

论著·基础研究

靶向髓源性抑制细胞的叶酸循环增强肿瘤免疫治疗效果研究

何蕊, 颜克鹏, 王静

上海交通大学基础医学院免疫学与微生物学系, 上海市免疫学研究所, 上海 200025

[摘要] **目的**·探究叶酸循环代谢对髓源性抑制细胞 (myeloid-derived suppressor cells, MDSCs) 免疫抑制作用的调控机制。**方法**·在C57BL/6小鼠骨髓细胞的培养体系中加入细胞因子粒细胞集落刺激因子 (granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF) 和白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6), 体外诱导MDSCs。利用流式细胞仪检测诱导MDSCs的程序性死亡受体配体1 (programmed death-ligand 1, PD-L1) 表达水平和活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的产生水平。采用磁珠分选出小鼠脾脏CD8⁺T细胞并用Celltrace violet或CFSE标记, 再与MDSCs共培养, 72 h后用流式细胞术检测CD8⁺T细胞增殖情况。通过实时荧光定量聚合酶链反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qPCR) 检测MDSCs中叶酸循环相关代谢酶的表达水平。采用叶酸循环代谢酶亚甲基四氢叶酸脱氢酶2 (methylenetetrahydrofolate dehydrogenase 2, MTHFD2) 抑制剂DS18561882 (DS18) 和叶酸拮抗剂培美曲塞 (Pemetrexed) 处理MDSCs, 并用流式分析检测MDSCs产生ROS和线粒体ROS的水平。将DS18或培美曲塞处理后的MDSCs与磁珠分选出来并用Celltrace violet或CFSE标记的CD8⁺T细胞共培养, 72 h后用流式细胞术检测CD8⁺T细胞增殖情况。利用RNA测序 (RNA-seq) 检测DS18和培美曲塞处理后MDSCs在转录组水平的变化。建立小鼠结肠癌 (mouse colon cancer cells, MC38) 和Lewis肺癌 (Lewis lung carcinoma, LLC) 皮下瘤模型。造模后第10天开始, 采用Isotype抗体、抗CD8单抗 (1 mg/kg, 清除CD8⁺T细胞)、培美曲塞以及抗CD8单抗联合培美曲塞处理MC38荷瘤小鼠; 利用Isotype抗体、抗Gr1单抗 (1.25 mg/kg, 清除MDSCs)、培美曲塞以及抗Gr1单抗联合培美曲塞处理MC38荷瘤小鼠; 分别给予MC38和LLC荷瘤小鼠培美曲塞 (50 mg/kg)、抗PD-1单抗 (250 µg/kg) 以及培美曲塞联用抗PD-1单抗治疗; 第14天收集小鼠肿瘤组织, 记录肿瘤大小, 绘制肿瘤生长曲线。**结果**·流式结果显示诱导后的骨髓细胞PD-L1的表达升高, ROS的产生也增加, 且明显抑制CD8⁺T细胞的增殖。qPCR结果显示MDSCs中叶酸循环相关代谢酶MTHFD2等表达升高。给予DS18和培美曲塞处理MDSCs会影响MDSCs的累积, 抑制MDSCs的ROS产生, 并解除对CD8⁺T细胞的免疫抑制。RNA-seq结果表明2种叶酸循环抑制剂处理后, 与MDSCs分化相关基因S100钙结合蛋白a8 (S100 calcium binding protein a8, *S100a8*) 等下调, 与MDSCs抑制功能相关基因如与ROS产生有关的基因细胞色素b-245β链 (cytochrome b-245 beta chain, *Cybb*) 等也有所下调。与对照组相比, 培美曲塞处理组的小鼠肿瘤生长明显受到抑制。与培美曲塞处理组相比, 抗CD8单抗联合培美曲塞处理组肿瘤进展加剧; 与抗CD8单抗处理组相比, 抗CD8单抗联合培美曲塞处理组肿瘤进展受到限制。清除MDSCs能显著抑制肿瘤生长, 然而在清除MDSCs的荷瘤小鼠中, 培美曲塞的抗肿瘤作用显著低于培美曲塞单独处理的小鼠。与抗PD-1抗体单独治疗相比, 培美曲塞联用抗PD-1抗体治疗组的肿瘤生长限制更为显著。**结论**·培美曲塞依赖CD8⁺T细胞发挥抗肿瘤作用, 并通过重编程MDSCs为抗肿瘤表型, 进一步阻碍肿瘤生长。通过调控MDSCs叶酸循环阻断其免疫抑制能力, 可增强免疫检查点阻断剂治疗肿瘤效果。

[关键词] 髓源性抑制细胞; 叶酸循环; 亚甲基四氢叶酸脱氢酶2; 培美曲塞; 肿瘤免疫治疗**[DOI]** 10.3969/j.issn.1674-8115.2024.08.010 **[中图分类号]** R73-3 **[文献标志码]** A

Targeting folate cycle enhances effects of cancer immunotherapy by modulating myeloid-derived suppressor cells

HE Rui, YAN Kepeng, WANG Jing

Shanghai Institute of Immunology, Department of Immunology and Microbiology, Shanghai Jiao Tong University College of Basic Medical Sciences, Shanghai 200025, China

[基金项目] 国家自然科学基金 (31872737)。**[作者简介]** 何蕊 (1994—), 女, 硕士生; 电子信箱: rui_he0721@163.com。**[通信作者]** 王静, 电子信箱: jingwang@shsmu.edu.cn。**[Funding Information]** National Natural Science Foundation of China (31872737)。**[Corresponding Author]** WANG Jing, E-mail: jingwang@shsmu.edu.cn。**[网络首发]** <https://link.cnki.net/urlid/31.2045.R.20240621.0711.002> (2024-06-21 15:17:16)。

[Abstract] Objective To explore the regulatory mechanism of folate cycle metabolism in the immunosuppressive effect of myeloid derived suppressor cells (MDSCs). **Methods** Bone marrow cells were isolated from C57BL/6 mice and cultured in RPMI 1640 medium supplemented with GM-CSF, G-CSF, and IL-6 to induce MDSCs *in vitro*. PD-L1 expression level and ROS production level of induced MDSCs were detected by flow cytometry. CD8⁺ T cells were enriched from the spleen by MACS with anti-CD8a-conjugated microbeads, labeled with Celltrace violet, and then co-cultured with MDSCs. After 72 h, proliferation was assessed by flow cytometry. Folate cycle-related metabolic enzymes in MDSCs were detected by real-time quantitative PCR. MDSCs were treated with folate cycle metabolic enzyme MTHFD2 inhibitor DS18561882 (DS18) and folic acid antagonist Pemetrexed. ROS and mitoROS production in MDSCs were assessed by flow cytometry. CD8⁺ T cells were enriched from the spleen by MACS with anti-CD8a-conjugated microbeads, labeled with Celltrace violet, and then co-cultured with Pemetrexed or DS18-treated MDSCs. After 72 h, proliferation was assessed by flow cytometry. Transcript levels of folate cycle-related metabolic enzymes in pemetrexed or DS18-treated MDSCs were detected by RNAseq. A subcutaneous tumor mouse model of colon cancer was established. From the tenth day post-implantation, tumor-bearing mice were intraperitoneally injected with Pemetrexed (200 mg/kg) and tumor size was recorded for tumor growth curve. On the fourteenth day, mice were sacrificed, and tumors were harvested. MC38 tumor-bearing mice were treated with isotype antibody, anti-CD8 monoclonal antibody (1 mg/kg, deplete CD8⁺ T cells), Pemetrexed (200 mg/kg), and combination of Pemetrexed with anti-CD8 antibody. MC38 tumor-bearing mice were treated with isotype antibody, anti-Gr1 monoclonal antibody (1.25 mg/kg, clearing MDSCs), combination of Pemetrexed with anti-Gr1 antibody. On the tenth day after implantation, tumor-bearing mice were treated with Pemetrexed (50 mg/kg), anti-PD-1 monoclonal antibody (250 µg/kg), Pemetrexed, and combination of Pemetrexed with anti-PD-1 antibody. **Results** Flow cytometry data showed that PD-L1 level and ROS production were increased in induced MDSCs, and CD8⁺ T cell proliferation was also suppressed significantly. qPCR data revealed the expression of folate cycle-related metabolic enzymes MTHFD2 and others was increased in MDSCs. The accumulation of MDSCs was affected by DS18 or Pemetrexed, ROS production in MDSCs was reduced, and the immunosuppression of CD8⁺ T cells was relieved. RNA-seq results showed that genes related to MDSCs differentiation, such as S100 calc-binding protein A8, and genes related to MDSCs inhibition, such as cytochrome b-245β chain, which is related to ROS production, were also down-regulated after treatment with two folic acid cycling inhibitors. Tumor growth was suppressed by Pemetrexed. Tumor progression was promoted by combination of Pemetrexed with anti-CD8 antibody, compared with Pemetrexed monotherapy. However, tumor growth delay was inhibited by combination of Pemetrexed and anti-CD8, compared with anti-CD8 monotherapy. Tumor growth delay was caused by MDSCs depletion. But tumor growth was promoted by combination of pemetrexed and anti-Gr1, compared with pemetrexed monotherapy. Tumor growth was restricted by combination of pemetrexed and anti-PD-1 antibody, compared with anti-PD-1 monotherapy. **Conclusion** Pemetrexed relies on CD8⁺ T cells for anti-tumor effects and further retards tumor growth by reprogramming MDSCs to an anti-tumor phenotype. Modulating MDSCs by targeting folate cycle could impair their immunosuppressive ability and enhance the efficacy of immune checkpoint blockade in cancer treatment.

[Key words] myeloid-derived suppressor cells (MDSCs); folate cycle; methylenetetrahydrofolate dehydrogenase 2 (MTHFD2); pemetrexed; cancer immunotherapy

在先天免疫反应中, 髓系细胞发挥着重要的作用。健康个体中未成熟髓系细胞代表着不具有免疫抑制性的祖细胞。然而, 癌症、慢性感染以及自身免疫性疾病等慢性炎症会影响未成熟髓系细胞分化, 诱导具有强免疫抑制模式和功能的髓系细胞积累^[1]。这群来源于骨髓祖细胞和未成熟髓系细胞且具有异质性和免疫抑制功能的细胞, 称为髓源性抑制细胞 (myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)。小鼠 MDSCs 被定义为 CD11b⁺ Gr1⁺。

许多研究表明这些 MDSCs 在癌症、慢性感染、败血症以及自身免疫等病理条件下发挥免疫负调节的作用^[2]。MDSCs 最重要的特征是抑制 CD8⁺ T 细胞发挥免疫功能, 在肿瘤进程中起到免疫负向调控的作用; 在癌症和炎症条件下, MDSCs 诱导调节性 T 细胞 (regulatory T cell, Treg) 的扩增^[3]。由于高表达免疫检查点分子、消耗代谢物、促进其他免疫抑制细

胞群的功能、产生大量氧自由基等特点, MDSCs 具有抑制免疫系统的强大机制。

近年来, 一碳代谢在肿瘤中的重要性和功能引起了研究者的浓厚兴趣。一碳单位是仅含有一个碳原子的有机基团, 如甲基、甲烯基、甲炔基、甲酰基等; 而一碳代谢是一碳单位在生物体内生成与转移利用的过程。一碳代谢为细胞提供大量的一碳单位, 在维持细胞核苷酸的合成、氨基酸的稳态和表观遗传的稳定方面起重要作用。糖代谢、脂代谢等对 MDSCs 的调控作用的研究较多, 但叶酸循环代谢参与调控 MDSCs 的研究还未见报道。MDSCs 的免疫抑制对肿瘤免疫治疗有很大的阻碍作用。靶向 MDSCs 提高肿瘤免疫疗效已成为肿瘤免疫治疗的趋势, 完善 MDSCs 的免疫抑制机制有助于寻找新的治疗靶点。MDSCs 代谢对 MDSCs 的免疫抑制起到至关重要的作用, 重编程 MDSCs 是提高肿瘤免疫疗效的有效策略。

本研究通过使用亚甲基四氢叶酸脱氢酶 2 (methylenetetrahydrofolate dehydrogenase 2, MTHFD2) 抑制剂 DS18561882 和具有多靶点的小分子药物培美曲塞靶向 MDSCs 的叶酸循环代谢通路,探究叶酸循环对 MDSCs 免疫抑制作用的影响,通过细胞实验和荷瘤小鼠模型解析叶酸循环抑制剂对 MDSCs 分化和抑制功能的调控作用,并探讨靶向叶酸代谢通路联合免疫检查点阻断剂对肿瘤免疫疗效的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 小鼠为 C57BL/6 品系,小鼠繁育均在上海交通大学医学院无特定病原体 (special pathogen free, SPF) 级屏障设施中进行。

1.1.2 试剂和仪器 PBS (pH7.4) 缓冲液和 ACK Lysing Buffer 购自美国 Gibco; RPMI1640 培养基、DMEM 培养基购自美国 Hyclone; 胎牛血清、青霉素/链霉素购自爱必信 (上海) 生物科技有限公司; 无水乙醇、三氯甲烷、异丙醇购自中国医药集团有限公司; 牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA) 购自德国 BioFROXX 公司; HBSS 缓冲液 (含钙镁) 购自北京索莱宝科技有限公司; 0.5 mol/L EDTA (pH8.0)、TRIzol 购自美国 Thermo; Collagenase IV 购自瑞士 Rache; DNase I 购自德国 Sigma; DEPC water 购自上海碧云天生物技术股份有限公司; AceQ® Universal SYBR qPCR Master Mix 购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司; 荧光标记抗体包括抗小鼠 CD11b-APC (cat 101212)、抗小鼠 Ly6g-PB (cat 127612)、抗小鼠 Ly6c-APC-Cyanine7 (cat 128026)、抗小鼠 CD274-PE (cat 124308) 和抗小鼠 CD45-Percp (cat 103130) 以及 Zombie 死活染料 (cat 423101) 和 Fc block (cat 101320) 购自美国 BioLegend 公司; 重组小鼠粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF) (cat 315-03)、重组小鼠粒细胞集落刺激因子 (G-CSF) (cat 250-05) 和重组小鼠白细胞介素 -6 (IL-6) (cat 216-16) 购自美国 Peprotech 公司; DS18561882 购自美国 MedChemexpress 公司; 培美曲塞购自上海陶素生化科技有限公司; NAC 购自美国 Selleck 公司; 小鼠 CD8a (Ly-2) 磁珠试剂盒购自德国 Miltenyi 公司; 小鼠抗 CD3 抗体 (Cat 16-0032-82)、抗 CD28 抗体 (cat 16-0281-82)、总活性

氧簇检测试剂盒 (cat 88-5930-74)、MitoSOX™ 线粒体超氧化物指示剂 (cat M36005)、CFSE 细胞增殖试剂盒 (cat C34570)、CellTrace™ Violet 细胞增殖试剂盒 (cat C34557) 购自美国 Thermo; 抗 CD8 单抗、抗 Gr1 单抗和抗 PD-1 单抗购自美国 Bioxcell 公司。主要仪器: ThermoFisher 培养箱, Eppendorf Centrifuge 5810R 离心机, BD Canto II 流式细胞仪, BD FACS Aria III 流式分选仪, BIORAD CFX384 Touch qRT-PCR 仪。

1.2 实验方法

1.2.1 体外诱导 MDSCs 以及 DS18 和培美曲塞处理 在 RPMI 完全培养基中加入 120 ng/mL GM-CSF、120 ng/mL G-CSF 和 20 ng/mL IL-6, 按照每毫升 1×10^6 个小鼠骨髓细胞的密度, 将 RPMI 完全培养基铺至培养皿中, 置于 37 °C 的 CO₂ 培养箱, 培养 4 d^[4]。在上述培养体系中额外加入 3 μmol/L DS18 或者培美曲塞, 置于 37 °C 的 CO₂ 培养箱, 培养 4 d。

1.2.2 RNA 提取 在诱导的细胞 (2×10^6) 中加入 1 mL TRIzol 裂解, 加入 200 μL 氯仿 (三氯甲烷) 剧烈震荡 1 min, 冰上静置 10 min, 离心后缓慢吸取上清, 约 400 μL, 置于新的 1.5 mL RNase-free EP 管中, 加入等体积的异丙醇, 上下颠倒混匀, 冰上静置 30 min, 离心后可见白色沉淀, 加入 950 μL 75% 乙醇洗涤离心后弃上清, 每个样品加 30 μL DEPC 水溶解, 吹打溶解 RNA。

1.2.3 反转录及实时定量 PCR TRIzol 法抽提细胞总 RNA, 用 5×HiScript II qRT SuperMix II 将 RNA 反转录为 cDNA, 利用 AceQ® Universal SYBR qPCR Master Mix 进行实时定量 PCR 反应 (表 1)。

1.2.4 CD8⁺ T 细胞增殖抑制 实验前 1 d 在 96 孔板中加入 100 μL 抗体稀释液 (用 PBS 稀释抗体, 终浓度为 5 μg/mL anti-CD3 和 2 μg/mL anti-CD28), 4 °C 静置过夜。采用 CD8a (Ly-2) MicroBeads 磁选出 CD8⁺ T 细胞。吸净包被的抗体稀释液, 按照计数用 RPMI 完全培养基稀释 CD8⁺ T 细胞, 每 100 μL 含有 2×10^5 个 CD8⁺ T 细胞, 再将 MDSCs 和 CD8⁺ T 细胞按照 1 : 8 的比例共培养于 96 孔圆底板, 培养体系补液至 200 μL, 置于 37 °C 的 CO₂ 培养箱, 培养 72 h。

1.2.5 检测 MDSCs 的活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 水平 在收集的 MDSCs 中加入 ROS 稀释液 (RPMI 基培稀释至 5 μmol/L), 置于 37 °C 避

表1 实时定量PCR引物信息

Tab1 Primers information of qPCR

Primer	Forward sequence (5'→3')	Reverse sequence (5'→3')
<i>Aldh1l1</i>	CAGGAGGTTTACTGCCAGCTA	CACGTTGAGTTCTGCACCCA
<i>Dhfr</i>	CGCTCAGGAACGAGTTCAAGT	TGCCAATTCGGTTGTCAATA
<i>Gapdh</i>	AGGTCGGTGTGAACGGATTG	TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA
<i>Mthfd1</i>	GGAATCCTGAACGGGAAACT	TGAGTGGCTTTGATCCCAATC
<i>Mthfd2</i>	AGTGCGAAATGAAGCCGTTG	GACTGGCGGGATTGTCACC
<i>Shmt1</i>	CAGGGCTCTGTCTGATGCAC	CGTAACGCGCTCTTGTGAC
<i>Shmt2</i>	TGGCAAGAGATACTACGGAGG	GCAGGTCCAACCCCATGAT

光孵育 30 min，待后续流式染色后，上机检测。

1.2.6 检测 MDSCs 的 MitoROS 水平 在收集的 MDSCs 中加入 MitoROS 稀释液（用含 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 的 HBSS 缓冲液稀释至 $5\ \mu\text{mol/L}$ ），置于 $37\ ^\circ\text{C}$ 避光孵育 10 min，待后续流式染色后，上机检测。

1.2.7 流式染色 取 1×10^7 个细胞过滤至流式管内，先用 $100\ \mu\text{L}$ zombie 死活染料稀释液（ $500\times$ ，用 PBS 稀释）加至细胞中，室温孵育 30 min；加 1 mL PBS 清洗， $400\times g$ 离心后弃上清；再用 $100\ \mu\text{L}$ Fcblock 稀释液（ $500\times$ ，用 FACS Buffer 稀释）孵育 15 min， $4\ ^\circ\text{C}$ ；加 1 mL FACS Buffer 清洗， $400\times g$ 离心后弃上清；最后在细胞中加入 $100\ \mu\text{L}$ 抗体稀释液（ $200\times$ ，用 FACS Buffer 稀释）染色， $4\ ^\circ\text{C}$ 孵育 30 min，加 1 mL FACS Buffer 清洗， $400\times g$ 离心后弃上清，加 $200\ \mu\text{L}$ FACS Buffer 重悬细胞，流式上机检测。

1.2.8 建立荷瘤小鼠模型 小鼠皮下注射 $100\ \mu\text{L}$ 2×10^5 个 MC38 或 LLC 肿瘤细胞，第 10 天起每隔 1 d 记录肿瘤最长径（ a ）和最短径（ b ），绘制肿瘤生长曲线。肿瘤体积（ V ）计算公式为 $V=0.5\times a\times b^2$ 。

1.2.9 荷瘤小鼠处理 培美曲塞单独处理组：小鼠肿瘤模型建立第 10 天起，每天给予荷瘤小鼠腹腔注射培美曲塞（ $200\ \text{mg/kg}$ ），连续给药 5 d。抗 CD8 单抗处理组：小鼠肿瘤模型建立第 10 天起，隔天给予荷瘤小鼠腹腔注射抗 CD8 单抗（ $1\ \text{mg/kg}$ ），直至模型建立第 21 天。培美曲塞联合抗 CD8 单抗处理组：小鼠肿瘤模型建立第 10 天起，每天给予荷瘤小鼠腹腔注射培美曲塞（ $200\ \text{mg/kg}$ ），隔天给予荷瘤小鼠腹腔注射抗 CD8 单抗（ $10\ \text{mg/kg}$ ），直至模型建立第 21 天。抗 Gr1 单抗处理组：小鼠肿瘤模型建立第 10 天起，隔天给予荷瘤小鼠腹腔注射抗 Gr1 单抗（ $12.5\ \text{mg/kg}$ ），直至模型建立第 21 天。培美曲塞联合抗 Gr1 单抗处理组：小鼠肿瘤模型建立第 10 天起，每天给予荷瘤小鼠腹腔注射培美曲塞（ $200\ \text{mg/kg}$ ），隔

天给予荷瘤小鼠腹腔注射抗 Gr1 单抗（ $12.5\ \text{mg/kg}$ ），直至模型建立第 21 天。抗 PD-1 单抗处理组：小鼠肿瘤模型建立第 10 天起，隔天给予荷瘤小鼠腹腔注射抗 PD-1 单抗（ $2.5\ \text{mg/kg}$ ），直至模型建立第 21 天。培美曲塞联合抗 PD-1 单抗处理组：小鼠肿瘤模型建立第 10 天起，每天给予荷瘤小鼠腹腔注射培美曲塞（ $200\ \text{mg/kg}$ ），隔天给予荷瘤小鼠腹腔注射抗 PD-1 单抗（ $2.5\ \text{mg/kg}$ ），直至模型建立第 21 天。绘制各组肿瘤生长曲线。

1.3 数据分析

流式数据均使用 Flowjo10 软件分析，利用 Graphpad prism8 软件进行统计分析， $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。RNA-seq 数据利用 DESeq2 软件进行标准化处理，计算差异倍数，并采用 NB（负二项分布检验的方式）进行差异显著性检验，最终根据差异倍数及差异显著性检验结果来筛选差异蛋白编码基因。筛选差异的条件为 $q<0.05$ 且差异倍数（foldChange） >1.2 或 <0.4 。

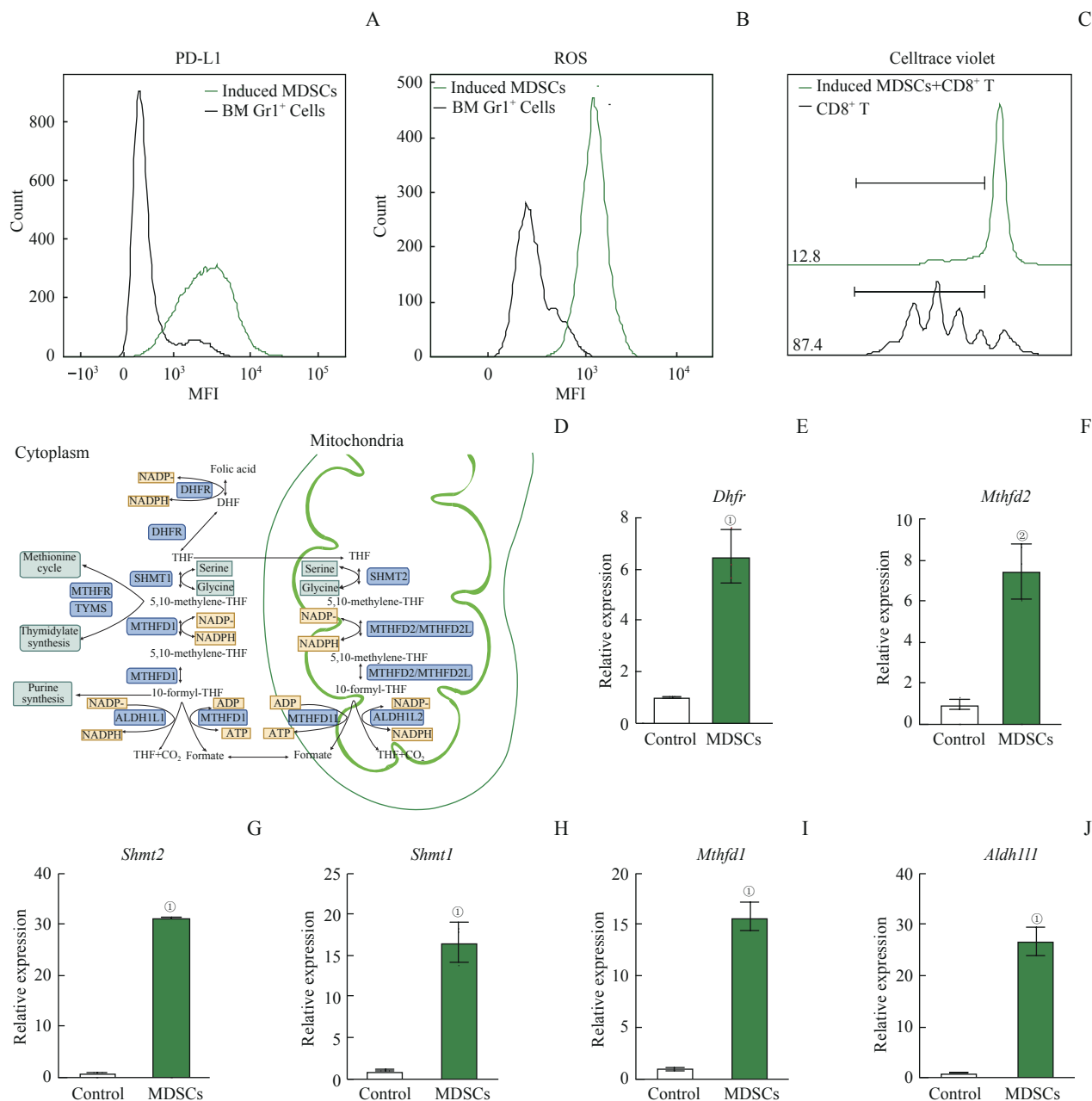
2 结果

2.1 体外诱导 MDSCs 高表达叶酸循环通路相关代谢酶

建立体外诱导 MDSCs 体系，使用含有 GM-CSF、G-CSF 以及 IL-6 细胞因子的 RPMI 完全培养基培养 C57BL/6 小鼠骨髓细胞，4 d 后利用流式细胞术检测诱导的细胞 PD-L1 和 ROS 的水平。经诱导后，骨髓细胞的 PD-L1 表达量升高，ROS 的产生量也增加，如图 1A、B 所示。在肿瘤微环境中，MDSCs 高表达 PD-L1，通过 PD-L1/PD-1 轴作用于 CD8^+ T 细胞，抑制 T 细胞介导的抗肿瘤免疫应答。MDSCs 释放 ROS 是抑制 T 细胞反应的主要机制之一^[5-6]。为了验证诱

诱导的MDSCs对CD8⁺T细胞的抑制作用,将诱导的细胞和磁选纯化且violet染料标记的CD8⁺T细胞共培养,72 h后利用流式细胞术检测CD8⁺T细胞增殖情况。结果显示体外诱导的细胞具有明显抑制CD8⁺T细胞增殖的作用,如图1C所示,即成功建立体外诱导MDSCs体系。为了探究叶酸循环对MDSCs抑制功能的影响,利用qRT-PCR检测参与叶酸循环通路的代谢酶在MDSCs中的表达情况。细胞的一碳单位代谢发生在胞

质区和线粒体^[7],如图1D所示。结果显示不管是胞质内还是线粒体内,MDSCs叶酸循环通路关键代谢酶的表达都有明显的升高,如图1E~J所示。其中,MTHFD2在嘌呤或胸苷生物合成的一碳单位代谢中起到关键作用。肿瘤细胞中MTHFD2高度表达与血液和实体恶性肿瘤的不良预后呈正相关,抑制MTHFD2会减少肿瘤细胞的增殖、侵袭、迁移并诱导肿瘤细胞死亡,从而抑制多种恶性肿瘤的进展^[8]。



Note: A. Expression of PD-L1 in *in vitro* induced MDSCs detected by flow cytometry. B. ROS levels of *in vitro* induced MDSCs detected by flow cytometry. C. CD8⁺T cells proliferation was assessed by flow cytometry. D. One-carbon unit metabolic pathway. E–J. RNA levels of folate cycle-related metabolic enzymes [*Dhfr* (E), *Mthfd2* (F), *Shmt2* (G), *Shmt1* (H), *Mthfd1* (I), and *Aldh1l1* (J)] in induced MDSCs detected by qRT-PCR. ①*P*=0.000, ②*P*=0.001, compared with the control group.

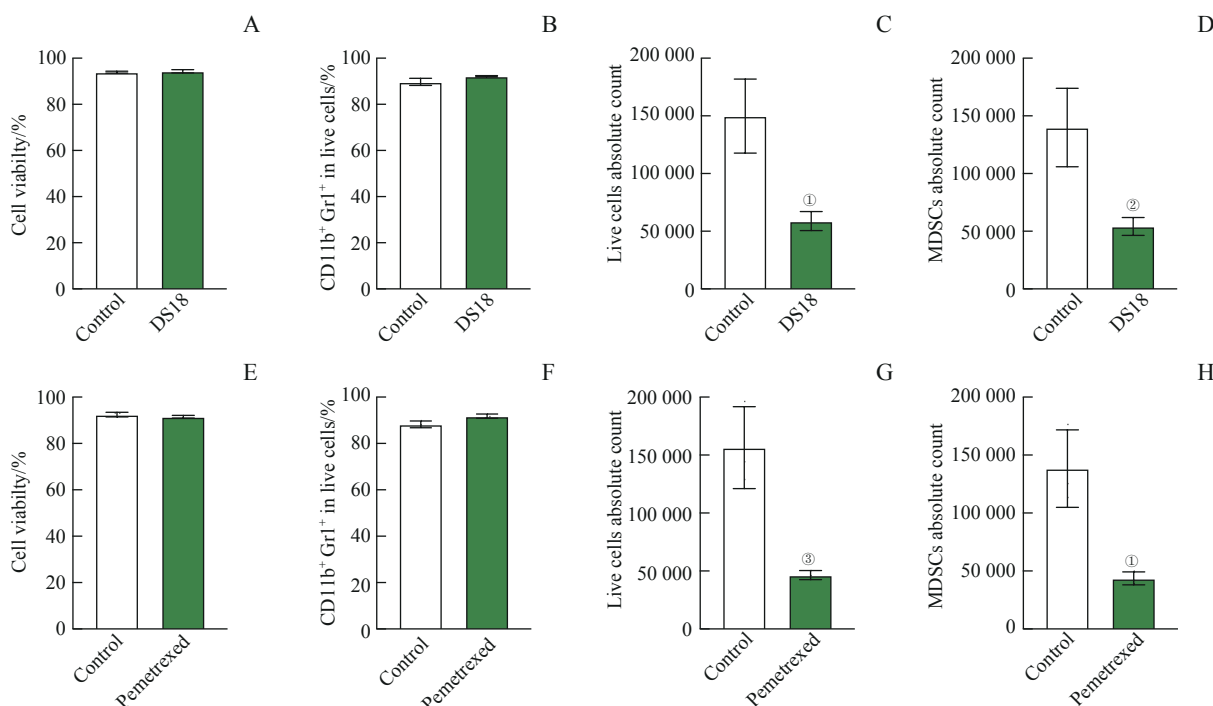
图1 体外诱导MDSCs高表达叶酸循环通路相关代谢酶

Fig 1 Expression of folate cycle-related metabolic enzymes in induced MDSCs *in vitro*

2.2 靶向叶酸循环抑制MDSCs的存活

为了探究叶酸循环对MDSCs免疫抑制作用的影响,在MDSCs的体外诱导体系中分别加入叶酸循环代谢酶MTHFD2抑制剂(DS18561882,以下简称DS18)和叶酸拮抗剂培美曲塞,利用流式细胞术检测体外诱导的细胞活率以及活细胞占比。结果显示:与正常诱导的MDSCs细胞相比,加入DS18处理后的MDSCs细胞活率以及活细胞的比例并未受到影响,见图2A、B;但是受DS18处理后,诱导后的细胞总数以及MDSCs的数量减少,见图2C、D。以上结果

说明抑制MTHFD2能够抑制骨髓细胞向MDSCs的诱导。与正常诱导的MDSCs相比,加培美曲塞处理后的MDSCs细胞活率以及活细胞的比例并未受到影响,如图2E、F;但从MDSCs的绝对计数来看,培美曲塞也影响了MDSCs的存活,如图2G~H。培美曲塞作为非小细胞肺癌的临床药物,已经被证实以DHFR、TS为靶点从而影响癌细胞的核苷酸代谢^[9]。但是培美曲塞对肿瘤微环境中免疫细胞的作用尚不清楚,有研究认为培美曲塞会增加肿瘤中CD8⁺T细胞的数量,并依赖CD8⁺T细胞发挥抗肿瘤作用^[8]。



Note: A/E. Cell viability of bone marrow cells treated with DS18 (A) or Pemetrexed (E) detected by flow cytometry. B/F. Percentages of CD11b⁺ Gr1⁺ cells treated with DS18 (B) or Pemetrexed (F). C/G. Absolute count of live cells treated with DS18 (C) or Pemetrexed (G). D/H. Absolute count of MDSCs treated with DS18 (D) or Pemetrexed (H). ^① $P=0.008$, ^② $P=0.013$, ^③ $P=0.005$, compared with the control group.

图2 靶向叶酸循环抑制MDSCs的分化

Fig 2 Targeting folate cycle inhibits differentiation of MDSCs

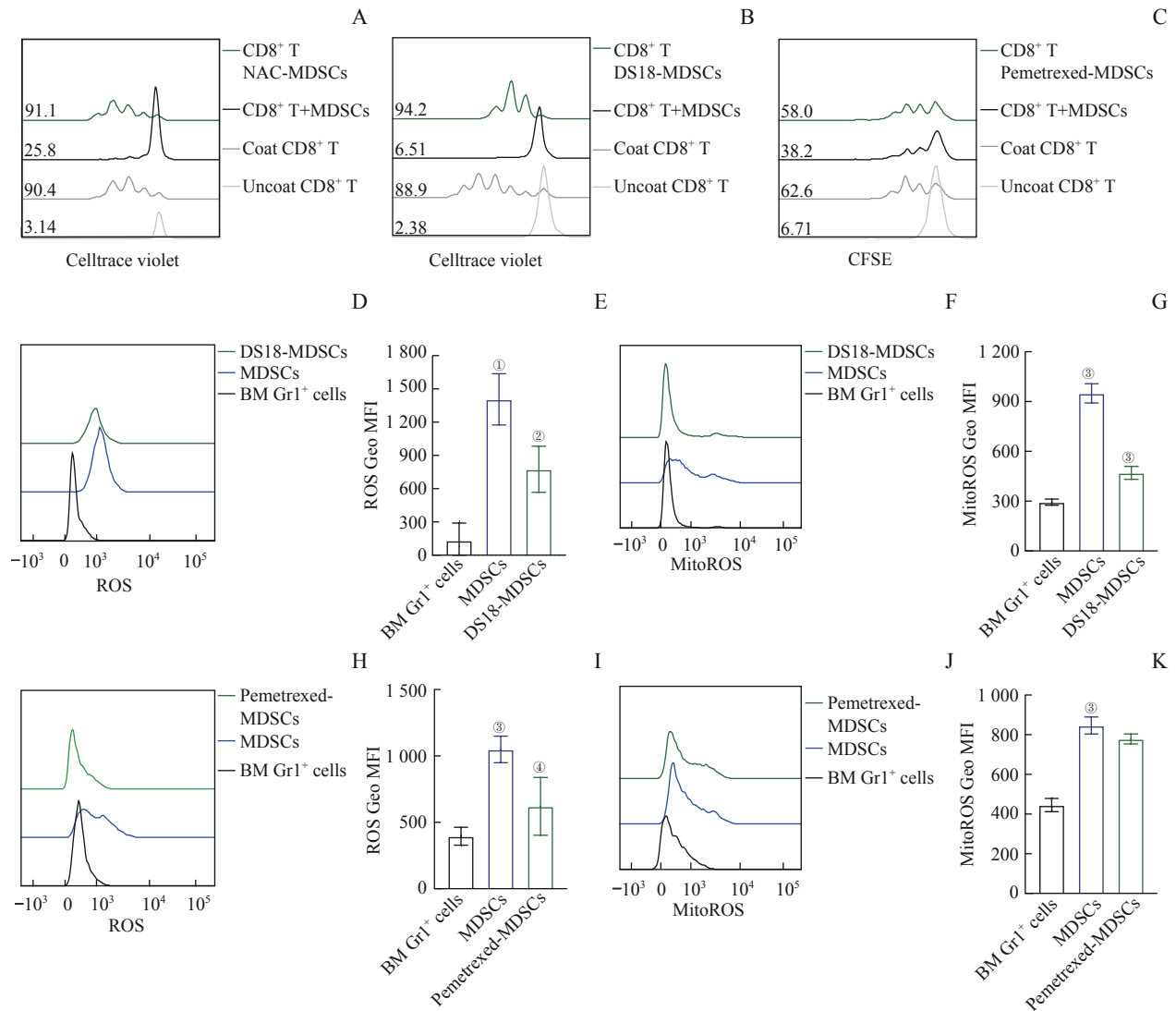
2.3 靶向叶酸循环解除MDSCs的免疫抑制功能

MDSCs抑制CD8⁺T细胞的作用机制主要通过ROS等^[10]。在前面的研究中我们也证实正常诱导的MDSCs抑制CD8⁺T细胞增殖,如图1C。在共培养的体系中加入ROS的清除剂NAC,结果显示NAC处理组恢复了CD8⁺T细胞的正常增殖,如图3A。以上结果提示清除共培养体系中的ROS会解除MDSCs对CD8⁺T细胞增殖的抑制作用。将DS18处理的MDSCs和Celltrace violet标记的CD8⁺T共培养,72 h后流式检测CD8⁺T细胞增殖。与对照组相比,DS18

处理后的MDSCs对CD8⁺T细胞增殖的抑制作用明显降低,如图3B。流式检测对照组和DS18处理组MDSCs的细胞总ROS和线粒体ROS产生情况,结果显示DS18抑制MDSCs的ROS和线粒体ROS产生,如图3D~G。综上所述,抑制MTHFD2导致MDSCs的ROS水平降低,并能解除MDSCs对CD8⁺T细胞的免疫抑制作用。和MTHFD2抑制剂一样,我们也将培美曲塞处理的MDSCs和CFSE标记的CD8⁺T细胞共培养,72 h后流式检测CD8⁺T细胞增殖情况。与对照组相比,培美曲塞处理后的MDSCs对CD8⁺T细胞增殖

的抑制作用降低,见图3C。此外,我们还检测了培美曲塞处理的MDSCs细胞中ROS和线粒体ROS水

平,发现培美曲塞会减少MDSCs细胞内总ROS的产生,对线粒体ROS产生没有显著影响,见图3H~K。



Note: A. Proliferation of CD8⁺ T cells cocultured with NAC treated-MDSCs. B/C. Proliferation of CD8⁺ T cells cocultured with DS18-treated MDSCs (B) or Pemetrexed-treated MDSCs (C). D/H. ROS levels of DS18-treated MDSCs (D) or Pemetrexed-treated MDSCs (H) detected by flow cytometry. E/G. Quantitation of ROS Geo MFI. F/J. MitoROS levels of DS18-treated MDSCs (F) or Pemetrexed-treated MDSCs (J) detected by flow cytometry. I/K. Quantitation of MitoROS Geo MFI. ^①*P* = 0.001, ^②*P* = 0.024, ^③*P* = 0.000, ^④*P* = 0.035, compared with the control group.

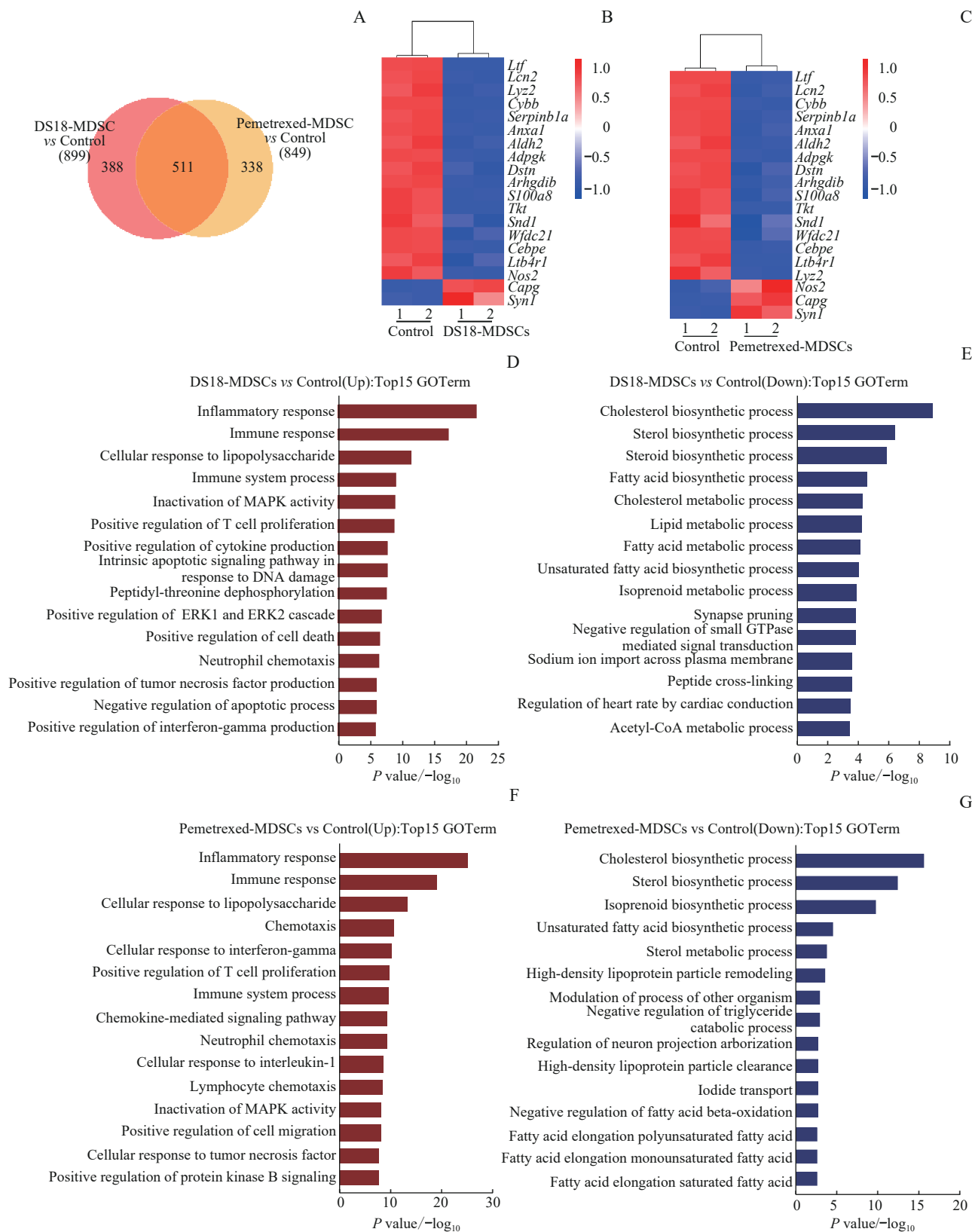
图3 靶向叶酸循环解除MDSCs的免疫抑制功能

Fig 3 Targeting folate cycle relieves immunosuppressive function of MDSCs

2.4 叶酸循环抑制剂处理后MDSCs的转录组分析

为了更加深入地探究抑制叶酸循环对MDSCs的影响,利用RNA-seq检测DS18和培美曲塞处理后MDSCs在转录组水平的变化。结果显示:DS18和培美曲塞处理后MDSCs与未处理MDSCs相比各有899及849个差异表达基因,其中包括511个共同的差异表达基因,见图4A。在2种叶酸循环抑制剂处理后,与MDSCs分化相关基因(*S100a8*、*Cebpe*、*Anxa1*、*Ltf*、*Ltb4r1*等)下调。另外,MDSCs抑制功能相关

基因都有所下调,包括ROS产生有关的基因(*Cybb*)以及iNOS相关基因(*Nos2*),见图4B、C。通路分析显示抑制叶酸循环会导致炎症反应、免疫应答、正向调控T细胞增殖和IFN- γ 产生等通路的上调,以及与胆固醇合成与代谢、脂质合成与代谢相关通路的下调,见图4D~G。以上结果提示抑制MDSCs叶酸循环可能影响更加广泛的代谢过程。有报道指出利用脂质作为能源对于MDSCs在肿瘤微环境中发挥免疫抑制作用至关重要^[11]。



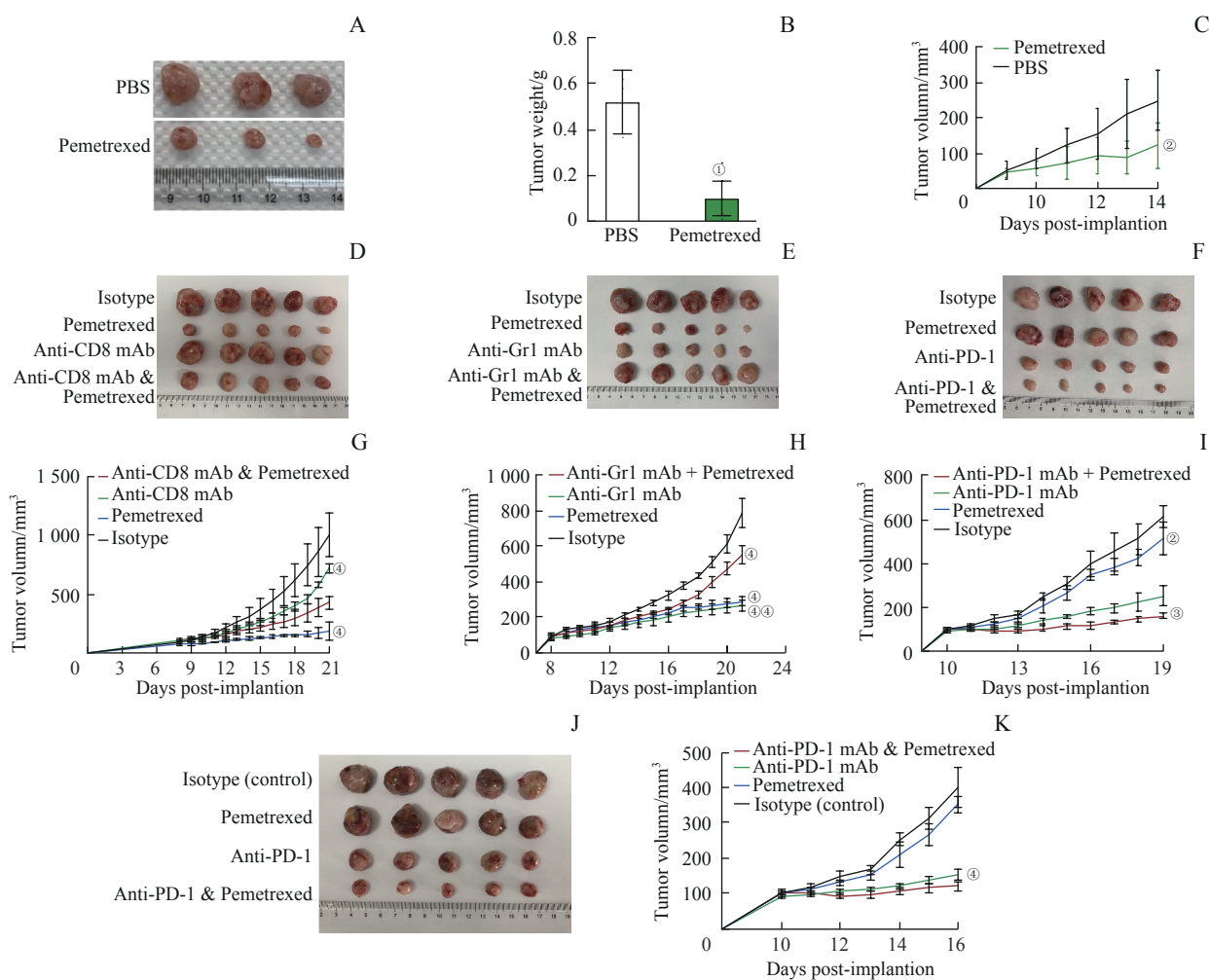
Note: A. Differentially expressed genes between DS18 and Pemetrexed-treated MDSCs, compared with the control group. B/C. Cluster analysis of differential gene groups in DS18 (B)- or Pemetrexed (C)-treated MDSCs, compared with the control group. D/E. GO enrichment analysis of differentially upregulated (D) or downregulated (E) genes in DS18-treated MDSCs (biological process). F/G. GO enrichment analysis of differentially upregulated (F) or downregulated (G) genes in Pemetrexed-treated MDSCs (biological process).

图4 叶酸循环抑制剂处理后MDSCs的转录组分析
Fig 4 Transcript analysis of MDSCs after treatment with folate cycle inhibitors

2.5 叶酸循环抑制剂的抗肿瘤作用

培美曲塞作为抗癌药物能够抑制肿瘤的生长^[12],而且培美曲塞具有广泛靶点。为了探究培美曲塞抗肿瘤的免疫作用机制,我们在C57BL/6小鼠中建立了MC38皮下瘤模型。根据前人研究,培美曲塞对MC38肿瘤细胞系具有更强的抑制作用^[13]。荷瘤小鼠造模后第10天开始,我们每天给荷瘤小鼠腹腔注射培美曲塞(200 mg/kg)并记录肿瘤大小;第14天收集小鼠肿瘤组织,绘制肿瘤生长曲线,如图5A~C所示。与对照组相比,培美曲塞处理组的小鼠肿瘤生长明显受到抑制。

为了探究培美曲塞是否是依赖于CD8⁺T细胞发挥抗肿瘤作用,我们分别用Isotype抗体、抗CD8单抗(1 mg/kg清除CD8⁺T细胞)、培美曲塞(200 mg/kg)以及抗CD8单抗联合培美曲塞处理MC38荷瘤小鼠。结果显示:与培美曲塞处理组相比,抗CD8单抗联合培美曲塞处理组肿瘤进展加剧;与抗CD8单抗处理组相比,抗CD8单抗联合培美曲塞处理组肿瘤进展受到限制,如图5D、G。以上结果说明培美曲塞不仅可以直接限制肿瘤的生长,还部分依赖CD8⁺T细胞发挥抗肿瘤作用。



Note: A. MC38 tumor burden assessed by gross visualization. B. Tumor weight of MC38 tumor-bearing mice in pemetrexed-treated group. C. Tumor growth curve of MC38 tumor-bearing mice in pemetrexed-treated group. D/G. After combination of anti-CD8 monoclonal antibody and Pemetrexed treatment, MC38 tumor burden(D) was assessed by gross visualization, and tumor growth curve (G) was drawn. E/H. After combination of anti-Gr1 monoclonal antibody and Pemetrexed treatment, MC38 tumor burden(E) was assessed by gross visualization, and tumor growth curve (H) was drawn. F/I. After combination of anti-PD-1 monoclonal antibody and Pemetrexed treatment, MC38 tumor burden(F) was assessed by gross visualization, and tumor growth curve (I) was drawn. J/K. After combination of anti-PD-1 monoclonal antibody and Pemetrexed treatment, LLC tumor burden (J) was assessed by gross visualization, and tumor growth curve(K) was drawn. ① $P=0.009$, ② $P=0.029$, ③ $P=0.001$, compared with the control group. ④ $P=0.000$, compared with the control group, combination of anti-CD8 monoclonal antibody and Pemetrexed group, combination of anti-Gr1 monoclonal antibody and Pemetrexed group, or combination of anti-PD-1 monoclonal antibody and Pemetrexed group.

图5 叶酸循环抑制剂的抗肿瘤作用

Fig 5 Antitumor effects of folate cycle inhibitor

为了进一步明确培美曲塞处理对肿瘤中的MDSCs是否有调控作用,我们分别用Isotype抗体、抗Gr1单抗(1.25 mg/kg,清除MDSCs)、培美曲塞(200 mg/kg)以及抗Gr1单抗联合培美曲塞处理MC38荷瘤小鼠。清除MDSCs能显著抑制肿瘤生长,证明MDSCs的免疫抑制作用。然而在清除MDSCs的荷瘤小鼠中,培美曲塞的抗肿瘤作用显著低于培美曲塞单独处理的小鼠,如图5E、H。单独使用抗Gr1单抗时,肿瘤减小,说明清除抗体则清除了具有免疫抑制性的MDSCs;而抗Gr1单抗和培美曲塞二者联用后肿瘤反而增大,说明培美曲塞治疗的情况下清除Gr1⁺细胞不利于抗肿瘤,那么清除的这些Gr1⁺可能就是具有抗肿瘤作用的细胞,这和MDSCs的免疫抑制功能相悖。所以我们推断,在培美曲塞治疗时,将肿瘤内这些具有免疫抑制功能的MDSCs细胞重编成为具有抗肿瘤作用的细胞。以上结果提示培美曲塞的处理不仅降低了肿瘤中MDSCs的免疫抑制功能,还可能进一步使MDSCs重编程具有免疫活化或“抗肿瘤”表型,进而阻碍肿瘤的生长。

免疫检查点治疗是现在临床肿瘤免疫治疗的主要方法。PD-1/PD-L1是主要的免疫检查点,通过单克隆抗体阻断PD-1或PD-L1,可恢复并增强肿瘤中的CD8⁺T细胞的杀伤功能。由于肿瘤微环境中免疫抑制因子和免疫抑制细胞的存在,免疫检查点治疗肿瘤具有局限性。若同时靶向肿瘤中免疫抑制因素,就可以增强免疫检查点治疗的效果。接下来,我们想要探究培美曲塞联用抗PD-1抗体是否可以增强免疫治疗的效果。为了探究这一问题,我们建立C57小鼠MC38(如图5F、I),以及LLC皮下瘤模型(如图5J、K),在建模第10天后分别给予荷瘤小鼠小剂量培美曲塞(50 mg/kg)治疗、抗PD-1单克隆抗体(250 μg/kg)治疗以及培美曲塞联用抗PD-1单克隆抗体治疗。结果显示在MC38和LLC 2个小鼠皮下瘤模型中,培美曲塞联用抗PD-1抗体比抗PD-1抗体单独治疗均有更好的抗肿瘤作用。

3 讨论

本研究优化并建立体外诱导MDSCs体系,重点探讨MDSCs的叶酸循环对其免疫抑制功能的影响。我们分别用DS18561882和培美曲塞2种叶酸循环抑制剂处理体外诱导的MDSCs,发现其均会影响

MDSCs的分化以及ROS的产生。MDSCs叶酸循环受到抑制后,对CD8⁺T细胞增殖的抑制作用受到限制。通过建立C57小鼠MC38皮下瘤模型,给予培美曲塞治疗,发现肿瘤生长明显受到抑制。通过Gr1中和抗体处理清除肿瘤MDSCs后,培美曲塞联合处理反而加剧了肿瘤进展,说明在荷瘤模型中培美曲塞发挥作用依赖于浸润的MDSCs。基于以上发现及转录组测序结果,我们推测抑制叶酸循环不仅抑制了MDSCs的“促肿瘤”表型,还有可能重编程MDSCs成为“抗肿瘤的表型”,具体机制有待进一步探索。

叶酸循环是一碳单位代谢的主要部分,为其提供合成DNA的原料,同时会产生大量还原型烟酰胺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH),而线粒体和NADPH氧化酶又是产生内源性ROS的主要来源,ROS对MDSCs发挥免疫抑制功能及其分化具有重要的调控作用。研究表明MDSCs产生的ROS和过氧亚硝酸盐修饰TCR和CD8⁺[14]。通过这些修饰,CD8⁺T细胞失去了结合磷酸化的MHC和诱导外周CD8⁺T细胞抗原特异性耐受的能力。ROS抑制剂处理后,MDSCs对CD8⁺T细胞的抑制作用解除[15],用ROS清除剂NAC处理体外诱导的MDSCs与CD8⁺T细胞共培养,CD8⁺T细胞增殖也得到了恢复。qPCR结果表明体外诱导的MDSCs比正常的骨髓CD11b⁺Gr1⁺细胞叶酸循环相关代谢酶的RNA水平高,其中MTHFD2作为参与线粒体叶酸一碳单位代谢主要的酶,其表达也有所升高。MTHFD2也被称为NMDMC(NAD-dependent mitochondrial methylenetetrahydrofolate dehydrogenase-cyclohydrolase, NAD依赖性线粒体亚甲基四氢叶酸脱氢酶-环水解酶),具有脱氢酶和水解酶双功能。使用MTHFD2抑制剂处理MDSCs能够降低其ROS以及线粒体ROS的产生,NADPH/NADP⁺比例下降,说明MTHFD2调控髓源性抑制细胞ROS的产生。ROS是MDSCs抑制CD8⁺T细胞功能的重要介质,而MTHFD2抑制剂处理后的MDSCs对CD8⁺T细胞增殖的抑制作用减弱。以上结果提示MTHFD2可能成为限制MDSCs免疫抑制功能的新靶点。

经典的叶酸循环拮抗剂培美曲塞和MTHFD2抑制剂处理的结果一致,对MDSCs诱导分化以及ROS的产生有影响。由于2种叶酸循环抑制剂对MDSCs的作用一致,我们将2种抑制剂处理的MDSCs与正常诱导的MDSCs进行RNA-seq分析,发现两种抑制剂对MDSCs表达有影响的共同基因超过各自差异基

因的50%以上。目前培美曲塞已是临床上治疗非小细胞肺癌和恶性胸膜间皮瘤的化疗药物,作为叶酸拮抗剂,能够抑制胸苷酸合成酶、二氢叶酸还原酶以及甘氨酸胺核苷甲酰基转移酶等多种与叶酸合成相关的酶活性,减少细胞DNA合成,致使肿瘤细胞的分裂停滞在S期,抑制肿瘤的进展。既往研究多使用体外细胞培养体系或具有免疫缺陷的裸鼠荷瘤模型探索药物靶标,因此忽略了药物对肿瘤微环境中其他成分特别是免疫细胞的作用。近年来,有研究表明培美曲塞能提高肿瘤微环境中CD8⁺T细胞的数量。我们进一步发现培美曲塞对MDSCs浸润的影响不大,但结合体外实验和转录组测序结果,我们推测培美曲塞可能通过重编程MDSCs为抗肿瘤的表型提高抗肿瘤免疫应答。然而培美曲塞并不仅仅抑制叶酸循环代谢,还包括直接抑制TS酶,导致肿瘤嘧啶代谢障碍。另外,由于多聚谷氨酸化使得培美曲塞在肿瘤细胞内活性更强、更持久,发挥其相对特异的抗肿瘤活性。本研究中动物实验采用培美曲塞作为抗叶酸循环代谢用药,还存在一些潜在的干扰因素,有待进一步研究。

MTHFD2在成熟分化的组织中表达很低甚至不表达,而在胚胎以及大部分肿瘤中高表达,是开发抗肿瘤药物的靶标,且不良反应较小^[16]。DS18561882^[17]和LY345899^[18]是目前研究使用最多的2种MTHFD2抑制剂。与LY345899(IC₅₀为663 nmol/L)相比,DS18561882(IC₅₀为6.3 nmol/L)对MTHFD2的选择性更高,具有更高效的抗肿瘤效果和良好的口服药代动力学特性。这对药物转向临床治疗具有重大的意义,但未来还需要更多的体内实验验证其有效性及作用机制。另外,在我们的前期研究中,LY345899并未展现出和DS18561882一样的抑制MDSCs的作用(结果未展示)。

MDSCs是肿瘤微环境中发挥免疫抑制作用的关键细胞,几乎影响所有类型的肿瘤治疗。研究表明,在多种荷瘤小鼠模型中选择性靶向MDSCs均可以提

高ICI治疗效果^[19]。ICI抗肿瘤有效应答不只是通过直接减缓T细胞无应答来介导,而且还涉及肿瘤微环境中多种细胞间的相互作用^[20]。培美曲塞是直接影响MDSCs的抗肿瘤表型转换,还是依赖于活化的CD8⁺T细胞重编程MDSCs,这一问题还有待进一步研究。

综上所述,本研究主要以肿瘤中MDSCs为研究重点,探究叶酸循环对MDSCs免疫抑制功能的影响,靶向叶酸循环代谢重编程MDSCs。另外,我们的研究完善了抗癌药物培美曲塞抗肿瘤的免疫作用机制,并为肿瘤免疫治疗提供了新的治疗靶点。

利益冲突声明/Conflict of Interests

所有作者声明不存在利益冲突。

All authors disclose no relevant conflict of interests.

伦理批准和动物权利声明/Ethics Approval and Animal Right

本研究中涉及的所有动物实验均按照上海交通大学医学院实验动物福利和使用指南操作,经过上海交通大学医学院动物福利与使用委员会(IACUC)批准(审批号:JUMC2023-092-A)。

All experimental animal protocols in this study were reviewed and approved by Animal Care and Use Committee of Shanghai Jiao Tong University School of Medicine (Approval Letter No. JUMC2023-092-A), and all experimental animal protocols were carried out by following the guidelines of *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals of the International Association for the Study of Pain*.

作者贡献/Authors' Contributions

王静和颜克鹏参与了实验设计,王静、颜克鹏和何蕊参与了数据分析和整理,王静和何蕊参与了论文的写作和修改。所有作者均阅读并同意了最终稿件的提交。

The study was designed by WANG Jing and YAN Kepeng. The data was collected and analyzed by WANG Jing, YAN Kepeng and HE Rui. The manuscript was drafted and revised by WANG Jing and HE Rui. All the authors have read the last version of paper and consented for submission.

• Received: 2024-01-29

• Accepted: 2024-04-11

• Published online: 2024-06-21

参·考·文·献

- [1] GABRILOVICH D I, NAGARAJ S. Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system[J]. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9(3): 162-174.
- [2] SERAFINI P. Myeloid derived suppressor cells in physiological and pathological conditions: the good, the bad, and the ugly[J]. *Immunol Res*, 2013, 57(1/2/3): 172-184.

- [3] MASTIO J, CONDAMINE T, DOMINGUEZ G, et al. Identification of monocyte-like precursors of granulocytes in cancer as a mechanism for accumulation of PMN-MDSCs[J]. *J Exp Med*, 2019, 216(9): 2150-2169.
- [4] OSTRAND-ROSENBERG S, SINHA P, FIGLEY C, et al. Frontline science: myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) facilitate

- maternal-fetal tolerance in mice[J]. *J Leukoc Biol*, 2017, 101(5): 1091-1101.
- [5] GREENE S, ROBBINS Y, MYDLARZ W K, et al. Inhibition of MDSC trafficking with SX-682, a CXCR1/2 inhibitor, enhances NK-cell immunotherapy in head and neck cancer models[J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(6): 1420-1431.
- [6] ZHAO L N, BJÖRKLUND M, CALDEZ M J, et al. Therapeutic targeting of the mitochondrial one-carbon pathway: perspectives, pitfalls, and potential[J]. *Oncogene*, 2021, 40: 2339-2354.
- [7] CHOU A, LEE S H, ZHU F Y, et al. An orthogonal metabolic framework for one-carbon utilization[J]. *Nat Metab*, 2021, 3(10): 1385-1399.
- [8] ZHU Z Y, LEUNG G K K. More than a metabolic enzyme: mthfd2 as a novel target for anticancer therapy? [J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 658.
- [9] KESARI S, WAGLE N, CARRILLO J A, et al. Pilot study of high-dose pemetrexed in patients with progressive chordoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2024, 30(2): 323-333.
- [10] HUANG J J, ZHAO Y, ZHAO K X, et al. Function of reactive oxygen species in myeloid-derived suppressor cells[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1226443.
- [11] VEGLIA F, TYURIN V A, BLASI M, et al. Fatty acid transport protein 2 reprograms neutrophils in cancer[J]. *Nature*, 2019, 569(7754): 73-78.
- [12] LIMAGNE E, NUTTIN L, THIBAUDIN M, et al. MEK inhibition overcomes chemioimmunotherapy resistance by inducing CXCL10 in cancer cells[J]. *Cancer Cell*, 2022, 40(2): 136-152. e12.
- [13] SCHAEER D A, GEEGANAGE S, AMALADAS N, et al. The folate pathway inhibitor pemetrexed pleiotropically enhances effects of cancer immunotherapy[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(23): 7175-7188.
- [14] NAGARAJ S, GUPTA K, PISAREV V, et al. Altered recognition of antigen is a mechanism of CD8⁺ T cell tolerance in cancer[J]. *Nat Med*, 2007, 13: 828-835.
- [15] FRATERNALE A, GREEN K A, SCHIAVANO G F, et al. Inhibition of myeloid-derived suppressor cell (MDSC) activity by redox-modulating agents restores T and B cell proliferative responses in murine AIDS[J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 124(Pt A): 110882.
- [16] SHANG M, YANG H J, YANG R, et al. The folate cycle enzyme MTHFD2 induces cancer immune evasion through PD-L1 up-regulation[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 1940.
- [17] KAWAI J Y, TOKI T, OTA M, et al. Discovery of a potent, selective, and orally available MTHFD2 inhibitor (DS18561882) with *in vivo* antitumor activity[J]. *J Med Chem*, 2019, 62(22): 10204-10220.
- [18] JU H Q, LU Y X, CHEN D L, et al. Modulation of redox homeostasis by inhibition of MTHFD2 in colorectal cancer: mechanisms and therapeutic implications[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2019, 111(6): 584-596.
- [19] LONG H X, JIA Q Z, WANG L Y, et al. Tumor-induced erythroid precursor-differentiated myeloid cells mediate immunosuppression and curtail anti-PD-1/PD-L1 treatment efficacy[J]. *Cancer Cell*, 2022, 40(6): 674-693. e7.
- [20] CHEN J, SUN H W, YANG Y Y, et al. Reprogramming immunosuppressive myeloid cells by activated T cells promotes the response to anti-PD-1 therapy in colorectal cancer[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 4.

[本文编辑] 徐 敏

学术快讯

上海交通大学公共卫生学院王慧、李晓光团队发现肿瘤细胞与免疫细胞营养竞争诱导肝癌细胞免疫逃逸的机制和干预靶点

2024年7月2日,上海交通大学公共卫生学院王慧教授和李晓光研究员团队在国际消化系统著名期刊 *Gut* 在线发表题目为“*Glutamine metabolic competition drives immunosuppressive reprogramming of intratumour GPR109A⁺ myeloid cells to promote liver cancer progression*”的研究论文。该研究利用肝癌队列样本和动物模型发现肝癌肿瘤微环境内存在一群特殊的GPR109A⁺髓系细胞亚群,该细胞亚群具有较强的免疫抑制功能,并与肝癌的不良预后密切相关。进一步研究发现,肿瘤微环境中肝癌细胞和髓系细胞之间存在营养竞争:肝癌细胞通过掠夺谷氨酰胺,驱动髓系细胞发生营养应激和代谢重编程,进而诱导GPR109A⁺免疫抑制性髓系细胞介导的免疫逃逸和治疗抵抗。该研究揭示了营养物质调控肿瘤微环境中肝癌细胞与髓系细胞之间的细胞通信和肿瘤免疫逃逸机制,并提示GPR109A可能是关键的营养-免疫代谢检查点和潜在的肝癌免疫治疗靶点,有助于推动基于靶向肿瘤相关髓系细胞的肝癌个体化免疫治疗。