

· 基础医学 ·

卵巢癌细胞生长环境中 CD4⁺Treg 细胞和 CD4⁺Teff 细胞的糖代谢特征初探

吴 茗,徐 睿,刘书娜,王 芳*

南京医科大学第一附属医院检验学部,江苏 南京 210029

[摘要] 目的:探究 CD4⁺CD25⁺CD127^{low} 调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)和 CD4⁺CD25⁺CD127⁺ 效应性 T 细胞(effector T cell, Teff)在卵巢癌细胞生长环境中的糖代谢特征。方法:流式细胞术(fluorescence-activated cell sorting, FACS)分选 CD4⁺Treg 细胞和 CD4⁺Teff 细胞,建立两种细胞与 SKOV3 细胞的共培养体系,采用实时荧光定量 PCR(real-time fluorescence quantitative PCR, RT-PCR)和 Western blot 检测 CD4⁺Treg 细胞、CD4⁺Teff 细胞糖代谢相关基因和蛋白的表达水平,比色法检测细胞糖摄取和糖酵解水平。结果:SKOV3 共培养组 CD4⁺Treg 细胞糖代谢相关基因和蛋白的表达水平高于 CD4⁺Teff 细胞和 CD4⁺Treg 细胞单独培养组($P < 0.05$);SKOV3 共培养组 CD4⁺Treg 细胞糖摄取和糖酵解水平高于 CD4⁺Teff 细胞[(59.78±2.57)pmol vs.(44.93±1.86)pmol, $P < 0.05$;(15.31±2.05)mmol/L vs.(7.98±0.88)mmol/L, $P < 0.05$]。结论:卵巢癌细胞生长环境中的人外周血 CD4⁺Treg 细胞糖代谢水平高于 CD4⁺Teff 细胞,卵巢癌细胞可以促进人外周血 CD4⁺Treg 细胞糖代谢相关蛋白和基因表达水平上调。

[关键词] 卵巢癌;调节性 T 细胞;效应性 T 细胞;糖代谢

[中图分类号] R737.31

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2021)07-999-07

doi:10.7655/NYDXBNS20210710

The glucose metabolism characteristics of CD4⁺ Treg cells and CD4⁺ Teff cells in growth environment of ovarian cancer cells

WU Ming, XU Rui, LIU Shuna, WANG Fang*

Department of Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

[Abstract] **Objective:** To investigate the glucose metabolism characteristics of CD4⁺CD25⁺CD127^{low} regulatory T cells (Treg) and CD4⁺CD25⁺CD127⁺ effector T cells (Teff) in growth environment of ovarian cancer cells. **Methods:** Fluorescence-activated cell sorting (FACS) separated CD4⁺Treg cells and CD4⁺Teff cells, then established a coculture system of human T cells with ovarian cancer cell SKOV3. The expression levels of glucose metabolism related genes and proteins were determined by real-time fluorescence quantitative PCR (RT-PCR) and Western blot. The levels of glucose uptake and glycolysis were detected by colorimetry. **Results:** Compared with the CD4⁺Treg cells in single culture without SKOV3 and CD4⁺Teff cells, the expression levels of glucose metabolism related genes and proteins in CD4⁺Treg cells cocultured with SKOV3 were elevated ($P < 0.05$) and the levels of glucose uptake and glycolysis were increased[(59.78±2.57)pmol vs.(44.93±1.86)pmol, $P < 0.05$;(15.31±2.05)mmol/L vs.(7.98±0.88)mmol/L, $P < 0.05$]. **Conclusion:** The level of glucose metabolism in CD4⁺Treg cells is higher than CD4⁺Teff cells in ovarian cancer cell growth environment, ovarian cancer cells could promote the expression levels of glucose metabolism related genes and proteins in CD4⁺Treg cells.

[Key words] ovarian cancer; regulatory T cells; effector T cells; glucose metabolism

[J Nanjing Med Univ, 2021, 41(07):999-1005]

[基金项目] 国家自然科学基金(81772779);江苏省“六大人才高峰”资助项目(2015-WSN-034);江苏省“六个一工程”拔尖人才项目(LGY2017068);江苏省重点人才基金(ZDRCA2016003);江苏省实验诊断学重点实验室(ZDXKB2016005)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: wangfang@njmu.edu.cn

卵巢癌(ovarian cancer, OC)是妇科恶性肿瘤患者的首要死亡原因,2020年统计结果显示,卵巢癌新发病例21 750例,死亡病例达到13 940例,5年生存率不到40%,该病的发病率仅次于宫颈癌和子宫内膜癌,占有女性癌症的近4%^[1]。近年来肿瘤的免疫治疗成为研究热点,目前过继肿瘤浸润T淋巴细胞疗法、免疫卡控点修饰法、嵌合抗原受体T细胞疗法、T细胞受体疗法等免疫治疗方法已取得了一定进展^[2-5],但卵巢癌复杂的免疫抑制微环境是目前免疫治疗的主要障碍,治疗效果仍不尽如人意。

肿瘤免疫微环境中存在着各种免疫细胞参与免疫抑制微环境的组成,包括骨髓来源的抑制性细胞(myeloid-derived suppressor cell, MDSC)、肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophage, TAM)、调节性T细胞(regulatory T cell, Treg)等^[6-9],其中Treg细胞是卵巢癌免疫抑制微环境形成的重要因素。在肿瘤微环境中,癌细胞与免疫细胞会发生营养代谢的竞争,肿瘤细胞大量消耗葡萄糖导致营养缺乏,肿瘤微环境中活化的T细胞代谢与功能受到限制,最终抑制T细胞的免疫监视功能,使得肿瘤进一步发展^[10-11]。

本课题组前期研究发现,卵巢癌患者外周血CD4⁺T细胞与健康人相比有更高的糖摄取和糖酵解水平,并且其中Treg细胞比例上升^[12]。为了进一步明确Treg细胞是导致卵巢癌患者外周血CD4⁺T细胞产生这一糖代谢特征的主要因素,我们对卵巢癌细胞生长环境中的CD4⁺Treg细胞和CD4⁺Teff细胞的不同糖代谢特征进行探讨。

1 材料和方法

1.1 材料

新鲜外周血50 mL由健康志愿者自愿提供;人卵巢浆液性囊腺癌细胞株SKOV3来源于中科院上海细胞库。本研究经南京医科大学第一附属医院伦理委员会批准(伦审号:2017-SRFA-064)。

组织淋巴细胞分离液Ficoll(天津灏洋生物制品有限公司);KRPB缓冲液(北京雷根生物技术有限公司);CD3/CD28 T细胞扩增磁珠(Invivogen公司,美国);糖摄取分析试剂盒(Biovision公司,美国);糖酵解分析试剂盒(Cayman,美国);RNeasy Micro Kit(Qiagen公司,美国);PrimeScript RT reagent Kit(TaKaRa公司,日本);SYBR Premix Ex Taq™ II(大连宝生物工程技术有限公司);PCR引物(南京金斯瑞生物科技有限公司);Rabbit anti-human β -actin mAb、Rab-

bit anti-human LDH- α mAb、Rabbit anti-human Glut1 mAb、Rabbit anti-human PKM2 mAb、Rabbit anti-human GPI mAb、Rabbit anti-human HIF-1 α mAb(Cell Signaling公司,美国);30%丙烯酰胺、Anti-CD4-FITC、Anti-CD25-APC、Anti-CD127-PE(Bio-Rad公司,美国);聚偏氟乙烯(PVDF)膜(Amersham Pharmacia公司,美国);封闭专用脱脂奶粉(BD公司,德国);HRP标记山羊抗兔IgG(北京中杉金桥生物技术有限公司);细胞裂解液、BCA蛋白浓度测定试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 流式分选和扩增CD4⁺Treg细胞和CD4⁺Teff细胞

抽取50 mL正常人的外周血(EDTA抗凝),Ficoll液分离人外周血单个核细胞(PBMC),PBS洗涤弃上清后,加入流式抗体Anti-CD4-FITC 40 μ L、Anti-CD25-APC 50 μ L、Anti-CD127-PE 30 μ L,室温避光孵育20 min,PBS清洗后使用BD FACS Aria II 进行分选。将分选后的细胞铺入96孔板,加入20 μ L Treg细胞扩增磁珠,进行细胞扩增。

1.2.2 CD4⁺Treg、CD4⁺Teff细胞与SKOV3建立共培养体系

收集扩增后的CD4⁺Treg细胞和CD4⁺Teff细胞和生长状态良好的SKOV3细胞,PBS清洗后计数铺入带有0.4 μ m孔径小室的24孔培养板,SKOV3细胞以 2×10^5 个细胞每孔铺于Transwell板下室,CD4⁺Treg细胞与CD4⁺Teff细胞以 8×10^5 个细胞每孔分别铺于Transwell板上室,调整终体积为1.5 mL/孔,置37 $^{\circ}$ C、5% CO₂培养箱共培养72 h后,收集两组T细胞,进行后续实验。

1.2.3 实时荧光定量PCR(RT-PCR)实验

收集与SKOV3细胞共培养前后的CD4⁺Treg细胞以及与SKOV3细胞共培养后的CD4⁺Treg、CD4⁺Teff细胞,PBS清洗后用RNeasy Micro Kit提取总RNA,调整浓度为500 ng/mL后,37 $^{\circ}$ C 15 min,85 $^{\circ}$ C 5 s条件下采用PrimeScript RT reagent Kit试剂盒将总RNA逆转录为cDNA,再用RT-PCR检测糖代谢相关基因葡萄糖转运蛋白3(glucose transporter3, Glut3)、葡萄糖转运蛋白1(glucose transporter1, Glut1)、缺氧诱导因子1 α (hypoxia-inducible factor-1 alpha, HIF-1 α)、人葡萄糖6磷酸异构酶(glucose-6-phosphate isomerase, GPI)、烯醇化酶1(enolase1, ENO1)、M2型丙酮酸激酶(M2-pyruvate kinase, PKM2)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH-

α)、磷酸丙糖异构酶1(triose-phosphate isomerase1, TPI1)的mRNA表达水平。引物序列见表1。扩增程序:预变性95℃30s;95℃5s,57℃30s,72℃34s,40个循环;72℃5min,95℃15s,60℃1min,95℃15s,60℃15s;结束反应。

1.2.4 细胞总蛋白提取和Western blot实验

收集与SKOV3细胞共培养前后的CD4⁺Treg细

胞以及与SKOV3细胞共培养后的CD4⁺Treg、Teff细胞,PBS洗涤细胞2次去上清,加入适量蛋白裂解液提取细胞总蛋白,用BCA法定量检测蛋白浓度,配制10%分离胶和4%浓缩胶,将变性的蛋白样品加入各泳道,同时以蛋白Marker作分子量对照,80V电压下电泳至样品全部到达分离胶,改电压为100V继续电泳适当时间,至Loading buffer电泳至胶板底

表1 PCR引物序列一览表

Table 1 PCR primer sequences

基因名称	上游引物(5'→3')	下游引物(5'→3')
Glut1	TTGGCTCCGGTATCGTCAAC	GCCAGGACCCACTTCAAAGA
Glut3	GCTCTCTGGGATCAATGCTGTGT	CTTCCTGCCCTTTCCACCAGA
ENO1	TCATCAATGGCGGTTCTCA	TTCCCAATAGCAGTCTTCAGC
GPI	AGGCTGCTGCCACATAAGGT	AGCGTCGTGAGAGGTCACCTG
TPI1	AGGCATGTCTTTGGGGAGTC	AGTCCTTCACGTTATCTGCGA
HIF-1α	CCATTAGAAAGCAGTTCCGC	TGGGTAGGAGATGGAGATGC
LDH-α	CCAGCGTAACGTGAACATCTT	CCCATTAGGTAACGGAATCG
PKM2	GCCGCTGGACATTGACTC	CCATGAGAGAAATTCAGCCGAG
β-actin	GAGCTACGAGCTGCCTGACG	GTAGTTTCCTGGATGCCACAG

部后,100 mA电流条件下转膜1h50min,使用5%脱脂奶粉封闭3h,使用5%BSA将兔抗人LDHα、Glut1、GPI、PKM2、β-actin按1:1000稀释后,与PVDF膜4℃摇床孵育过夜,第2天用1×TBST洗膜3次后,用5%脱脂奶粉溶液将辣根过氧化物酶(horse radish peroxidase,HRP)标记山羊抗兔IgG多克隆抗体按1:5000稀释,与PVDF膜室温摇床孵育2h,再用1×TBST洗膜3次后加ECL发光试剂A和试剂B按1:1混匀后,加至PVDF膜表面,使用曝光仪进行曝光。

1.2.5 糖代谢检测

1.2.5.1 糖摄取实验

收集与SKOV3细胞共培养后的CD4⁺Treg和CD4⁺Teff细胞,PBS清洗计数,以每孔3×10⁵个细胞的量铺入96孔板中,加入100μL无血清培养液饥饿细胞过夜,次日PBS洗涤细胞,加入100μL含2%BSA的KRPH缓冲液,预孵育40min,再加10μL的10mmol/L 2-脱氧葡萄糖(2-DG)孵育20min,再经过NADPH产生、NADP降解以及循环放大反应后412nm波长下检测吸光度值,每间隔10min检测1次,直到100pmol标准孔吸光度值达1.5~2.0,此时所有孔吸光度值为最终值,再根据标准曲线将吸光度值换算为细胞摄取葡萄糖类似物2-DG的含量转化为糖摄取水平。

1.2.5.2 糖酵解实验

收集与SKOV3细胞共培养后的CD4⁺Treg和

CD4⁺Teff细胞,PBS清洗计数,以每孔3×10⁵个细胞的量铺入96孔板中,加入200μLRPMI1640培养液,置于37℃、5%CO₂培养箱中培养24h,10000r/min离心5min,收集上清液,再使用糖酵解试剂盒用比色法检测上清液中L-乳酸(L-lactate)的含量后根据标准曲线转化为糖酵解水平。

1.3 统计学方法

在相同实验条件下,使用不同健康人的外周血样本,进行3次独立重复实验,实验结果使用SPSS 27.0软件进行处理,各组数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用t检验。以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 卵巢癌细胞生长环境中CD4⁺Treg细胞糖代谢相关基因和蛋白表达水平升高

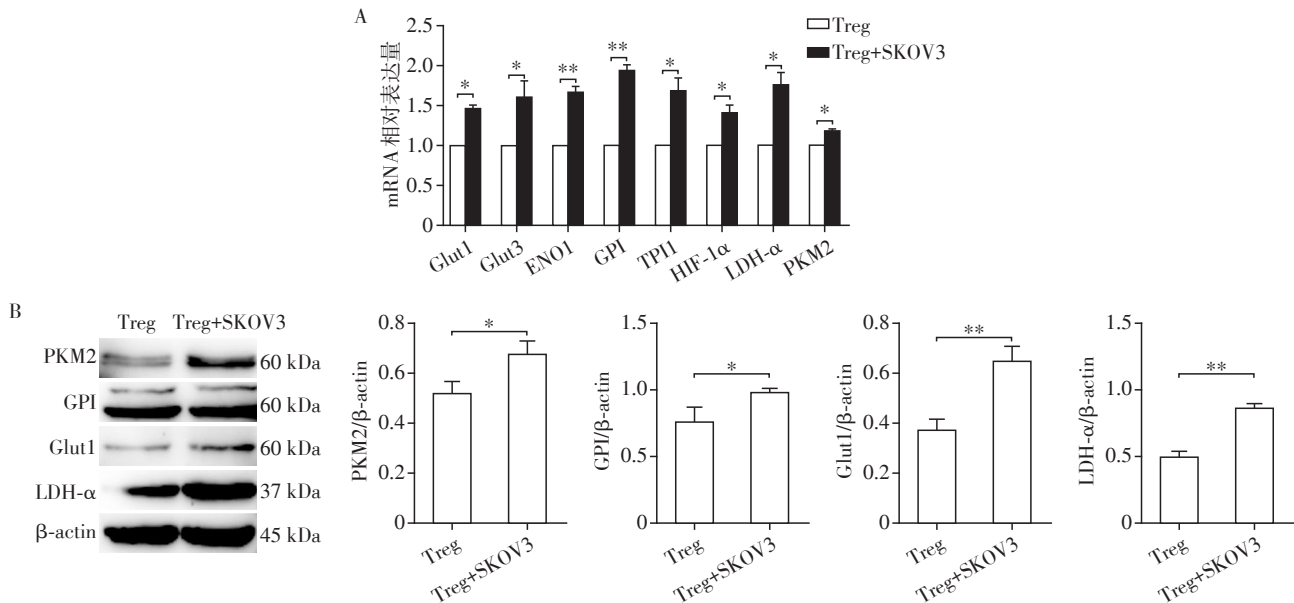
将扩增后的CD4⁺Treg细胞与卵巢癌细胞SKOV3共培养72h后,RT-PCR和Western blot检测其糖代谢相关基因和蛋白的表达水平。结果显示,与SKOV3共培养的CD4⁺Treg细胞中,糖代谢相关8个基因(Glut1、Glut3、HIF-1α、PKM2、ENO1、GPI、LDH-α、TPI1)的表达水平均显著高于未与SKOV3共培养组,差异有统计学意义,提示卵巢癌细胞生长环境可以促进人外周血CD4⁺Treg细胞糖代谢相关基因转录水平表达上调(图1A)。同时发现在卵巢癌细

胞生长环境中的CD4⁺Treg细胞糖代谢相关4个蛋白(Glut1、LDH- α 、PKM2、GPI)表达水平均显著高于未与SKOV3共培养组($P < 0.05$),提示卵巢癌细胞生长环境可以促进人外周血CD4⁺Treg细胞糖代谢相关蛋白翻译水平上调(图1B)。这些结果显示CD4⁺Treg细胞与卵巢癌细胞共培养后,其主要糖代谢相关基因的mRNA和蛋白表达水平会增强,提示

肿瘤微环境中CD4⁺Treg细胞的糖代谢更加活跃。

2.2 卵巢癌细胞生长环境中的CD4⁺Treg细胞糖代谢相关基因和蛋白水平高于CD4⁺Teff细胞

CD4⁺T细胞在肿瘤微环境中根据其表面标志和功能特征可分为若干亚群,各亚群之间相互调节,发挥着不同的免疫学功能,因此也有着各自独特的代谢特征。将CD4⁺Treg、Teff细胞与卵巢癌细胞共



A: 与SKOV3共培养前后CD4⁺Treg细胞的糖代谢相关基因的表达水平; B: 与SKOV3共培养前后CD4⁺Treg细胞的糖代谢相关蛋白的表达水平。两组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ ($n=3$)。

图1 与SKOV3共培养前后CD4⁺Treg细胞的糖代谢相关基因和蛋白的表达水平

Figure 1 The expression levels of glucose metabolism-related genes and proteins of CD4⁺Treg cells before and after co-culture with SKOV3

培养后,比较两者主要糖代谢相关基因的mRNA和蛋白表达水平,结果发现在卵巢癌细胞生长环境中的CD4⁺Treg细胞糖代谢相关8个基因(Glut1、Glut3、HIF-1 α 、PKM2、ENO1、GPI、LDH- α 、TPI1)除PKM2外,表达水平均显著高于CD4⁺Teff细胞($P < 0.05$,图2A),提示卵巢癌细胞生长环境中CD4⁺Treg细胞的糖代谢相关基因转录水平高于CD4⁺Teff细胞。在卵巢癌细胞生长环境中的CD4⁺Treg细胞糖代谢相关4个蛋白(Glut1、LDH- α 、PKM2、GPI)除PKM2外,表达水平均显著高于CD4⁺Teff细胞($P < 0.05$,图2B),提示卵巢癌细胞生长环境中CD4⁺Treg细胞的糖代谢相关蛋白翻译水平高于CD4⁺Teff细胞。

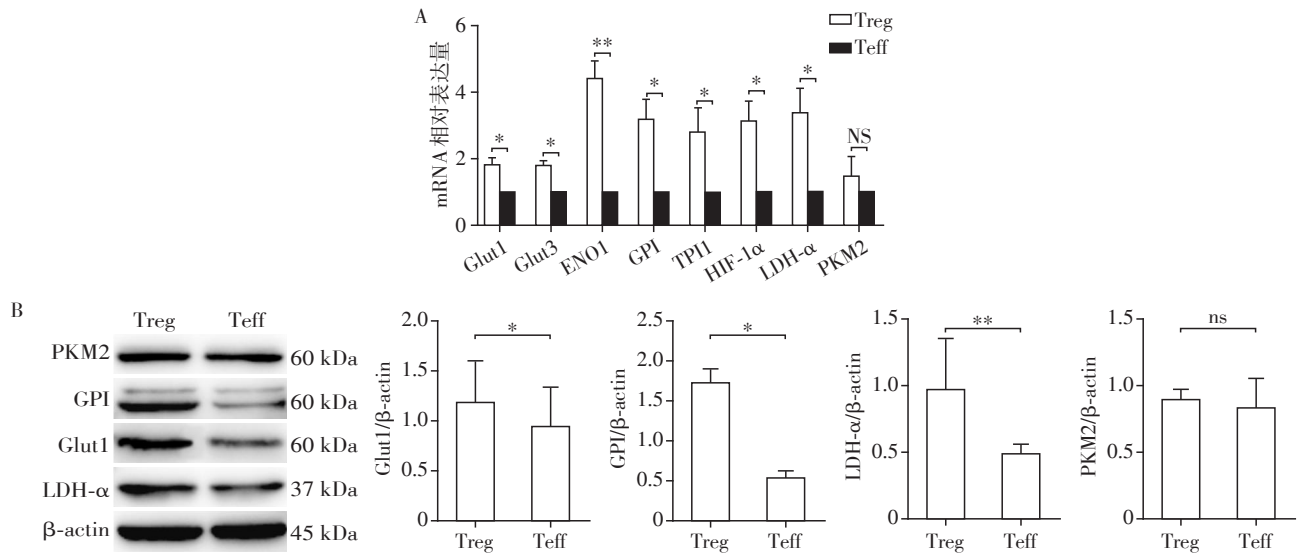
2.3 卵巢癌细胞生长环境中的CD4⁺Treg细胞糖摄取水平高于CD4⁺Teff细胞

糖摄取是糖代谢的第一步也是关键的一步。

为了进一步了解肿瘤微环境中CD4⁺Treg、Teff细胞的糖代谢特征,我们在测定两者主要糖代谢相关基因的mRNA和蛋白表达水平的基础上,又比较了两者在卵巢癌细胞生长环境中的糖摄取水平。结果如图3所示,卵巢癌细胞生长环境中的CD4⁺Treg细胞葡萄糖摄取水平高于CD4⁺Teff细胞,差异有统计学意义[(59.78 \pm 2.57)pmol vs.(44.93 \pm 1.86)pmol, $P < 0.05$],提示卵巢癌细胞生长环境中CD4⁺Treg细胞相较CD4⁺Teff细胞具有更高的葡萄糖摄取能力,从而摄取更多的葡萄糖。

2.4 卵巢癌细胞生长环境中的CD4⁺Treg细胞糖酵解水平高于CD4⁺Teff细胞

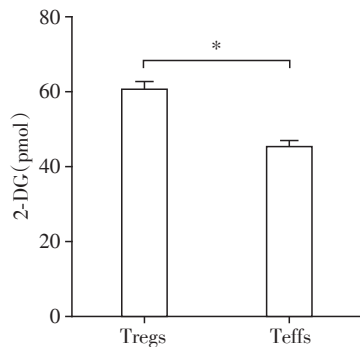
细胞将葡萄糖摄入胞内后,会进行分解代谢,这是生物体获得能量的主要方式,其中糖酵解过程是所有生物体进行葡萄糖分解代谢所必须经过的共同阶段,所以我们又比较了CD4⁺Treg、CD4⁺Teff细



A: 卵巢癌细胞生长环境中CD4⁺Treg、CD4⁺Teff细胞糖代谢相关基因的表达水平;B: 卵巢癌细胞生长环境中CD4⁺Treg、CD4⁺Teff细胞糖代谢相关蛋白的表达水平。两组比较,**P* < 0.05,***P* < 0.01(*n*=3)。

图2 卵巢癌细胞生长环境中CD4⁺Treg、CD4⁺Teff细胞的糖代谢相关基因和蛋白的表达水平

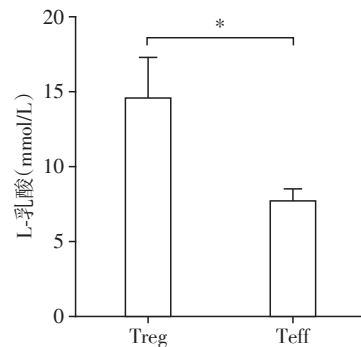
Figure 2 The expression levels of genes and proteins related to glucose metabolism in CD4⁺Treg and CD4⁺Teff cells in the growth environment of ovarian cancer cells



两组比较,**P* < 0.05(*n*=3)。

图3 卵巢癌细胞生长环境中CD4⁺Treg、CD4⁺Teff细胞的糖摄取水平

Figure 3 The levels of glucose uptake of CD4⁺Treg and CD4⁺Teff cells in the growth environment of ovarian cancer cells



两组比较,**P* < 0.05(*n*=3)。

图4 卵巢癌细胞生长环境中CD4⁺Treg、CD4⁺Teff细胞的糖酵解水平

Figure 4 The levels of glycolysis of CD4⁺Treg and CD4⁺Teff cells in the growth environment of ovarian cancer cells

胞在卵巢癌细胞生长环境中的糖酵解产物L-乳酸(图4)。卵巢癌细胞生长环境中的CD4⁺Treg细胞L-乳酸水平显著高于CD4⁺Teff细胞,差异有统计学意义[(15.31 ± 2.05)mmol/L vs. (7.98 ± 0.88)mmol/L, *P* < 0.05],提示卵巢癌细胞生长环境中CD4⁺Treg细胞比CD4⁺Teff细胞有更高的糖酵解能力,所以糖酵解活动更加活跃。

3 讨论

不同的CD4⁺T细胞亚群对生理和病理条件有各自不同的效应功能^[13-14],这表明不同细胞亚群需

要特定的代谢程序来满足它们不同的能量和生物合成需求,因此糖代谢特征和免疫细胞功能的发挥是紧密相连的。

一般来说,糖代谢过程主要分为糖摄取和糖酵解两部分,糖摄取是糖代谢的第一步,葡萄糖的代谢取决于细胞对葡萄糖的摄取,然而葡萄糖无法自由通过细胞膜脂质双层结构进入细胞,需要借助细胞膜上葡萄糖转运蛋白(Glut)的转运功能才能实现。近年来越来越多的研究发现Glut1和Glut3是加速代谢的主要因素,Glut1和Glut3的高表达在大多数受访的癌症类型中都与低分化程度有关,包括

直肠癌、乳腺癌、肺腺癌、鳞状细胞癌、卵巢癌和胶质母细胞瘤^[10,15]。葡萄糖被细胞从胞外摄入后,经过几步生成丙酮酸,然后以两种方式处理。第一种是被导入线粒体,然后转化为乙酰辅酶A,再进入三羧酸循环通过氧化磷酸化产生ATP即有氧糖酵解;第二种是在无氧条件下通过乳酸脱氢酶在细胞溶胶中转化为乳酸,这个过程产生NAD⁺,在糖酵解过程中被消耗,而糖酵解调节控制过程主要是通过改变酶的活性来实现的,比如丙酮酸激酶、乳酸脱氢酶等,它们的活性大小直接影响着整个代谢途径的速度和方向。

有趣的是,在氧气充足的情况下,有时细胞仍然利用葡萄糖产生乳酸,这被称为瓦伯格效应。这种独特的现象最近经常在肿瘤细胞和T细胞激活中被报道。癌细胞在有氧环境中偏向糖酵解进行代谢,这被认为是肿瘤细胞的适应性改变,从而导致肿瘤细胞对缺氧条件的耐受能力增强,以至于在与正常细胞的营养竞争中获得内部生长优势^[16]。肿瘤微环境中T细胞的营养代谢也偏向于这一方式,即发生了“代谢重编程”,虽然糖酵解不能提供大量能量,但其在产生一定能量的同时,产生的中间产物在细胞分化和发挥功能过程中起到重要作用^[4,17-18]。因此肿瘤微环境中细胞独特的代谢方式对于肿瘤的发生发展有极其重要的影响。

以往研究认为,Teff细胞主要依靠糖代谢途径进行代谢,Treg细胞则以脂肪酸氧化作为主要代谢方式^[19-20]。然而近年来认为这种二分法是不准确的,已有研究证实在肿瘤微环境中的Treg细胞能表达比Teff细胞更高水平的Glut1,并拥有更高的糖酵解通量^[21]。另外对葡萄糖的竞争是T细胞衰老的主要诱因,Treg细胞可能与肿瘤细胞合作消耗葡萄糖,并使肿瘤微环境中的Teff细胞饥饿从而导致其衰老。然而对于Treg细胞和Teff细胞在肿瘤微环境中的代谢特征到底如何,目前仍然有很大争论,而且由于细胞的难获取性,先前研究多集中在小鼠模型,有学者认为小鼠和人的细胞在这一问题上的表现截然相反^[22]。因此我们直接分离和扩增人的Treg细胞和Teff细胞,并模拟卵巢癌免疫微环境,探讨卵巢癌细胞生长环境中Treg细胞和Teff细胞的糖代谢特征。

研究结果发现,将健康人外周血中的CD4⁺Treg与卵巢癌细胞SKOV3共培养后,其糖摄取、糖酵解相关基因和蛋白表达水平均高于正常培养的CD4⁺Treg细胞。处于静止期的T细胞只需要较低的氧化

磷酸化就可以维持其正常的生命活动,而这种低水平的氧化磷酸化是由细胞白介素-7通过表达Glut1增加葡萄糖摄取量来维持的^[23],当细胞处于肿瘤微环境中,卵巢癌细胞的生长导致静止的T细胞被激活,Glut表达的增高促进CD4⁺Treg细胞和CD4⁺Teff细胞的糖摄取,耗氧量增加,而且T细胞必须大量增殖以产生足够的Teff细胞来对抗肿瘤,同时需要和增殖水平极快的肿瘤细胞进行营养竞争,这时细胞的代谢需求明显增加,能量产生的主要途径也从低水平的氧化磷酸化转变为高水平的糖酵解和谷氨酰胺代谢以支持其生长增殖所需要的能量^[24],同时研究结果发现卵巢癌细胞生长环境中CD4⁺Treg细胞的糖摄取与糖酵解水平显著高于CD4⁺Teff细胞,说明在卵巢癌细胞生长环境下,CD4⁺Treg细胞代谢特征与效应细胞相比会消耗更多能量,抑制效应细胞发挥功能,促进肿瘤生长,同时提示卵巢癌细胞可能通过诱导CD4⁺T细胞分化为Treg细胞从而增强其糖代谢水平,这些结果都证明了肿瘤细胞的生长影响了肿瘤微环境中免疫细胞的代谢,对抑制免疫细胞、促进肿瘤的进展具有重要意义。由此我们猜想,如果能通过抑制CD4⁺Treg细胞的糖代谢从而调控免疫抑制功能,或将为卵巢癌的免疫治疗提供很好的思路。

深入理解T细胞尤其是Treg细胞糖代谢的表型、调控机制、及其动态变化,将为自身免疫、肿瘤等免疫相关疾病的防治提供有效的分子靶点和潜在的临床治疗新方法。

[参考文献]

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2020[J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70(1): 7-30
- [2] TANAKA A, SAKAGUCHI S. Regulatory T cells in cancer immunotherapy[J]. Cell Res, 2017, 27(1): 109-118
- [3] TANAKA A, SAKAGUCHI S. Targeting Treg cells in cancer immunotherapy [J]. Eur J Immunol, 2019, 49(8): 1140-1146
- [4] KHAIRALLAH A S, GENESTIE C, AUGUSTE A, et al. Impact of neoadjuvant chemotherapy on the immune microenvironment in advanced epithelial ovarian cancer: prognostic and therapeutic implications [J]. Int J Cancer, 2018, 143(1): 8-15
- [5] COUKOS G, TANYI J, KANDALAFT L E. Opportunities in immunotherapy of ovarian cancer [J]. Ann Oncol, 2016, 27(Suppl 1): i11-i15
- [6] GUO Q, JIN Z, YUAN Y, et al. Corrigendum to “new mechanisms of tumor-associated macrophages on promot-

- ing tumor progression: recent research advances and potential targets for tumor immunotherapy” [J]. *J Immunol Res*, 2018, 2018: 6728474
- [7] GALGANI M, DE ROSA V, LA CAVA A, et al. Role of metabolism in the immunobiology of regulatory T cells [J]. *J Immunol*, 2016, 197(7): 2567-2575
- [8] GABRILOVICH D. Myeloid-derived suppressor cells [J]. *Cancer Immunol Res*, 2017, 5(1): 3-8
- [9] GEORGIEV P, CHARBONNIER L M, TA C L. Regulatory T cells: the many faces of Foxp3 [J]. *J Clin Immunol*, 2019, 39(7): 623-640
- [10] CHANG C H, QIU J, O’ SULLIVAN D, et al. Metabolic competition in the tumor microenvironment is a driver of cancer progression [J]. *Cell*, 2015, 162(6): 1229-1241
- [11] HO P C, BIHUNIAK J D, MACINTYRE A N, et al. Phosphoenolpyruvate is a metabolic checkpoint of anti-tumor T cell responses [J]. *Cell*, 2015, 162(6): 1217-1228
- [12] 尚文雯, 徐睿, 吴茗, 等. 卵巢癌细胞促进外周血CD4⁺T细胞糖酵解代谢 [J]. *临床检验杂志*, 2019, 37(10): 726-730
- [13] 陆云杰, 高骥, 王学浩. 调节性T细胞(Treg)中miRNA信号通路的研究进展 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2017, 37(1): 10-14
- [14] 汪瀚, 翟原. 天然型调节性T细胞在胸腺内的分化发育机制 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2017, 37(1): 15-19
- [15] CLUXTON D, PETRASCA A, MORAN B, et al. Differential regulation of human Treg and Th17 cells by fatty acid synthesis and glycolysis [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 115
- [16] WARBURG O. On respiratory impairment in cancer cells [J]. *Science*, 1956, 124(3215): 269-270
- [17] KISHORE M, CHEUNG K, FU H, et al. Regulatory T cell migration is dependent on glucokinase-mediated glycolysis [J]. *Immunity*, 2018, 48(4): 831-832
- [18] VANDER HEIDEN M G, CANTLEY L C, THOMPSON C B. Understanding the warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation [J]. *Science*, 2009, 324(5930): 1029-1033
- [19] SUN L, FU J, ZHOU Y. Metabolism controls the balance of Th17/T-regulatory cells [J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1632
- [20] COE D J, KISHORE M, MARELLI-BERG F. Metabolic regulation of regulatory T cell development and function [J]. *Front Immunol*, 2014, 5: 590
- [21] NEWTON R, PRIYADHARSHINI B, TURKA L A. Immunometabolism of regulatory T cells [J]. *Nat Immunol*, 2016, 17(6): 618-625
- [22] LI L, LIU X, SANDERS K L, et al. TLR8-mediated metabolic control of human Treg function: a mechanistic target for cancer immunotherapy [J]. *Cell Metab*, 2019, 29(1): 103-123.e5
- [23] WOFFORD J A, WIEMAN H L, JACOBS S R, et al. IL-7 promotes Glut1 trafficking and glucose uptake via STAT5-mediated activation of Akt to support T-cell survival [J]. *Blood*, 2008, 111(4): 2101-2111
- [24] GREINER E F, GUPPY M, BRAND K. Glucose is essential for proliferation and the glycolytic enzyme induction that provokes a transition to glycolytic energy production [J]. *J Biol Chem*, 1994, 269(50): 31484-31490

[收稿日期] 2020-07-30