016, **167**(3): 829–842
- [40] Munn D H, Mellor A L. Indoleamine 2,3-dioxygenase and tumor-induced tolerance. *J Clin Invest*, 2007, **117**(5): 1147–1154
- [41] Fallarino I, Grohmann U, Vacca C, *et al.* T cell apoptosis by tryptophan catabolism. *Cell Death Differ*, 2002, **9**(10): 1069–1077
- [42] Fallarino F, Grohmann U, You S, *et al.* The combined effects of tryptophan starvation and tryptophan catabolites down-regulate T cell receptor zeta-chain and induce a regulatory phenotype in naive T cells. *Journal of Immunology*, 2006, **176**(11): 6752–6761
- [43] Lewis C A, Vander Heiden M G. InterFeriNg with acet gamma lation: stress-levels of acetate improve memory T cell function. *Immunity*, 2016, **44**(6): 1243–1245
- [44] Balmer M L, Ma E H, Bantug G R, *et al.* Memory CD8(+) T cells require increased concentrations of acetate induced by stress for optimal function. *Immunity*, 2016, **44**(6): 1312–1324
- [45] Ma E H, Bantug G, Griss T, *et al.* Serine is an essential metabolite for effector T cell expansion. *Cell Metabolism*, 2017, **25**(2): 345–357

Regulation of Cancer Metabolic Reprogramming on Immune Microenvironment*

SUN Lin-Chong**, GAO Ping**

(School of Life Science, University of Science and Technology of China, Hefei 230027, China)

Abstract The success of cancer immunotherapy demonstrates the critical involvement of host immune system on cancer cell killing as well as the feasibility of anti-tumor immunity, whereas the immunosuppressive tumor microenvironment restrains the step forward of cancer immunotherapy. Tumor microenvironment is able to induce tumor metabolic reprogramming and this process leads to: (1) competitive utilization of nutrients between tumor cell and host immune cells; (2) regulation of activation and effector function of immune cells caused by tumor derived metabolites or waste through different modes. Thus, this review focuses on current views of the influence of tumor metabolic reprogramming and relevant metabolites on host immune, in order to provide theoretical basis and new ideas for cancer immunotherapy.

Key words tumor metabolism, metabolites, immune microenvironment, cancer immunotherapy

DOI: 10.16476/j.pibb.2017.0252

* This work was supported by grants from National Basic Key Research Program of China (2014CB910600) and The National Natural Science Foundation of China(81530076, 31571472, 81372148)

**Corresponding author. Tel: 86-551-63607012

SUN Lin-Chong. E-mail: sunlc@mail.ustc.edu.cn

GAO Ping. E-mail: pgao2@ustc.edu.cn

Received: July 3, 2017 Accepted: July 4, 2017