

缺氧介导的肿瘤微环境的免疫抑制及逆转方法

赵新斐, 李玉峰, 田悦, 肖辛瑶, 沈华

南京医科大学附属逸夫医院肿瘤科, 江苏 南京 211166

摘要: 肿瘤微环境是由肿瘤细胞和与其相互作用的间质组织构成, 其与肿瘤细胞之间是一个双向的、动态的、错综复杂的网络, 其中的间质组织包括浸润的免疫细胞、各种细胞因子、趋化因子及血管系统等。肿瘤的不规则生长动力学导致耗氧量增加, 进而导致肿瘤微环境缺氧条件, 肿瘤微环境中的缺氧与低氧诱导因子 (HIF-1) 通过诱导免疫抑制细胞的产生, 抑制有着正常效应的免疫细胞或激活免疫检查点 [程序性死亡受体-1 (PD-1)、程序性死亡配体-1 (PD-L1)、细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原-4 (CTLA-4)] 等免疫因素来抑制先天性或固有免疫, 进而参与肿瘤微环境中肿瘤转移和免疫逃避的各个方面。本文对低氧与 HIF-1 在肿瘤免疫逃避中的作用, 及如何调节肿瘤免疫中的低氧与 HIF-1 进而改善免疫治疗的研究进展作一综述与讨论。

关键词: 肿瘤微环境; 缺氧; 低氧诱导因子; 免疫检查点; 免疫逃避; 免疫监视; 溶瘤病毒; 耐药

中图分类号: R730 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2023)03-0464-05

Hypoxia-mediated immunosuppression in tumor microenvironment and its reversal

ZHAO Xin-fei, LI Yu-feng, TIAN Yue, XIAO Xin-yao, SHEN Hua

Department of Oncology, Affiliated Sir Run Run Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu 211166, China

Corresponding author: SHEN Hua, E-mail: medshenhua@126.com

Abstract: Tumor microenvironment (TME) is composed of tumor cells and interstitial cells that interact with tumor cells. It is a bidirectional, dynamic and complex network between TME and tumor cells. In the interstitial tissue, there are infiltrating immune cells, various cytokines, chemokines, vascular system and so on. The irregular growth kinetics of tumor growing leads to the increased oxygen consumption, in turn, hypoxic conditions in TME. By inducing the production of immunosuppressive cells and inhibiting immune cells with normal effects or activating immune checkpoints [programmed death receptor-1 (PD-1), programmed death ligand-1 (PD-L1), cytotoxic T lymphocyte associated antigen-4 (CTLA-4)] and other immune factors, hypoxia and hypoxia inducible factor (HIF-1) in TME can inhibit innate and adaptive immunity and then participate in all aspects of tumor metastasis and immune escape. This article reviews and discusses the role of hypoxia and HIF-1 in tumor immune escape and its regulation in tumor immunity to improve immunotherapy.

Keywords: Tumor microenvironment; Hypoxia; Hypoxia inducible factor; Immune checkpoint; Immune escape; Immune surveillance; Oncolytic virus; Drug resistance

在过去数十年肿瘤治疗的发展过程中,从1942年美国耶鲁大学第一例用氮芥治疗淋巴瘤取得惊人疗效开始,发展到现在,传统化疗后的靶向治疗、抗血管治疗、免疫治疗等,肿瘤治疗的方法迭出。其中,免疫检查点抑制剂的发现、过继免疫细胞疗法以及目前研究热门的溶瘤病毒等,都是免疫治疗的一部分。而处于癌症免疫治疗最前沿且相对较为成熟的,便是免疫检查点抑制剂,其成为许多晚期癌症患者的福音。过去十年间美国FDA批准的针对免疫检查点的免疫检查点抑制剂:包括程序性死亡受体-1 [PD-1, 如纳武单抗 (nivolumab)、

帕博利珠单抗 (pembrolizumab)、cemiplimab]、程序性死亡配体-1 [PD-L1, 如阿替利珠单抗 (atezolizumab)、avelumab、度伐利尤单抗 (durvalumab)]; 细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原-4 [CTLA-4, 如伊匹木单抗 (ipilimumab)], 已达到七种之多,涉及的癌症有非小细胞肺癌、微卫星不稳定的结直肠癌、头颈部鳞状细胞癌、经典霍奇金淋巴瘤、肾细胞癌、原发性纵隔大 B 细胞淋巴瘤、尿路上皮癌等^[1]。然而,遗憾的是,免疫检查点抑制剂尽管被批准用于上述癌症,但能够长期从中受益的患者仅占少数,客观反应率仅在 10%~40%^[2]。

DOI: 10.13429/j.cnki.cjcr.2023.03.030

通信作者: 沈华, E-mail: medshenhua@126.com

出版日期: 2023-03-20

肿瘤免疫治疗,是经过免疫监视而达到消除肿瘤的一种治疗方法,肿瘤免疫编辑可分为清除、平衡、逃逸三个阶段,免疫监视在清除阶段可清除大部分的癌细胞,而在肿瘤和微环境中免疫系统相互对抗的平衡和逃逸阶段,肿瘤不断地完善“自身防御”,监视功能得到弱化。其中包括免疫检查点的激活,免疫抑制细胞的募集以及免疫细胞功能的削弱或丧失。免疫检查点是一类调控免疫细胞激活过程的一类分子,其一方面可以防止机体免疫系统过度激活,另一方面可限制炎症进展,该分子包括配体或受体,其中的配体包括各种可溶性细胞因子与膜配体等;免疫抑制细胞包括肿瘤相关巨噬细胞、髓源性抑制细胞、调节性T细胞等,其均可通过免疫抑制作用促进肿瘤的发生发展。免疫反应必须克服这些由肿瘤及其微环境介导的免疫抑制机制,以引发强大而持久的抗癌效应,一般来说,免疫疗法旨在增加抗肿瘤效应细胞的数量和功能,缺氧条件及低氧诱导因子(HIF)-1是影响肿瘤微环境中抗肿瘤效应细胞的数量和功能关键因素。本综述着重探讨其相关机制,从而为解决免疫治疗肿瘤客观低反应率提供依据。

1 肿瘤微环境中缺氧及低氧诱导因子产生的机制

肿瘤细胞为了满足自身氧气及营养的需要,需要诱导血管的生成。异常的肿瘤血管导致肿瘤微环境中产生高渗透性、扩张性以及回旋状的闭塞区域,导致血液灌注较差从而不能满足肿瘤的需要。由此可产生肉眼可见的缺氧^[3]。HIF-1是一种异二聚体蛋白,在缺氧状态下大量产生,其主要有组成性表达的亚单位HIF-1 β 和氧敏感性亚单位HIF-1 α 构成。脯氨酰羟化酶结构域蛋白家族(PHDs)是在哺乳动物中发现的修饰HIF的羟化酶,其中的PHD2作为关键性限速酶,可利用氧气以及 α -酮戊二酸作为底物来羟基化HIF-1 α 。常氧条件下肿瘤抑制蛋白(pVHL)与羟基化的HIF-1 α 相互作用,两者结合后可招募E3泛素-蛋白连接酶,其作用为催化HIF-1 α 多泛素化,最终靶向将HIF-1 α 进行蛋白酶体降解^[4]。然而,在缺氧状态下,一方面氧原料的缺乏导致关键酶PHD2的合成障碍,另一方面循环缺氧增加了活性氧(ROS)的水平,ROS氧化PHD中的铁原子,从而降低了这些酶的活性,PHD2的质量与数量均减弱,由此HIF-1 α 的羟基化修饰受到抑制,导致HIF-1 α 大量积累^[5]。HIF-1 α 与HIF-1 β 在细胞核中异二聚化形成HIF- α/β 二聚体与转录辅激活因子p300/CBP和缺氧反应元件结合,诱导位于启动子区的HIF靶基因表达^[4]。此外HIF-1通过激素反应元件(HRE)结合直接激活血管内皮生长因子(VEGF)和血管内皮生长因子受体1(VEGFR-1)的转录,从而诱导新血管的生成。具体机制详见图1(biorender绘图网站自行绘制)。

2 缺氧与肿瘤微环境中免疫细胞

2.1 缺氧与肿瘤相关巨噬细胞(TAMs) TAMs及其前体是人类大多数实体恶性肿瘤微环境中占比最大的浸润免疫细胞,TAMs在不同的肿瘤患者,或是同一肿瘤患者的不同病变部位以及不同的恶性病变中异质性均有所不同。TAMs可分

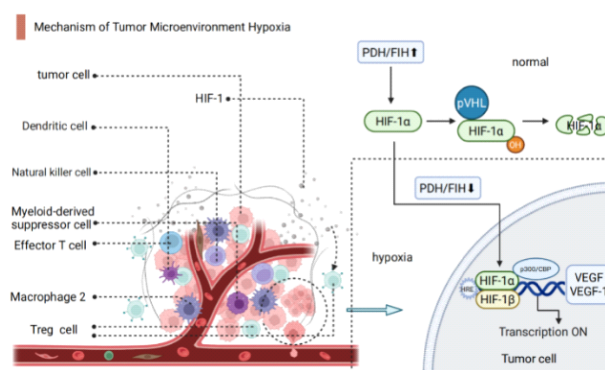


图1 肿瘤微环境缺氧机制

Fig. 1 Mechanism of tumor microenvironment

为m1样TAMs(促炎,抗肿瘤)和m2样TAMs(抗炎,促肿瘤)。肿瘤微环境的缺氧状态可诱导肿瘤细胞和基质产生趋化因子配体(CCL2、CCL5、重组人趋化因子(CXCL12)、巨噬细胞集落刺激因子(CSF-1)和VEGF,一旦TAMs被招募到低氧区域,这些因子的受体中的一些被下调,从而能够有效地将TAMs锁定在低氧微环境中^[6]。缺氧条件可使TAMs由m1型转换为m2型,其主要机制为m1样TAMs与m2样TAMs激活和代谢的途径各不相同,前者主要依靠脂多糖(LPS)来激活,后者通过白细胞介素(IL)-4来激活,在代谢上,前者主要依靠有氧糖酵解(Warburg效应),而m2样巨噬细胞致力于氧化磷酸化代谢(OXPPOS)^[7]。在肿瘤微环境中,恶性细胞与TAMs竞争氧和葡萄糖。一项研究表明,缺氧状态下HIF-1 α 的产生似乎直接或间接地构成TAMs产生衍生因子从而加剧恶性细胞糖酵解的能力,糖酵解产生的乳酸及集落刺激因子(CSF)-1会诱导TAMs向m2极化^[8]。同样的,m2样巨噬细胞的增多导致微环境中TAMs的Warburg代谢转为OXPPOS代谢和脂肪酸氧化(FAO),并合成大量的精氨酸酶(ARG)1、ARG2和多胺2,3-双加氧酶1(IDO1),以上的代谢产物会使效应T细胞以及自然杀伤细胞(NK)的功能严重受创。另外这种m1样TAMs向m2样TAMs不断极化的代谢转变会导致恶性细胞可利用葡萄糖增加而继续加重糖酵解,加重缺氧,从而形成恶性循环^[6]。免疫效能因此减弱,免疫抑制进而增强。

2.2 缺氧与髓源性抑制细胞(MDSCs) MDSCs是一种骨髓来源的异质性细胞群,其主要包括骨髓祖细胞、未成熟巨噬细胞、未成熟粒细胞以及未成熟的树突状细胞(DCs)。一项研究表明,HIF-1 α 抑制线粒体功能和氧消耗主要是由于可诱导丙酮酸脱氢酶激酶(PDK)1的产生。PDK1对于减少线粒体ROS产生、维持ATP水平和对缺氧适应至关重要。同样的,该酶可上调精氨酸酶和一氧化氮从而使肿瘤微环境中MDSCs获得抑制抗原非特异性T细胞功能的能力。且肿瘤来源的骨髓间充质干细胞在精氨酸酶和一氧化氮作用下比脾来源的骨髓间充质干细胞具有更强的免疫抑制性。同时,肿瘤微环境中的HIF-1 α 会介导MDSCs向TAMs分化。缺乏HIF-1 α 的MDSC在肿瘤微环境中则分化为树突状细胞^[9]。另一项研究表明,CCL26的表达与HIFs紧密相关,而CCL26诱导

MDSCs 在肿瘤微环境中聚集。在 HIF-1 作用下, MDSCs 的成熟也受到一定的抑制, 这是由于 HIF-1 诱导的胞外核苷三磷酸二磷酸水解酶(ENTPD) 2 的上调, 该酶可将胞外三磷酸腺苷(ATP) 转化为 5'-腺苷一磷酸(5'-AMP)。5'-AMP 阻止骨髓间充质干细胞成熟并促进其维持^[10]。缺氧状态下, HIF-1 α 也会介导肿瘤微环境中的 MDSCs 中的 PD-L1 表达上调, 由此可增加其对 T 细胞的免疫耐受性, 逃避免疫监视, 从而促进肿瘤细胞的免疫逃逸^[11]。

2.3 缺氧与调节性 T 细胞(Tregs) Tregs 通常被认为是 CD4⁺ 的一个特殊亚群, 其主要在建立和维持免疫耐受中作用。其主要包括三种类型, 产生 IL-10 的 Tr1 (1 型调节性 T) 细胞, 产生 TGF β 的 CD4⁺Th3 细胞(3 型辅助性 T 细胞)、CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺T 细胞。在这些调节细胞中, CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺T 细胞由于其在微环境中的广泛存在和不可或缺的作用, 最具生理学相关性^[12]。叉头型基因 P(FOXP)3 在 Tregs 的发育中起重要作用, 另外, 它也是 Tregs 发挥免疫抑制途径的主要调节者。微环境中的缺氧状态可通过三种机制来影响调节性 T 细胞的功能: (1) FOXP3 是一个直接的 HIF-1 α 靶基因, 缺氧早期 HIF-1 α 直接转录激活 FOXP3 mRNA。(2) 转化生长因子(TGF)- β 作为 FOXP3 的共刺激因子, 也是已知的 HIF 靶基因, 在低氧驱动下, TGF- β 的表达增加, 诱导 FOXP3 mRNA 和蛋白表达增加, 同时, TGF- β 是 CD8⁺T 细胞通过自分泌持续高表达 PD-L1 所必需的^[13]。正常的效应 T 细胞在 TGF- β 依赖方式转化为调节性 T 细胞^[14]。(3) 全身缺氧或药理学 HIF-1 α 稳定化可以增强体内 FOXP3 表达和 Tregs 丰度。同时, HIF-1 α 在体外促进 Tregs 的最佳抑制功能中起着关键作用^[15]。研究表明, CCL28 是促进 Tregs 细胞募集的关键因子, 而 CCL28 上调是 HIF1 α 依赖性的^[16]。由此可见, Tregs 细胞受缺氧的调控是明显的。

2.4 缺氧干扰并抑制效应 T 细胞、DCs 以及 NK 细胞 缺氧对于效应 T 细胞的影响是复杂的, 其主要包括以下几个方面。(1) HIF-1 α 可通过改变 m2 样 TAMs 代谢途径以及 MDSCs 表达的 PD-L1 从而抑制 T 细胞的功能。同时通过依赖 TGF- β 途径向着 Tregs 转化。(2) 缺氧也有利于酸性环境的产生, 乳酸的积累抑制了细胞毒性 T 细胞的增殖和细胞因子产生活性, 并抑制了它们的细胞溶解活性^[17]。酸性肿瘤微环境可以损害 T 细胞分泌的促炎细胞因子[例如, IL-2、肿瘤坏死因子(TNF)和干扰素- γ (IFN- γ)], 并上调 CTLA-4 的表达, 使肿瘤浸润性 T 细胞对负调节信号更敏感^[18]。DCs 是人体中主要的抗原呈递细胞, 其主要的工作是捕获来自病原体或者肿瘤细胞的抗原从而呈递给 T 细胞。在实体瘤中, 肿瘤微环境的严重缺氧可导致 DCs 的代谢改变和功能障碍, 一方面表现为腺苷过度积累和 IDO1 高表达, 使 DCs 失去功能^[19]。另一方面, 研究表明, 缺氧导致腺苷生成酶 CD73 表达增加, 也抑制了 DCs 的功能。阻断 CD73 后可恢复 DCs 的抗肿瘤能力^[20]。同时短期内缺氧可导致 DCs 的迁移功能受损, 主要是 CCR7 功能受抑制引起的^[21]。最后, 研究表明 HIF-1 α 的表达, 可激活未成熟 DCs 的死亡程序, 导致其早期凋亡^[22]。NK 细胞是属

于先天性免疫系统的细胞毒性淋巴细胞, 其对于肿瘤的作用是分泌穿孔素以及死亡受体(FAS)/死亡受体配体(FASL)来直接裂解肿瘤细胞导致凋亡^[23]。缺氧状态下, 首先, TAMs 可以通过基质金属蛋白酶-7 从邻近细胞切割 FASL, 导致 NK 细胞活性降低。其次, 负责调控 MHC-I 多肽配体的相关多肽链 A(MICA)从肿瘤细胞表面脱落的金属蛋白酶 ADAM10, 其表达受缺氧状态及 HIF-1 的正向调控, MICA 是自然杀伤细胞激活受体(NKG2D)分子的配体, MICA 的脱落可致使 NKG2D 表达的下调。NKG2D 配体的脱落形式 sNKG2D-L 已被证明具有高度的免疫抑制作用^[24]。最后, 研究表明, 参与靶识别和杀伤的其他活化受体如 NKp30、NKp44 和 NKp46 的表达在低氧条件下也同样下调^[25]。综上, 微环境中的免疫细胞功能在低氧诱导下严重受损。当微环境中免疫细胞寥寥无几时, 免疫检查点抑制剂的效能难以发挥。

2.5 缺氧与其他免疫细胞 肿瘤相关中性粒细胞(TANS)在连接炎症和癌症发展中起主要作用, 与癌症的进展和转移密切相关。最近的一份报告表明, HIF-1 α /活化的 T 趋化因子(RANTES)驱动通路的激活导致了 TANS 浸润。TANS 上调可导致 microRNA(miR)-301b-3p 的上调, 后者的上调导致 NF- κ B 信号释放以及高重组人粒细胞因子-5(CXCL5)的过度分泌, 再次诱导 TANS 浸润, 从而形成一个正反馈环, HIF-1 α 对于通路激活起着关键作用^[26]。缺氧一方面与原发肝癌细胞的代谢竞争, 另一方面导致 CD4⁺T 细胞缺乏, 还可使几种调节分子(包括 VEGF、CXCL17、IL-10 和 IDO 的高表达, 导致肿瘤相关抗原特异性反应的抑制以及 CTL 产生 IFN- γ 的能力低下^[27]。由此产生免疫抑制, 导致肿瘤发生发展。

3 缺氧与免疫检查点

笔者搜集到现有的免疫检查点共 128 种, 来自 14 条文献(因本文篇幅所限此处略去), 其中包括配体及受体。研究表明, 缺氧状态下, PD-L1 蛋白的表达在常氧和缺氧状态下表达存在差异。而对于 PD-L2、CD80、CD86、PD-1 或 CTLA-4 蛋白的表达差异均无影响。缺氧状态还可增加 PD-L1 和 CTLA-4 的 mRNA 表达水平, 而不增加 PD-L2 和 PD-1 的 mRNA 表达水平。表明缺氧通过上调 HIF-1 α , 后者可通过直接结合 PD-L1 近端启动子的 HRE 来调节 PD-L1 的表达^[11]。此外, 在内毒素耐受期间, HIF-1 α 被证明转移到核内并驱动人单核细胞中 PD-L1 的表达^[28]。一项文献总结了关于免疫检查点所受缺氧影响, PD-L1、CD47、CD73、CD137、HLA-G、CD70 分别受 HIF-1 α 调控, 其中 PD-L1、CD-70 还可受 HIF-2 α 调控^[29]。

4 缺氧与肿瘤细胞耐药

缺氧对于肿瘤细胞的影响并不局限于抑制免疫因素, 其还可以通过其他多种因素来促进肿瘤的进展, 最突出的表现在肿瘤耐药的发生中, 如缺氧介导的 HIF-1 上调分别可以通过凋亡、自噬、DNA 损伤、线粒体活性、p53 和药物外排中的许多信号通路赋予对常规疗法的抗性。此外, 缺氧导致 pH 值下降, 并产生酸性肿瘤微环境。肿瘤酸性微环境导致肿瘤细

胞耐药的机制,包括由“离子捕获”引起的药物浓度降低、凋亡可能性降低、遗传改变(如 p53 突变)和多药转运蛋白 P-糖蛋白(P-gp)活性升高等^[4]。Shenhua 等的研究已经详细阐明其中机制,本文不再赘述。

5 改善缺氧状态疗效以及方法

5.1 改善缺氧对患者免疫抑制的影响 改善免疫细胞功能以及减轻免疫抑制最直接的策略就是复氧。一项使用鼠黑色素瘤 B16 和鼠肉瘤 MCA205 的同系肿瘤模型的临床研究表明,呼吸性高氧(60% O₂)可以减少肿瘤内缺氧,导致效应 T 细胞的肿瘤浸润、促炎细胞因子的表达增强,同时可使 Treg 抑制活性降低^[30]。同样的另一项研究表明,联合使用抑制线粒体复合物 I 的二甲双胍与 PD-1 可使肿瘤显著消退,主要原因或是降低微环境中氧化代谢^[31]。以上证据均表明,复氧或是解决肿瘤微环境中免疫抑制的关键因素。

5.2 肿瘤微环境复氧的方法 改善微环境中缺氧的最初研究主要集中在通过寻求调节血流、输血或高压氧舱疗法直接改善氧合。近些年来,新兴的改善缺氧的方法不断增多,一些人利用低氧细胞的特性,利用低氧细胞增敏剂或者生物还原剂靶向改善低氧细胞的缺氧状态,对于低氧细胞增敏剂的临床试验很多,但由于其剂量限制性毒性的原因,迄今为止,将其与放射疗法组合最显著的效果是 Overgaard 等所报道,其将尼莫拉唑与放射疗法组合来治疗头颈癌患者。目前放疗时加用尼莫拉唑已是丹麦头颈癌患者的标准治疗方案^[32]。其中生物制剂包括溶瘤病毒、厌氧菌以及兼性厌氧菌等。一些溶瘤病毒,如溶瘤单纯疱疹病毒(HSV)的复制在低氧条件下增强,水疱性口炎病毒(VSV)的复制似乎在缺氧肿瘤区域不受影响,坏死和缺氧区域同样为厌氧和兼性厌氧细菌提供了萌发的条件,兼性厌氧菌的遗传减毒菌株鼠伤寒沙门菌优先选择肿瘤核心中的缺氧,而不是氧化程度更高的外部区域。一些生物制剂(包括 Seneca Valley 病毒, Reolysin 和 OncoVEX GM-CSF 等)选择性地感染、复制和溶解低氧肿瘤组织。同时肿瘤微环境的感染通常可以提供免疫刺激作用,具有抗肿瘤免疫反应的潜力^[18]。其次还包括目前比较火热的血管靶向疗法、抗血管生成剂或血管破坏剂,抗血管生成剂可通过阻断 VEGF 或其他促血管生成生长因子的作用,脉管系统有机会正常的成熟并获得内皮细胞和平滑肌细胞覆盖。这种正常化脉管重建允许更有效的血液输送^[33]。其中包含的靶向药有安罗替尼等。血管破坏剂并不靶向缺氧细胞,其可诱导持续数小时或数天血管关闭从而导致核心区域的肿瘤坏死,肿瘤细胞消耗数天后开放血管从而改善肿瘤缺氧环境^[34]。目前针对 HIF-1 通路的药物也在进一步研究当中。一项研究表明,HIF-1 抑制剂 PX-478 的给药降低了 HIF-1 调节的 FOXP3 和 VEGF 的表达。PX-478 与基于 DCs 疫苗的共同给药导致 CD8⁺T 细胞的效应增强、增加的 T 细胞增殖和促炎细胞因子 IFN- γ 的分泌,以及降低 Tregs 的功能以阻止 4T1 鼠乳腺癌的生长^[35]。然而,PX-478 的 I 期评估于 2010 年完成,但未报告进一步的临床开发。一项抗疟药 atovaquone(一种已知的线粒体抑制

剂)是否能减少非小细胞肺癌中缺氧的临床实验研究表明,靶向肿瘤线粒体代谢可以减少缺氧,并在 mRNA 水平产生相关的抗肿瘤作用^[36]。

6 结语

免疫疗法无疑是一种有前途的癌症治疗方法,大量的临床研究也在如火如荼的进行当中,免疫检查点抑制剂的研究或是继肿瘤传统化疗后的历史性的进步,但由于免疫抑制的存在限制了其更广泛的疗效。缺氧又是肿瘤微环境中免疫抑制的驱动因素之一,其具体机制如图 2(biorender 绘图网站自行绘制)所示,未来的研究可能将致力于肿瘤微环境中缺氧状态改善的方法,如新的 HIF-1 通路靶向药物或定向增氧技术的开发;缺氧靶向联合免疫检查点或联合过继免疫细胞疗法甚至溶瘤病毒的基因重编程等应用于临床治疗的探讨,免疫疗法的变革或在不久的将来能得以实现。

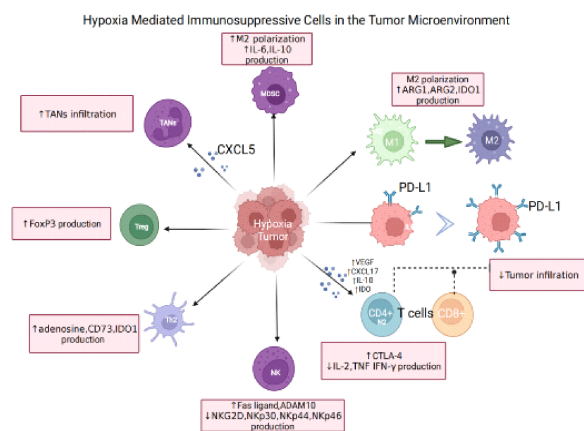


图 2 缺氧介导的肿瘤微环境的免疫抑制机制
Fig. 2 Hypoxia Mediated Immunosuppressive Cells in the Tumor Microenvironment

利益冲突 无

参考文献

- [1] Davis AA, Patel VG. The role of PD-L1 expression as a predictive biomarker: an analysis of all US Food and Drug Administration (FDA) approvals of immune checkpoint inhibitors [J]. J Immunother Cancer, 2019, 7(1): 278.
- [2] Gascón M, Isla D, Cruellas M, et al. Intratumoral versus circulating lymphoid cells as predictive biomarkers in lung cancer patients treated with immune checkpoint inhibitors: is the easiest path the best one? [J]. Cells, 2020, 9(6): E1525.
- [3] Li Y, Zhao L, Li XF. Hypoxia and the tumor microenvironment[J]. Technol Cancer Res Treat, 2021, 20: 15330338211036304.
- [4] Jing X, Yang F, Shao C, et al. Role of hypoxia in cancer therapy by regulating the tumor microenvironment [J]. Mol Cancer, 2019, 18(1): 157.
- [5] Korbecki J, Kojder K, Kapczuk P, et al. The effect of hypoxia on the expression of CXC chemokines and CXC chemokine receptors-A review of literature [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(2): E843.
- [6] DeNardo DG, Ruffell B. Macrophages as regulators of tumour immu-

- nity and immunotherapy [J]. *Nat Rev Immunol*, 2019, 19(6): 369–382.
- [7] O'Neill LA, Pearce EJ. Immunometabolism governs dendritic cell and macrophage function [J]. *J Exp Med*, 2016, 213(1): 15–23.
- [8] Jeong H, Kim S, Hong BJ, et al. Tumor-associated macrophages enhance tumor hypoxia and aerobic glycolysis [J]. *Cancer Res*, 2019, 79(4): 795–806.
- [9] Corzo CA, Condamine T, Lu L, et al. HIF-1 α regulates function and differentiation of myeloid-derived suppressor cells in the tumor microenvironment [J]. *J Exp Med*, 2010, 207(11): 2439–2453.
- [10] Chiu DK, Tse AP, Xu IM, et al. Hypoxia inducible factor HIF-1 promotes myeloid-derived suppressor cells accumulation through ENTPD2/CD39L1 in hepatocellular carcinoma [J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 517.
- [11] Noman MZ, Desantis G, Janji B, et al. PD-L1 is a novel direct target of HIF-1 α , and its blockade under hypoxia enhanced MDSC-mediated T cell activation [J]. *J Exp Med*, 2014, 211(5): 781–790.
- [12] Zhao H, Liao X, Kang Y. Tregs: where we are and what comes next? [J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1578.
- [13] Baas M, Besançon A, Goncalves T, et al. TGF β -dependent expression of PD-1 and PD-L1 controls CD8(+) T cell anergy in transplant tolerance [J]. *Elife*, 2016, 5: e08133.
- [14] Facciabene A, Peng X, Hagemann IS, et al. Tumour hypoxia promotes tolerance and angiogenesis via CCL28 and T(reg) cells [J]. *Nature*, 2011, 475(7355): 226–230.
- [15] McNamee E, Westrich J, Glover L, et al. Hypoxia-inducible factor-1 alpha dependent induction of FoxP3 drives regulatory T-cell expansion during inflammatory hypoxia P-189 [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2011, 17 Suppl_2: S69.
- [16] Ren L, Yu Y, Wang L, et al. Hypoxia-induced CCL28 promotes recruitment of regulatory T cells and tumor growth in liver cancer [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(46): 75763–75773.
- [17] Nakagawa Y, Negishi Y, Shimizu M, et al. Effects of extracellular pH and hypoxia on the function and development of antigen-specific cytotoxic T lymphocytes [J]. *Immunol Lett*, 2015, 167(2): 72–86.
- [18] Fu Z, Mowday AM, Smaill JB, et al. Tumour hypoxia-mediated immunosuppression: mechanisms and therapeutic approaches to improve cancer immunotherapy [J]. *Cells*, 2021, 10(5): 1006.
- [19] Saxena M, Bhardwaj N. re-emergence of dendritic cell vaccines for cancer treatment [J]. *Trends Cancer*, 2018, 4(2): 119–137.
- [20] Wennerberg E, Spada S, Rudqvist NP, et al. CD73 blockade promotes dendritic cell infiltration of irradiated tumors and tumor rejection [J]. *Cancer Immunol Res*, 2020, 8(4): 465–478.
- [21] Peng X, He Y, Huang J, et al. Metabolism of dendritic cells in tumor microenvironment: for immunotherapy [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 613492.
- [22] Naldini A, Morena E, Pucci A, et al. Hypoxia affects dendritic cell survival; role of the hypoxia-inducible factor-1 α and lipopolysaccharide [J]. *J Cell Physiol*, 2012, 227(2): 587–595.
- [23] Zhu Y, Huang B, Shi J. Fas ligand and lytic granule differentially control cytotoxic dynamics of natural killer cell against cancer target [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(30): 47163–47172.
- [24] Maccalli C, Giannarelli D, Chiarucci C, et al. Soluble NKG2D ligands are biomarkers associated with the clinical outcome to immune checkpoint blockade therapy of metastatic melanoma patients [J]. *OncImmunology*, 2017, 6(7): e1323618.
- [25] Balsamo M, Manzini C, Pietra G, et al. Hypoxia downregulates the expression of activating receptors involved in NK-cell-mediated target cell killing without affecting ADCC [J]. *Eur J Immunol*, 2013, 43(10): 2756–2764.
- [26] Zhou SL, Yin D, Hu ZQ, et al. A positive feedback loop between cancer stem-like cells and tumor-associated neutrophils controls hepatocellular carcinoma progression [J]. *Hepatology*, 2019, 70(4): 1214–1230.
- [27] Li L, Yan J, Xu J, et al. CXCL17 expression predicts poor prognosis and correlates with adverse immune infiltration in hepatocellular carcinoma [J]. *PLoS One*, 2014, 9(10): e110064.
- [28] Avendaño-Ortiz J, Maroun-Eid C, Martín-Quirós A, et al. PD-L1 overexpression during endotoxin tolerance impairs the adaptive immune response in septic patients via HIF1 α [J]. *J Infect Dis*, 2018, 217(3): 393–404.
- [29] Lequeux A, Noman MZ, Xiao M, et al. Impact of hypoxic tumor microenvironment and tumor cell plasticity on the expression of immune checkpoints [J]. *Cancer Lett*, 2019, 458: 13–20.
- [30] Hatfield SM, Kjaergaard J, Lukashev D, et al. Immunological mechanisms of the antitumor effects of supplemental oxygenation [J]. *Sci Transl Med*, 2015, 7(277): 277ra30.
- [31] Scharping NE, Menk AV, Whetstone RD, et al. Efficacy of PD-1 blockade is potentiated by metformin-induced reduction of tumor hypoxia [J]. *Cancer Immunol Res*, 2017, 5(1): 9–16.
- [32] Hughes VS, Wiggins JM, Siemann DW. Tumor oxygenation and cancer therapy—then and now [J]. *Br J Radiol*, 2019, 92(1093): 20170955.
- [33] Viallard C, Larrivé B. Tumor angiogenesis and vascular normalization: alternative therapeutic targets [J]. *Angiogenesis*, 2017, 20(4): 409–426.
- [34] Siemann DW, Chaplin DJ, Horsman MR. Realizing the potential of vascular targeted therapy: the rationale for combining vascular disrupting agents and anti-angiogenic agents to treat cancer [J]. *Cancer Investig*, 2017, 35(8): 519–534.
- [35] Kheshtehin N, Arab S, Ajami M, et al. Inhibition of HIF-1 α enhances anti-tumor effects of dendritic cell-based vaccination in a mouse model of breast cancer [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2016, 65(10): 1159–1167.
- [36] Ashton TM, Fokas E, Kunz-Schughart LA, et al. The anti-malarial atovaquone increases radiosensitivity by alleviating tumour hypoxia [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 12308.