

DOI: 10.20135/j.issn.1006-8147.2024.02.0122

论著

# 肾透明细胞癌来源的 IL4I1 介导 PD1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞募集的相关研究

李美, 来佳丹, 魏诗瑶, 孟晋欢, 李常颖

(天津市泌尿外科研究所精准医学研究中心, 天津医科大学第二医院泌尿外科, 天津 300211)

**摘要** 目的:探讨肾透明细胞癌(ccRCC)来源的白细胞介素4诱导蛋白1(IL4I1)对表达PD1的CD8<sup>+</sup>肿瘤浸润淋巴细胞(TILs)的诱导与募集作用。方法:利用公共数据库分析ccRCC组织中IL4I1的表达与CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞浸润及免疫功能相关分子表达的关系,通过免疫组织化学法进行验证;构建过表达IL4I1蛋白的769P细胞系并验证;荧光定量PCR(qPCR)和酶联免疫吸附试验(ELISA)检测过表达IL4I1 ccRCC细胞表达趋化因子的变化。结果:高表达IL4I1的ccRCC组织中有更多的CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞浸润( $P=6.843 \times 10^{-7}$ ),其浸润水平与IL4I1的表达水平呈正相关( $r^2=0.5764, P<0.001$ );且浸润的CD8<sup>+</sup>T细胞多表达抑制型分子PD1。过表达IL4I1的ccRCC 769P细胞所表达的趋化因子配体(CCL2、CCL4、CCL5、CCL17)在mRNA水平显著下调( $t=95.16、116.1、21.28、68.47$ , 均 $P<0.05$ )。同时,细胞培养上清中CCL4、CCL5浓度明显升高( $t=6.760、6.846$ , 均 $P<0.05$ )。结论:ccRCC组织中IL4I1与PD1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞浸润密切相关,可能通过调控趋化因子的表达,参与免疫抑制型CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞在肿瘤局部的募集。

**关键词** 肾透明细胞癌;IL4I1;PD-1;CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞;趋化因子

中图分类号 R737.1

文献标志码 A

文章编号 1006-8147(2024)02-0122-06

## Research on recruitment of PD1<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T lymphocytes mediated by IL4I1 derived from clear cell renal cell carcinoma

LI Mei, LAI Jiadan, WEI Shiyao, MENG Jinhuan, LI Changying

(Precision Medicine Research Center, Tianjin Institute of Urology, Department of Urology, The Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China)

**Abstract** **Objective:** To explore the role of interleukin-4-induced-1 (IL4I1) in inducement and recruitment of CD8<sup>+</sup> tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) expressing PD1 in clear cell renal cell carcinoma (ccRCC). **Methods:** The relationship between IL4I1 expression and CD8<sup>+</sup> T lymphocyte infiltration and immune function related molecules expression in ccRCC tissues was analyzed using a public database, and verified by immunohistochemistry (IHC). The 769P cell line overexpressing IL4I1 protein was constructed and verified. Quantitative real-time PCR (qPCR) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) were used to compare the expression of chemokines in ccRCC after IL4I1 overexpression. **Results:** CD8<sup>+</sup> T lymphocyte infiltration was more frequent in ccRCC tissues with high IL4I1 expression ( $P=6.843 \times 10^{-7}$ ), and its infiltration level was positively correlated with IL4I1 expression level ( $P<0.001$ ). The infiltrating CD8<sup>+</sup> T cells mostly expressed the inhibitory molecule PD1. The mRNA levels of chemokine ligand (CCL2, CCL4, CCL5 and CCL17) were significantly down-regulated in ccRCC 769P cells after over-expression of IL4I1 ( $t=95.16, 116.1, 21.28, 68.47$ , all  $P<0.05$ ). At the same time, the concentrations of CCL4 and CCL5 in cell culture supernatant were significantly increased ( $t=6.760, 6.846$ , both  $P<0.05$ ). **Conclusion:** IL4I1 is closely related to the infiltration of PD1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> T lymphocytes in ccRCC tissues, and may participate in the recruitment of immunosuppressive CD8<sup>+</sup> T lymphocytes by regulating the expression of chemokines.

**Key words** clear cell renal cell carcinoma; IL4I1; PD1; CD8<sup>+</sup> T lymphocytes; chemokines

肾透明细胞癌(clear cell renal cell carcinoma, ccRCC)是一种具有免疫原性、富于免疫细胞浸润的肿瘤,而浸润的免疫细胞却无法有效地发挥抗肿瘤功能,其根源在于肿瘤微环境的免疫抑制状态。微

环境的免疫抑制的原因可能包括效应T细胞程序性细胞死亡蛋白-1(PD-1)、TIM3等免疫检查点的高表达,免疫抑制性细胞如调节性T细胞(regulatory T cells, Tregs)等的募集浸润,细胞因子、趋化因子、酶等小分子的负性调控作用等<sup>[1-3]</sup>。白细胞介素(IL)-4又名L-氨基酸氧化酶(LAO),是一种分泌氨基酸代谢的酶,参与苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸等的分解代谢,在天然免疫中发挥多重免疫调节作用。

基金项目 天津医科大学第二医院重点实验室基金(ZDSYS202308, 2017ZDSYS12)

作者简介 李美(1977-),女,护师,学士,研究方向:泌尿系统肿瘤微环境;通信作者:李常颖, E-mail: cli\_cvrl@tmu.edu.cn。

PD1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞是一种衰竭T细胞。在慢性感染和肿瘤中,T细胞暴露于持续的抗原和(或)炎症信号,这种“衰竭”的状态与T细胞功能的恶化有关。耗竭的T细胞失去强大的效应功能,表达多种抑制性受体,并由转录程序改变定义。早期T细胞耗竭在小鼠的慢性病毒感染中发现<sup>[4]</sup>,后期在人类免疫缺陷病毒(HIV)、丙型肝炎病毒(HCV)等感染期间及在人类癌症中也观察到<sup>[5-6]</sup>。T细胞耗竭阻止了机体对感染和肿瘤的最佳控制,但其间过度表达的通路,例如通过靶向PD1和细胞毒性T淋巴细胞抗原4(CTLA4),可以逆转这种功能失调的状态并重新激活免疫反应<sup>[6-7]</sup>。

课题组前期研究发现,高表达IL4I1提示ccRCC患者预后不良<sup>[8]</sup>,且ccRCC来源的IL4I1具有介导Treg募集与分化的作用<sup>[9]</sup>。作为免疫调控因子,IL4I1是否参与ccRCC免疫效应T细胞的功能调控及促进免疫逃逸尚未见相关报道。本研究着力探究IL4I1在ccRCC中的表达及其与CD8<sup>+</sup>T细胞功能表型和局部募集的关系。

## 1 材料与方法

**1.1 细胞系与试剂** 人ccRCC细胞株769P、人胚肾细胞株293T为天津医科大学第二医院中心实验室液氮内保留细胞株,均于5% CO<sub>2</sub>、37℃恒温培养箱中培养。胎牛血清(BI)、RPMI-1640培养基、DMEM高糖培养基、青霉素-链霉素混合液(上海源培),IL4I1过表达质粒干粉(森灵质粒),TRIzol、反转录试剂盒(Thermo),FS Universal SYBR Green Master(Roche),PCR引物(生工生物),抗-IL4I1抗体(Abcam),CD8<sup>+</sup>单克隆抗体(Proteintech),PD1/CD279单克隆抗体(Proteintech),IL4I1酶联免疫吸附检测试剂盒(CLOUD-CLONE),人CCL4 ELISA检测试剂盒、人CCL5 ELISA检测试剂盒(上海酶研)。

**1.2 生信分析** 利用肿瘤基因组图谱TCGA数据库(<https://portal.gdc.cancer.gov/>)下载ccRCC转录组数据(TCGA-KIRC),包括537例患者、72个正常样本和541个肿瘤样本。通过“limma”包分析ccRCC肿瘤样本中IL4I1表达量与免疫细胞的关系。利用基于TCGA的免疫浸润细胞分析数据库TIMER2.0(<http://timer.cistrome.org/>),分析ccRCC肿瘤组织中IL4I1的表达与CD8<sup>+</sup>T细胞浸润、CD8<sup>+</sup>T细胞免疫功能抑制相关基因LAG3、CTLA4、TIM3(HAVC-R2)、TOX、CD244、TIGIT、PDCD1的表达以及趋化CD8<sup>+</sup>T细胞浸润细胞因子的表达的关系。

**1.3 免疫组织化学法** ccRCC标本取自天津医科大学第二医院病理科,本研究经天津医科大学第二

医院伦理委员会批准(KY2020K185)。20例病理切片经烘烤脱蜡、不同浓度乙醇水化、加热抗原修复、过氧化氢灭活内源性过氧化物酶活性、山羊血清封闭后,滴加按1:100稀释后的一抗溶液于湿盒内过夜孵育,约18h后滴加按1:10000稀释后的二抗溶液孵育,经DAB显色、苏木素复染、自来水冲洗反蓝、脱水、透明后封片,于光学显微镜下阅片、判读。

IL4I1蛋白表达水平判读标准:IL4I1存在于细胞质中,将棕黄色染色定义为阳性。双盲法阅片,总评分=(染色强度+染色面积):1~2分为-,3~4分为+,5分为++,6~7分为+++<sup>[10]</sup>。根据蛋白表达高低,划分染色强度:不表达为0分,低表达为1分,中等表达为2分,高表达为3分。根据(200×)视野内阳性细胞数量占比,划分染色面积:无阳性细胞为0分,<10%为1分,10%~25%为2分,25%~50%为3分,>50%为4分。

**1.4 构建IL4I1过表达ccRCC细胞模型** 用慢病毒包装质粒及IL4I1过表达质粒转染293T细胞,收集含有病毒颗粒的上清液。抽取2mL过筛后的病毒液与2mLRPMI-1640完全培养基、4μL Hexadime-thrine Bromide溶液(10 μg/mL)混合后备用。将待转染769P细胞铺于6孔板中,当细胞融合度达70%~80%时,用上述混合液替换原有培养基,每孔加入2mL。8h后更换培养基为正常RPMI-1640完全培养基,24h后可进行二次转染以提高转染效率。利用含有5 μg/mL嘌呤霉素的完全培养基进行筛选,得到实验组769P-OE和对照组769P-Ctrl细胞。

**1.5 荧光定量PCR(qPCR)** 利用TRIzol裂解细胞收集RNA,用酶标仪测定浓度,反转录试剂盒得到逆转录产物cDNA。按比例加入FastStart Universal SYBR Green Master、cDNA模版、上下游引物及无酶水,先于95℃反应10min预变性,后95℃15s、60℃60s循环40次扩增。反应结束后,根据2<sup>-ΔΔCT</sup>法处理所得到的CT值,分析兴趣基因的相对表达量。引物序列见表1。

**1.6 蛋白免疫印迹** 用RIPA提取细胞蛋白,通过SDS-PAGE电泳分离蛋白质样品后,将蛋白质转移到硝化纤维素或聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上,经5%脱脂奶粉封闭、1:1000一抗孵育、1:5000二抗孵育后,应用化学发光法曝光并采集图像。Image J进一步分析蛋白表达量。

**1.7 酶联免疫吸附试验(ELISA)** 收集48h细胞培养上清,3000r/min离心10min去除死细胞和其他颗粒、聚合物,用酶标仪检测各孔OD450值,绘制

标准曲线,计算 IL4I1、CCL4 及 CCL5 的浓度。

1.8 统计学处理 利用 GraphPad Prism 9.0 进行统计学处理,正态分布的计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用  $t$

检验、方差分析进行组间比较,采用简单线性回归模型分析两变量之间的关系, $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

表 1 荧光定量 PCR 所用引物序列

Tab.1 Primer sequences used for qPCR

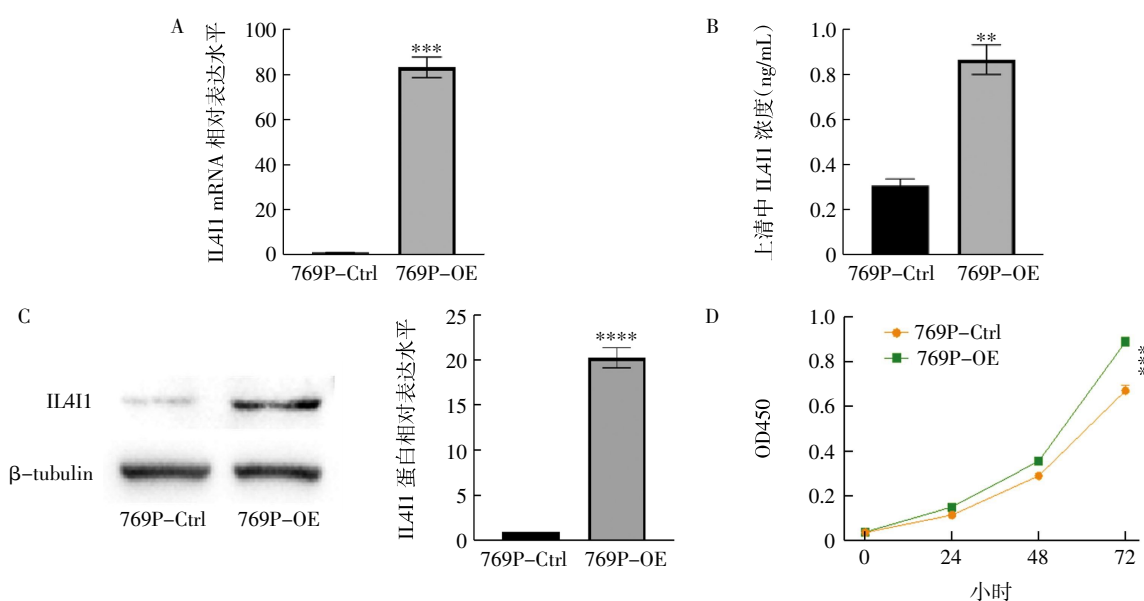
基因名称	上游序列(5'→3')	下游序列(5'→3')
<i>IL4I1</i>	ACTCGCCCGAAGACATCTAC	CATCCTCGGACATCACGTCTC
<i>CCL2</i>	CAGCCAGATGCAATCAATGCC	TGGAATCCTGAACCCACTTCT
<i>CCL4</i>	CTGTGCTGATCCCAGTGAATC	TCAGTTCAGTTCACAGTCATACA
<i>CCL5</i>	AACAAGGGCAAGCTTTGTC	TTGATGTACTCCCGAACCC
<i>CCL17</i>	GAGCCATTCCCCTTAGAAAG	AGGCTTCAAGACCTCTCAAG
<i>GAPDH</i>	ACAACCTTTGCTATCGTGAAGG	GCCATCACGCCACAGTTTC

注:IL4I1:白细胞介素-4 诱导蛋白 1;CCL:趋化因子配体;GAPDH:甘油醛-3-磷酸脱氢酶

## 2 结果

2.1 IL4I1 表达水平影响 ccRCC 细胞的增殖 荧光定量 PCR、ELISA 实验和 Western 印迹的结果显示,与对照组(769P-Ctrl)相比,实验组(769P-OE)IL4I1

的表达水平均明显升高( $t=34.15$ 、 $10.89$ 、 $30.30$ ,均 $P < 0.01$ )(图 1 A~C)。分析 CCK8 实验结果发现 IL4I1 过表达的实验组 769P 细胞的增殖速度较对照组明显加快( $P < 0.001$ )(图 1D)。



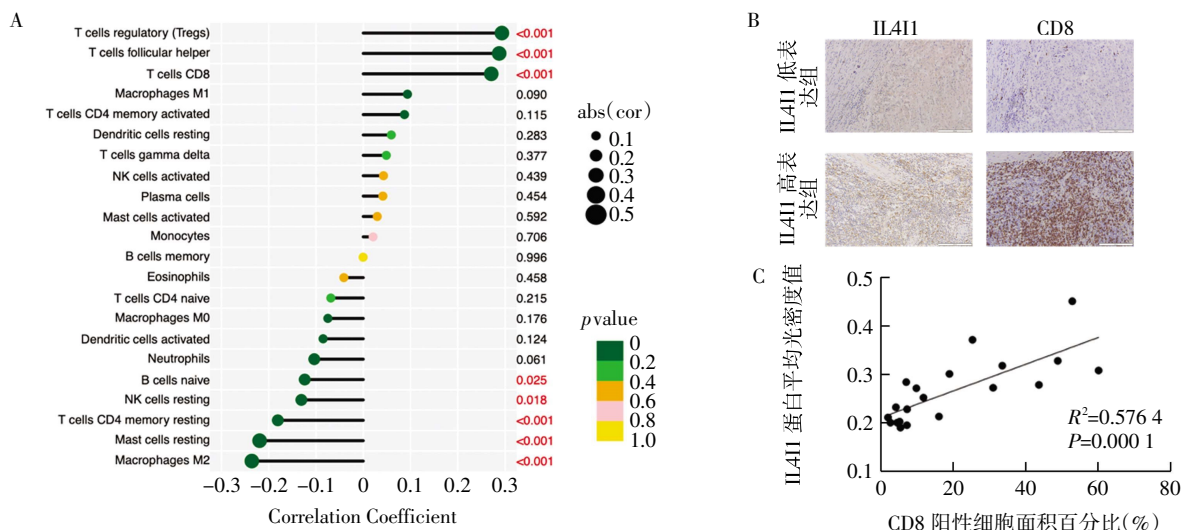
注:A、B、C:在转录、蛋白分泌及蛋白合成水平,对照组 769P-Ctrl 与实验组 769P-OEIL4I1 的表达情况;D:过表达 IL4I1 对 ccRCC 细胞增殖的影响;IL4I1:白细胞介素 4 诱导蛋白 1; \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ ; \*\*\*\* $P < 0.0001$

图 1 过表达 IL4I1 对 ccRCC 细胞增殖能力的影响

Fig.1 Effect of overexpression of IL4I1 on the proliferation of ccRCC

2.2 ccRCC 中 IL4I1 表达与免疫细胞浸润的关系 将 TCGA 数据库中 ccRCC 肿瘤样本按 IL4I1 表达的高低分为两组,IL4I1 高表达组 Tregs、滤泡辅助性 T 细胞、CD8<sup>+</sup>T 细胞的浸润水平更高( $P=6.048 \times 10^{-8}$ 、 $1.120 \times 10^{-7}$ 、 $6.843 \times 10^{-7}$ ),见图 2A。免疫组化结果显示,在 IL4I1 高表达的 ccRCC 组织中 CD8<sup>+</sup>T 细胞的占比有增多趋势(图 2B)。通过简单线性回归模型进一步分析发现,肿瘤中 IL4I1 的表达与 CD8<sup>+</sup>T 细胞的浸润存在正相关( $r^2=0.5764$ , $F=24.49$ , $P < 0.001$ )(图 2C)。

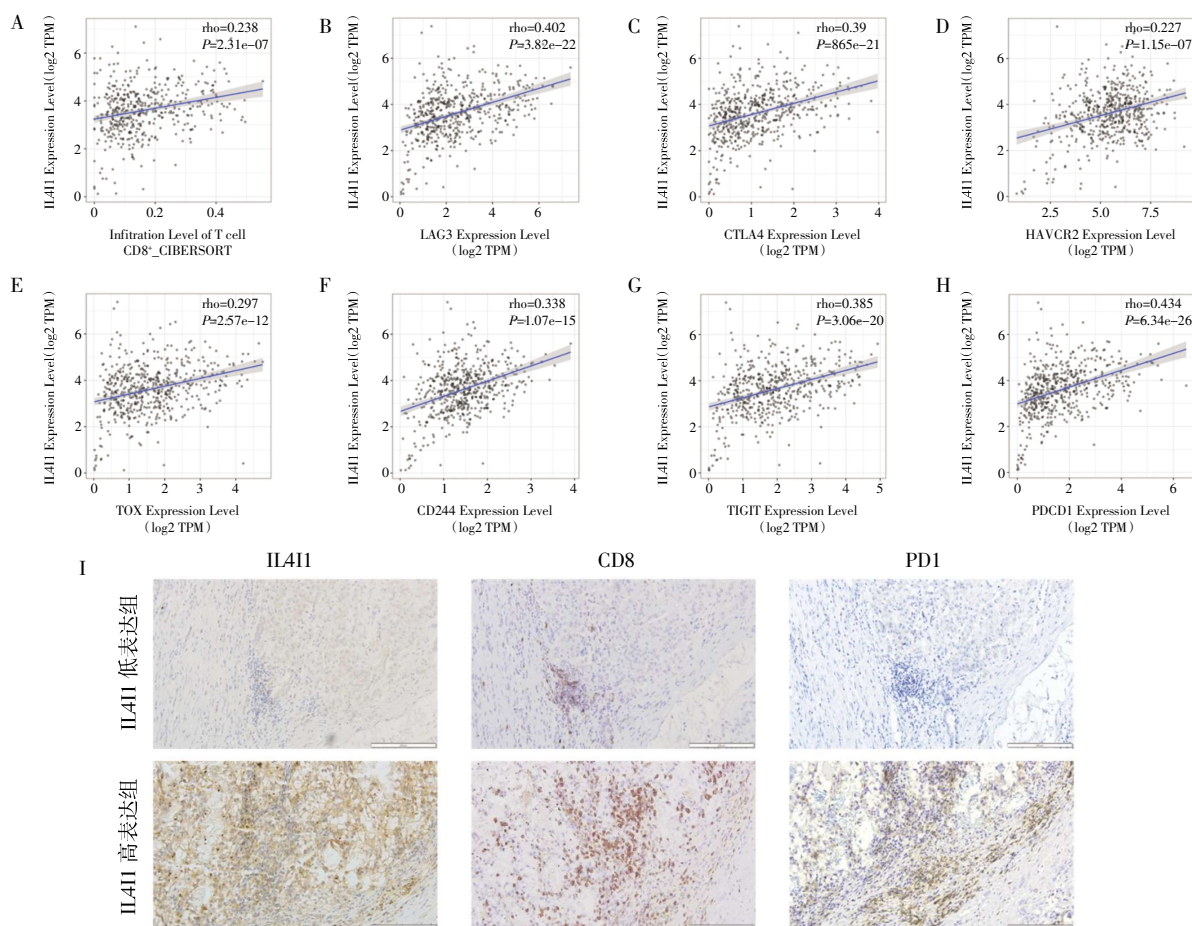
2.3 ccRCC 中 IL4I1 表达与功能抑制型 CD8<sup>+</sup>T 细胞的关系 通过 TIMER2.0 在线数据库分析发现,IL4I1 水平不仅与 ccRCC 中 CD8<sup>+</sup>T 细胞浸润呈正相关(图 3A),而且 IL4I1 的表达与免疫细胞功能抑制性相关基因 *LAG3*、*CTLA4*、*TIM3* (*HAVCR2*)、*TOX*、*CD244*、*TIGIT* 和 *PDCD1* 的表达均呈正相关(图 3B~H)。免疫组化结果显示,与 IL4I1 低表达组相比,IL4I1 高表达组肿瘤组织内浸润的 CD8<sup>+</sup>T 细胞更多,但其中存在较多的 PD1 表达阳性的功能抑制型细胞(图 3I)。



注:A:通过“limma”包分析 TCGA-KIRC 数据中 IL4I1 表达水平与免疫细胞浸润之间的关系;B:免疫组化染色,IL4I1 高/低表达的 ccRCC 组织中 CD8<sup>+</sup>T 细胞浸润情况 (200×);C:IL4I1 的表达与肿瘤内浸润 CD8<sup>+</sup>T 细胞面积百分比之间的关系;IL4I1:白细胞介素 4 诱导蛋白 1

图 2 ccRCC 组织中 IL4I1 表达与免疫细胞浸润的关系

Fig.2 Relationship between IL4I1 expression and immune cell infiltration in ccRCC



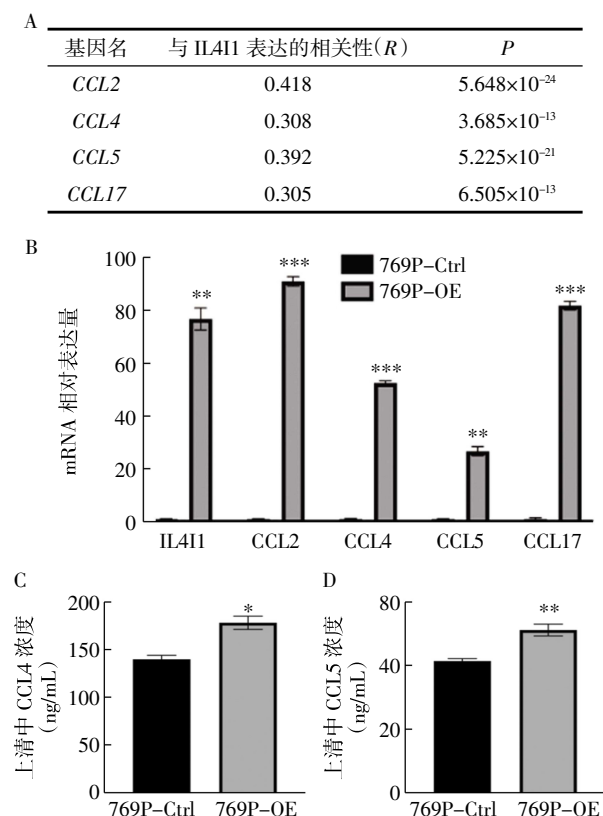
注:A:通过 TIMER2.0 数据库分析 ccRCC 中 IL4I1 表达水平与 CD8<sup>+</sup>T 细胞浸润水平之间的关系;B-H:TIMER2.0 数据库分析 ccRCC 中 IL4I1 表达水平与免疫抑制性基因水平的关系;I:IL4I1 表达水平与 PD1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T 细胞的关系;IL4I1:白细胞介素-4 诱导蛋白 1;LAG3:淋巴细胞激活基因 3 蛋白;CTLA4:细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 4;TIM3(HAVCR2):T 细胞免疫球蛋白及黏蛋白结构域 3;TOX:胸腺细胞选择相关的高迁移率族蛋白盒;TIGIT:T 细胞免疫球蛋白和 ITIM 结构域;PDCD1:细胞程序性死亡受体 1

图 3 IL4I1 与 ccRCC 中功能抑制型 CD8<sup>+</sup>T 细胞的关系

Fig.3 Relationship between IL4I1 and immunosuppressive CD8<sup>+</sup>T cell infiltration in ccRCC



2.4 IL4I1 表达介导 CD8<sup>+</sup>T 细胞浸润 通过文献以及 TIMER2.0 数据库分析发现,ccRCC 中 IL4I1 与多个 CD8<sup>+</sup>T 细胞募集相关趋化因子(CCL2、CCL4、CCL5、CCL17)的表达呈正相关(图 4A)。qPCR 结果显示,过表达 IL4I1 的 ccRCC 细胞中趋化因子 CCL2、CCL4、CCL5、CCL17 的表达明显升高( $t=95.16、116.1、21.28、68.47$ ,均  $P<0.05$ )(图 4B)。ELISA 检测 48 h 细胞培养上清液中趋化因子的浓度,发现 769P-OE 实验组细胞上清中 CCL4、CCL5 的表达浓度明显高于 769P-Ctrl 对照组( $t=6.760、6.846$ ,均  $P<0.05$ )(图 4C、D)。



注:A:TIMER2.0 数据库分析 ccRCC 中 IL4I1 与 CD8<sup>+</sup>T 细胞募集相关趋化因子表达水平的相关性;B:定量 PCR 检测过表达 IL4I1 前后趋化因子转录水平的差异;C、D:ELISA 检测分泌蛋白 CCL4 和 CCL5 的浓度;CCL:CC 趋化因子配体;IL4I1:白细胞介素-4 诱导蛋白 1; \* $P<0.05$ ; \*\* $P<0.01$ ; \*\*\* $P<0.001$

图 4 IL4I1 过表达与 CD8<sup>+</sup>T 细胞募集的关系

Fig.4 Relationship between overexpression of IL4I1 and CD8<sup>+</sup>T cell recruitment

### 3 讨论

IL4I1 因其在小鼠脾脏 B 细胞中被 IL-4 刺激大量表达而得名,主要在免疫细胞中表达,在 B 细胞淋巴瘤、胶质瘤、间皮瘤和卵巢癌等肿瘤细胞也可表达,并且 IL4I1 的高表达与肿瘤发生、进展和预后相关。

Bod 等<sup>[11]</sup>发现相较于野生型小鼠,IL4I1 基因敲

除小鼠中黑色素瘤的生长受限。另有研究表明,IL4I1 的过表达可以显著提高神经胶质瘤细胞的迁移能力和卵巢癌细胞的增殖、侵袭、迁移能力<sup>[12-13]</sup>。Komatsu 等<sup>[14]</sup>发现 IL4I1 的高转录水平与三阴性乳腺癌的不良预后相关<sup>[14]</sup>。同样,有研究证明肿瘤中 IL4I1 阳性细胞比例的增加与原发黑色素瘤的较差预后相关<sup>[15]</sup>。IL4I1 的高表达与胶质瘤、结肠癌和卵巢癌的不良预后相关<sup>[15-16]</sup>。本课题组也在前期研究中证实,IL4I1 在 ccRCC 组织中呈现高表达并提示不良预后,且 IL4I1 对 ccRCC 细胞的增殖、迁移具有促进作用<sup>[8]</sup>。以上研究均提示,IL4I1 具有影响肿瘤细胞的生物学表型并促进肿瘤细胞恶性表型的作用。

IL4I1 是一种分泌蛋白,能够被合成的细胞释放到周边微环境中发挥免疫调节的作用。研究证明,IL4I1 具有多种免疫调节作用,参与促进免疫抑制微环境的形成并促进肿瘤进展。黑色素瘤肿瘤组织中 IL4I1 阳性细胞的浸润与 Treg 的浸润水平呈正相关,而与肿瘤患者的总生存期呈负相关<sup>[15,17]</sup>。本课题组前期研究中也证实,ccRCC 组织中 IL4I1 与 Treg 浸润密切相关,可能通过调控趋化因子的表达参与 Treg 在肿瘤局部的募集;ccRCC 细胞来源的 IL4I1 能够促进 Treg 的分化。

CD8<sup>+</sup>T 细胞是免疫杀伤功能的主要承担者。运用 TCGA 数据库分析发现,在 IL4I1 高表达的 ccRCC 组织中,CD8<sup>+</sup>T 细胞占比具有增高的趋势,二者呈正相关,ccRCC 组织免疫组化实验进一步验证了这一结果。“正向的效应细胞与负向的调控分子表达水平呈正相关”,这一结果使课题组对效应细胞的功能表型产生了怀疑。进一步的生信分析显示,ccRCC 组织中 IL4I1 高表达与 *PDCD1*、*LAG3*、*CTLA4*、*TIM3* 等免疫细胞功能抑制性相关基因表达呈正相关。免疫组化证实 IL4I1 高表达的 ccRCC 组织中具有更多的 PD-1<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T 细胞浸润,提示 IL4I1 可能参与了 ccRCC 中 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞的募集和功能表型调控。有研究显示,IL4I1 可以通过抑制 T 细胞抗原受体的信号转导、限制 T 细胞增殖和向记忆性 T 细胞的分化,参与削弱细胞毒性 T 细胞作用和机体的长效免疫<sup>[15,18-20]</sup>。有关 IL4I1 如何诱导 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞启动 PD1 等免疫抑制分子的表达,尚需要深入的研究。

肿瘤微环境中免疫细胞的募集,受可溶性细胞因子、趋化因子等的调控。数据分析显示:ccRCC 中 IL4I1 与多个 CD8<sup>+</sup>T 细胞募集相关的趋化因子(CCL2、CCL4、CCL5、CCL17)的表达呈正相关。过表

达 IL4I1 的 ccRCC 769P 细胞中 CCL2、CCL4、CCL5、CCL17 的 mRNA 表达水平明显升高,上清中分泌的 CCL4 和 CCL5 浓度明显升高,均提示 IL4I1 高表达的 ccRCC 细胞通过高表达 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞募集相关的趋化因子,进而促进了细胞的募集浸润。

IL4I1 在肿瘤进展中发挥双重作用,不仅能够影响肿瘤细胞的生物学表型并促进肿瘤细胞恶性表型的作用,而且能够促进肿瘤免疫抑制的作用。而其免疫抑制作用的实现也是双重的,一方面促进免疫抑制性细胞 Treg 的表型诱导和募集,另一方面诱导免疫效应性细胞 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞的浸润和抑制功能表型诱导。以上研究结果均支持 IL4I1 是一个有潜力的 ccRCC 治疗靶点,为 ccRCC 的靶向性治疗方案提供了新思路。

#### 参考文献:

- [1] GUO X,ZHANG Y,ZHENG L,et al. Global characterization of T cells in non-small-cell lung cancer by single-cell sequencing[J]. Nat Med,2018,24(7):978-985.
- [2] ZHANG L,YU X,ZHENG L,et al. Lineage tracking reveals dynamic relationships of T cells in colorectal cancer[J]. Nature,2018,564(7735):268-272.
- [3] YOST K E,SATPATHY A T,WELLS D K,et al. Clonal replacement of tumor-specific T cells following PD-1 blockade[J]. Nat Med,2019,25(8):1251-1259.
- [4] ZAJAC A J,BLATTMAN J N,MURALI-KRISHNA K,et al. Viral immune evasion due to persistence of activated T cells without effector function[J]. J Exp Med,1998,188(12):2205-2213.
- [5] WHERRY E J. T cell exhaustion[J]. Nat Immunol,2011,12(6):492-499.
- [6] SCHIETINGER A,GREENBERG P D. Tolerance and exhaustion: defining mechanisms of T cell dysfunction[J]. Trends Immunol,2014,35(2):51-60.
- [7] BARBER D L,WHERRY E J,MASOPIUST D,et al. Restoring function in exhausted CD8 T cells during chronic viral infection[J]. Nature,2006,439(7077):682-687.
- [8] 魏诗瑶,来佳丹,李常颖. 白细胞介素 4 诱导蛋白 1 促进肾癌进展的实验研究[J]. 天津医科大学学报,2022,28(4):366-371.
- [9] 来佳丹,魏诗瑶,李常颖. 肾癌来源的 IL4I1 介导 Treg 诱导与募集的实验研究[J]. 天津医科大学学报,2023,29(3):302-308.
- [10] 杨谨,程婷婷,王丽娜,等. 肾透明细胞癌中 Annexin II 的表达及其临床意义[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2012,28(1):59-62.
- [11] BOD L,LENGAGNE R,WROBEL L,et al. IL4-induced gene 1 promotes tumor growth by shaping the immune microenvironment in melanoma[J]. Oncoimmunology,2017,6(3):e1278331.
- [12] SADIK A,SOMARRIBAS PATTERSON L F,ÖZTÜRK S,et al. IL4I1 is a metabolic immune checkpoint that activates the AHR and promotes tumor progression[J]. Cell,2020,182(5):1252-1270.e34.
- [13] ZHAO H,TENG Y,HAO W,et al. Single-cell analysis revealed that IL4I1 promoted ovarian cancer progression[J]. J Transl Med,2021,19(1):454.
- [14] KOMATSU M,YOSHIMARU T,MATSUO T,et al. Molecular features of triple negative breast cancer cells by genome-wide gene expression profiling analysis[J]. Int J Oncol,2013,42(2):478-506.
- [15] RAMSPOTT J P,BEKKAT F,BOD L,et al. Emerging role of IL-4-induced gene 1 as a prognostic biomarker affecting the local T-cell response in human cutaneous melanoma[J]. J Invest Dermatol,2018,138(12):2625-2634.
- [16] FINAK G,BERTOS N,PEPIN F,et al. Stromal gene expression predicts clinical outcome in breast cancer[J]. Nat Med,2008,14(5):518-527.
- [17] SCARLATA C M,CELSE C,PIGNON P,et al. Differential expression of the immunosuppressive enzyme IL4I1 in human induced Aiolos<sup>+</sup>, but not natural Helios<sup>+</sup>,FOXP3<sup>+</sup> Treg cells[J]. Eur J Immunol,2015,45(2):474-479.
- [18] LASOUDRIS F,COUSIN C,PREVOST-BLONDEL A,et al. IL4I1: an inhibitor of the CD8<sup>+</sup> antitumor T-cell response *in vivo*[J]. Eur J Immunol,2011,41(6):1629-1638.
- [19] AUBATIN A,SAKO N,DECROUY X,et al. IL4-induced gene 1 is secreted at the immune synapse and modulates TCR activation independently of its enzymatic activity[J]. Eur J Immunol,2018,48(1):106-119.
- [20] SANTARLASCIO V,MAGGI L,MAZZONI A,et al. IL-4-induced gene 1 maintains high Tob1 expression that contributes to TCR unresponsiveness in human T helper 17 cells[J]. Eur J Immunol,2014,44(3):654-661.

(2023-10-18 收稿)