

肥大细胞在类风湿关节炎中作用的研究进展

安阳*, 刘辰晓*, 陈广洁

(上海交通大学医学院 免疫学与微生物学系, 上海 200025)

摘要: 类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是早期症状以慢性滑膜炎为主的自身免疫性疾病, 会导致一系列的关节病变及关节畸形。进行性的残疾和多系统并发症使 RA 患者的生活质量严重下降。肥大细胞属于固有免疫细胞, 可分泌多种生物活性物质, 同时也参与固有免疫和适应性免疫应答。肥大细胞在 RA 发病时会发生特征性增殖, 并在其病理生理机制中发挥重要作用。文章归纳总结了肥大细胞在 RA 发生发展中的作用及其研究进展, 为该病发病机制的研究和治疗策略的制定提供一定思路。

关键词: 类风湿关节炎; 肥大细胞; T 细胞; B 细胞; 细胞因子

中图分类号: R392.12

文献标志码: A

文章编号: 1001-2478(2021)05-0431-05

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种以关节滑膜的炎性改变为典型特点的自身免疫性疾病^[1]。其全球发病率大约为 0.5%, 女性发病率约为男性的 2~3 倍。RA 患者的滑膜组织受损, 进而引起关节内的炎症反应, 持续的炎症反应导致软骨损伤和骨侵蚀, 随后导致关节功能受损。RA 病灶中发生过度免疫应答的原理已较清楚, 滑膜局部细胞因子微环境以及滑膜增生的发生机制也都已有合理解释, 但与 RA 发病有关的免疫细胞(如肥大细胞)在 RA 中的具体致病机制、免疫细胞间的相互作用(如肥大细胞和 T 细胞的相互作用)对 RA 发病的影响等还未完全明确, 尚有较大研究空间, 笔者也将在后文具体阐释相关研究进展。

肥大细胞是一种非增殖、长期存活、定居于特定组织中的免疫细胞, 其在固有免疫和适应性免疫中都发挥着重要作用。许多研究表明, 肥大细胞与 RA 的发生发展关系密切, 关节滑膜中肥大细胞的数量与炎症反应严重程度、自身抗体阳性率、疾病活动程度等密切相关^[1]。

1 肥大细胞的表型和功能

肥大细胞起源于 CD34⁺CD117⁺骨髓多能造血祖细胞, 它的前体细胞以不成熟的状态进入血液循环, 并在特定的外周组织中完成其组织特异性的分化和成熟^[2]。肥大细胞具有广泛的组织分布, 主要存在于宿主和外部环境的接触面, 如皮肤、呼吸道黏膜和胃肠道上皮组织等处。

肥大细胞表达 MHC I 类和 II 类分子, 有一定的抗原提呈作用。肥大细胞还能表达多种表面受体和细胞质受体, 可对各种刺激做出反应。这些受体可大致分为以下几类: (1)CD117, 其配体为干细胞生长因子(stem cell factor, SCF); (2)Fc 受体(Fc receptor, FcR), 包括 FcεR I 和 FcγR I 等; (3)模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR), 包括 TLR 和 NOD 样受体等; (4)细胞因子受体, 包括 IL-1、IL-33、IFN-γ 受体等; (5)生长刺激表达基因 2(growth stimulation expressed gene 2, ST2)蛋白受体家族; (6)组胺受体, 包括 H1-4 受体; (7)G 蛋白偶联受体, 包括腺苷受体、前列腺素(prostaglandin, PG)E2 受体、鞘氨醇-1-磷酸受体、补体成分 3a(complement component 3a, C3a)、补体成分 5a(complement component 5a, C5a)受体、趋化因子受体、神经肽受体和抗菌肽受体等^[3]。

肥大细胞参与炎症发生、伤口愈合、凝血、急性过敏反应等过程。配体和受体的结合将影响肥大细胞的发育、增殖和存活, 诱导其分泌细胞因子、趋化

收稿日期: 2020-02-27

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81771731); 上海交通大学医学院“大学生创新训练计划”第十四期项目(1420Y011); 上海交通大学 18 级 RBL 项目

作者简介: 安阳(1999—), 男, 18 级临床医学八年制(本科生), 主要从事自身免疫相关研究; 刘辰晓(2000—), 女, 18 级临床医学八年制(本科生), 主要从事自身免疫相关研究; * 为共同第一作者

通信作者: 陈广洁(E-mail: guangjie_chen@163.com)

因子和生长因子等。肥大细胞主要通过脱颗粒的方式释放上述介质,颗粒内含有丰富的血管活性胺(如组胺)和蛋白酶等,这些物质释放后可介导血管舒张、增加毛细血管通透性、杀灭细菌和中和外毒素等过程。肥大细胞释放的免疫成分类型取决于刺激的类型以及肥大细胞的表型,因此,不同活化状态的肥大细胞可分泌不同的储存中或新合成的介质^[4]。

2 肥大细胞在 RA 中的作用

2.1 肥大细胞在 RA 中的类型 肥大细胞参与 RA 的病理过程,通过对抗原做出应答,释放多种细胞因子,招募其他免疫细胞,进而造成局部组织炎症、水肿、新血管形成和组织重塑。

RA 是一种异质性疾病,每个 RA 患者的临床表现、药物反应、病理过程都不尽相同,而根据关节滑膜肥大细胞的计数可以将早期 RA 分为 3 个亚型:纤维瘤(低肥大细胞密度)、髓样(中肥大细胞密度)和淋巴样(高肥大细胞密度)^[1]。肥大细胞密度与 CRP、ESR、28 处关节疾病活动度评分(disease activity score 28, DAS28)呈正相关^[1]。

根据表达的蛋白酶种类的不同,肥大细胞可分为类胰蛋白酶和糜蛋白酶阳性肥大细胞(tryptase- and chymase-positive mast cell, MC_{TC})和类胰蛋白酶阳性肥大细胞(tryptase -positive mast cell, MC_T)。MC_{TC}表达类胰蛋白酶和糜蛋白酶,而 MC_T仅表达类胰蛋白酶。两类肥大细胞在 RA 中都有明显增加,但 MC_T与 MC_{TC}的比值因 RA 亚型而异(MC_T:MC_{TC}在纤维瘤中为 1:6、淋巴样中为 1:2),并且 MC_T与滑膜炎症反应程度显著相关,提示 MC_T在 RA 急性炎症反应中的潜在作用^[1]。

2.2 肥大细胞在 RA 中的激活

2.2.1 肥大细胞通过 FcR 被激活 研究表明,IgG 可通过 FcγR I 促使肥大细胞分泌 TNF-α、PGD₂,免疫复合物还可能通过 FcγR I 和 FcγR II 刺激滑膜肥大细胞产生组胺等物质,而人滑膜肥大细胞不表达 FcγR III,中和 FcγRI 和 FcγRII 的单克隆抗体可显著抑制 IgG 引起的组胺释放^[5]。有关 FcγR 的激活在介导自身抗体的致病中的作用的研究表明,阻断免疫复合物与特定 FcγR 的相互作用将干扰慢性炎症过程。同时,通过调节 DC 的活性 FcγR 还可控制在识别出存在于 DC 表面的抗原

肽之后是引发免疫应答还是引起免疫耐受^[6]。

2.2.2 肥大细胞通过 TLR 被激活 TLR 的异常激活可能导致过度的炎症反应,故 TLR 家族在自身免疫性疾病的发展中可能起关键作用。大多数 TLR 信号通路涉及的衔接蛋白髓样分化因子 88(myeloid differentiation factor 88, MyD88)在基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)的合成中必不可少,而 MMP 在滑膜炎症以及软骨和骨骼的破坏中起着重要作用,故 TLR 可能参与 RA 中的炎症和组织破坏过程^[7]。

人肥大细胞表达 TLR1~TLR9,其中,TLR2、TLR4、TLR8 能够诱导肥大细胞产生 TNF-α。RA 的关节内和疾病起始关节外部位存在蛋白质的过度瓜氨酸化,蛋白质中精氨酸的瓜氨酸化会因为形成了自身蛋白的新表位而打破免疫耐受,诱导机体产生抗自身抗原的抗体如抗环瓜氨酸肽抗体(anti-cyclic citrullinated peptide antibody, ACPA)。ACPA-IgG 免疫复合体可以通过与 FcγR II A 结合激活肥大细胞,而联合刺激 FcγR II A 与 TLR 能够诱导人肥大细胞释放促炎症介质 IL-8,说明了两者的协同作用。同期研究还发现,体外培养肥大细胞时,通过 TLR 配体介导的细胞因子释放并不依赖肥大细胞的脱颗粒过程,且诱导的细胞因子应答类型取决于被触发的 TLR 类型^[8]。

2.2.3 肥大细胞通过细胞因子受体等其他受体被激活 早期的研究表明,促炎因子如 TNF-α、IL-1β、IL-1Ra 都可能与滑膜肥大细胞的激活有关^[9]。而新近研究显示,在 RA 患者的滑膜中,IL-33 也能够激活肥大细胞并介导 IL-10 和组胺的释放,同时也通过抑制中性粒细胞产生免疫调节作用。IL-33 还能刺激肥大细胞过表达 FcγR II A,起到正反馈激活肥大细胞的作用^[10]。IL-6 是 RA 致病机制中的中心细胞因子之一,同时也是人肥大细胞体外分化所需的主要刺激物之一^[11]。

最近的研究还显示,其他物质如神经肽 P 物质能够通过 Mas 相关 G 蛋白偶联受体 X2 激活 RA 滑膜中的肥大细胞^[12]。

2.3 肥大细胞对 RA 的直接作用 激活的肥大细胞首先会以脱颗粒的方式释放出预先合成的物质,其中包括肝素、蛋白酶和组胺,它们在介导 RA 的组织损伤中发挥重要作用。肥大细胞表达的类胰蛋白酶可通过激活 MMP-3 将滑膜细胞中的胶原酶原

转化为活性形式, 导致胶原的降解; 其还可能直接水解软骨基质中聚蛋白聚糖的 N 端血凝素结合域, 导致聚蛋白聚糖的丢失^[13]。类胰蛋白酶和糜蛋白酶也是血管生成因子, 介导 RA 病灶的新血管形成过程^[14]。

除了细胞因子和预先合成的物质外, 激活的肥大细胞还会释放一些新合成的脂类物质, 如白三烯(leukotriene, LT)、PG 等。LTB₄、PGE₂ 和 PGT₂ 等也介导了 RA 中的炎症应答^[15]。

2.4 肥大细胞与其他免疫细胞的相互作用对 RA 的影响

2.4.1 肥大细胞与 B 细胞的相互作用对 RA 的影响

B 细胞在 RA 的致病机制中发挥着重要的作用。滑膜中的 B 细胞与局部自身抗体的产生、破骨细胞产生和激活、免疫复合物介导的炎症反应有关。B 细胞也可以参与抗原提呈和 T 细胞活化, 其与趋化因子的相互作用促进 TNF- α 的分泌, 进而激活巨噬细胞^[16]。研究证明, 小鼠的肥大细胞可激活 B 细胞, 人肥大细胞也能够激活初始 B 细胞并诱导其产生 ACPA, 且这一相互作用依赖于细胞间的接触, 特别是肥大细胞表面 CD40L 分子与 B 细胞表面 CD40 的结合^[1]。其他肥大细胞产物如 IL-4、IL-5、IL-6、IL-13、TNF- α 等, 也可以影响 B 细胞的发育和功能, 但这种相互关系在体内与 RA 的关系仍有待证实^[17]。肥大细胞通过激活 B 细胞, 诱导其增殖和分化, 对 RA 中自身抗体的产生发挥重要作用。反之, B 细胞合成的 IgE、IgG 等抗体也可激活肥大细胞, 使其释放多种生物活性物质, 起到促炎、抑炎或者免疫调节的功能。

2.4.2 肥大细胞与 T 细胞的相互作用对 RA 的影响

CD4⁺ T 细胞是参与 RA 病理改变的主要亚型, 其中又包括 Treg、Th17 等。在 RA 中 CD4⁺ T 细胞的增殖分化明显增强。新近研究证明, 肥大细胞的抗原提呈作用与 CD4⁺ T 细胞的增殖分化关系密切^[18]。细胞因子 IL-4、IFN- γ 会导致 MHC II 类分子在肥大细胞中的表达增强, 使肥大细胞能更有效地将抗原提呈给 CD4⁺ T 细胞, 促进 CD4⁺ T 细胞的增殖分化^[19]。也有研究显示, 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺)能够通过一种不需要 MHC II 类分子提呈的肥大细胞依赖的信号通路调控 CD4⁺ T 细胞的增殖分化, 这可能与 NAD⁺ 刺激肥大细胞释放的 IFN- γ 有关^[20]。

在 RA 中可观察到 Treg 功能的缺陷及免疫抑制活性的降低, 而肥大细胞可以通过 OX40 / OX40 配体与 Treg 细胞直接接触以及释放组胺和 IL-6 来抑制 Treg 的免疫抑制作用^[18]。

同时, 在 RA 中, Th17/Treg 比例也明显升高, 大量增殖的 Th17 可促进破骨细胞的生成, 继而破坏软骨组织加快骨吸收^[21], 而肥大细胞可以通过间接影响 DC 或者通过 OX40 介导的肥大细胞与 Treg 细胞的接触影响 Th17 的应答。研究发现, 肥大细胞还可以通过不依赖炎症小体的途径释放 IL-1 β 进而诱导 Th17 扩增^[22]。激活的肥大细胞高表达的炎症因子, 如 IL-17、IL-1 β 、IL-6、GM-CSF, 也可促进自反应性 Th17 的增殖^[23]。

2.4.3 肥大细胞与其他细胞的相互作用对 RA 的影响

肥大细胞可以通过直接或间接的方式与成纤维样滑膜细胞(fibroblast-like synovocyte, FLS)、破骨细胞、单核-巨噬细胞、中性粒细胞、滑膜细胞等相互作用, 招募炎症细胞, 激活效应细胞, 进而参与 RA 的病理损伤过程。

滑膜肥大细胞释放的 TNF- α 可以作用于 FLS, 以诱导其增殖, 并上调胶原酶和 MMP 的表达^[24]。TNF- α 还能诱导 FLS 释放干细胞因子, 其作用于肥大细胞表面 CD117 后又能促进肥大细胞活化, 进而形成一个闭合环路。滑膜中肥大细胞产生的肝素与类胰蛋白酶形成的复合物也可作用于 FLS, 上调其释放的中性粒细胞趋化因子如 CXCL1、CXCL5、CXCL8, 进而招募中性粒细胞^[13]。肥大细胞分泌的糜蛋白酶则能通过黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)/p21 途径促进 FLS 的增殖, 促进其 MMP-9、FAK 和 p21 的表达^[25]。

肥大细胞释放的 TNF- α 也能激活破骨细胞, 其促进骨质脱矿质^[26]。组胺和组胺受体 4 则能促进破骨细胞 RANKL 的表达, 激活破骨细胞^[27], 促进骨侵蚀。

激活的肥大细胞释放趋化因子如单核细胞趋化蛋白 1 和人巨噬细胞炎性蛋白 1 α , 招募单核巨噬细胞等炎症细胞^[23]。肥大细胞产生的 TNF- α 还能诱导邻近的巨噬细胞释放 IL-1 β , 加重局部炎症^[9]。同时, 肥大细胞释放的 IFN- γ 能刺激巨噬细胞产生大量 TNF- α , 最终导致关节破坏^[28]。

肥大细胞释放的 IL-6 可以激活中性粒细胞, 进而使其释放活性氧和蛋白酶, 引起组织炎症和关节破坏^[29]。同时, 其释放的组胺则可增加血管通

透性, 招募中性粒细胞至损伤部位^[30]。

肥大细胞释放的 TNF- α 可以介导滑膜细胞内溶基质素、胶原酶、PG、GM-CSF 的合成上调^[29]。肥大细胞分泌的类胰蛋白酶介导的滑膜细胞中蛋白酶激活受体 2 的激活会血管通透性以及关节局部炎症, 并且能阻止 Fas 介导的 RA 患者 FLS 的凋亡, 导致滑膜增生和关节损伤^[31]。

3 结语

综上所述, 肥大细胞在 RA 的致病过程中发挥了多种重要的作用。滑膜局部以及被细胞因子或补体等招募至滑膜的肥大细胞通过 FcR、TLR 等与相应配体的结合而被激活, 进而释放一系列生物活性物质如细胞因子、组胺、肝素、蛋白酶等, 招募更多的免疫细胞, 破坏局部软骨基质, 诱导滑膜细胞增殖等。除了直接参与组织损伤, 肥大细胞还会与 B 细胞、T 细胞相互作用, 参与自身抗体的产生, 诱导 T 细胞的增殖分化等, 增强机体的适应性免疫应答。当然, 肥大细胞的调节作用、肥大细胞与 T、B 细胞的相互作用在 RA 中的具体作用等问题还需要更多的研究以进一步明确。

参考文献

- [1] Rivellese F, Mauro D, Nerviani A, *et al.* Mast cells in early rheumatoid arthritis associate with disease severity and support B cell autoantibody production[J]. *Ann Rheum Dis*, 2018, 77(12): 1773-1781.
- [2] Wilcock A, Bahri R, Bulfone-Paus S, *et al.* Mast cell disorders: from infancy to maturity[J]. *Allergy*, 2019, 74(1): 53-63.
- [3] Xu H, Bin NR, Sugita S. Diverse exocytic pathways for mast cell mediators[J]. *Biochem Soc Trans*, 2018, 46(2): 235-247.
- [4] Mukai, Tsai M, Saito H, *et al.* Mast cells as sources of cytokines, chemokines, and growth factors[J]. *Immunol Rev*, 2018, 282(1): 121-150.
- [5] Lee H, Kashiwakura J, Matsuda A, *et al.* Activation of human synovial mast cells from rheumatoid arthritis or osteoarthritis patients in response to aggregated IgG through Fc γ receptor I and Fc γ receptor II [J]. *Arthritis Rheum*, 2013, 65(1): 109-119.
- [6] Nimmerjahn F, Ravetch JV. Fc γ receptors as regulators of immune responses[J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(1): 34-47.
- [7] Chen JQ, Szodoray P, Zeher M. Toll-like receptor pathways in autoimmune diseases [J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2016, 50(1): 1-17.
- [8] Suurmond J, Rivellese F, Dorjée AL, *et al.* Toll-like receptor triggering augments activation of human mast cells by anti-citrullinated protein antibodies [J]. *Ann Rheum Dis*, 2015, 74(10): 1915-1923.
- [9] Sandler C, Lindstedt KA, Joutsiniemi S, *et al.* Selective activation of mast cells in rheumatoid synovial tissue results in production of TNF- α , IL-1 β and IL-1Ra [J]. *Inflamm Res*, 2007, 56(6): 230-239.
- [10] Rivellese F, Suurmond J, Habets K, *et al.* Ability of interleukin-33- and immune complex-triggered activation of human mast cells to down-regulate monocyte-mediated immune responses [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2015, 67(9): 2343-2353.
- [11] Rivellese F, Rossi FW, Galdiero MR, *et al.* Mast cells in early rheumatoid arthritis [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(8): 2040.
- [12] Okamura Y, Mishima S, Kashiwakura JI, *et al.* The dual regulation of substance P-mediated inflammation via human synovial mast cells in rheumatoid arthritis [J]. *Allergol Int*, 2017, 66S: S9-S20.
- [13] Shin K, Nigrovic PA, Crish J, *et al.* Mast cells contribute to autoimmune inflammatory arthritis via their tryptase/heparin complexes [J]. *J Immunol*, 2009, 182(1): 647-656.
- [14] de Souza Junior DA, Santana AC, da Silva EZ, *et al.* The role of mast cell specific chymases and tryptases in tumor angiogenesis [J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 142359.
- [15] Hoxha M. A systematic review on the role of eicosanoid pathways in rheumatoid arthritis [J]. *Adv Med Sci*, 2018, 63(1): 22-29.
- [16] Schellekens GA, de Jong BA, van den Hoogen FH, *et al.* Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies [J]. *J Clin Invest*, 1998, 101(1): 273-281.
- [17] Galli SJ, Grimaldeston M, Tsai M. Immunomodulatory mast cells: negative, as well as positive, regulators of immunity [J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(6): 478-486.
- [18] Bulfone-Paus S, Bahri R. Mast cells as regulators of T cell responses [J]. *Front Immunol*, 2015, 6: 394.
- [19] Lotfi-Emran S, Ward BR, Le QT, *et al.* Human mast cells present antigen to autologous CD4⁺ T cells [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2018, 141(1): 311-321. e10.
- [20] Rodriguez Cetina Bieffer H, Heinbokel T, Uehara H, *et al.* Mast cells regulate CD4⁺ T-cell differentiation in the absence of antigen presentation [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2018, 142(6): 1894-1908. e7.
- [21] Samuels JS, Holland L, López M, *et al.* Prostaglandin E2 and IL-23 interconnects STAT3 and RoR γ pathways to initiate Th17 CD4⁺ T-cell development during rheumatoid arthritis [J]. *Inflamm Res*, 2018, 67(7): 589-596.
- [22] Suurmond J, Habets KL, Dorjée AL, *et al.* Expansion of Th17 cells by human mast cells is driven by inflammasome-independent IL-1 β [J]. *J Immunol*, 2016, 197(11): 4473-4481.
- [23] Hueber AJ, Asquith DL, Miller AM, *et al.* Mast cells ex-

- press IL-17A in rheumatoid arthritis synovium[J]. *J Immunol*, 2010, 184(7): 3336-3340.
- [24] Kim EY, Moudgil KD. Immunomodulation of autoimmune arthritis by pro-inflammatory cytokines[J]. *Cytokine*, 2017, 98: 87-96.
- [25] Chu Y, Wang JJ, Zhou XY. Mast cell chymase in synovial fluid of collagen-induced-arthritis rats regulates gelatinase release and promotes synovial fibroblasts proliferation via FAK/p21 signaling pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 514(1): 336-343.
- [26] Eklund KK. Mast cells in the pathogenesis of rheumatic diseases and as potential targets for anti-rheumatic therapy[J]. *Immunol Rev*, 2007, 217: 38-52.
- [27] Kim KW, Kim BM, Lee KA, *et al.* Histamine and histamine H4 receptor promotes osteoclastogenesis in rheumatoid arthritis[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 1197.
- [28] Nakajima A, Aoki Y, Sonobe M, *et al.* Relative expression and correlation of tumor necrosis factor- α , interferon- γ , and interleukin-17 in the rheumatoid synovium[J]. *Clin Rheumatol*, 2016, 35(7): 1691-1697.
- [29] Mateen S, Zafar A, Moin S, *et al.* Understanding the role of cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis[J]. *Clin Chim Acta*, 2016, 455: 161-171.
- [30] Schneider EH, Seifert R. Pharmacological characterization of human histamine receptors and histamine receptor mutants in the Sf9 cell expression system[M] *Handbook of Experimental Pharmacology*, Cham: Springer International Publishing, 2017: 63-118.
- [31] Sawamukai N, Yukawa S, Saito K, *et al.* Mast cell-derived tryptase inhibits apoptosis of human rheumatoid synovial fibroblasts via rho-mediated signaling[J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62(4): 952-959.

(上接第 430 页)

- [23] Fourcade J, Sun ZJ, Pagliano O, *et al.* PD-1 and Tim-3 regulate the expansion of tumor antigen-specific CD8(+) T cells induced by melanoma vaccines[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(4): 1045-1055.
- [24] Granier C, Dariane C, Combe P, *et al.* Tim-3 expression on tumor-infiltrating PD-1(+)CD8(+) T cells correlates with poor clinical outcome in renal cell carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2017, 77(5): 1075-1082.
- [25] Zheng H, Guo X, Tian Q, *et al.* Distinct role of Tim-3 in systemic lupus erythematosus and clear cell renal cell carcinoma[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(5): 7029-7038.
- [26] Jie HB, Srivastava RM, Argiris A, *et al.* Increased PD-1(+) and TIM-3(+) TILs during cetuximab therapy inversely correlate with response in head and neck cancer patients[J]. *Cancer Immunol Res*, 2017, 5(5): 408-416.
- [27] Liu F, Zeng G, Zhou S, *et al.* Blocking Tim-3 or/and PD-1 reverses dysfunction of tumor-infiltrating lymphocytes in HBV-related hepatocellular carcinoma[J]. *Bull Cancer*, 2018, 105(5): 493-501.
- [28] Zhou G, Sprengers D, Boor P, *et al.* Antibodies against immune checkpoint molecules restore functions of tumor-infiltrating T cells in hepatocellular carcinomas[J]. *Gastroenterology*, 2017, 153(4): 1107-1119. e10.
- [29] Zahran AM, Hetta HF, Rayan A, *et al.* Differential expression of Tim-3, PD-1, and CCR5 on peripheral T and B lymphocytes in hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma and their impact on treatment outcomes[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2020, 69(7): 1253-1263.
- [30] Sasidharan NV, Toor SM, Taha RZ, *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.
- [31] Kuai WT, Xu XJ, Yan J, *et al.* Prognostic impact of PD-1 and Tim-3 expression in tumor tissue in stage I-III colorectal cancer[Z]. 2020: 5294043.
- [32] Zhang Y, Cai PC, Li L, *et al.* Co-expression of TIM-3 and CEACAM1 promotes T cell exhaustion in colorectal cancer patients[J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 43: 210-218.
- [33] Saleh R, Toor SM, Al-Ali D, *et al.* Blockade of PD-1, PD-L1, and TIM-3 altered distinct immune- and cancer-related signaling pathways in the transcriptome of human breast cancer explants[J]. *Genes (Basel)*, 2020, 11(6): 703.
- [34] Linedale R, Schmidt C, King BT, *et al.* Elevated frequencies of CD8 T cells expressing PD-1, CTLA-4 and Tim-3 within tumour from perineural squamous cell carcinoma patients[J]. *PLoS One*, 2017, 12(4): e0175755.
- [35] Cao Y, Zhou XX, Huang XY, *et al.* Tim-3 expression in cervical cancer promotes tumor metastasis[J]. *PLoS One*, 2013, 8(1): e53834.
- [36] Tu L, Guan R, Yang H, *et al.* Assessment of the expression of the immune checkpoint molecules PD-1, CTLA4, TIM-3 and LAG-3 across different cancers in relation to treatment response, tumor-infiltrating immune cells and survival[J]. *Int J Cancer*, 2020, 147(2): 423-439.
- [37] Kim N, Kim HS. Targeting checkpoint receptors and molecules for therapeutic modulation of natural killer cells[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 2041.
- [38] Shi X, Li CW, Tan LC, *et al.* Immune co-inhibitory receptors PD-1, CTLA-4, TIM-3, LAG-3 and TIGIT in medullary thyroid cancers: a large cohort study[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2020: dgaa701.
- [39] Sakuishi K, Apetoh L, Sullivan JM, *et al.* Targeting Tim-3 and PD-1 pathways to reverse T cell exhaustion and restore anti-tumor immunity[J]. *J Exp Med*, 2010, 207(10): 2187-2194.