

• 专题报道 •

靶向腺苷 A_{2A} 受体的肿瘤免疫治疗研究进展张芷菁¹, 张启怡¹, 金祖翼¹, 朱 凯², 丁 文^{1*}, 张小雷^{1*}

(1. 中山大学药学院, 广东 广州 510006; 2. 长春中医药大学, 吉林 长春 130117)

摘要: 虽然免疫治疗现已成为对抗恶性肿瘤的革命性策略, 但应答率不高, 易产生耐受仍是制约肿瘤免疫治疗临床深入应用的瓶颈。不少研究表明, 免疫抑制型肿瘤微环境和复杂的免疫逃逸机制是影响免疫检查点治疗效果和应答率的重要因素。因此, 逆转肿瘤微环境障碍是提高免疫治疗应答率的关键。在肿瘤微环境中, 胞外腺苷高水平的积累对免疫应答的抑制作用受到人们越来越多的关注。靶向腺苷受体, 尤其是 A_{2A}R 亚型, 可能是激活免疫应答、提高免疫治疗效果的有效策略。靶向腺苷-A_{2A}R 通路可以增加免疫浸润, 增强免疫细胞功能, 将对免疫治疗不敏感的“冷肿瘤”部分逆转为“热肿瘤”, 以增强治疗应答率并提高当前免疫治疗的疗效。目前, 有不少的腺苷受体抑制剂已经在临床试验中显示出良好的效果, 特别是与免疫检查点抑制剂、化疗和获得性细胞疗法的药物联用, 有望为肿瘤免疫治疗带来新的突破。本文综述了肿瘤微环境中腺苷积累的方式、腺苷 A_{2A} 受体的作用和调控机制、腺苷 A_{2A} 受体抑制剂的临床试验进展和用药策略、靶向腺苷 A_{2A} 受体的潜在风险及其应用前景。

关键词: 免疫治疗; 肿瘤微环境; 腺苷受体; A_{2A}R 抑制剂; 肿瘤免疫治疗药物

中图分类号: R943 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2022)09-2557-13

Progress for targeting adenosine A_{2A} receptors in cancer immunotherapy

ZHANG Zhi-jing¹, ZHANG Qi-yi¹, JIN Zu-yi¹, ZHU Kai², DING Wen^{1*}, ZHANG Xiao-lei^{1*}

(1. School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510006, China; 2. Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

Abstract: Immunotherapy has completely changed the paradigm of clinical tumor treatment, but immune checkpoint inhibitors still have low objective response rates and are prone to drug resistance for most solid tumors. The immune suppression tumor microenvironment and complicated tumor immune escape mechanisms are key factors that affect the clinical outcome and response rates. Therefore, it is critical to reverse the obstacle of the tumor microenvironment to improve immunotherapy efficacy. The immune suppression caused by the increased level of adenosine in the tumor microenvironment raises the attention of people. Targeting adenosine receptors, especially A_{2A}R, will be an effective strategy to improve immunotherapy efficacy. Targeting the adenosine-A_{2A}R pathway can increase immune infiltration, enhance immune cell function, and partially reverse immunotherapy-insensitive "cold tumors" to "hot tumors" to enhance treatment response rates and improve the efficacy of current immunotherapy. At present, many adenosine receptor inhibitors have shown good results in clinical trials, especially in combination with immune checkpoint inhibitors, chemotherapy, and adoptive cell transfer therapeutic drugs, which are expected to be used for tumor immunotherapy to bring new breakthroughs. This article reviews the accumulation mode of adenosine in the tumor microenvironment, the role of A_{2A}R and their regulatory

收稿日期: 2022-02-16; 修回日期: 2022-03-17.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81973359); 广东省基础与应用基础研究基金 (2022A1515012204); 广州市科技计划项目-基础与应用基础研究项目 (202002030408, 202103000097); 吉林省科技发展计划项目 (20200404105YY, 20210204055YY).

*通讯作者 Tel: 86-20-39943021, E-mail: zhangxlei5@mail.sysu.edu.cn; dingw8@mail2.sysu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2022-0199

mechanism in immune response, the progress of $A_{2A}R$ inhibitors in clinical trials, potential risks to target $A_{2A}R$, and the prospects for therapeutic targeting $A_{2A}R$.

Key words: immunotherapy; tumor microenvironment; adenosine receptor; $A_{2A}R$ inhibitor; cancer immunotherapy drug

肿瘤免疫治疗显著改善了肿瘤患者的生存, 将肿瘤治疗带入了另一个崭新的时代, 其中程序性死亡受体 1 (programmed cell death 1, PD-1) 及程序性死亡配体 1 (programmed death ligand-1, PD-L1) 免疫检查点抑制是目前临床上应用最广泛的肿瘤免疫治疗手段之一^[1], 癌症免疫治疗现已成为对抗肿瘤疾病新的革命性策略^[2]。目前, 国外公司研发的多款 PD-1/PD-L1 单抗药物被应用于临床, 如 nivolumab、pembrolizumab 和 atezolizumab 等, 国内也有多款 PD-1/PD-L1 单抗药物进入临床应用, 如特瑞普利单抗、信迪利单抗、卡瑞利单抗、舒格利单抗等。总体而言, 全球癌症免疫治疗方面取得了突破性进展。

但对大多数患者免疫检查点药物仍存在客观响应率低的问题, 其响应率仅有 20%~30%^[3], 且部分患者在最初病情获得缓解之后, 随着治疗时间的推移会对疗法产生耐药性。因此应答率低、易产生耐药是肿瘤免疫治疗临床深入应用的关键瓶颈^[4]。如何增强肿瘤免疫检查点抑制剂疗效、减少免疫逃逸已经成为肿瘤治疗领域的热点问题。不少研究表明, 免疫抑制型肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME) 和复杂的免疫逃逸机制是影响免疫检查点治疗效果和应答率的重要因素^[5]。因此, 调节肿瘤免疫微环境可能是提高免疫治疗应答率的关键之一。

在肿瘤微环境中, 高水平胞外腺苷 (extracellular adenosine, eADO) 的积累对免疫应答的抑制作用受到人们越来越多的关注。这些腺苷通过腺苷受体调控肿瘤免疫反应, 腺苷- A_{2A} 腺苷受体 (A_{2A} adenosine receptor, $A_{2A}R$) 免疫抑制通路可以部分解释当前“冷肿瘤”形成的原因^[6]。靶向腺苷- $A_{2A}R$ 通路可增加免疫浸润, 增强免疫细胞功能, 将“冷肿瘤”部分逆转成“热肿瘤”, 以提高当前免疫治疗的疗效^[7]。通过靶向腺苷受体来逆转肿瘤微环境障碍, 从而提升免疫治疗效果的治疗手段越来越受到人们的关注。虽然目前还没有靶向腺苷受体的抗肿瘤药物上市, 但是有不少制药公司的腺苷受体抑制剂已经在临床试验中显示良好的效果, 有望为癌症的免疫治疗带来新的突破。因此, 本文综述了导致胞外腺苷在肿瘤微环境中积累的分子途径及 $A_{2A}R$ 激活对肿瘤微环境中免疫细胞和肿瘤细胞的影响, 总结了 $A_{2A}R$ 在不同癌种中的表达情况和目前靶向 $A_{2A}R$

的临床药物和用药策略, 讨论了靶向 $A_{2A}R$ 可能带来的潜在不良影响, 并展望了靶向 $A_{2A}R$ 的治疗前景。

1 腺苷在肿瘤微环境中的异常积累

肿瘤微环境有着高度的可塑性, 在癌症发展过程中, 肿瘤代谢模式的转变也会通过代谢产物来重塑微环境, 从而为肿瘤的生长、增殖、耐药提供有利条件。

1.1 肿瘤微环境中腺苷异常积累的机制

肿瘤微环境中高水平的 eADO 可导致免疫抑制。正常生理条件下, 胞外腺嘌呤核苷三磷酸 (extracellular adenosine triphosphate, eATP) 和 eADO 浓度均保持在纳摩尔范围内^[8,9], 但在由缺氧、营养缺乏、炎症等因素引发细胞死亡或细胞应激后, ATP 在胞外空间迅速释放并达到微摩尔水平, 进而产生大量 eADO。eATP 在炎症环境中起到促炎作用, 促进免疫反应, 其水解产物 eADO 则主要防止过度的炎症反应, 对免疫有明显的抑制作用。胞外核苷三磷酸二磷酸水解酶-1 (ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase-1, CD39)、胞外 5'-核苷酸酶 (ectonucleoside 5'-nucleotidase, CD73) 在肿瘤微环境的细胞中高表达, 由于肿瘤微环境为局部缺氧环境, 在缺氧诱导因子 1 α (hypoxia-inducible factor 1 α , HIF1 α) 多肽介导下 CD39 和 CD73 的表达又进一步上调^[10], 加之肿瘤微环境中细胞异常更新, 导致了肿瘤微环境中腺苷产生呈指数增长。

eADO 产生的经典途径是 eATP 被胞外 CD39 和 CD73 通过级联反应顺序去磷酸化水解为 eADO^[11]。CD39 是一种跨膜蛋白, 可水解 eATP 生成胞外腺苷二磷酸 (adenosine diphosphate, ADP) 和单磷酸腺苷 (adenosine monophosphate, AMP), 之后胞外 AMP (extracellular AMP, eAMP) 再通过 CD73 转化为 eADO。CD73 是一种糖基磷脂酰肌醇锚定酶, 也可以被切割为可溶解的形式分泌在胞外。eAMP 的浓度进一步受到分泌的或膜相关形式的腺苷酸激酶 (ectonucleoside-adenosine kinase, ecto-AK) 和核苷酸二磷酸激酶 (ectonucleoside-nucleotide diphosphate kinase, ecto-NDPK) 的调节, 这些激酶使 eAMP 磷酸化产生 eATP。eADO 的产生还包括其他非经典途径, 如环状 ADP 核糖水解酶 (cyclic ADP ribose hydrolase, CD38) 以 NAD^+ 为底物生成 ADP-核糖 (ADP-ribosylation, ADPR), 然后外核苷酸焦磷酸酶-磷酸二酯酶 1 (ectonucleoside-nucleotide

pyrophosphatase/phosphodiesterase 1, CD203a) 将其加工成 eAMP, 产生的 eAMP 再通过 CD73 水解为 eADO。此外, 其他膜结合磷酸酶, 如组织特异或非特异性碱性磷酸酶也可以将 eAMP 水解为 eADO。

1.2 不同腺苷受体类型及其调控机制 腺苷特异性受体包括 A₁、A_{2A}、A_{2B} 和 A₃ 等 4 种不同的 G 蛋白偶联受体, 其对 ADO 的亲和力 K_i 分别为 100 nmol·L⁻¹、310 nmol·L⁻¹、15 μmol·L⁻¹ 和 290 nmol·L⁻¹[12]。A_{2A}R 广泛分布于脾脏、胸腺、血小板、白细胞、嗅球和苍白纹状体的氨基丁酸能神经元中。在肿瘤微环境中, A_{2A}R 主要参与 eADO 介导的免疫抑制 (图 1), 其通过与 Gs/Golf 蛋白配对激活腺苷酸环化酶 (adenylate cyclase, AC) 生成环磷酸腺苷 (cyclic adenosine monophosphate, cAMP), 进而激活 cAMP 依赖性蛋白激酶 (protein kinase A, PKA) 并激活多种离子通道、受体、cAMP 反应元件结合蛋白 (cAMP-response element binding protein, CREB) 等[13]。目前, 各大制药公司的腺苷受体抑制剂也主要靶向 A_{2A}R, 因此本文重点讨论 A_{2A}R 在肿瘤免疫治疗中的作用。

1.3 腺苷受体 A_{2A}R 在不同癌种中的表达情况 多数实体瘤具有缺氧和炎症的性质, 与相应的非肿瘤组织相比, A_{2A}R 在许多类型肿瘤的 TME 中高表达 (图 2), 可以预计靶向 A_{2A}R 对 A_{2A}R 过表达类型的肿瘤可能有较好的疗效, 尤其是在弥漫大 B 细胞淋巴瘤、胸腺瘤、腱鞘巨细胞瘤等肿瘤中。但是 A_{2A}R 的表达量不一定能代表预后情况, mRNA 水平的差异并不意味着与蛋白表达水平差异相关, 且肿瘤样本的基因表达谱分析也并不能正确地反映出 eADO 的免疫抑制作用及

肿瘤对治疗的反应。

2 A_{2A}R 在肿瘤微环境中的作用及对免疫应答的调控

在肿瘤微环境中, 激活腺苷-A_{2A}R 信号通路可抑制免疫细胞的成熟和效应功能, 促进免疫细胞向免疫抑制型表型转化, 导致免疫逃逸, 同时, 其也可以促进上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT), 促进肿瘤进展和转移。

2.1 A_{2A}R 对免疫细胞的调控和机制 在肿瘤微环境中, 高浓度的 eADO 会与免疫细胞膜表面的 A_{2A}R 结合产生免疫抑制信号, 从而抑制 T 细胞、B 细胞、NK 细胞等免疫细胞的增殖、成熟和效应功能, 导致机体的免疫损伤和肿瘤细胞增殖。

A_{2A}R 在免疫细胞上普遍高表达, 其能够参与调节体内各个阶段的免疫反应[14]。Sitkovsky 课题组[11]里程碑式的研究表明, 激活 A_{2A}R-cAMP 信号通路所引起的免疫抑制在过度炎症期间对保护正常组织有关键作用。

A_{2A}R 激活会抑制 T 细胞激活、增殖、分化和细胞因子分泌等生理过程[15], 包括通过抑制多种丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPK), 如细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases, ERK1)、c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK)[16] 及蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 的活性, 抑制 CREB 介导的核因子 κB (nuclear factor kappa-B, NF-κB)[9] 和活化型 T 细胞的核因子 (nuclear factor of activated T-cells, NF-AT) 产生[17]。除此之外, A_{2A}R 激活还通过上调转化生长因子-β (transforming growth factor β, TGF-β) 和叉头样转录因子 P3 (forkhead

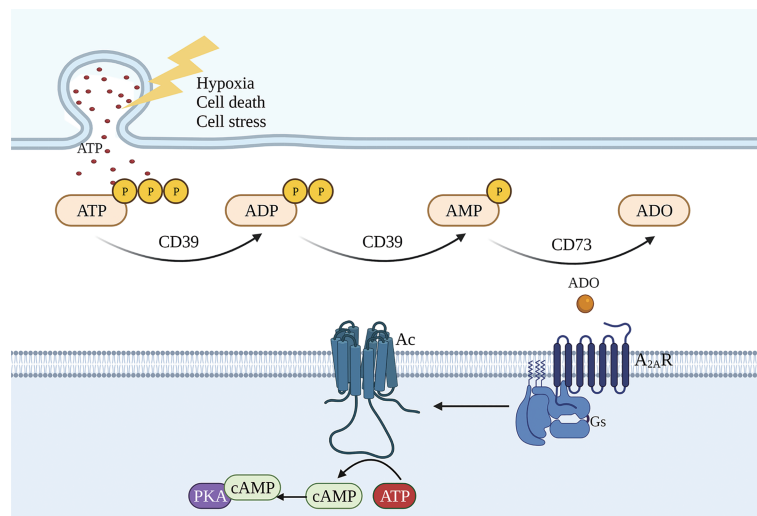


Figure 1 The main production pathway of ADO in TME. CD39: Ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 1; CD73: 5'-Nucleotidase; AC: Adenylate cyclase; ATP: Adenosine triphosphate; ADP: Adenosine diphosphate; AMP: Adenosine monophosphate; ADO: Adenosine; cAMP: Cyclic adenosine monophosphate; PKA: Protein kinase A; Gs: Gs protein; A_{2A}R: Adenosine A_{2A} receptor; TME: Tumor microenvironment

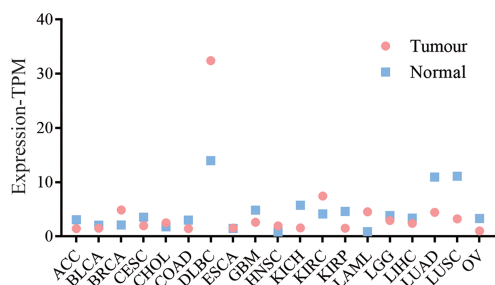


Figure 2 $A_{2A}R$ expression in different cancer normal/cancer tissues. ACC: Adrenocortical carcinoma; BLCA: Bladder urothelial carcinoma; BRCA: Breast invasive carcinoma; CESC: Cervical squamous epithelium carcinoma; CHOL: Cholangiocarcinoma; COAD: Colon adenocarcinoma; DLBC: Lymphoid neoplasm diffuse large B-cell lymphoma; ESCA: Esophageal carcinoma; GBM: Glioblastoma multiforme; HNSC: Head and neck squamous cell carcinoma; KICH: Kidney chromophobe; KIRC: Kidney renal clear cell carcinoma; KIRP: Kidney renal papillary cell carcinoma; LAML: Acute myeloid leukemia; LGG: Brain lower grade glioma; LIHC: Liver hepatocellular carcinoma; LUAD: Lung adenocarcinoma; LUSC: Lung squamous cell carcinoma; OV: Ovarian serous cystadenocarcinoma; TPM: Transcripts per million. Data from GEPIA2 tumor database

box protein P3, FOXP3) 的表达^[18] (图3), 抑制 Th1 和 Th17 效应细胞的产生并促进调节性 T 细胞的分化和增殖^[19], 进一步抑制免疫反应。值得一提的是, $A_{2A}R$ 激动剂不能预防淋巴细胞激活基因-3 (lymphocyte

activation gene 3, LAG-3) 缺失克隆型 T 细胞的自身免疫, 这意味着 LAG-3 在腺苷诱导的外周耐受中可能起着重要作用^[20]。

T 细胞抗原受体 (T cell receptor, TCR) 信号传导会上调 $A_{2A}R$ 的表达^[16], 而 $A_{2A}R$ 的激活会干扰 TCR 近端信号, 干扰 CD3^[21]、CD28^[22] 共活化信号和白介素-2 (interleukin-2, IL-2) 受体信号的传导, 抑制电导钙激活性钾离子通道 (intermediate-conductance Ca^{2+} -activated K^+ channel, KCa3.1) 活性, 进一步抑制 T 细胞增殖及其功能^[23]。Zeta 链缔合蛋白 (zeta chain of T cell receptor associated protein kinase 70, ZAP70) 是参与 T 细胞信号传导途径的特异性非受体酪氨酸激酶蛋白, 在响应 TCR 信号转导诱导 T 细胞激活中发挥关键作用。 $A_{2A}R$ 与 T 细胞结合激活 AC, 从而产生大量胞内 cAMP, 进而导致 PKA 激活和 C-Src 酪氨酸激酶 (C-Src tyrosine kinase, CSK) 磷酸化, 磷酸化的 CSK 使淋巴细胞特异性蛋白酪氨酸激酶 (lymphocyte specific protein tyrosine kinase, LCK) 失活^[24], 最终抑制 ZAP70 的活化。LCK 驱动的磷酸化靶点还包括 CD28、细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4, CTLA-4) 及免疫细胞特异性衔接蛋白 T 细胞活化连接蛋白 (linker for activation of T cell, LAT) 和 SLP-76 等。 $A_{2A}R$ 活化后 LCK 的失活也使得 CD28 介导的 T 细胞共活化被抑制^[25]。除了抑制 T 细胞活

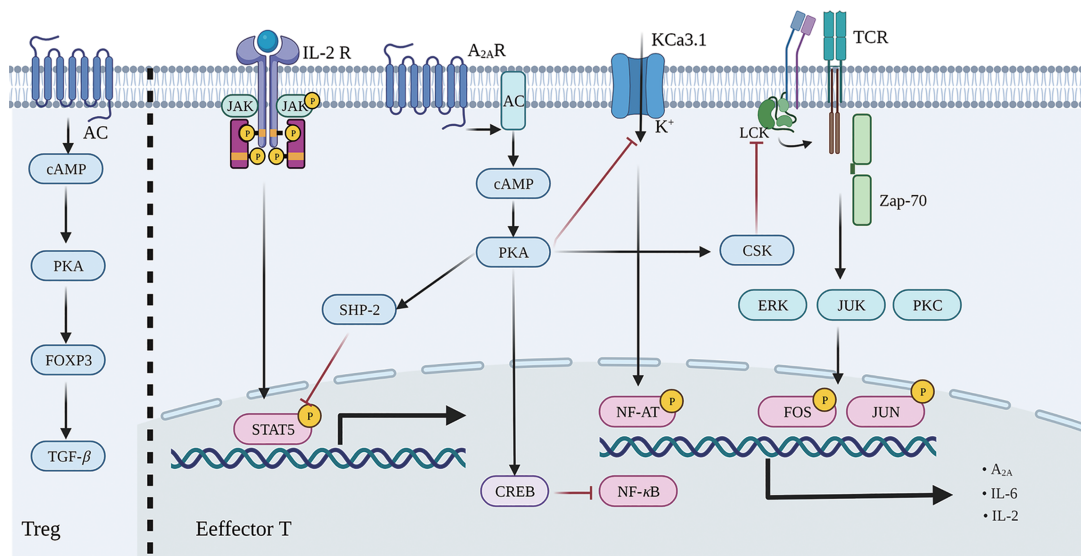


Figure 3 Transduction pathway of $A_{2A}R$ signaling in T cells. TCR: T cell receptor; LCK: Lymphocyte-specific protein tyrosine kinase; Zap-70: 70-kDa zeta-associated protein; CSK: C-Src tyrosine kinase; ERK: Extracellular regulated protein kinases; JUK: JUN N-terminal kinases; PKC: Protein kinase C; FOS: Fructooligosaccharide; JUN: Jun proto-oncogene; KCa3.1: Intermediate-conductance Ca^{2+} -activated K^+ channel; SHP-2: Src homology 2 (SH2) domain-containing protein tyrosine phosphatase; STAT5: Signal transducers and activators of transcription 5; CREB: cAMP-response element binding protein; NF- κ B: Nuclear factor kappa-B; NF-AT: Nuclear factor of activated T cell; IL-2 R: Interleukin-2 receptor; JAK: Janus kinase; FOXP3: Forkhead box protein P3; TGF- β : Transforming growth factor- β ; IL-6: Interleukin-6

化的第一及第二信号, A_{2A}R 活化还可以抑制细胞因子受体信号, A_{2A}R 激活 cAMP-PKA 依赖性信号通路, 进一步激活 Src 同源 2 含蛋白质酪氨酸磷酸酶 2 (Src homology 2 containing protein tyrosine phosphatase 2, SHP-2) 并导致下游的信号传导及转录激活蛋白 5 (signal transducer and activator of transcription 5, STAT5) 去磷酸化, 从而阻断 T 细胞中 IL-2 受体信号^[26] (图 3)。

除了 T 细胞外, A_{2A}R 也在其他免疫细胞上表达参与免疫抑制 (图 4)。在肥大细胞中, A_{2A}R 与腺苷结合阻断 KCa3.1 钾通道的活性, 减少了 IgE 和 Ca³ 介导的脱颗粒, 并抑制肥大细胞趋化性^[27]。巨噬细胞中 A_{2A}R 的激活通过促进 cAMP、磷脂酰肌醇激酶 (phosphoinositide 3-kinase, PI3K) 及 PKC 信号, 诱导肿瘤巨噬细胞 M2 型极化^[28]。巨噬细胞起吞噬作用时会摄取、降解并最终呈递源自微粒抗原的肽, 当小颗粒被 IgG 包被时, IgG 抗体分子的 Fc 区与在巨噬细胞质膜上表达的 Fc 受体结合并触发吞噬反应, A_{2A}R 特异性激活能够抑制 Fc γ 受体介导的巨噬细胞的吞噬作用^[29]。此外, 肿瘤活化的巨噬细胞释放的自分泌粒细胞-巨噬细胞集落活化因子能够增强巨噬细胞上 A_{2A}R 的表达, 并与腺苷协同作用通过 A_{2A}R-PI3K/AKT 和 MEK/ERK 途径调节人肝脏肿瘤中的巨噬细胞增殖^[30]。A_{2A}R 的特异性激活也可以上调 B16F10 黑色素瘤的巨噬细胞浸润并调节巨噬细胞极化^[31]。A_{2A}R 介导的 cAMP-PKA 信号激活会诱导多种免疫抑制, 包括抑制中性粒细胞的吞噬、氧化活性 (活性氧, reactive oxygen species, ROS 生成)、趋化性和黏附^[32,33], 阻断 B 细胞的抗原受体和 Toll 样受体 4 信号, 抑制 B 细胞增殖^[34], 阻碍 NK 细胞的成熟、增殖和细胞溶解活性^[35]。

2.2 A_{2A}R 对肿瘤细胞的调控和机制 eADO 与 A_{2A}R 结合不仅具有免疫抑制作用, 还能以肿瘤细胞自主的方式促进肿瘤细胞的进展、侵袭和转移。A_{2A}R 通常通

过激活 PI3K/AKT/mTOR 信号传导促进肿瘤进展和转移^[21]。在肝癌的临床前模型中, eADO 与 A_{2A}R 结合激活 Ras 相关蛋白 1 (Ras-associated protein 1, Rap1) 募集 PI3K 催化亚基 P110 β 到质膜并触发 3-磷酸磷脂酰肌醇 (phosphatidylinositol 3-phosphate, PIP3) 产生, 从而促进肝细胞癌细胞的丝氨酸/苏氨酸激酶 (AKT) 磷酸化, 促进肝细胞癌的发展和转移^[36]。在胃癌的临床前模型中, 胃癌细胞上的 A_{2A}R 表达促进了癌细胞转移^[21]。在乳腺癌的临床前模型中, A_{2A}R 通过激活血管内皮生长因子和碱性成纤维细胞生长因子参与肿瘤血管生成^[37], 促进乳腺癌细胞生长、迁移和骨转移^[38,39]。此外, 在 CD73 高表达的三阴性乳腺癌中, A_{2A}R 的激活可抑制多柔比星等蒽环类药物的疗效, 导致患者有更差的预后, 对于此类癌症患者, 靶向 A_{2A}R 可以在一定程度上拮抗化疗耐药^[40]。肿瘤免疫抑制也是白血病治疗失败和复发的主要原因, 研究发现在白血病细胞密集定植的缺氧淋巴细胞生态位中, eADO 大量积累且其下游信号转导被上调, 腺苷-A_{2A}R 信号激活促进慢性淋巴细胞白血病的免疫耐受, 因此阻断该通路具有较高的临床意义^[41]。

EMT 与肿瘤的发生、侵袭、转移和对其治疗策略的选择密切相关^[42]。在肝细胞癌模型中, A_{2A}R 的激活促进 EMT 和癌症干细胞特征^[36]。TGF- β 是诱导 EMT 最重要的因子, Yang 课题组^[43]发现腺苷-A_{2A}R 通路相关特征基因与人类癌症中的 TGF- β 基因表达密切相关。

2.3 A_{2A}R 在免疫治疗耐受中的作用 癌症免疫治疗可在不同类型癌症患者体内持续激发抗肿瘤免疫应答, 部分患者即使初期对免疫治疗药物有响应, 一段时间后也会产生耐药, 这是目前免疫治疗面临的重要临床挑战之一。免疫疗法产生耐药的原因主要包括: 肿瘤抗原、人类白细胞抗原 (human leukocyte antigen, HLA) 的表达缺失; 抗原加工机制的改变; 信号通路

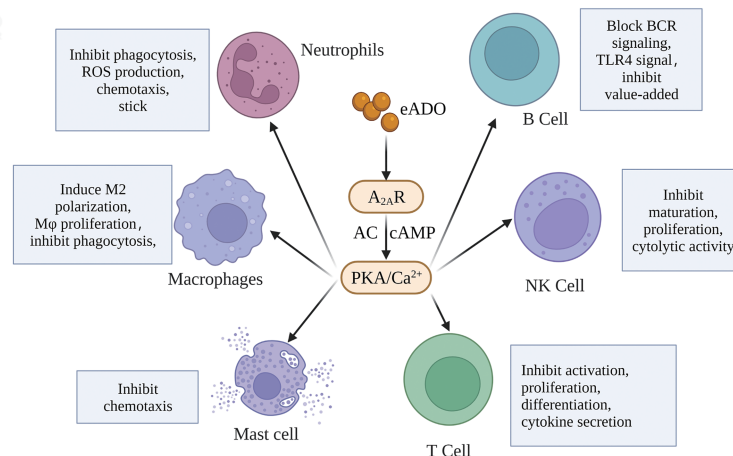


Figure 4 Effects of A_{2A}R activation on different immune cells. eADO: Extracellular adenosine; Ca²⁺: Calcium

(MAPK、PI3K、WNT、IFN) 的突变; 免疫抑制细胞群 (Tregs、II型巨噬细胞) 的增加和肿瘤微环境中细胞因子、代谢物 (腺苷、集落刺激因子 1、TGF- β) 的释放等^[44]。腺苷是肿瘤微环境中重要的免疫抑制代谢产物, 腺苷激活 A_{2A}R 可抑制 T 细胞增殖、成熟及其功能, 靶向 A_{2A}R 是克服免疫治疗耐药的策略之一^[45]。Darcy 团队^[46]的研究证明, A_{2A}R 的药理学和基因抑制均增强了嵌合抗原受体 T 细胞 (chimeric antigen receptor T-cell, CAR-T) 在两种不同的乳腺癌小鼠模型中的功效。Smyth 课题组^[47]的研究也证明 A_{2A}R 抑制剂与 CD73 抑制剂的联用可通过增加免疫细胞与 Fc 受体的结合从而限制肿瘤的发生、发展。在临床中, 对于肾癌^[48]、前列腺癌^[49]及非小细胞肺癌^[50], A_{2A}R 拮抗剂与 PD-L1 抑制剂联用可减少耐药发生, 显著增加免疫细胞浸润, 诱导持久的抗肿瘤免疫反应。由此可见, 靶向

腺苷-A_{2A}R 通路的免疫治疗将为克服免疫治疗耐药带来新的希望。

3 A_{2A}R 抑制剂研发进展

目前, 大多数报道的检查点抑制剂是单克隆抗体^[51], 此类药物多数昂贵且给药方案耗时。更重要的是, 一些与单克隆抗体有关的免疫不良事件常被报道, 但现在仍然缺乏有效的解决方案。与生物制剂相比, 免疫调节类小分子药物具有更高的口服生物利用度、更好的肿瘤微环境通透性, 并且由于小分子的生物利用度更易控制, 从而可以避免一些免疫相关的不良事件, 此外, 较低的生产和管理成本也能够更好地满足患者的需求。随着腺苷受体作用机制的不断解析, 越来越多的制药公司投入到 A_{2A}R 拮抗剂的研发之中, 有些药物分子已经在临床试验中取得突破性进展, 展示良好的治疗效果 (表 1)。

Table 1 Overview of clinical trials investigating targets within the A_{2A}R signaling pathway in cancer. NSCLC: Non-small-cell lung cancer; RCC: Renal cell carcinoma; CRC: Colorectal cancer; TNBC: Triple-negative breast cancer; OC: Ovarian cancer; PC: Prostatic cancer; mPCRC: Metastatic castration-resistant prostate cancer; PDAC: Pancreatic ductal adenocarcinoma; MSS: Microsatellite stable colorectal cancer; DLBCL: Diffuse large B-cell lymphoma

Drug name	Indication	Sponsor	Phase	Intervention/treatment	Clinical trial identifier
Ciforadenant (CPI-444)	Multiple myeloma	Corvus	Ib	+ Daratumumab	NCT04280328
	NSCLC/RCC/CRC/TNBC/cervical cancer/OC/ PC/endometrial cancer/sarcoma/HNSCC/bladder cancer/mCRPC/non-hodgkin lymphoma	Corvus	I/Ib	+ CPI-006	NCT03454451
	RCC/mCRPC	Corvus	I/Ib	Single agent/+ atezolizumab	NCT02655822
AZD4635	NSCLC	Corvus	Ib/II	+ atezolizumab	NCT03337698
	Advanced solid malignancies	AstraZeneca	I	Single agent	NCT03980821
	Advanced solid malignancies/NSCLC/mCRPC/ CRC	AstraZeneca	I	Single agent/+ durvalumab/ enzalutamide/abiraterone acetate/ durvalumab + oleclumab/docetaxel	NCT02740985
	Prostate cancer/mCRPC	AstraZeneca	II	+ Durvalumab/+ oleclumab/ + durvalumab + oleclumab	NCT04089553
PBF-509 (NIR178)	mCRPC	AstraZeneca	II	+ Durvalumab/+ durvalumab + cabazitaxel	NCT04495179
	Carcinoma/NSCLC	AstraZeneca	Ib/II	+ MEDI9447	NCT03381274
	NSCLC	Palobiofarma	I/Ib	Single agent/+ PDR001	NCT02403193
	NSCLC/TNBC/PDAC/MSS/OC/RCC/mCRPC	Novartis	I	+ NZV930/PDR001	NCT03549000
	Solid tumors	Novartis	I	+ KAZ954	NCT04237649
Etrumadenant (AB928)	TNBC	Novartis	I	+ PDR001/LAG525	NCT03742349
	NSCLC/RCC/pancreatic cancer/urothelial cancer/head and neck cancer/DLBCL/MSS/ TNBC/melanoma	Novartis	II	+ PDR001	NCT03207867
	RCC	Novartis	I/Ib	+ PDR001+ DFF332	NCT04895748
	Metastatic castration-resistant prostate cancer/ prostate cancer	Surface Oncology	II	+ SRF617 + zimberelimab	NCT05177770
Etrumadenant (AB928)	NSCLC/HNSCC/breast cancer/CRC/melanoma/ bladder cancer/OC/endometrial cancer/merkel cell carcinoma/gastroesophageal cancer/renal cell carcinoma/CRPC	Arcus	I	+ Zimberelimab	NCT03629756

Continued

Drug name	Indication	Sponsor	Phase	Intervention/treatment	Clinical trial identifier
	Head and neck cancer/squamous cell carcinoma of head and neck/oral cavity squamous cell carcinoma/oral cavity cancer/oropharynx cancer/oropharynx/squamous cell carcinoma/larynx cancer/pharynx cancer/hypopharynx cancer/hypopharynx squamous cell carcinoma	Arcus	Ib	+ Concurrent cisplatin/+ radiation therapy + zimberelimab	NCT04892875
	Metastatic colorectal cancer	Arcus	Ib/II	+ Zimberelimab + mFOLFOX-6 + bevacizumab/+ zimberelimab + AB680	NCT04660812
	Prostatic neoplasms, castration-resistant/ androgen-resistant prostatic neoplasms/castration resistant prostatic neoplasms/prostatic cancer, castration-resistant	Arcus	Ib/II	+ Zimberelimab + enzalutamide/ + trumadenant + zimberelimab + docetaxel/+ zimberelimab/ + zimberelimab + AB680/+ AB680	NCT04381832
	Gastro esophageal cancer/CRC	Arcus	I/Ib	+ mFOLFOX	NCT03720678
	TBNC/OC	Arcus	I/Ib	+ PLD/+ NP/+ PLD + IPI-549	NCT03719326
	NSCLC metastatic/NSCLC/nonsquamous non small cell neoplasm of lung/sensitizing EGFR gene mutation	Arcus	I/Ib	+ Carboplatin + pemetrexed/ + carboplatin + pemetrexed + pembrolizumab/+ zimberelimab + carboplatin + pemetrexed	NCT03846310
	NSCLC/nonsquamous NSCLC/squamous NSCLC/lung cancer	Arcus	II	+ Domvanalimab + zimberelimab	NCT04262856
	NSCLC/non-small cell carcinoma	Arcus	II	+ Zimberelimab + domvanalimab	NCT04791839
	Rectal cancer	Arcus	II	+ FOLFOX regimen + zimberelimab	NCT05024097
	Prostate adenocarcinoma	Genentech	II	+ Atezolizumab	NCT03821246
	Pancreatic adenocarcinoma	Roche	Ib/II	+ Atezolizumab + chemotherapy	NCT03193190
	CRC	Roche	Ib/II	Single agent/+ atezolizumab + regorafenib	NCT03555149
Inupadenant (EOS100850)	Solid tumor	iTeos	I/Ib	Single agent/+ pembrolizumab/ + chemotherapy	NCT03873883
	Solid tumor	iTeos	I	Single agent	NCT05117177
	Advanced cancer/lung cancer/head and neck cancer/melanoma	iTeos	I/II	Inupadenant +EOS-448/ inupadenant + pembrolizumab	NCT05060432
CS3005	Advanced solid tumors	CStone	I	Single agent	NCT04233060
EXS21546	Oncology	Exscientia	I	Single agent	NCT04727138
PBF-999	Advanced solid tumor	Palbiofarma	I	Single agent	NCT03786484

3.1 Ciforadenant (CPI-444) 用 CPI-444 阻断 A_{2A}R 可在体外恢复被腺苷类似物抑制的 T 细胞信号。在多个同源小鼠肿瘤模型中, CPI-444 治疗可以剂量依赖性地抑制肿瘤生长。在接受 CPI-444 与 PD-L1 单抗或 CTLA-4 单抗联合治疗的小鼠中, 多达 90% 小鼠的肿瘤消除, 这包括对 PD-L1 单抗或 CTLA-4 单抗单独治疗反应不明显的模型恢复免疫应答的情况^[52]。新型 A_{2A}R 拮抗剂 CPI-444 能够在癌症的检查点治疗和获得性细胞疗法 (adoptive cell transfer therapy, ACT) 模型中显著增强免疫反应^[53]。一项临床研究中 33 例接受 ciforadenant 单药治疗的肾细胞癌患者中有 1 例 (3%)、35 例接受联合治疗的肾细胞癌患者中有 4 例 (11%) 出现了 RECIST 标准的部分反应。另外 24% 的患者虽出现了肿瘤消退, 但不符合 RECIST 标准中关于部分反应的标准。接受 CPI-444 单药治疗的患者中有 17%、

联合治疗组中有 39% 的患者在连续至少 6 个月内疾病进展得到了控制; CPI-444 单药治疗和联合治疗的中位无进展生存期分别为 4.1 和 5 个月。联合治疗组在 25 个月内的估计总生存期 (overall survival, OS) 率超过 90%, 单药治疗组在 16 个月内的 OS 率超过 69%^[48,54]。其中超过 72% 的患者既往对抗 PD-1 单抗或 PD-L1 抗体治疗具有耐药性, 单药治疗组和联合治疗组自上次服用抗 PD-1 单抗或 PD-L1 抗体后的中位时间分别为 3.1 个月 (1.2~70.4 个月) 和 1.7 个月 (0.9~23.6 个月)。不良事件主要包括疲劳、瘙痒和食欲下降, 3 级或 4 级不良事件较少见。在接受治疗期间, 没有发生任何与治疗或疾病相关的死亡。

3.2 AZD4635 使用 AZD4635 抑制 A_{2A}R 可通过内部机制恢复 T 细胞功能及 CD103⁺ DCs 的肿瘤抗原交叉呈递产生的抗肿瘤免疫^[55]。一项临床研究中, 15 例晚

期恶性肿瘤患者接受 AZD4635 单药治疗, 23 例患者接受 AZD4635 和 durvalumab 联合治疗, 所有受试者之前至少采用过 1 个治疗方案 (中位数为 3 个), AZD4635 在单药治疗或联合治疗中的最大耐受剂量均为每日口服 100 mg, 在给药间隔时间内给予最大耐受剂量时, AZD4635 的平均血药浓度高于体外的 IC_{50} , 在每日两次给予 125 mg 剂量时出现两种剂量限制毒性 (DLT; 3 级恶心和 2 级腹痛), 并且在每日一次给予 75 mg 联合 durvalumab 时出现一次 DLT (2 级恶心 + 2 级疲劳)。应用 AZD4635 单药治疗或联合 durvalumab 治疗的转移性去势抵抗性前列腺癌患者中有 8 例受试者符合 RECIST 评估标准, 此外, 在 4 例 RECIST 不可评估的受试者中, 有 1 例通过 AZD4635 单药治疗后观察到前列腺特异性抗原持续下降 > 99%^[50]。

3.3 Taminadenant (PBF-509/NIR178) 在体外, PBF-509 对 A_{2A} R 具有高度特异性, 并抑制 A_{2A} R 功能。在小鼠模型中, 与对照组相比, 经 PBF-509 治疗后肺部肿瘤转移减少。先前的体外研究显示, 当 PBF-509 与 PD-1 单抗或 PD-L1 单抗药物联合使用时, 人的肿瘤浸润性淋巴细胞的反应性增加^[56]。一项 I/II 期临床研究 (NCT02403193) 评估了 PBF-509 在既往接受过治疗的晚期非小细胞肺癌患者中的疗效。24 例患者接受了 PBF-509 单药治疗, 研究性治疗导致的最常见的不良事件 ($\geq 20\%$) 包括恶心、疲劳、呼吸困难、呕吐、胸痛、胃食管反流病、贫血、腹泻、厌食、全身肌肉无力和咳嗽。在每日两次给予 640 mg 剂量时出现 DLT (3 级恶心)。此外, 无论 PD-L1 表达水平如何, 在接受过免疫治疗和未接受过免疫治疗的患者中均观察到临床获益^[49]。

3.4 AB928 AB928 对 A_{2A} R 和 A_{2B} R 具有相似的亲和力 (K_i 分别为 1.4 和 2 $nmol \cdot L^{-1}$)^[57]。AB928 已被证明可减缓肿瘤生长, 无论是单独使用还是联合抗 PD-1 药物^[58,59]或化疗^[60]。目前, AB928 是临床上唯一的 A_{2A} 和 A_{2B} 双靶点抑制剂。在一项 I 期临床研究中, 与 AB928 相关的最常见的治疗相关不良事件是腹痛、恶心、头晕、头痛、腹胀和便秘。尽管 AB928 在各种癌症小鼠模型中显示出了抗肿瘤活性, 但仍缺乏支持联合抑制 A_{2A} 和 A_{2B} 受体比单独抑制 A_{2A} 受体更有优势的临床前数据 (NCT03629756、NCT03720678 和 NCT03719326)。截至 2022 年 2 月, 目前已有 3 项肿瘤治疗临床试验完成, 但是其肿瘤治疗的临床数据还未被披露。

3.5 PBF-999 PBF-999 是一种 A_{2A} R/PDE-10A 双重拮抗剂。抑制 PDE-10A 可抑制环磷酸鸟苷 (cyclic guanosine monophosphate, cGMP) 降解, cGMP 水平的增加可抑制肿瘤增殖并诱导细胞凋亡, 因此同时拮抗

A_{2A} R 和 PDE-10A 可能会发挥协同抗肿瘤作用。一项针对可活检实体瘤患者的 I 期剂量递增研究正在进行中。据报道, PBF-999 在 I 期临床试验的剂量在范围从 20~120 mg 组中是安全且耐受性良好的^[61]。

3.6 Inupadenant (EOS100850) EOS100850 是一种非脑穿透性 A_{2A} R 拮抗剂, 在体外具有高度选择性, 在高腺苷浓度的环境中仍保持强抑制作用^[62]。EOS100850 与 CTLA-4 单抗联合使用可增加 $CD8^+$ T 细胞的数量并激活浸润肿瘤微环境的巨噬细胞。在 EMT-6 小鼠模型中, 与 CTLA-4 单抗单药治疗相比, EOS100850 与 CTLA-4 单抗联合使用具有更高的肿瘤生长抑制率, 且可以诱导免疫记忆^[63]。

目前 EOS100850 已进入 I 期临床试验。研究的第一阶段是评估 EOS100850 的安全性和耐受性, 测试的剂量水平为每天 20 和 40 mg, 以及每天 2 次 40、80 和 160 mg, 结果显示所有剂量水平耐受性良好, 没有 3 级或 4 级相关不良事件, 并且 EOS100850 在 7 例患者中证明了单药治疗具有疗效, 在接受过免疫检查点抑制剂治疗的难治性黑色素瘤患者和化疗耐药前列腺癌患者中观察到持续的免疫反应 (NCT05117177)。

3.7 EXS21546 EXS21546 是 Evotec 和 Exscientia 在 2018 年公布的一种新的非脑穿透性 A_{2A} R/CD73 拮抗剂, 它是第一个进入临床的 AI 设计的肿瘤免疫新药。EXS21546 降低了由腺苷受体激动剂 NECA 活化的 HEK 细胞产生的 cAMP, 并显示出在体外恢复原代人 $CD3^+$ T 淋巴细胞中产生的 IL-2 效力^[64]。

随后, 在 2021 年公布了 EXS21546 离体治疗在原发性胰腺癌和肺癌细胞的临床前数据, 结果表明在高浓度的腺苷类似物存在下 EXS21546 能够降低癌细胞的存活, 并且可以诱导 $CD8^+$ T 淋巴细胞的部分增殖^[65]。目前, 正在开展一项临床试验 (NCT04727138), 旨在评估单次给药和多次递增剂量给药的安全性、耐受性和药代动力学。

3.8 CS3005 CS3005 是由基石药业开发的 A_{2A} R 拮抗剂, 目前正在开展一项临床试验 (NCT04233060), 主要是测试其在临床上的安全性和初步活性。招募对象为组织学证实为晚期实体瘤的受试者, CS3005 将每天两次口服给药, 试验期限为两年, 两年内病情进展或产生不可接受的不良反应将停止试验, 预计 2022 年将完成 I 期试验。

3.9 SHR5126 SHR5126 由恒瑞制药公司开发, 并于 2020 年 2 月获得药品审评中心 (CDE) 临床试验批准, 具体适应症待临床试验确定, 拟用于晚期实体瘤患者的治疗。其前期实验表明, 作为一种腺苷受体 A_{2A} R 抑制剂, SHR5126 可通过与腺苷竞争性结合 A_{2A} R, 使免

疫细胞保持免疫活性, 从而实现了对肿瘤细胞的杀伤。

3.10 Preladenant (MK-3814A) MK-3814A 是一种首先用于治疗帕金森病的口服 A_{2A}R 拮抗剂^[66]。MK-3814A 曾进行过晚期实体瘤的 I 期临床研究, 但是由于数据不支持研究终点, 该试验被提前终止。

4 靶向 A_{2A}R 的治疗策略

目前, 多种 A_{2A}R 拮抗剂已在临床前及临床模型中进行尝试, 其通常与免疫检查点抑制剂、化疗和 ACT 的药物联用来改善抗癌作用。

除了产生细胞外腺苷, CD73 在肿瘤细胞或内皮细胞上表达对肿瘤细胞黏附、外渗和转移也至关重要, 同时靶向 A_{2A}R 与 CD73 的联合治疗也是一个非常有前景的策略。Young 等^[35]对同时缺乏 A_{2A}R 和 CD73 的双基因缺陷 (DKO) 小鼠的研究表明, 与单基因缺陷小鼠相比, DKO 小鼠对抗 PD-1 耐药、BRAF 突变的 SM1WT1 黑色素瘤肿瘤模型表现出更大的肿瘤排斥反应, 联合阻断 A_{2A}R 和 CD73 限制了肿瘤的增殖和转移。此外, CD39 在免疫细胞、肿瘤相关内皮细胞及肿瘤细胞上的表达也与免疫抑制、肿瘤生长和转移有关。A_{2A}R 拮抗剂与 CD39 抑制剂联用可提升肿瘤微环境中 ATP 的积累, 促进肿瘤细胞的死亡, 进而增强免疫系统的攻击能力^[67]。

A_{2A}R 拮抗剂通常与免疫检查点抑制剂联合使用, 在抗原激活的 T 细胞上 A_{2A}R 过表达, 即使阻断 PD-(L)1 减少 T 细胞的程序性死亡, 肿瘤微环境中累积的大量腺苷也会导致 T 细胞无法正常发挥功能, 所以同时阻断这两种分子有十分重要的临床和科研价值。Waickman 等^[68]率先研究了 A_{2A}R 拮抗剂联合共抑制分子的作用, 在他们最初的报告中, 其证明了在 EL4 胸腺瘤肿瘤模型中, 使用 B7-DC/Fc 融合蛋白联合 A_{2A}R 拮抗剂共同刺激 T 细胞, 可显著减缓肿瘤生长。Beavis 等^[69]的研究还表明, 与单药治疗相比, A_{2A}R 和 PD-1 的联合阻断增加了肿瘤中干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ) 的产生。Iannone 等^[70]也证明了在小鼠 B16F10 黑色素瘤模型中同时阻断 A_{2A}R 和 CTLA-4 的治疗效果明显优于单药治疗, 且临床前研究表明, A_{2A}R 拮抗剂和免疫检查点抑制剂联用可能对表达高水平 CD73 的肿瘤患者更有效^[71]。

靶向 A_{2A}R 也被证明与化疗有协同作用。某些化疗药物可以诱导免疫原性的细胞死亡, 触发抗肿瘤免疫反应, 这一过程被证明与 ATP 释放增加有关, 尽管 ATP 积累是促炎的, 但在肿瘤微环境中高表达的 CD39 和 CD73 可以将其分解成腺苷, 形成免疫抑制环境。有研究表明, 靶向 A_{2A}R 可以显著提高小鼠模型中葱环类药物的疗效^[72]。

最近的临床前研究表明, 将 CAR-T 细胞治疗与 A_{2A}R 阻断相结合也具有指导意义。Beavis 等^[46]的研究表明, 与对照小鼠相比, A_{2A}R 敲除小鼠的 CAR-T 细胞表现出更高的活性, 靶向 A_{2A}R 会增强体内外 CD8 CAR-T 细胞的细胞因子产生。

5 靶向 A_{2A}R 的潜在不良反应和应对策略

A_{2A}R 广泛分布于哺乳动物组织中^[73], 具有重要的生理功能^[74]。抑制 A_{2A}R 可引起多种疾病, 包括动脉硬化、免疫衰退、糖尿病、哮喘、溃疡、多动症、认知功能障碍等^[75,76]。

腺苷与小动脉血管平滑肌细胞上的 A_{2A}R 结合激活 K (V) 和 K (ATP) 通道^[77]介导血管舒张, 因此在临床中广泛应用于诱导冠状动脉舒张^[78]。然而, 由于腺苷受体不是心肌组织所特有的, 在治疗时会诱发相关不良反应, 如支气管痉挛、呼吸困难或房室传导阻滞^[79]。腺苷与 A_{2A}R 结合主要起抗炎作用^[7], 炎症主要是由血管舒张和渗漏引起的, 几乎所有参与炎症过程的细胞都表达 A_{2A}R。在肾脏和小肠^[80]中, 多种细胞类型的 A_{2A}R 信号共同调节结肠炎^[81], 小鼠的 A_{2A}R 基因缺失增加了其结肠炎的易感性^[82]。在肺中, A_{2A}R 的激活可以抑制卵清蛋白致敏的棕色挪威大鼠暴露于过敏原中所引起的早期和晚期炎症反应^[83]。

A_{2A}R 与骨代谢密切相关, 其激动剂可抑制破骨细胞功能, 减少骨肉瘤患者的骨质破坏。此外, A_{2A}R 激动剂可以募集骨髓间充质干细胞并激活成骨细胞, 而缺乏 A_{2A}R 会导致骨质流失^[9]。A_{2A}R 拮抗剂能够抑制骨愈合过程中血管生成和巨噬细胞分泌外泌体, 从而减缓骨折后的恢复过程^[84]。A_{2A}R 基因敲除小鼠将会自发性产生骨关节炎, 并且腺苷通路水平下降也被证实与人类骨关节炎有关^[85]。

A_{2A}R 在大脑中尤其在纹状体、颈动脉体和海马神经末梢中高表达, 在神经元发育、神经保护和稳态功能中发挥重要作用^[86]。A_{2A}R 的表达情况与学习和记忆过程密切相关, 缺失或过表达均会引起不同的损伤^[87]。A_{2A}R 可与多巴胺 D2 受体形成异质共聚物, 从而拮抗多巴胺 D2 受体的信号传导, 调节运动^[88], 各种研究表明 A_{2A}R 与帕金森病、亨廷顿病等退行性疾病密切相关^[89,90]。大多数 A_{2A}R 拮抗剂都是最初为帕金森病开发的竞争性抑制剂, 因此, 它们大部分可以穿透血脑屏障, 甚至提高其通透性^[91], 这可能会对大脑造成损伤。

如何减少靶向 A_{2A}R 的潜在风险也正在研究中, 脂质体或纳米颗粒^[92]的开发及基因编辑可更有效地靶向肿瘤微环境中的 A_{2A}R, 以减少可能由 A_{2A}R 广泛表达引起的全身毒性。Laura 的团队^[93]开发了脂质纳米颗粒, 递送 A_{2A}R 基因沉默 RNA, 以敲除 T 细胞中的 A_{2A}R, 并

成功抑制在头颈部鳞状细胞癌中腺苷对记忆 T 细胞趋化性的抑制作用, 最终有助于增加 T 细胞浸润到肿瘤中。目前, 靶向腺苷在癌症治疗中的局限之处在于患者的肿瘤需要表现出缺氧和富含腺苷的肿瘤微环境的特点, 并表现出足够数量的肿瘤反应性 T 细胞^[94]。以 CRISPR/Cas9 介导的 CAR-T 细胞中 A_{2A}R 缺失显著抵抗腺苷介导的转录变化, 导致包括 IFN- γ 和肿瘤坏死因子在内的细胞因子的产生增加, 因此改善了 CAR-T 细胞的临床应用^[95]。

6 靶向 A_{2A}R 的治疗前景展望

在肿瘤微环境中, 肿瘤和免疫细胞会经历明显的代谢重编程, 腺苷作为肿瘤微环境中大量存在的免疫抑制性代谢产物可与 A_{2A}R 结合, 促进肿瘤发生发展。

目前肿瘤微环境调节剂的研究如火如荼, A_{2A}R 拮抗剂作为一种肿瘤免疫微环境调节剂, 其抗肿瘤的作用主要通过竞争性结合 A_{2A}R 来实现, 作为免疫治疗增强剂可大幅增加当前癌症免疫治疗的疗效, 虽然其激动剂与拮抗剂结合模式的区别尚未可知。

临床前和临床研究表明, 靶向腺苷-A_{2A}R 通路增加免疫浸润, 削弱免疫抑制, 将对免疫治疗不敏感的“冷肿瘤”部分逆转为“热肿瘤”。在临床试验中, A_{2A}R 拮抗剂已与 CD39、CD7、PD-(L)1、CTLA-4 等抑制剂联用, 均表达出比单药治疗更好的疗效, 未来可能与更多免疫检查点药物联用来提升肿瘤免疫治疗的应答率和可及性。此外, 胞外腺苷的产生与肿瘤微环境内缺氧和细胞高速更新密不可分, 所以靶向 A_{2A}R 和可以促进缺氧和细胞死亡的放、化疗联用也可能在临床上取得更好的疗效。因为 A_{2A}R 在心脏、大脑、神经等器官、组织中也有较高表达, 因此减弱靶向全身 A_{2A}R 引起的潜在风险也应该被关注。总体而言, 通过靶向腺苷受体来逆转肿瘤微环境障碍从而提升免疫治疗的效果, 越来越受到科学界和药物产业界的关注。虽然目前还没有靶向 A_{2A}R 腺苷受体的抗肿瘤药物上市, 但是一些腺苷受体抑制剂已经在临床试验中显示良好的效果, 有望未来为癌症的免疫治疗带来新的突破。

作者贡献: 张芷菁、张启怡、金祖翼、朱凯负责文献调研和文章撰写; 丁文、张小雷确定文章思路及文章审阅。

利益冲突: 本文作者均声明无利益冲突。

References

- [1] Li PS, Liu YX, Xie Y, et al. Tumor immune checkpoint therapy and the drug delivery strategies [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2022, 57: 13-24.
- [2] Kenedy LB, Salama AKS. A review of cancer immunotherapy toxicity [J]. *CA Cancer J Clin*, 2020, 70: 86-104.
- [3] Wang HY, Li SS, Wang QY, et al. Tumor immunological phenotype signature-based high-throughput screening for the discovery of combination immunotherapy compounds [J]. *Sci Adv*, 2021, 7: eabd7851.
- [4] O'Donnell JS, Teng MWL, Smyth MJ. Cancer immunoeediting and resistance to T cell-based immunotherapy [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2019, 16: 151-167.
- [5] Riley RS, Junne CH, Langer R, et al. Delivery technologies for cancer immunotherapy [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2019, 18: 175-196.
- [6] Wang XM, Huang M. Mechanisms of metabolite-triggered oncogenic signaling in cancer [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2019, 54: 1755-1770.
- [7] D'Antongiovanni V, Fornai M, Pellegrini C, et al. The adenosine system at the crossroads of intestinal inflammation [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 5089.
- [8] Di VF, Sarti AC, Falzoni S, et al. Extracellular ATP and P2 purinergic signalling in the tumour microenvironment [J]. *Nat Rev Cancer*, 2018, 18: 601-618.
- [9] Cekic C, Linden J. Purinergic regulation of the immune system [J]. *Nat Rev Immunol*, 2016, 16: 177-192.
- [10] Allard B, Longhi MS, Robson SC, et al. The ectonucleotidases CD39 and CD73: novel checkpoint inhibitor targets [J]. *Immunol Rev*, 2017, 276: 121-144.
- [11] Ohta A, Sitkovsky M. Role of G-protein-coupled adenosine receptors in downregulation of inflammation and protection from tissue damage [J]. *Nature*, 2002, 40: 543-544.
- [12] Müller CE, Jacobson KA. Recent developments in adenosine receptor ligands and their potential as novel drugs [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1808: 1290-1308.
- [13] Borah P, Deka S, Mailavaram RP, et al. P1 receptor agonists/antagonists in clinical trials-potential drug candidates of the future [J]. *Curr Pharm Des*, 2019, 25: 2792-2807.
- [14] Allard B, Allard D, Buisseret L, et al. The adenosine pathway in immuno-oncology [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2020, 17: 611-629.
- [15] Lappas CM, Rieger JM, Linden J. A_{2A} adenosine receptor induction inhibits IFN- γ production in murine CD4⁺ T cells [J]. *J Immunol*, 2005, 174: 1073-1080.
- [16] Linnemann C, Schildberg FA, Schurich A, et al. Adenosine regulates CD8 T-cell priming by inhibition of membrane-proximal T-cell receptor signaling [J]. *Immunology*, 2009, 128: e728-e737.
- [17] Jimenez JL, Punzón C, Navarro J, et al. Phosphodiesterase 4 inhibitors prevent cytokine secretion by T lymphocytes by inhibiting nuclear factor-kappa B and nuclear factor of activated T cells activation [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2001, 299: 753-759.
- [18] Rui B, Hou J, Yan L, et al. Adenosine promotes Foxp3 expression in Treg cells in sepsis model by activating JNK/AP-1 pathway [J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8: 2284-2292.
- [19] Zheng X, Wang D. The adenosine A_{2A} receptor agonist accelerates bone healing and adjusts Treg/Th17 cell balance through interleukin

- 6 [J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020: 2603873.
- [20] Zarek PE, Huang CT, Lutz ER, et al. A_{2A} receptor signaling promotes peripheral tolerance by inducing T-cell anergy and the generation of adaptive regulatory T cells [J]. *Blood*, 2008, 111: 251-259.
- [21] Shi LS, Wu ZY, Miao J, et al. Adenosine interaction with adenosine receptor A_{2A} promotes gastric cancer metastasis by enhancing PI3K-AKT-mTOR signaling [J]. *Mol Biol Cell*, 2019, 30: 2527-2534.
- [22] Bjrgo E, Taskén K. Novel mechanism of signaling by CD28 [J]. *Immunol Lett*, 2010, 129: 1-6.
- [23] Rudd CE. How the discovery of the CD4/CD8-p56lck complexes changed immunology and immunotherapy [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 626095.
- [24] Vang T, Torgersen KM, Sundvold V, et al. Activation of the C-terminal Src kinase (Csk) by cAMP-dependent protein kinase inhibits signaling through the T cell receptor [J]. *J Exp Med*, 2001, 193: 497-508.
- [25] Butler JJ, Mader JS, Watson CL, et al. Adenosine inhibits activation-induced T cell expression of CD2 and CD28 co-stimulatory molecules: role of interleukin-2 and cyclic AMP signaling pathways [J]. *J Cell Biochem*, 2003, 89: 975-991.
- [26] Zhang H, Conrad DM, Butler JJ, et al. Adenosine acts through A₂ receptors to inhibit IL-2-induced tyrosine phosphorylation of STAT5 in T lymphocytes: role of cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate and phosphatases [J]. *J Immunol*, 2004, 173: 932-944.
- [27] Gao ZG, Jacobson KA. Purinergic signaling in mast cell degranulation and asthma [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 947.
- [28] Ferrante CJ, Pinhal-Enfield G, Elson G, et al. The adenosine-dependent angiogenic switch of macrophages to an M2-like phenotype is independent of interleukin-4 receptor alpha (IL-4Ralpha) signaling [J]. *Inflammation*, 2013, 36: 921-931.
- [29] Haskó G, Pacher P, Deitch EA, et al. Shaping of monocyte and macrophage function by adenosine receptors [J]. *Pharmacol Ther*, 2007, 113: 264-275.
- [30] Wang JF, Wang YC, Chu YF, et al. Tumor-derived adenosine promotes macrophage proliferation in human hepatocellular carcinoma [J]. *J Hepatol*, 2021, 74: 627-637.
- [31] Koszałka P, Goluńska M, Urban A, et al. Specific activation of A₃, A_{2A} and A₁ adenosine receptors in CD73-knockout mice affects B16F10 melanoma growth, neovascularization, angiogenesis and macrophage infiltration [J]. *PLoS One*, 2016, 11: e0151420.
- [32] Yago T, Tsukamoto H, Liu ZH, et al. Multi-inhibitory effects of A_{2A} adenosine receptor signaling on neutrophil adhesion under flow [J]. *J Immunol*, 2015, 195: 3880-3889.
- [33] Fredholm BB, Zhang Y, Ploeg IVD. Adenosine A_{2A} receptors mediate the inhibitory effect of adenosine on formyl-Met-Leu-Phe-stimulated respiratory burst in neutrophil leucocytes [J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 1996, 354: 262-267.
- [34] Minguet S, Huber M, Rosenkranz L, et al. Adenosine and cAMP are potent inhibitors of the NF- κ B pathway downstream of immunoreceptors [J]. *Eur J Immunol*, 2005, 35: 31-41.
- [35] Young A, Ngiow SF, Gao Y, et al. A_{2A}R adenosine signaling suppresses natural killer cell maturation in the tumor microenvironment [J]. *Cancer Res*, 2018, 78: 1003-1016.
- [36] Ma XL, Shen MN, Hu B, et al. CD73 promotes hepatocellular carcinoma progression and metastasis *via* activating PI3K/AKT signaling by inducing Rap1-mediated membrane localization of P110 β and predicts poor prognosis [J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12: 37.
- [37] Araújo JB, Kerkhoff VV, Maciel SFVO, et al. Targeting the purinergic pathway in breast cancer and its therapeutic applications [J]. *Purinergic Signal*, 2021, 17: 179-200.
- [38] Zhou JZ, Riquelme MA, Gao X, et al. Differential impact of adenosine nucleotides released by osteocytes on breast cancer growth and bone metastasis [J]. *Oncogene*, 2015, 34: 1831-1842.
- [39] Beavis PA, Divisekera U, Paget C, et al. Blockade of A_{2A} receptors potently suppresses the metastasis of CD73⁺ tumors [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110: 14711-14716.
- [40] Ruiz-Rodríguez VM, Turiján-Espinoza E, Guel-Pañola JA, et al. Chemoresistance in breast cancer patients associated with changes in P2X7 and A_{2A} purinergic receptors in CD8⁺ T lymphocytes [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 30: 576955.
- [41] Arruga F, Serra S, Vitale N, et al. Targeting of the A_{2A} adenosine receptor counteracts immunosuppression *in vivo* in a mouse model of chronic lymphocytic leukemia [J]. *Haematologica*, 2021, 106: 1343-1353.
- [42] Pastushenko I, Blanpain C. EMT transition states during tumor progression and metastasis [J]. *Trends Cell Biol*, 2018, 29: 212-226.
- [43] Li X, Wen Y, Miao X, et al. NT5E and FcGBP as key regulators of TGF-1-induced epithelial - mesenchymal transition (EMT) are associated with tumor progression and survival of patients with gallbladder cancer [J]. *Cell Tissue Res*, 2014, 355: 365-374.
- [44] Sharma P, Hu-Lieskovan S, Wargo JA, et al. Primary, adaptive, and acquired resistance to cancer immunotherapy [J]. *Cell*, 2017, 168: 707-723.
- [45] Steingold JM, Hatfield SM. Targeting hypoxia-A_{2A} adenosinergic immunosuppression of antitumor T cells during cancer immunotherapy [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 570041.
- [46] Beavis PA, Henderson MA, Giuffrida L, et al. Targeting the adenosine 2A receptor enhances chimeric antigen receptor T cell efficacy [J]. *J Clin Invest*, 2017, 127: 929-941.
- [47] Young A, Ngiow SF, Barkauskas DS, et al. Co-inhibition of CD73 and A_{2A}R adenosine signaling improves anti-tumor immune responses [J]. *Cancer Cell*, 2016, 30: 391-403.
- [48] Fong L, Hotson A, Powderly JD, et al. Adenosine 2A receptor blockade as an immunotherapy for treatment-refractory renal cell cancer [J]. *Cancer Discov*, 2020, 10: 40-53.
- [49] Chiappori A, Williams CC, Creelan BC, et al. Phase I/II study of

- the A_{2A} R antagonist NIR178 (PBF-509), an oral immunotherapy, in patients (pts) with NSCLC [J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36: 9089.
- [50] Bendell J, Bauer T, Patel M, et al. Abstract CT026: evidence of immune activation in the first-in-human phase Ia dose escalation study of the adenosine 2a receptor antagonist, AZD4635, in patients with advanced solid tumors [J]. *Cancer Res*, 2019, 79: CT026.
- [51] Shao RG. Monoclonal antibody-based cancer immunotherapy [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2020, 55: 1110-1118.
- [52] Willingham SB, Ho PY, Andrew H, et al. A_{2A} R antagonism with CPI-444 induces antitumor responses and augments efficacy to anti-PD-(L)1 and anti-CTLA-4 in preclinical models [J]. *Cancer Immunol Res*, 2018, 6: 1136-1149.
- [53] Leone RD, Sun IM, Oh MH, et al. Inhibition of the adenosine A_{2A} receptor modulates expression of T cell coinhibitory receptors and improves effector function for enhanced checkpoint blockade and ACT in murine cancer models [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2018, 67: 1271-1284.
- [54] Sitkovsky MV. Lessons from the A_{2A} adenosine receptor antagonist-enabled tumor regression and survival in patients with treatment-refractory renal cell cancer [J]. *Cancer Discov*, 2020, 10: 16-19.
- [55] Borodovsky A, Barbon CM, Wang Y, et al. Small molecule AZD4635 inhibitor of A_{2A} R signaling rescues immune cell function including CD103⁺ dendritic cells enhancing anti-tumor immunity [J]. *J Immuno Ther Cancer*, 2020, 8: e000417.
- [56] Mediavilla-Varela M, Castro J, Chiappori A, et al. A novel antagonist of the immune checkpoint protein adenosine A_{2A} receptor restores tumor-infiltrating lymphocyte activity in the context of the tumor microenvironment [J]. *Neoplasia*, 2017, 19: 530-536.
- [57] Walters MJ, Tan JB, Becker A, et al. Abstract 4572: characterization of the potent and selective A_{2A} R antagonist AB928 for the treatment of cancer [J]. *Cancer Res*, 2017, 77: 4572.
- [58] Drenzo D, Piovesan D, Tan J, et al. Abstract A162: AB928, a dual antagonist of the A_{2A} R and A_{2B} R adenosine receptors, relieves adenosine-mediated immune suppression [J]. *Cancer Immunol Res*, 2019, 7: A162.
- [59] Walters MJ, Piovesan D, Tan J, et al. Abstract 5556: combining adenosine receptor inhibition with AB928 and chemotherapy results in greater immune activation and tumor control [J]. *Cancer Res*, 2018, 78: 5556.
- [60] Powderly J, Spira A, Gutierrez R, et al. 1206P-phase I evaluation of AB928, a novel dual adenosine receptor antagonist, combined with chemotherapy or AB122 (anti-PD-1) in patients (pts) with advanced malignancies [J]. *Ann Oncol*, 2019, 30: 493.
- [61] Yu FZ, Zhu CY, Xie Q, et al. Adenosine A_{2A} receptor antagonists for cancer immunotherapy [J]. *J Med Chem*, 2020, 63: 12196-12212.
- [62] Pirson R, Michaux AC, Jamart D, et al. EOS100850, an A_{2A} receptor antagonist with prolonged pharmacodynamic activity, mediates the generation of specific durable immune responses in a murine breast cancer model [J]. *Cancer Res*, 2019, 79: 4147.
- [63] Houthuys E, Basilico P, Brouwer M, et al. EOS100850, a non-brain penetrant highly selective A_{2A} receptor antagonist, uniquely maintains high potency within the adenosine rich tumor microenvironment [J]. *Cancer Res*, 2019, 79: 3261.
- [64] Fons P, Bell A, Esquerre M, et al. EVOEXS21546 is a novel non-brain penetrant A_{2A} R inhibitor for cancer immunotherapy with accelerated drug development [J]. *Cancer Res*, 2019, 79: 519.
- [65] Payne A, Fons P, Alt I, et al. EXS21546, a non-CNS penetrant A_{2A} R-selective antagonist for anti-cancer immunotherapy [J]. *Cancer Res*, 2021, 81: 1731.
- [66] Merighi S, Borea PA, Varani K, et al. A_{2A} adenosine receptor antagonists in neurodegenerative diseases [J]. *Curr Med Chem*, 2021. DOI: 10.2174/092986732866621129122550.
- [67] Yang R, Elsaadi S, Misund K, et al. Conversion of ATP to adenosine by CD39 and CD73 in multiple myeloma can be successfully targeted together with adenosine receptor A_{2A} blockade [J]. *J Immunother Cancer*, 2020, 8: e000610.
- [68] Waickman AT, Alme A, Senaldi L, et al. Enhancement of tumor immunotherapy by deletion of the A_{2A} adenosine receptor [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2012, 61: 917-926.
- [69] Beavis PA, Milenkovski N, Henderson MA, et al. Adenosine receptor 2A blockade increases the efficacy of anti-PD-1 through enhanced antitumor T-cell responses [J]. *Cancer Immunol Res*, 2015, 3: 506-517.
- [70] Iannone R, Miele L, Maiolino P, et al. Adenosine limits the therapeutic effectiveness of anti-CTLA4 mAb in a mouse melanoma model [J]. *Am J Cancer Res*, 2014, 4: 172-181.
- [71] Mittal D, Yong A, Stannard K, et al. Antimetastatic effects of blocking PD-1 and the adenosine A_{2A} receptor [J]. *Cancer Res*, 2014, 74: 3652-3658.
- [72] Loi S, Pommey S, Haibe-kains B, et al. CD73 promotes anthracycline resistance and poor prognosis in triple negative breast cancer [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110: 11091-11096.
- [73] Fredholm BB, Cunha RA, Svenningsson P. Pharmacology of adenosine A_{2A} receptors and therapeutic applications [J]. *Curr Top Med Chem*, 2003, 3: 413-426.
- [74] Guerrero A. A_{2A} adenosine receptor agonists and their potential therapeutic applications. An update [J]. *Curr Med Chem*, 2018, 25: 3597-3612.
- [75] Borea PA, Varani K, Vincenzi F, et al. The A_3 adenosine receptor: history and perspectives [J]. *Pharmacol Rev*, 2015, 67: 74-102.
- [76] Joana S, Carmen D. The adenosinergic system as a therapeutic target in the vasculature: new ligands and challenges [J]. *Molecules*, 2017, 22: 752-779.
- [77] Berwick ZC, Payne GA, Lynch B, et al. Contribution of adenosine A_{2A} and A_{2B} receptors to ischemic coronary dilation: role of K_V and K_{ATP} channels [J]. *Microcirculation*, 2010, 17: 600-607.
- [78] Salgado-Garcia C, Jimenez-Heffernan A, Lopez-Martin J, et al.

- Influence of body mass index and type of low-level exercise on the side effect profile of regadenoson [J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2017, 44: 1906-1914.
- [79] Johnson SG, Peters S. Advances in pharmacologic stress agents: focus on regadenoson [J]. *J Nucl Med Technol*, 2010, 38: 163-171.
- [80] Rabadi MM, Lee HT. Adenosine receptors and renal ischaemia reperfusion injury [J]. *Acta Physiol (Oxf)*, 2015, 213: 222-231.
- [81] Perruzza L, Gargari G, Proietti M, et al. T follicular helper cells promote a beneficial gut ecosystem for host metabolic homeostasis by sensing microbiota-derived extracellular ATP [J]. *Cell Rep*, 2017, 18: 2566-2575.
- [82] Kurtz CC, Drygiannakis I, Naganuma M, et al. Extracellular adenosine regulates colitis through effects on lymphoid and nonlymphoid cells [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2014, 307: 338-346.
- [83] Fozard JR, Ellis KM, Dantas M, et al. Effects of CGS21680, a selective adenosine A_{2A} receptor agonist, on allergic airways inflammation in the rat [J]. *Eur J Pharmacol*, 2002, 438: 183-188.
- [84] Wang D, Wang J, Zhou J, et al. The role of adenosine receptor A_{2A} in the regulation of macrophage exosomes and vascular endothelial cells during bone healing [J]. *J Inflamm Res*, 2021, 14: 4001-4017.
- [85] Castro CM, Corciulo C, Friedman B, et al. Adenosine A_{2A} receptor null chondrocyte transcriptome resembles that of human osteoarthritic chondrocytes [J]. *Purinergic Signal*, 2021, 17: 439-448.
- [86] Cunha RA. How does adenosine control neuronal dysfunction and neurodegeneration? [J]. *J Neurochem*, 2016, 139: 1019-1055.
- [87] Gessi S, Poloni TE, Negro G, et al. A_{2A} adenosine receptor as a potential biomarker and a possible therapeutic target in Alzheimer's disease [J]. *Cells*, 2021, 10: 2334-2349.
- [88] Aoyama S, Kase H, Borrelli E. Rescue of locomotor impairment in dopamine D2 receptor deficient mice by an adenosine A_{2A} receptor antagonist [J]. *J Neurosci*, 2000, 20: 5848-5852.
- [89] Blum D, Chern Y, Domenici MR, et al. The role of adenosine tone and adenosine receptors in Huntington's disease [J]. *J Caffeine Adenosine Res*, 2018, 8: 43-58.
- [90] Rafael F, Gemma N. Adenosine A_{2A} receptor antagonists in neurodegenerative diseases: huge potential and huge challenges [J]. *Front Psychiatry*, 2018, 9: 68.
- [91] Kim DG, Bynoe MS. A_{2A} adenosine receptor regulates the human blood-brain barrier permeability [J]. *Mol Neurobiol*, 2015, 52: 664-678.
- [92] Yan WL, Lang TQ, Yin Q, et al. Progress on active tumor-targeting nano drug delivery systems for improving tumor immunotherapy [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2022, 57: 46-63.
- [93] Newton HS, Chimote AA, Arnold MJ, et al. Targeted knock-down of the adenosine A_{2A} receptor by lipid NPs rescues the chemotaxis of head and neck cancer memory T cells [J]. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2021, 21: 133-143.
- [94] Sitkovsky MV. Sufficient numbers of anti-tumor T cells is a condition of maximal efficacy of anti-hypoxia-A₂-adenosinergic drugs during cancer immunotherapy [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2020, 53: 98-100.
- [95] Giuffrida L, Sek K, Henderson MA, et al. CRISPR/Cas9 mediated deletion of the adenosine A_{2A} receptor enhances CAR T cell efficacy [J]. *Nat Commun*, 2021, 12: 3236.