

基于胆固醇代谢调控的肿瘤免疫治疗新方法

白轶冰¹, 许琛琦^{1,2}

1. 中国科学院生物化学与细胞生物学研究所, 上海 200031

2. 上海科技大学生命科学与技术学院, 上海 201210

摘要 免疫检测点阻断疗法等肿瘤免疫疗法近年在临床上取得了重大突破,但仍存在响应率低等显著缺点,需开发新的肿瘤免疫疗法以使更多肿瘤患者受益。胆固醇作为细胞质膜脂质的重要组成成分,其代谢可以影响T细胞的质膜环境及效应功能。本研究发现,通过调控胆固醇代谢可以增强CD8⁺T细胞的抗肿瘤免疫反应。抑制关键胆固醇酯化酶ACAT1的活性,CD8⁺T细胞质膜游离胆固醇水平上调,细胞的抗肿瘤免疫应答显著增强,这为肿瘤免疫治疗提供了新思路和新方法。

关键词 CD8⁺T细胞;胆固醇代谢;ACAT1;抗肿瘤免疫

CD8⁺T细胞是适应性免疫应答的一种细胞,可以识别肿瘤细胞并直接杀死肿瘤细胞。肿瘤组织中的CD8⁺T细胞浸润水平和肿瘤治疗预后显著相关。但是肿瘤微环境常常是免疫抑制的,肿瘤可以多种机制逃避免疫系统的监控和杀伤。基于T细胞的肿瘤免疫治疗方法近年取得了重大突破,但是仅在部分患者中有响应且副作用较大。因此,亟需发展新的肿瘤免疫治疗方法使更多的病人受益。

1 肿瘤免疫治疗与杀伤性T淋巴细胞

近些年癌症的发病率逐年提高,已经成为危害中国人民健康的重大疾病。人体的免疫系统是癌症天然的敌人。健康的人体可以对肿瘤细胞进行监控并及时

清除。但是在某些情况下,肿瘤细胞可以利用多种机制抑制免疫系统的活性,逃逸免疫系统的监控和杀伤。通过调控免疫系统活性治疗癌症一直是科学家们努力的方向。近几年,肿瘤免疫疗法得到了重大突破。自2010年以来,不断有新的肿瘤免疫疗法被美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准用于治疗癌症。2017年,阻断T细胞免疫信号监测点程序性死亡受体(programmed cell death 1, PD-1)的单克隆抗体pembrolizumab被美国FDA批准用于治疗实体瘤患者。这是美国FDA历史上第一次通过不限定组织或位点的抗肿瘤药^[1]。鉴于这些新疗法在临床取得的良好效果,《Science》将肿瘤免疫治疗评为2013年度最大的科学突破,同时将其誉为治疗癌症的第4种武器。虽然这些新的肿瘤免疫疗法取得了很好

收稿日期:2018-03-10;修回日期:2018-03-29

基金项目:国家自然科学基金项目(31425009,31621003)

作者简介:白轶冰,博士研究生,研究方向为T细胞抗肿瘤免疫及胆固醇代谢,电子信箱:ybbai@sibcb.ac.cn;许琛琦(通信作者),研究员,研究方向为淋巴细胞与疾病,电子信箱:cqxu@sibcb.ac.cn

引用格式:白轶冰,许琛琦.基于胆固醇代谢调控的肿瘤免疫治疗新方法[J].科技导报,2018,36(7):33-36;doi:10.3981/j.issn.1000-7857.2018.07.005

的成绩,但仍有显著缺点。如免疫检测点阻断疗法可以显著提高患者的生存率,但是只在部分患者中有响应,且副作用较大^[2]。因此新的肿瘤免疫疗法需要被开发以使更多肿瘤患者受益。

表面表达 CD8 共受体的 T 细胞(CD8⁺ T)可以通过 T 细胞受体(T-cell receptor, TCR)识别抗原提呈细胞表面的主要组织相容性复合体一类分子呈递的抗原肽。当机体被细菌病毒等外来物侵染后,特异性识别病原体抗原的初始 CD8⁺ T 细胞被激活,进行克隆扩张并分化为效应性 CD8⁺ T 细胞。新产生的效应性 CD8⁺ T 细胞被称为杀伤性 T 淋巴细胞(cytotoxic lymphocytes, CTLs)。活化的 CD8⁺ T 细胞通过分泌内含穿孔素和颗粒酶的溶菌颗粒或表达介导死亡受体的配体对靶细胞进行快速高效的杀伤。应对外来病原体入侵,CD8⁺ T 细胞在肿瘤免疫监视中也发挥重要作用。CD8⁺ T 细胞识别肿瘤细胞特异的抗原,分泌穿孔素和颗粒酶等直接杀伤肿瘤细胞。同时,CD8⁺ T 细胞分泌细胞因子干扰素 γ ,阻碍肿瘤组织的血管生成^[3]。是否还有更多的机制,可以增强 CD8⁺ T 细胞的杀伤功能,令其发挥更好的抗肿瘤效果无疑是值得关注的问题。

2 细胞质膜环境与 T 细胞活化

细胞质膜是由脂质和蛋白流动镶嵌组成的动态膜结构。质膜不仅是隔离细胞内外环境的屏障,也控制了许多生物学过程。真核生物的细胞质膜由甘油磷脂、鞘脂类和固醇类组成。相对于其他膜脂,胆固醇成为质膜成分是在进化的较后期才出现的。鞘脂类和固醇类的存在增加了真核生物膜结构的复杂性,使之区别于原核生物的膜结构。胆固醇及其他高级固醇类在真核细胞质膜上摩尔比占 20%~40%。相对于质膜,真核细胞的内膜结构所含的胆固醇比例低得多^[4]。胆固醇维持了流动的质膜上脂质分子秩序,维持了流动性和扩散速率,为蛋白质定向分选提供条件^[5]。

T 细胞与靶细胞发生特异性亲和反应后,在接触位置会发生一系列活化信号的级联反应,这种 T 细胞和靶细胞之间稳定连接的接触面被称为免疫突触(immunological synapse, IS)^[6]。免疫突触面中心是 TCR 相关信号通路活化的位置。溶菌颗粒融合免疫突触的质膜并释放内容物。T 细胞表面的受体和靶细胞表面的黏附分子结合,对免疫突触的稳定维持起重要作用^[7]。整个

免疫突触的结构基本在 10 min 内形成,可以稳定维持 1 h 以上^[8]。免疫突触的形成及成熟有利于 CD8⁺ T 细胞定向杀伤靶细胞而不伤害临近的细胞。

3 细胞内胆固醇代谢

哺乳动物细胞获得胆固醇主要来自通过胞外的低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)摄入,以及胞内的自身合成。外源的胆固醇来自 LDL,通过 LDL 受体通路产生,称为 LDL 来源的胆固醇^[9]。除了摄取外源的胆固醇,几乎所有细胞都可以从头合成内源胆固醇。细胞内的乙酰辅酶 A 是胆固醇合成的原料,之后经过一系列酶促反应产生多种中间产物,最终合成胆固醇。定位在内质网上的膜内在蛋白质复合物 SCAP/SREBP 控制了很多胆固醇合成相关基因的表达^[10]。未酯化自由胆固醇过多堆积对细胞具有毒性^[11]。为防止这种堆积,胆固醇被转化为胆固醇酯在胞质中以脂滴的形式存在;或者通过外排通路被转运出细胞外。

4 酰基辅酶 A1

酰基辅酶 A 是胆固醇酰基转移酶(acyl-coenzyme A:cholesterol acyltransferase, ACAT)以胆固醇和长链脂酰辅酶 A 作为底物,催化合成胆固醇酯。哺乳动物细胞中共有 2 种 ACAT 蛋白,其发挥功能有各自的特点和方式。在 CD8⁺ T 细胞中,主要的胆固醇酯化酶是 ACAT1^[12]。ACAT1 蛋白含有 9 个跨膜结构域,活性位点位于第 7 个跨膜结构域的疏水区,可以在内质网磷脂双分子层内催化产生胆固醇酯。ACAT1 的活性可以被底物胆固醇变构激活调控。相比较于其他固醇类,ACAT1 更倾向于选择催化胆固醇;而被胆固醇活化后的 ACAT1 对其他固醇的催化活性也会提高^[13]。ACAT1 是一个潜在的治疗动脉粥样硬化的药物作用靶点^[14]。

5 通过调节胆固醇代谢增强杀伤性 T 细胞的抗肿瘤反应

在本工作中,重点研究了如何通过调控胆固醇代谢增强 CD8⁺ T 细胞的抗肿瘤免疫反应^[12]。CD8⁺ T 细胞活化后,细胞内胆固醇代谢发生重调,全细胞和细胞质膜的游离胆固醇水平都显著上升。相应地,胆固醇合

成及向胞内转运的通路中关键蛋白质的转录水平上升,胆固醇向胞外转运的通路中关键蛋白质的转录水平下降,ACAT1 转录水平上升。用小分子抑制剂抑制胆固醇酯化后,CD8⁺ T 细胞产生了显著增强的效应功能。具体表现为分泌更多的细胞因子和含有颗粒酶的溶菌颗粒,杀伤靶细胞的细胞毒效果更强。反之用抑制剂抑制胆固醇的合成或胞外向胞内转运,CD8⁺ T 细胞的杀伤效应均被削弱。

为更好地研究 ACAT1 对 T 细胞抗肿瘤免疫反应的影响,构建了在 T 细胞中 *Acat1* 基因条件性敲除的小鼠 (*Acat1^{fllox/fllox}CD4^{cre}* 小鼠,简称 *Acat1^{CKO}* 小鼠)。在体外的细胞实验和小鼠李斯特菌感染模型中,*Acat1^{CKO}* 小鼠的 CD8⁺ T 细胞在被激活后功能显著增强,T 细胞免疫应答水平更高。在小鼠黑色素瘤皮下模型、黑色素瘤肺转移模型和刘易斯肺癌模型中,ACAT1 缺失均显著地抑制肿瘤发展,延长小鼠生存时间。

ACAT1 缺失的 CD8⁺ T 细胞抗肿瘤免疫反应增强的分子机制是由于其质膜胆固醇水平更高,TCR 成簇化水平更高从而提高 TCR 结合肿瘤抗原的亲合力,TCR 信号通路活化更强。另一方面,*Acat1^{CKO}* CD8⁺ T 细胞免疫突触形成更高效,细胞极化水平更高,溶菌颗粒的脱颗粒水平更高。因此 *Acat1^{CKO}* CD8⁺ T 细胞具有更强的杀伤能力。

ACAT1 具有作为肿瘤免疫治疗的药物靶点的应用潜力。ACAT 小分子抑制剂 Avasimibe 人安全性良好^[15]。在小鼠黑色素瘤模型和刘易斯肺癌模型中,Avasimibe 均显示良好的治疗效果:肿瘤生长得更慢,生存时间更长;肿瘤浸润的 CD8⁺ T 细胞数量更多、杀伤能力更强。Avasimibe 和免疫检查点阻断药物 PD-1 阻断抗体联合用药后的抗肿瘤效果更佳,提示 Avasimibe 也许可以和现有的肿瘤免疫疗法进行联合治疗。

6 结论

在这项工作中,本课题组提出了通过调节 T 细胞胆固醇代谢来进行肿瘤免疫治疗的新概念。CD8⁺ T 细胞活化后胆固醇代谢重调,合成更多的游离胆固醇以满足细胞增殖的需求。本研究发现:抑制关键胆固醇酯化酶 ACAT1 的活性,CD8⁺ T 细胞质膜游离胆固醇水平上调,TCR 成簇化、TCR 信号通路活化增强,免疫突触形成更高效。因此,ACAT1 抑制的 CD8⁺ T 细胞细胞因

子和细胞毒颗粒分泌、细胞毒效应及增殖都显著增强。基因敲除或小分子药物抑制 ACAT1 都显著增强了 CD8⁺ T 细胞抗肿瘤免疫应答,这为肿瘤免疫治疗提供了新思路和新方法。

参考文献 (References)

- [1] US Food and Drug Administration. FDA grants accelerated approval to pembrolizumab for first tissue/site agnostic indication [EB/OL]. (2017-05-30) [2018-01-10]. <https://www.fda.gov/drugs/informationondrugs/approveddrugs/ucm560040.htm>.
- [2] Vanpouillebox C, Lhuillier C, Bezu L, et al. Trial watch: Immune checkpoint blockers for cancer therapy[J]. *Oncoimmunology*, 2017, 6(11): e1373237.
- [3] Zitvogel L, Tesniere A, Kroemer G. Cancer despite immunosurveillance: Immunoselection and immunosubversion[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2006, 6(10): 715-727.
- [4] Mouritsen O G, Zuckermann M J. What's so special about cholesterol[J]. *Lipids*, 2004, 39(11): 1101-1113.
- [5] Roduit C, Goot F G V D, Rios P D L, et al. Elastic membrane heterogeneity of living cells revealed by stiff nanoscale membrane domains[J]. *Biophysical Journal*, 2008, 94(4): 1521-1532.
- [6] Fooksman D R, Vardhana S, Vasilivershamis G, et al. Functional anatomy of T cell activation and synapse formation[J]. *Annual Review of Immunology*, 2010, 28(1): 79-105.
- [7] Jenkins M R, Griffiths G M. The synapse and cytolytic machinery of cytotoxic T cells[J]. *Current Opinion in Immunology*, 2010, 22(3): 308-313.
- [8] Kaizuka Y, Douglass A D, Varma R, et al. Mechanisms for segregating T cell receptor and adhesion molecules during immunological synapse formation in Jurkat T cells[J]. *PNAS*, 2007, 104(51): 20296-202301.
- [9] Brown M S, Goldstein J L. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis[J]. *Science*, 1986, 25(7): 583-602.
- [10] Goldstein J L, Deboseboyd R A, Brown M S. Protein sensors for membrane sterols[J]. *Cell*, 2006, 124(1): 35-46.
- [11] Tabas I. Consequences of cellular cholesterol accumulation: Basic concepts and physiological implications[J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2002, 110(7): 905-911.
- [12] Yang W, Bai Y, Xiong Y, et al. Potentiating the antitumour response of CD8⁺ T cells by modulating cholesterol metabolism [J]. *Nature*, 2016, 531(7596): 651-655.
- [13] Chang T Y, Chang C C Y, Ohgami N, et al. Cholesterol sensing, trafficking, and esterification[J]. *Annual Review of Cell & Developmental Biology*, 2006, 22(1): 129-157.
- [14] Libby P, Aikawa M. Stabilization of atherosclerotic plaques: New mechanisms and clinical targets[J]. *Nature Medicine*,

2002, 8(11): 1257–1262.

[15] Pal P, Gandhi H, Giridhar R, et al. ACAT inhibitors: The

search for novel cholesterol lowering agents[J]. Mini Reviews in Medicinal Chemistry, 2013, 13(8): 1195–1219.

A new cancer immunotherapy based on cholesterol metabolism modulation

BAI Yibing¹, XU Chenqi^{1,2}

1. Shanghai Institute of Biochemistry and Cell Biology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China

2. School of Life Science and Technology, ShanghaiTech University, Shanghai 201210, China

Abstract Immune checkpoint blockade and other cancer immunotherapies have achieved great success in clinic but problems such as low response rate still remain. Cholesterol is a key component of cell membrane, whose cellular metabolism can influence the plasma membrane environment and effector function of T cells. We have found that the anti-tumor immune response of CD8⁺ T cells can be potentiated by modulating cellular cholesterol metabolism. Inhibiting the activity of ACAT1, a key cholesterol esterification enzyme, can upregulate the cholesterol level on CD8⁺ T cell plasma membrane, and significantly enhance the anti-tumor effector function. This finding provides a new method for cancer immunotherapy.

Keywords CD8⁺ T cells; cholesterol metabolism; ACAT1; anti-tumor immunity ●



(责任编辑 田恬)