

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.23.025

网络首发 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220823.1748.006.html>(2022-08-24)

## Tim-3 及其配体 Galectin-9 在鼻咽癌免疫逃逸的研究进展\*

苏 康 综述,王启俊<sup>△</sup> 审校

(广西医科大学附属民族医院/广西壮族自治区民族医院病理科,南宁 530001)

**[摘要]** 免疫调节异常是鼻咽癌发病的重要因素。T 细胞在介导肿瘤免疫反应中起重要作用。T 细胞免疫球蛋白粘蛋白 3(Tim-3)及其配体半乳糖凝集素 9(Galectin-9)在包括鼻咽癌等多种肿瘤引起的免疫功能障碍中起着关键作用,是调节先天免疫和适应性免疫应答的重要信号通路,二者结合导致 T 细胞的凋亡和 T 细胞免疫的负调节。在目前的研究中,对于 Tim-3/Galectin-9 信号通路在鼻咽癌中调控机制的研究还较少。因此,进一步深入阐明二者间的调控关系和机制可能为鼻咽癌的临床治疗提供新思路。

**[关键词]** T 细胞免疫球蛋白粘蛋白 3;半乳糖凝集素 9;鼻咽癌

**[中图法分类号]** R739.63 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2022)23-4084-05

## Research progress of Tim-3 and its ligand Galectin-9 in immune escape of nasopharyngeal carcinoma\*

SU Geng, WANG Qijun<sup>△</sup>

(Department of Pathology, Affiliated National Hospital of Guangxi Medical University/National Hospital of Guangxi Autonomous Region, Nanning, Guangxi 530001, China)

**[Abstract]** Abnormal immune regulation is an important factor in the pathogenesis of nasopharyngeal carcinoma. T cells play an important role in mediating tumor immune response. T cell immunoglobulin mucin 3 (Tim-3) and its ligand Galectin-9 (Galectin-9) play a key role in the process of immune dysfunction caused by a variety of tumors, including nasopharyngeal carcinoma, which is an important signal pathway for regulating congenital immunity and adaptive immune response, the combination of Tim-3 and Galectin-9 leads to T cell apoptosis and negative regulation of T cell immunity. In the current researches, there are few studies on the regulation mechanism of Tim-3/Galectin-9 signaling pathway in nasopharyngeal carcinoma. Therefore, further clarifying the regulatory relationship and mechanism between the two may provide the new ideas for the clinical treatment of nasopharyngeal carcinoma.

**[Key words]** Tim-3; Galectin-9; nasopharyngeal carcinoma

鼻咽癌是我国南方常见的头颈部恶性肿瘤。局部淋巴结转移和治疗后复发是其重要临床特征。目前已知的鼻咽癌致病因素包括 EB 病毒感染、遗传易感性、环境因素等。相比其他头颈部肿瘤,鼻咽癌具有侵袭转移能力强、预后差的特点<sup>[1]</sup>。尽管鼻咽癌放疗技术不断发展,但由于早期症状的隐蔽性,60%~85%的鼻咽癌患者在诊断时已有转移,导致疗效不佳。目前该病的 5 年生存率仅维持在 60%左

右<sup>[2]</sup>。免疫调节异常是鼻咽癌发生的重要环节;T 细胞免疫在介导肿瘤免疫反应中起着重要作用<sup>[3]</sup>。寻找鼻咽癌特异性分子标志并从 T 细胞免疫上抑制促癌基因的表达或者上调抑癌基因的表达可能抑制鼻咽癌的发生、发展。

T 免疫球蛋白及黏蛋白分子 3(Tim-3)是 Tims 家族的成员。其发生负性免疫反应,致肿瘤细胞逃避免疫清除,造成肿瘤免疫逃逸。它与其配体半乳糖苷

\* 基金项目:国家自然科学基金地区科学基金项目(82060469);广西壮族自治区卫生健康委员会科研课题(Z20211162)。 作者简介:苏康(1980-),主任医师,硕士,主要从事肿瘤病理研究。 <sup>△</sup> 通信作者, E-mail:617421767@qq.com。

结合蛋白 9(Galectin-9)结合后诱导细胞凋亡,阻断这一途径将恶化自身免疫性疾病并失衡免疫耐受模型。因此,它被认为是一种负性免疫调节因子<sup>[4-5]</sup>。二者的结合导致 T 细胞凋亡和 T 细胞免疫的负调节。T 细胞执行特定的细胞免疫和免疫调节功能。CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> 等 T 细胞代表其 3 个主要亚群。研究表明,Tim-3 在 T 细胞表面表达,如 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup>,调节 Tim-3 的某些生物学功能有助于激活 T 细胞的功能和活性<sup>[6]</sup>。Tim-3 与 Galectin9 之间的配体-受体反应在肿瘤免疫细胞定位、功能性免疫细胞分化和凋亡及炎症因子释放中起着重要作用。现将 Tim-3/Galectin-9 信号通路在鼻咽癌免疫中的研究进展综述如下。

## 1 Tim-3

### 1.1 Tim-3 的结构及功能和机制

Tim 家族包括 8 个组员,其中 Tim-3 和 Tim-4 在染色体 5q33.2 位置上。Tim-3 结构是跨膜糖蛋白,由 301 个氨基酸组成。包括免疫球蛋白结构、细胞外糖蛋白、细胞内 C 和跨膜区短尾<sup>[7]</sup>。Tim-3 通过细胞外球蛋白结构域与其配体关联。在二硫键的作用下,免疫球蛋白结构域由 6 个半胱氨酸残基组成,形成与配体“口袋”状结构<sup>[8]</sup>。研究发现,Tim-3 可以在 Th1 细胞、Th17 细胞、CD8<sup>+</sup> T 细胞和调节性 T 细胞上检测到,甚至在自然杀伤细胞(NK 细胞)、树突状细胞(DC)、巨噬细胞表面也可以检测到,这表明 Tim-3 除了参与免疫应答的适应性调节外,它还参与调节身体的自然免疫反应。Tim-3 通过配体作用及与 T 细胞受体(TCR)的信使作用,诱导一系列信号传递,从而抑制免疫细胞,诱导 T 细胞和 NK 细胞凋亡,引起肿瘤免疫抑制、自身免疫反应,各种免疫疾病的过敏发生和发展,如移植排斥等<sup>[9-10]</sup>。

### 1.2 Tim-3 与肿瘤免疫

Tim-3 与 PD-1 类似,是一种免疫阴性调节因子。Tim-3 可能机制如下:(1)Tim-3 可以导致肿瘤细胞的侵袭或转移,而 Tim-3 体外抑制可以降低 HeLa 细胞的侵袭性。(2) Tim-3<sup>+</sup> 淋巴细胞来源的内皮细胞可直接抑制 CD4<sup>+</sup> T 细胞,抑制 Th1 分化,并通过激活 il-6-stat3 途径提供免疫保护。(3) Tim-3 在急性髓系白血病细胞中广泛表达。Tim-3 激动剂抗体和配体半乳糖凝集素-9 可显著上调(mTOR)通路的活性,使 P70S6K1(T389)和 eIF4E-BP1(S65)蛋白磷酸化,增加缺氧诱导因子 $\alpha$ (HIF-1 $\alpha$ )和肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、血管内皮生长因子(VEGF)的分泌。(4) 抗 PD-1

治疗后具有适应性抵抗的头颈部肿瘤通过增强磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)/(PI3K/iakt/mTOR)来上调 Tim-3,并参与免疫负性调节<sup>[11-13]</sup>。

### 1.3 Tim-3 与鼻咽癌

研究表明,不同的组织细胞类型 Tim-3 的表达水平也不尽相同,更多研究表明,在宫颈癌及胃癌中, Tim-3 高表达促进肿瘤的浸润及转移<sup>[14-15]</sup>。XIAO 等<sup>[16]</sup>发现, Tim-3 在鼻咽癌 CD8、CD11b 细胞和 CD33 上的表达升高, Tim-3 的表达与淋巴结转移关联;此外,复发性鼻咽癌和鼻咽癌患者在化疗或放疗前 Tim-3 的表达也会增加。在 Tgfbr1/Pten 2cKO 大鼠实验模型发现抗 Tim-3 治疗通过靶向 Tim-3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> T 细胞和 Tim-3(+)CD8(+) T 细胞可以恢复效应 T 细胞的功能。Tim-3 的高表达与鼻咽肿瘤高侵袭能力和低分化趋势有一定的相关性。它可以独立作为潜在鼻咽癌发病机制、侵袭和转移的重要指标。

## 2 Galectin-9

### 2.1 Galectin-9 的结构及功能和机制

凝集素家族是一组糖结合蛋白。该家族的分子具有 1~2 个具有高半乳糖亲和力的保守碳水化合物识别域。它们广泛分布于哺乳动物组织中。到目前为止,发现 15 种属于该家族的蛋白质。半乳糖凝集素在先天性和调配性免疫细胞中也很丰富。在免疫耐受和炎症反应中其发挥重要作用。一系列研究表明,它是一种免疫调节分子,起着关键作用。它不仅参与细胞迁移、增殖、黏附和凋亡的调节,还直接作用于病原微生物。同时影响 Treg 细胞的分化、树突状细胞的成熟以及抗病原微生物的作用<sup>[17-18]</sup>。其分子结构具有半乳糖凝集素家族的重复串联特征。两个相似的碳水化合物识别域(CRD)分布在分子的两端,CRD 结构由一个稍短的连接肽偶联在一起。人半乳糖凝集素-9 分子 N 端和 C 端的两个 CRD 分别含有 148 和 149 个氨基酸。CRD 的功能域是一个重要的结构特征,可以与 Tim-3 结合。根据连接肽长度将其分为 3 种转录异构体。长端连接肽含 58 个氨基酸,中等连接肽包含 26 个氨基酸,最短的仅包含 14 个氨基酸。这 3 种异构体的生物学功能差异未见报道。与半乳糖凝集素家族的其他蛋白质类似,半乳糖凝集素-9 在组织和细胞中广泛表达。半乳糖凝集素-9 可与多种配体结合,如 Tim-3、细胞蛋白二硫键异构酶、IgE 等。因此,Galectin-9 通过与不同的配体结合,在

天然免疫和适应性免疫调节过程中,可以发挥多向性调节作用<sup>[19]</sup>。

## 2.2 Galectin-9 与肿瘤免疫

Galectin-9 已证明在肿瘤免疫学中发挥重要作用。它能促进免疫活性细胞增殖和活化,增强其抗肿瘤免疫力。Galectin-9 可以诱导人树突状细胞成熟,促进表达肿瘤抗原的能力,进而诱导 Th1 介导的免疫效应。一些研究发现,半乳糖凝集素-9 可诱导 Tim-3<sup>+</sup>CD8 的成熟<sup>[20]</sup>,并能延长 Meth-A 荷瘤生存时间,这可能与半乳糖凝集素-9 增加荷瘤小鼠分泌的干扰素  $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )和 IL-4 因子相关。经半乳糖凝集素-9 治疗的荷瘤小鼠脾细胞可分化为 Tim-3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CTL 细胞。这些 CTL 相关因子具有较强的细胞溶解活性和毒性,并能杀死肿瘤细胞。此外,重组半乳糖凝集素-9 治疗的黑色素瘤小鼠不仅增加了 CD8<sup>+</sup>CTL 的数量,而且促进 NK 细胞和巨噬细胞的增殖。KOBAYASHI 等<sup>[21]</sup>评估了 Galectin-9 在体外对人胆管癌细胞增殖的影响,发现半乳糖凝集素-9 通过 caspase 依赖或独立途径介导的内部凋亡途径诱导癌细胞凋亡。研究表明,在许多肿瘤中,如肝细胞癌、乳腺癌和结肠腺癌,半乳糖凝集素-9 可通过 JNK 和 p38 MAP 激酶途径诱导癌细胞凋亡<sup>[22-24]</sup>。

## 2.3 Galectin-9 与鼻咽癌

Galectin-9 与肿瘤细胞黏附、迁移、侵袭、肿瘤免疫逃逸有关。一些研究发现,半乳糖凝集素-9 在非角化性鼻咽癌细胞中高表达,但在转移性病变中低表达或不表达。另有研究发现,Galectin-9 高表达的鼻咽癌细胞株容易形成集落,不易转移,而 Galectin-9 低表达的鼻咽癌细胞株更容易分散、转移。Galectin-9 在鼻咽癌中的上调可导致细胞聚集,降低肿瘤扩散,显著提高患者的生存率。Galectin-9 在原发性鼻咽癌中高表达,但在有远处转移的鼻咽癌中低表达。在鼻咽癌小鼠模型中,Galectin-9 过表达细胞的转移能力显著降低,而静脉注射重组 Galectin-9 可抑制野生型鼻咽癌细胞在小鼠体内的癌转移<sup>[25]</sup>。上述研究表明,半乳糖凝集素-9 能抑制鼻咽癌的发生、发展,可作为其潜在治疗靶点。

## 3 Tim-3/Galectin-9 通路与鼻咽癌免疫调控的关系

在 Tim-3 配体和 Tim-3 球蛋白之间的生物相互作用中,Galectin-9 是第一个被认可的 Tim-3 天然配体。它由两个肽链连接的糖基识别域组成,是一种广泛表达的可溶性分子,可在肿瘤相关巨噬细胞、抗原呈递细胞、调节性 T 细胞、CD4<sup>+</sup>T 细胞、CD8<sup>+</sup>T 细胞

和上皮细胞中不同程度地表达。糖化 Tim-3 结构域可与 Galectin-9 相互作用,导致结合到 Tim-3 细胞内段的人类白细胞抗原 B(HLA-B)相关转录因子 3 解离,刺激钙离子进入激活的 T 细胞,并通过诱导 T 细胞凋亡抑制 T 细胞介导的免疫应答。结果发现,用 Galectin-9 重组后,巨噬细胞向 M1 型极化增加,而出现相反的现象。因此推测,Tim-3/Galectin-9 信号通路可以通过调节细胞因子分泌和巨噬细胞极化参与肿瘤生长、侵袭和转移<sup>[26-27]</sup>。此外,通过 Tim-3/Galectin-9 信号通路的相互作用,可刺激单核细胞和树突状细胞等天然免疫细胞分泌少量 TNF。肿瘤细胞表面的 Galectin-9 可直接导致肿瘤细胞凋亡,进而产生颗粒酶 B,穿孔素和干扰素通过与 Tim-3 结合在 DC 和 CD8<sup>+</sup>T 细胞上杀死肿瘤细胞<sup>[28]</sup>。

CHEN 等<sup>[29]</sup>发现,Tim-3 的配体 Galectin-9 在鼻咽癌细胞分泌的外显体中高度表达,半乳糖凝集素-9 嵌入外显体中,可防止酶降解;鼻咽癌外显体可通过 Tim-3/Galectin-9 途径诱导人类疱疹病毒(EBV)特异性 CD4<sup>+</sup>T 细胞凋亡。从 C17 鼻咽癌细胞中纯化的外显体在不到 5 h 内诱导近 35% 的 gb3c 和 jm1h2 CD4<sup>+</sup>T 细胞凋亡;通过使用阻断 Tim-3 的抗体或直接使用阻断 Galectin-9 的抗体 9m1-3,可以提高 CD4<sup>+</sup>T 细胞的长期存活率;阻断 Tim-3/Galectin-9 通路可以降低 Th1 细胞的抑制作用,增强抗肿瘤免疫反应。

## 4 结语和展望

在鼻咽癌中,Tim-3 和 Galectin-9 分子表达上调,提示 Tim-3/Galectin-9 可能成为未来鼻咽癌控制的靶点,为鼻咽癌的治疗提供了新的探索方向。对 Tim-3 和 Galectin-9 在信号转导中分子机制的研究,不仅对鼻咽癌治疗会起到促进作用,也将有助于进一步了解肿瘤发生、发展和转移的机制。然而,在肿瘤免疫中,一些新的 T 细胞免疫抑制共刺激分子(如 T 细胞免疫球蛋白和 T 淋巴细胞减弱因子)的作用和机制尚不清楚,它们与 Tim-3/Galectin-9 信号通路的关系有待进一步阐明。因此,需要更高水平的肿瘤分子研究和大量临床试验来证实。

## 参考文献

- [1] BALOCHE V, FERRAND F R, MAKOWSKA A, et al. Emerging therapeutic targets for nasopharyngeal carcinoma: opportunities and chal-

- lenges[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2020, 24(6):545-558.
- [2] CAMPION N J, ALLY M, JANK B J, et al. The molecular march of primary and recurrent nasopharyngeal carcinoma[J]. *Oncogene*, 2021, 40(10):1757-1774.
- [3] FERRALL-FAIRBANKS M C, CHAKIRYAN N H, CHOBRUTSKIY B I, et al. Quantification of T-and B-cell immune receptor distribution diversity characterizes immune cell infiltration and lymphocyte heterogeneity in clear cell renal cell carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2022, 82(5):929-942.
- [4] DE MINGO P Á, GARDNER A, HIEB LER S, et al. Tim-3 regulates CD103<sup>+</sup> dendritic cell function and response to chemotherapy in breast cancer[J]. *Cancer Cell*, 2018, 33(1):60-74.
- [5] MOHSENZADEGAN M, BAVANDPOUR P, NOWROOZI M R, et al. The potential of T Cell immunoglobulin and Mucin-Domain Containing-3 (Tim-3) in designing novel immunotherapy for bladder cancer[J]. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 2021, 21(12):2131-2146.
- [6] ZHANG W, ZHANG Y, HE Y, et al. Lipopolysaccharide mediates time-dependent macrophage M1/M2 polarization through the Tim-3/Galectin-9 signalling pathway [J]. *Exp Cell Res*, 2019, 376(2):124-132.
- [7] ANDERSON A C, JOLLER N, KUCHROO V K, et al. Lag-3, Tim-3, and TIGIT: co-inhibitory receptors with specialized functions in immune regulation [J]. *Immunity*, 2016, 44(5):989-1004.
- [8] DATAR I, SANMAMED M F, WANG J, et al. Expression Analysis and Significance of PD-1, LAG-3, and Tim-3 in human non-small cell lung cancer using spatially resolved and multiparametric single-cell analysis [J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(15):4663-4673.
- [9] WANG Y, KUAI Q, GAO F, et al. Overexpression of Tim-3 in macrophages aggravates pathogenesis of pulmonary fibrosis in mice[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2019, 61(6):727-736.
- [10] TAN S, XU Y, WANG Z, et al. Tim-3 hampers tumor surveillance of liver-resident and conventional NK Cells by disrupting PI3K signaling [J]. *Cancer Res*, 2020, 80(5):1130-1142.
- [11] DAS M, ZHU C, KUCHROO V K, et al. Tim-3 and its role in regulating anti-tumor immunity [J]. *Immunol Rev*, 2017, 276(1):97-111.
- [12] ISABEL G S, INNA M Y, SVETLANA S S, et al. The Tim-3-Galectin-9 secretory pathway is involved in the immune escape of human acute myeloid leukemia cells[J]. *EBio Med*, 2017, 22(1):44-57.
- [13] HOLDERRIED T, DE VOS L, BAWDEN E G, et al. Molecular and immune correlates of Tim-3 (HAVCR2) and galectin 9 (LGALS9) mRNA expression and DNA methylation in melanoma[J]. *Clin Epigenetics*, 2019, 11(1):161.
- [14] CURLEY J, CONAWAY MR, CHINN Z, et al. Looking past PD-L1: expression of immune checkpoint Tim-3 and its ligand Galectin-9 in cervical and vulvar squamous neoplasia [J]. *Mod Pathol*, 2020, 33(6):1182-1192.
- [15] NAGHAVI-ALHOSSEINI M, TEHRANI M, AJAMI A, et al. Tim-3 up-regulation in patients with gastric cancer and peptic ulcer disease[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2017, 18(3):765-770.
- [16] XIAO Y, QING J, LI B, et al. Tim-3 participates in the invasion and metastasis of nasopharyngeal carcinoma via SMAD7/SMAD2/SNAIL1 axis-mediated epithelial-mesenchymal transition[J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13(1):1993-2006.
- [17] LAI J H, LUO S F, WANG M Y, et al. Translational implication of Galectin-9 in the pathogenesis and treatment of viral infection[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(10):2108.
- [18] KOBAYASHI T, UBUKAWA K, FUJISHIMA M, et al. Correlation between increased immune checkpoint molecule expression and refractoriness to blinatumomab evaluated by longitudinal

- T cell analysis [J]. *Int J Hematol*, 2021, 113 (4):600-605.
- [19] LUO L H, LI D M, WANG Y L, et al. Tim3/Galectin-9 alleviates the inflammation of TAO patients via suppressing Akt/NF- $\kappa$ B signaling pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 491(4):966-972.
- [20] ENNINGA E A, NEVALA W K, HOLTAN S G, et al. Galectin-9 modulates immunity by promoting Th2/M2 differentiation and impacts survival in patients with metastatic melanoma [J]. *Melanoma Res*, 2016, 26(5):429-441.
- [21] KOBAYASHI K, MORISHITA A, IWAMA H, et al. Galectin-9 suppresses cholangiocarcinoma cell proliferation by inducing apoptosis but not cell cycle arrest [J]. *Oncol Rep*, 2015, 34 (4): 1761-1770.
- [22] LANGHANS B, NISCHALKE H D, KRÄMER B, et al. Role of regulatory T cells and checkpoint inhibition in hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2019, 68 (12): 2055-2066.
- [23] SELNØ A T H, SCHLICHTNER S, YASINSKA I M, et al. Transforming growth factor beta type 1 (TGF- $\beta$ ) and hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) transcription complex as master regulators of the immunosuppressive protein galectin-9 expression in human cancer and embryonic cells [J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(23): 23478-23496.
- [24] SASIDHARAN N V, TOOR S M, TAHA R Z, et al. DNA methylation and repressive histones in the promoters of PD-1, CTLA-4, Tim-3, LAG-3, TIGIT, PD-L1, and Galectin-9 genes in human colorectal cancer [J]. *Clin Epigenetics*, 2018, 10(1):104.
- [25] BARJON C, NIKI T, VÉRILLAUD B, et al. A novel monoclonal antibody for detection of Galectin-9 in tissue sections: application to human tissues infected by oncogenic viruses [J]. *Infect Agent Cancer*, 2012, 17(1):16.
- [26] EMERIC L, CORENTIN R, MARION T, et al. Tim-3/Galectin-9 pathway and mMDSC control primary and secondary resistances to PD-1 blockade in lung cancer patients [J]. *Oncoimmunology*, 2019, 8(4):e1564505.
- [27] INNA M Y, SVETLANA S S, LUDMILA P, et al. The Tim-3-Galectin-9 pathway and its regulatory mechanisms in human breast cancer [J]. *Front Immunol*, 2019, 10(1):1594.
- [28] ZHANG L, TIAN S J, PEI M L, et al. Crosstalk between histone modification and DNA methylation orchestrates the epigenetic regulation of the costimulatory factors, Tim-3 and galectin-9, in cervical cancer [J]. *Oncol Rep*, 2019, 42 (6):2655-2669.
- [29] CHEN T C, CHEN C H, WANG C P, et al. The immunologic advantage of recurrent nasopharyngeal carcinoma from the viewpoint of Galectin-9/Tim-3-related changes in the tumour microenvironment [J]. *Sci Rep*, 2017, 7 (1):10349.

(收稿日期:2022-01-18 修回日期:2022-06-18)