



李扬秋 研究员，二级教授，博士生导师，暨南大学血液学研究所所长，广东省医学领军人才。中国病理生理学会实验血液学委员会副主任，*Blood Science*副主编、*J Immuno Ther Cancer* (Clinical/Translational Cancer Immunotherapy 专题副主编) 、*J Hematol Oncol*、*Exp Hematol Oncol*、*Exp Hematol*、《中华血液学杂志》《中国免疫学杂志》《肿瘤防治研究》等杂志编委。主要从事血液肿瘤分子发病机制和肿瘤T细胞免疫及靶向治疗研究。在 *Nat Med*, *Mol Cancer*, *J Hematol Oncol* 和 *Adv Sci* 等国内外期刊发表论文200多篇。

靶向T细胞免疫治疗急性髓性白血病的策略

李扬秋

Strategy of Targeted T Cell Immunotherapy for Acute Myeloid Leukemia

LI Yangqiu

Key Laboratory for Regenerative Medicine of Ministry of Education, Institute of Hematology, School of Medicine, Jinan University, Guangzhou 510632, China

Abstract: T cell dysfunction is a common feature in patients with acute myeloid leukemia (AML). The up-regulation of immune checkpoint (IC) proteins resulting in T cell exhaustion is a key reason for T cell dysfunction. Immunotherapy with IC inhibitors exerts a remarkable effect on AML. However, due to the heterogeneity of T cell exhaustion and other factors that impair T cell function in patients with AML, the optimization of targeted T cell immunotherapy strategy for AML might be based on the multidimensional investigation of immune deficiency with different T cell subtypes.

Key words: Acute myeloid leukemia; T cell; Exhaustion; Immune checkpoint protein; Immunotherapy

Funding: Natural Science Foundation of China (No. 82293630, 82293632, 82070152)

Competing interests: The author declares that she has no competing interests.

摘要: 急性髓性白血病 (AML) 常伴有T细胞免疫功能不全，由于免疫检查点 (IC) 分子表达上调引起T细胞耗竭是其重要原因之一。利用IC抑制剂治疗AML有一定的临床效果，但患者T细胞耗竭的异质性很大，且还存在其他原因引起的T细胞免疫功能不全，多层面分析区分不同类型的免疫缺陷而采取相应的靶向T细胞免疫治疗才是理想的策略。

关键词: 急性髓性白血病；T细胞；耗竭；免疫检查点分子；免疫治疗

中图分类号: R733.71

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



0 引言

近年来，免疫检查点 (immune checkpoint, IC) 阻断作为一种新型的免疫治疗方式在多种实

体肿瘤取得良好的效果，使一些晚期患者再次获得疾病缓解^[1-2]。在血液肿瘤中，利用IC抑制剂 (IC inhibitor, ICI) 的治疗首选于淋巴瘤的应用中，近期的临床研究显示，对于难治复发和老年急性髓性白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 和骨髓增生异常综合征 (myelodysplastic syndromes, MDS) 患者缺乏其他有效的治疗方案，ICI治疗可使一部分患者获得完全或部分缓解。不同临床试验所报告的疗效差别较大，这也与不

收稿日期: 2024-01-09; 修回日期: 2024-01-31

基金项目: 国家自然科学基金 (82293630, 82293632, 82070152)

作者单位: 510632 广州，暨南大学基础医学与公共卫生学院血液学研究所、再生医学教育部重点实验室

作者介绍: 李扬秋 (1962-)，女，博士，研究员，主要从事血液肿瘤T细胞免疫治疗基础研究，E-mail: jnyangqiu@163.com, ORCID: 0000-0002-0974-4036

同试验的入组标准有关,最主要的是与患者的T细胞免疫状态密切相关^[3]。如程序性死亡分子1(PD-1)抑制剂的治疗,主要的效应途径是抑制患者免疫细胞中PD-1的表达,PD-1表达的增加是免疫细胞(主要是T细胞)处于耗竭状态和功能减退的主要原因。因此,IC阻断治疗主要是逆转患者的T细胞耗竭状态,可以理解为靶向T细胞的免疫治疗途径,了解患者治疗前后T细胞免疫状态,采取针对性的策略,是肿瘤免疫治疗一个重要的研究内容。

1 血液肿瘤中T细胞耗竭状况

T细胞耗竭主要表型是T细胞上高表达多种IC蛋白,如PD-1、CTLA-4(细胞毒性T淋巴细胞相关抗原-4)、TIM-3(T细胞免疫球蛋白黏蛋白分子3)、LAG-3(淋巴细胞活化基因-3)和BTLA(B和T淋巴细胞弱化子)等。正常情况下,IC通过调节协同抑制分子激活负性刺激信号通路,传递抑制性信号,从而抑制T细胞的过度活化和增殖及自身免疫性疾病的发生。而其高表达和过度活化,可能是肿瘤发生的一种诱因,而在实体肿瘤或白血病状态下,其表达上调与肿瘤外环境或肿瘤和白血病细胞释放某些免疫抑制因子有关。各种原因诱导的T细胞高表达IC导致了T细胞进入功能耗竭状态,表现为活性和功能缺陷,也称之为耗竭性T细胞。其作用机制如:PD-1与PD-L1结合后,PD-1胞质区ITSM(免疫受体酪氨酸转换基序)结构域中的络氨酸发生磷酸化,募集SHP-2磷酸酶,使下游的Syk和磷脂酰肌醇3激酶(PI3K)及T细胞受体(TCR)信号通路中的Zap-70、TCR ζ 等去磷酸化,导致TCR/CD28信号减弱,从而传递负性调控信号,诱导T细胞凋亡和功能耗竭^[4-5]。

近年来,不少研究通过不同的检测技术包括流式细胞术分析T细胞耗竭表型和细胞因子分泌水平及用单细胞转录组测序分析T细胞耗竭亚群及其功能状态等,从不同的层面描述血液肿瘤患者T细胞耗竭的情况。不同研究发现血液肿瘤患者均出现不同程度的T细胞耗竭表型和功能异常,如对B细胞-急性淋巴细胞白血病(B cell-acute lymphoblastic leukemia, B-ALL)患者外周血和骨髓T细胞的单细胞转录组学分析,可以观察到患者出现不同程度的T细胞耗竭状态并有明显的异质性,而且不同T细胞亚群的耗竭状态也不尽相同,外周血中T细胞耗竭主要涉及效应记忆T细胞和效应T细胞群,而骨髓T细胞耗竭则发生于T细胞分化的更早

阶段,在初始T细胞和中心记忆T细胞中均可检测到T细胞耗竭,这与既往认为白血病骨髓微环境具有免疫抑制作用相对应。另一方面,从T细胞耗竭分期融入到CD8+T细胞耗竭分期包括前体耗竭型CD8+T细胞(progenitor CD8_Ex cells)、中间期耗竭型CD8+T细胞(intermediate CD8_Ex cells)、终末耗竭型CD8+T细胞(terminal CD8_Ex cells)和增殖性耗竭型CD8+T细胞(proliferative CD8_Ex cells)等四期,也可以发现不同患者T细胞耗竭所处分期不尽相同,T细胞主要处于耗竭早期者其临床预后较好^[6]。这也是ICI治疗效果不一的主要原因之一。

2 AML患者T细胞免疫状态与预后

AML患者均存在不同程度的T细胞免疫缺陷,与疾病发生发展密切相关。AML状态下多种因素造成包括白血病骨髓微环境和白血病细胞分泌的抑制因子等可导致T细胞分化、增殖和活化功能缺陷的耗竭状态。有关AML患者T细胞免疫缺陷的研究时有进展,从分子水平的层面显示了患者胸腺近期输出功能降低,T细胞受体(TCR)亚家族谱系缺失、介导TCR活化的信号通路相关分子表达异常,从细胞水平层面发现各种功能性T细胞亚群的分布异常,如具有识别新抗原功能的初始T细胞减少,具有高增殖能力的中心记忆T细胞和干细胞样记忆T细胞比例减少,取之以代的是趋向终末分化的效应记忆T细胞增多,同时,这些T细胞上抑制性受体表达上调而进入耗竭状态,提示患者整体的T细胞应答能力下降。总的来说,AML患者T细胞,无论是 $\alpha\beta$ T细胞还是 $\gamma\delta$ T细胞均显示系统性的衰老和耗竭状态,而CD8+T细胞终末分化更为明显^[7-9]。这些T细胞免疫缺陷的程度与疾病的严重程度密切相关。

在AML中,从动物实验模型、外周血单细胞水平的分析、流式细胞术检测细胞表型、或者基因水平检测IC的表达水平及其临床意义均有较多研究报道。有关AML中T细胞免疫状态和IC异常表达的关系最早的研究是在AML小鼠模型中报道的。多个研究表明PD-1/PD-L1通路在AML疾病的发生发展中起到关键的作用。我们和国外研究人员已相继有比较系统的报道AML患者T细胞耗竭的一些新改变特点。患者外周血和骨髓T细胞均不同程度高表达一种或多种免疫抑制受体如PD-1、CTLA-4、TIM-3、LAG-3、TIGIT和BTLA等,同时也与耗竭表型CD57和CD244共表达,尤其表达这些耗竭表型的CD8+T

细胞亚群增多更为明显^[10-13]。而且骨髓T细胞受累更为明显,PD-1+和TIGIT+CD8+T细胞在难治复发AML中升高更明显,且与老年AML不良预后相关^[14],AML缓解期耗竭表型T细胞比例有所下降。表达IC的T细胞以PD-1+T细胞增加最为明显,提示在T细胞免疫抑制中PD-1通路可能起主要作用。除了 $\alpha\beta$ T细胞高表达各种免疫抑制受体之外,同样发现 $\gamma\delta$ T细胞高表达PD-1、CTLA-4和BTLA等。如高比例TIGIT+CD226- $\gamma\delta$ T细胞与AML较短生存期相关^[15],另一方面,在AML细胞和AML干细胞上,可以检测到PD-1配体PD-L1和PD-L2的高表达。更为特别的是,AML细胞尤其是白血病干细胞高表达TIM-3及其配体galectin-9(Gal-9),TIM-3和Gal-9是一对具有自分泌效应的抑制性受体^[16],而且高表达TIM-3和Gal-9也与AML化疗抵抗相关^[17]。除了患者T细胞或其他免疫细胞高表达IC与AML患者预后不良相关外,越来越多的研究也显示AML骨髓细胞共表达多个IC,如高表达PD-1/CTLA-4、PD-L2/CTLA-4与患者总生存率显著降低相关^[9,18-19]。此外,有研究分析异基因造血干细胞移植(all-HSCT)后AML复发的相关因素,发现受者外周血耗竭性T细胞水平与复发相关,如TIGIT+CD161+CD4+T细胞与移植后AML复发密切相关^[20]。

因此,IC高表达诱导T细胞耗竭,以及AML细胞中高表达IC均与AML的发生发展、临床疗效和生存均有密切关系。由于AML细胞和白血病干细胞也高表达IC分子,如PD-L1、PD-L2、TIM-3、CTLA-4等,利用ICI治疗AML时,不仅通过逆转患者T细胞耗竭状态而发挥抗白血病作用,同样也可能达到靶向AML白血病干细胞而抑制增殖的目的^[21]。

3 靶向T细胞耗竭的AML免疫治疗

在ICI应用于实体肿瘤免疫治疗的同时,也开始有临床研^[3]究尝试PD-1抑制剂在AML、CML和淋巴瘤等血液肿瘤中的应用,但样本量比较少,相对临床疗效不明显,这也可能由于白血病的T细胞免疫抑制程度远远较实体肿瘤严重,因此,有关ICIs在白血病中的应用进展缓慢。然而,AML缺乏理想的免疫治疗手段,也随着对AML中T细胞耗竭的认识的深入,调整ICIs治疗方案针对难治复发AML、造血干细胞移植后复发和老年AML的临床试验逐渐增加,但我们看到临床疗效差别很大。不同的临床试验,难治复发AML的CR或

血细胞计数未完全恢复(complete response with incomplete count recovery, CRi)率从13%到72%不等^[3]。这些差异与不同入组病例,联合用药有一定的关联,另一个重要的因素可能与AML患者T细胞耗竭和衰老的程度以及所涉及的失调的IC分子相关。不同的ICI如CTLA-4(2002年)、PD-1(2008年)、CD47(2015年)、PD-L1(2016年)、TIM-3(2019年)、CD70(2019年)、LAG3(2021年)、TIGIT(2021年)等也逐步进入临床试验^[22]。例如,在AML小鼠模型中证实,当AML发生时共表达PD-1和TIM-3的CD8+T细胞比例增加(表现为分泌IFN- γ 、TNF- α 和IL-2的能力下降),单独抑制PD-1/PD-L1通路或者TIM-3/Gal-9通路治疗AML小鼠疗效不确切,而共同阻断两个通路,肿瘤清除率明显增大,生存时间明显延长,这提示了在AML中,共同阻断PD-1/PD-L1和TIM-3/Gal-9通路可能有利于恢复耗竭性CD8+T细胞的功能^[23]。我们的研究也显示AML患者在外周血和骨髓CD4+和CD8+亚群中PD-1+TIM-3+细胞均明显增加^[11]。一项allo-HSCT治疗AML的研究显示:在患者骨髓CD4+和CD8+T细胞中发现高表达耗竭表型,骨髓CD8+T细胞表达PD-1、CTLA-4和TIM-3水平在复发组明显高于无复发组。这也提示白血病骨髓微环境对T细胞的免疫抑制作用,与ICIs对免疫微环境的调控作用相呼应。所以,在造血干细胞移植后,联合ICI治疗是一种预防复发的策略^[24]。因此,在明确患者T细胞IC异常高表达的特点后,联合多种ICI治疗可能是逆转T细胞耗竭的理想途径,但也可能会增加其他的不良反应,因此,寻找能同时靶向不同IC的方式值得探讨。例如,溴结构域与超末端结构域(BET)蛋白抑制剂JQ1既可通过降低免疫检查点PD-1和TIM-3的表达而改善AML细胞中耗竭T细胞的功能,同时还可下调AML细胞中PD-L1的表达,通过靶向PD-1/PD-L1而改善AML的抗肿瘤免疫应答,而且,BET抑制剂还能直接抑制AML细胞的增殖,提示BET抑制剂具有双重靶向治疗AML的作用^[25]。此外,通过一些表观遗传调控药物(如阿扎胞苷)治疗也可能通过逆转T细胞耗竭而重塑患者T细胞功能^[26]。

4 靶向T细胞免疫治疗AML策略

除了T细胞耗竭而功能缺陷之外,AML患者的免疫抑制状态还包括了髓源性抑制细胞(MDSC)增加、NK细胞功能减低、调节性T细胞(Treg)

增加以及一些免疫抑制分子的高表达等，因此，AML患者免疫治疗策略需考虑到多方面的协调作用。整体的治疗策略包括阻断Treg、修复DC细胞功能、增强NK功能和过继性NK细胞输注、阻断T细胞耗竭和衰老、过继性T细胞输注等^[27]。目前，免疫治疗的重点是抗体和细胞治疗，对于AML来说，CD33和CD123可作为免疫治疗的主要靶点，但CD33的单抗早期试验效果不甚理想，后期进行一系列修饰改良后，有一定的临床效应，目前正在开展Ⅲ期临床试验用于难治性AML。在CD3-CD19双抗（BiTE）介导T细胞抗B细胞肿瘤取得很好的临床效果之后，利用同样的原理，以针对AML干细胞为目CD3-CD33、CD3-CD123（LIL-3RA）或CD3-CD371（CLL1）的BiTE双抗应运而生，期待有较好的疗效。而正在全面启动的是CAR-T细胞的治疗尝试，多数针对AML的CAR-T细胞还处于临床前的研究，以CD33、CD123、CLL1、Lewis Y、FLT3和NKG2D作为靶点的二代CAR-T细胞则已开展用于难治性复发AML的Ⅰ/Ⅱ期临床试验中^[28-29]。但CAR-T细胞用于AML治疗仍然有待很多理论知识、技术和实践的综合努力。另一方面，在髓性白血病中具有代表性的肿瘤相关抗原（TAA）—WT1、PRAME和survivin也用于构建TCR转导的T细胞，具有抗AML的效应，WT1-TCR-T细胞（HLA-A2+）治疗AML的临床试验也取得了一定的疗效^[27,30]。

从这些临床研究可以看到，不同免疫治疗方案其疗效不尽相同。深入研究AML患者的T细胞免疫缺陷机制，基于多组学的研究可以将AML免疫缺陷特点首先分为两种免疫状态：IFN- γ 为主基因信号（“IFN- γ dominant” gene signature）型和非炎症基因信号（“non-inflamed” gene signature）型^[31]，前者由于白血病微环境导致IC高表达而形成T细胞耗竭导致T细胞功能缺陷，可称为T细胞耗竭型，后者则由于缺乏T细胞浸润而无法产生有效的免疫应答，即所谓的“免疫沙漠型”，针对前者，免疫治疗策略以靶向IC逆转T细胞耗竭为主，而针对T细胞缺少型，只有过继性免疫细胞治疗包括HSCT才能发挥疗效。

因此，针对AML的T细胞免疫治疗，首先建议对AML的T细胞免疫状态进行分析，基于检测结果确定患者的免疫类型后，选择合适的治疗方案，才能达到更理想的效果。

利益冲突声明：

本文作者声明不存在利益冲突。

参考文献：

- [1] Gandhi L, Rodríguez-Abreu D, Gadgeel S, et al. Pembrolizumab plus chemotherapy in metastatic non-small-cell lung cancer[J]. N Engl J Med, 2018, 378(22): 2078-2092.
- [2] Li Y, Wu YL. The second wave of checkpoint inhibitors with chemotherapy for advanced non-small-cell lung cancer[J]. Lancet Oncol, 2019, 20(7): 889-891.
- [3] Stahl M, Goldberg AD. Immune checkpoint inhibitors in acute myeloid leukemia: Novel combinations and therapeutic targets[J]. Curr Oncol Rep, 2019, 21(4): 37.
- [4] Boussiotis VA. Molecular and biochemical aspects of the PD-1 checkpoint pathway[J]. N Engl J Med, 2016, 375(18): 1767-1778.
- [5] Shi L, Chen S, Yang L. The role of PD-1 and PD-L1 in T-cell immune suppression in patients with hematological malignancies[J]. J Hematol Oncol, 2013, 6(1): 74.
- [6] Sui S, Tian Y, Wang X, et al. Single-cell RNA sequencing gene signatures for classifying and scoring exhausted CD8+ T cells in B-ALL[J]. Cell Prolif, 2023, e13583.
- [7] Xu L, Yao D, Tan J, et al. Memory T cells towards terminal differentiation in CD8+T cell population from patients with acute myeloid leukemia[J]. J Hematol Oncol, 2018, 11(1): 93.
- [8] Kasakovski D, Xu L, Li Y. T cell senescence and CAR-T cell exhaustion in hematological malignancies[J]. J Hematol Oncol, 2018, 11(1): 91.
- [9] Huang S, Zhao Y, Lai W, et al. Higher PD-1/Tim-3 expression on IFN- γ + T cells is associated with poor prognosis in patients with acute myeloid leukemia[J]. Cancer Biol Ther, 2023, 24(1): 2278229.
- [10] Tan J, Chen S, Lu Y, et al. Higher PD-1 expression concurrent with exhausted CD8+ T cells in patients with de novo AML[J]. Chin J Cancer Res, 2017, 29(5): 463-470.
- [11] Tan J, Yu Z, Huang J, et al. Increased PD-1+Tim-3+ exhausted T cells in bone marrow may influence the clinical outcome of patients with AML[J]. Biomark Res, 2020, 8: 6.
- [12] Jia B, Wang L, Claxton DF, et al. Bone marrow CD8 T cells express high frequency of PD-1 and exhibit reduced anti-leukemia response in newly diagnosed AML patients[J]. Blood Cancer J, 2018, 8(3): 34.
- [13] Kong Y, Jia B, Zhao C, et al. Downregulation of CD73 associates with T cell exhaustion in AML patients[J]. J Hematol Oncol, 2019, 12(1): 40.
- [14] Xu L, Liu L, Yao D, et al. PD-1 and TIGIT are highly co-expressed on CD8+ T cells in AML patient bone marrow[J]. Front Oncol, 2021, 11: 686156.
- [15] Jin Z, Lan T, Zhao Y, et al. Higher TIGIT+CD226- γ δ T cells in Patients with Acute Myeloid Leukemia[J]. Immunol Invest, 2022, 51(1): 40-50.
- [16] Kang SH, Hwang HJ, Yoo JW, et al. Expression of immune checkpoint receptors on T-cells and their ligands on leukemia blasts in childhood acute leukemia[J]. Anticancer Res, 2019, 39(10): 5531-5539.

- [17] Dama P, Tang M, Fulton N, *et al*. Gal9/Tim-3 expression level is higher in AML patients who fail chemotherapy[J]. *J Immunother Cancer*, 2019, 7(1): 175.
- [18] Chen C, Liang C, Wang S, *et al*. Expression patterns of immune checkpoints in acute myeloid leukemia[J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1): 28.
- [19] Chen C, Li Y. Predictive value of coexpression patterns of immune checkpoint molecules for clinical outcomes of hematological malignancies[J]. *Chin J Cancer Res*, 2023, 35(3): 245-251.
- [20] Gournay V, Vallet N, Peux V, *et al*. Immune landscape after allo-HSCT: TIGIT- and CD161-expressing CD4 T cells are associated with subsequent leukemia relapse[J]. *Blood*, 2022, 140(11): 1305-1321.
- [21] Valent P, Sadovnik I, Eisenwort G, *et al*. Immunotherapy-Based Targeting and Elimination of Leukemic Stem Cells in AML and CML[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(17): 4233.
- [22] Cai L, Li Y, Tan J, *et al*. Targeting LAG-3, TIM-3, and TIGIT for cancer immunotherapy[J]. *J Hematol Oncol*, 2023, 16(1): 101.
- [23] Zhou Q, Munger ME, Veenstra RG, *et al*. Coexpression of Tim-3 and PD-1 identifies a CD8+ T-cell exhaustion phenotype in mice with disseminated acute myelogenous leukemia[J]. *Blood*, 2011, 117(17): 4501-4510.
- [24] Toffalori C, Zito L, Gambacorta V, *et al*. Immune signature drives leukemia escape and relapse after hematopoietic cell transplantation[J]. *Nat Med*, 2019, 25(4): 603-611.
- [25] Zhong M, Gao R, Zhao R, *et al*. BET bromodomain inhibition rescues PD-1-mediated T cell exhaustion in acute myeloid leukemia[J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(8): 671.
- [26] Menezes DL, See WL, Risueño A, *et al*. Oralazacitidine modulates the bone marrow microenvironment in patients with acute myeloid leukaemia in remission: A subanalysis from the QUAZAR AML-001 trial[J]. *Br J Haematol*, 2023, 201(6): 1129-1143.
- [27] Barrett AJ. Acute myeloid leukaemia and the immune system: implications for immunotherapy[J]. *Br J Haematol*, 2020, 188(1): 147-158.
- [28] Baumeister SH, Murad J, Werner L, *et al*. Phase I Trial of Autologous CAR T Cells Targeting NKG2D Ligands in Patients with AML/MDS and Multiple Myeloma[J]. *Cancer Immunol Res*, 2019, 7(1): 100-112.
- [29] Jin X, Zhang M, Sun R, *et al*. First-in-human phase I study of CLL-1 CAR-T cells in adults with relapsed/refractory acute myeloid leukemia[J]. *J Hematol Oncol*, 2022, 15(1): 88.
- [30] Zhang Y, Li Y. T cell receptor-engineered T cells for leukemia immunotherapy[J]. *Cancer Cell Int*, 2019, 19: 2.
- [31] Vadakekolathu J, Rutella S. Escape from T-cell targeting immunotherapies in acute myeloid leukemia[J]. *Blood*, 2023, 2023019961. Online ahead of print.

[编辑: 刘红武; 校对: 安凤]