

Vav1 与浸润T细胞活性 肿瘤局部 IDO 表达相关性的研究

齐 瑶^① 李润美^① 于津浦^① 李 慧^① 尤 健^② 于文文^① 辛 宁^①
董 楠^① 朱建权^② 任秀宝^①

摘要 目的:通过对 Vav1 与肿瘤浸润 T 淋巴细胞(tumor infiltrating T lymphocytes, TIL-T) 活性关系的研究,提出 T 细胞失能的可能分子机制;初步探讨 TIL-T 中 Vav1 的表达情况及其与肿瘤局部微环境中吲哚胺 2,3 双加氧酶(indoleamine-2,3-dioxygenase, IDO)表达的相关性。**方法:**收集天津医科大学附属肿瘤医院肺外科手术切除的新鲜肺癌标本、癌旁正常肺组织及蜡块 40 例,通过实时定量 RT-PCR 检测 TIL-T 中 Vav1 mRNA 表达变化;免疫印迹及免疫沉淀技术检测 Vav1 蛋白表达及磷酸化活性。BrdU 法检测 T 细胞增殖活性。此外,运用 Real time-PCR 法检测肺癌组织中 IDO mRNA 表达水平,免疫印迹及免疫组化检测 IDO 蛋白表达情况。**结果:**部分肺癌局部浸润的 T 细胞处于功能抑制状态,这种抑制状态可能与细胞内重要的信号传导蛋白 Vav1 的表达量及活性相关。IDO 表达阳性组肺癌标本局部 TIL-T 中 Vav1 mRNA 水平及 Vav1 蛋白的表达和磷酸化水平明显低于 IDO 表达阴性组($P < 0.05$)。**结论:**Vav1 的表达和活化在 TIL-T 功能中具有重要的作用。肿瘤局部微环境中的 IDO 蛋白可能是影响 TIL-T 中 Vav1 表达和活化的重要因素之一。IDO 可能通过抑制 Vav1 的表达及磷酸化活化过程,使 TIL-T 的主动免疫受损,从而降低宿主的抗肿瘤免疫效应。

关键词 Vav1 吲哚胺 2,3 双加氧酶 肿瘤浸润 T 淋巴细胞 磷酸化 增殖

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.2012.09.011

Association of Vav1 with Activity of Infiltrating T Cells and Local Expression of IDO in Tumor

Yao QI¹, Runmei LI¹, Jinpu YU¹, Hui LI¹, Jian YOU², Wenwen YU¹, Ning XIN¹, Nan DONG¹, Jianquan ZHU², Xiubao REN¹

Correspondence to: Xiubao REN, E-mail: rwziyi@yahoo.com

¹Department of Biotherapy, Key Laboratory of Cancer Prevention and Therapy, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, Tianjin 300060, China

²Department of Lung Cancer, Key Laboratory of Cancer Prevention and Therapy, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, Tianjin 300060, China

Abstract Objective: This study explored the relationship between Vav1 and tumor-infiltrating T lymphocytes (TIL - T), which provide a molecular mechanism inducing a state of T cell anergy. The expression of Vav1 in TIL-T and indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) from the tumor microenvironment was investigated in order to present a possible molecular mechanism for tumor-induced T cell immune tolerance. **Methods:** A total of 40 lung cancer patients who had undergone surgery in the Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital were involved. The expression levels of Vav1 mRNA in TIL-T were detected by real-time PCR, while the expression and activation of Vav1 were determined using Western blot and immunoprecipitation. T cell proliferation was detected using the BrdU method. The levels of IDO expression in lung cancer and corresponding normal lung tissues were determined using semi-quantitative RT-PCR, immunohistochemistry, and Western blot. The SPSS17.0 software was used for statistical analysis. **Results:** TIL-Ts are a part of cancer tissues and are in a state of functional suppression. This suppressive condition may involve the key signal transducer Vav1. Both mRNA and protein levels of Vav1 in T cells were significantly decreased in lung cancer tissues with IDO-positive expression compared with those with IDO-negative expression. In addition, the levels of Vav1 phosphorylation was decreased ($P < 0.05$). **Conclusion:** The expression and activation of Vav1 play critical roles in the function of TIL-T. IDO, secreted by the tumor cells themselves or antigen-presenting cells, has an important impact on the expression and activation of Vav1 in TIL-T. IDO may suppress the expression and phosphorylation of Vav1, leading to inhibition of the T cell active immune response, which may consequently reduce the anti-tumor defenses of the host.

Keywords Vav1; Indoleamine 2,3-dioxygenase; Tumor infiltrating T lymphocytes; Phosphorylation; Proliferation

Vav1 蛋白主要表达于造血系统细胞中,主要发挥鸟苷酸交换因子(guanine nucleotide exchange factor, GEFGEF)的作用,特异性地激活 Rho 家族 GTP

酶,在 TCR/CD3 信号传导途径中发挥重要作用^[1-2]。TCR 激活后可经过一系列的蛋白将信号传导至 Vav1,使其磷酸化活化后参与 T 细胞的重要生理活

作者单位:①天津医科大学附属肿瘤医院生物治疗科,肿瘤研究所免疫室,天津市肿瘤防治重点实验室;②肺部肿瘤科(天津市 300060)

通信作者:任秀宝 rwziyi@yahoo.com

动。T细胞介导的细胞免疫在宿主抗肿瘤免疫效应中起着重要作用。大量研究报道,在肿瘤局部浸润的TIL-T其增殖能力、细胞毒性以及细胞因子的产生均存在缺陷,TIL-T处于“失能”状态^[3-4]。而TIL-T的“失能”是否与其重要的信号传导蛋白Vav1的表达及活化相关,目前尚不清楚。近年研究发现,在许多肿瘤微环境中,IDO表达明显增强,同时局部免疫功能明显抑制,这可能是肿瘤微环境中免疫耐受形成过程中的一个关键因素。IDO是细胞内一种含亚铁血红素的酶,是肝脏以外唯一可催化色氨酸分子中吲哚环氧化裂解、沿犬尿酸途径进行分解代谢的限速酶。研究发现,肿瘤细胞自身或抗原递呈细胞(antigen presenting cell, APC)如巨噬细胞、DC等,均可以通过分泌IDO,降解色氨酸,抑制局部T细胞增殖,同时其色氨酸代谢产物还可促进T细胞的凋亡,进而间接抑制由T细胞介导的抗肿瘤免疫效应^[5]。然而,IDO是否影响了TIL-T中Vav1的表达及活化,国内外鲜见报道。因此,本研究通过分离出40例肺癌组织中浸润的T淋巴细胞检测其重要的信号传导蛋白Vav1的表达及活化功能,并检测TIL-T的增殖活性;同时检测了肺癌组织及癌旁正常肺组织中IDO的表达情况,分析Vav1与T细胞活性、肿瘤局部IDO表达水平的相关性,探讨Vav1蛋白在IDO诱导TIL-T失能的分子机制,为肿瘤免疫耐受的产生机制和治疗策略提供理论和实验依据。

1 材料与方法

1.1 病例资料

收集天津医科大学附属肿瘤医院肺外科2011年2月至12月经手术切除后病理证实为肺癌的新鲜标本及蜡块40例。其中,男性23例,女性17例;年龄34~82岁,中位年龄60岁;组织学类型按WHO标准分类:鳞癌21例,腺癌19例;临床分期按2009版非小细胞肺癌TNM标准分期:I+II期24例,III+IV期16例;病理分级:高、中分化28例,低分化12例。肿瘤离体后30 min内采集肺癌组织,同时取癌旁正常肺组织(距离肿瘤边缘5 cm以上的正常肺组织)。所有新鲜标本取0.3~0.4 g,立即液氮冷冻保存,余用来分离肿瘤浸润T淋巴细胞。

1.2 研究方法

1.2.1 相关试剂及仪器 兔抗人Vav多克隆抗体、兔抗人IDO单克隆抗体、抗磷酸化抗体4G10购自美国Millipore公司;RIPA裂解液、小鼠抗人 β -actin单克隆抗体、兔抗Vav1抗体、protein A/G PLUS-Agarose购自Santa Cruze公司;HRP标记的山羊抗小鼠IgG抗体、HRP标记的山羊抗兔IgG抗体购自北京中杉金桥公司;CD3 MicroBeads购自美国MACS公司;RPMI

1640培养基,Trizol试剂购自美国Invitrogen公司;MMLV逆转录试剂盒购自美国Promega公司;DAB显色剂购自福州迈新公司;抗CD3抗体购自美国eBioscience公司;人重组IL-2购自北京双鹭公司;ECL显色试剂盒购自美国Pierce公司;BrdU试剂盒购自美国BD Biosciences公司;Vav1、IDO引物均由上海生工公司合成。ABI PRISM 7500实时定量PCR仪购自美国ABI公司;PCR仪购自德国Eppendorf公司;流式细胞仪购自美国BD Biosciences公司;凝胶成像仪购自美国Bio-Rad公司。

1.2.2 肿瘤浸润T淋巴细胞的分离 将无菌条件下手术取出的肿瘤组织置于RPMI 1640中4℃浸泡2 h后,用PBS洗2次。先将瘤体剪碎,悬浮于37℃水浴预热的15 mL多种酶混合液中,置37℃消化2 h后,将悬液过尼龙网筛以除去大组织块,然后用PBS洗2次,再用CD3磁珠阳性分选T细胞,具体步骤按说明书进行。

1.2.3 PCR法检测基因表达 收集肺癌组织中TIL-T/肺癌组织匀浆液,Trizol法提取总RNA,测定浓度及纯度后,逆转录合成cDNA。 β -actin作为内参。引物序列及反应条件: β -actin:上游引物:5'-TGGCACCCAGCA CAATGAA-3',下游引物:5'-CTAAGTCATAGTCCGC CTAGAAGCA-3',扩增产物为186 bp;Vav1:上游引物:5'-TGCTTCAAGTCTCTGGACACCAC-3',下游引物:5'-TCTCGGGCGCAGAAGTCATA-3',扩增产物为135 bp。反应条件为95℃预变性10 s;95℃ 5 s,64℃ 34 s,40个循环。每对引物设3个复孔。结果用ABI PRISM7500分析,自动生成CT值, Δ CT=CT目的基因-CT内参基因,mRNA的基因拷贝数为 $2^{-\Delta$ CT}。IDO引物序列及反应条件:上游引物:5'-CATCTGCAAATCGTGACTAA G-3',下游引物:5'-CAGTCGACACATTAACCTTCCT TC-3',扩增产物为188 bp。反应条件为94℃预变性5 min;94℃变性30 s,58℃退火30 s,72℃延伸1 min,40个循环;72℃完全延伸10 min。癌旁正常组织作为对照。反应产物在1%的琼脂糖凝胶上电泳,凝胶成像仪拍照记录。

1.2.4 Western印迹法检测蛋白表达 收集肺癌组织中TIL-T/肺癌组织匀浆液,用蛋白裂解液裂解后测定浓度。配制10% SDS-PAGE凝胶,电泳分离蛋白,半干转法将胶上的蛋白条带转移到PVDF膜上,5%脱脂奶粉室温封闭1 h,以 β -actin作为内参,一抗4℃孵育过夜,二抗室温孵育1 h, ECL化学发光试剂盒进行蛋白信号检测。用Quantity One软件检测蛋白累积光密度值(IOD)。以目的蛋白条带IOD与相应 β -actin IOD的比值计算蛋白表达相对指数,实验重复3次。

1.2.5 免疫沉淀法和 Western 印迹法检测蛋白磷酸化 收集 TIL-T 并用含磷酸化酶抑制剂的蛋白裂解液裂解,调整浓度为 $1 \mu\text{g}/\mu\text{L}$,取 $500 \mu\text{L}$ 溶液,加入兔抗 Vav1 抗体, 4°C 振荡过夜,再向该溶液中加入 protein A/G PLUS-Agarose, 4°C 振荡 2 h 后离心,弃上清,加入 $4\times$ Loading buffer, 100°C 煮沸 5 min,快速离心后收集上清,进行蛋白免疫印迹反应。其它反应步骤同前。

1.2.6 免疫组织化学检测蛋白表达 切片常规脱蜡、抗原修复、去内源性过氧化物酶及牛血清白蛋白封闭后,加入兔抗人 IDO 单克隆抗体 4°C 过夜,抗兔二抗 37°C 孵育 30 min, DAB 显色,苏木精复染。对照设置: PBS 替代一抗作为阴性对照。结果判定: 光学显微镜下高倍镜观察 IDO 蛋白阳性部位位于肺癌细胞浆,以细胞浆出现广泛棕黄色和棕褐色颗粒为阳性,以未染色或淡黄色为阴性,并与 RT-PCR 结果联合分析。

1.2.7 T 细胞增殖检测 将 TIL-T 接种于 96 孔板中,调整细胞浓度为 $2\times 10^6/\text{mL}$,分别用以下条件处理,分为 4 组: 1) 培养液; 2) 1000 U/mL 人重组 IL-2; 3) 抗 CD3 抗体 (OKT3); 4) OKT3 和 1000 U/mL 人重组 IL-2。每组设 3 个复孔。将 4 组细胞于 37°C 孵育 3 d 后,加入 1 mM BrdU ($10 \mu\text{L}/1 \text{ mL}$) 37°C 孵育 1.5 h,具体操作程序按说明书进行。结果用流式细胞仪检测。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 17.0 软件对数据进行统计分析,阳性率的比较采用 χ^2 检验及 Fisher 确切概率法,均数的比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肺癌组织 TIL-T 中 Vav1 的表达

以 β -actin 为内参, 40 例肺癌组织中 Vav1 mRNA 表达量明显不同。以中位数 $M=0.060$ 为分界,将 40 例肺癌标本分为 Vav1 高表达组和低表达组 (高表达组 17 例,低表达组 23 例)。

2.2 Vav1 在 TIL-T 的增殖抑制中具有重要的作用

TIL-T 于 96 孔板孵育 3 d 后, BrdU 法检测 TIL-T 增殖情况如图 1 所示。与 Vav1 高表达组相比, Vav1 低表达组中 TIL-T 对所有刺激的增殖反应较 Vav1 高表达组均明显降低 ($P < 0.05$)。结果表明, Vav1 表达水平较低的 TIL-T 中 TCR/CD3 信号传导通路出现缺陷,导致 TIL-T 的增殖活性明显降低。因此,本研究推测 Vav1 在 TIL-T 功能抑制中具有重要的作用。

2.3 肺癌组织和癌旁正常肺组织中 IDO 的表达

40 例肺癌组织中 IDO 阳性表达 18 例 (图 2), 阴性表达 22 例, 阳性率为 45%。癌旁正常肺组织 IDO 表达均为阴性。Western blot 分析显示 IDO 蛋白 (42 kD) 在癌旁

正常肺组织中无表达,而癌组织内表达增高。半定量 RT-PCR 研究结果类似,癌旁正常肺组织无 PCR 扩增产物 (188 bp), 癌组织内表达则明显上调 (图 3)。

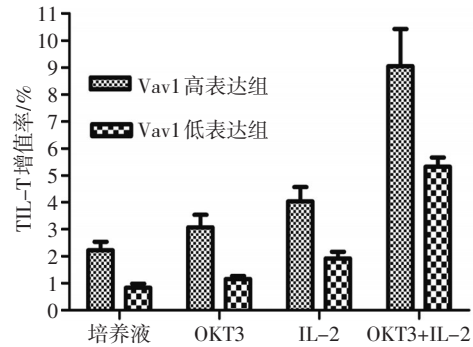


图1 Vav1 高表达组及低表达组 TIL-T 的增殖情况

Figure 1 Proliferation of TIL-T in the group with high and low expression of Vav1

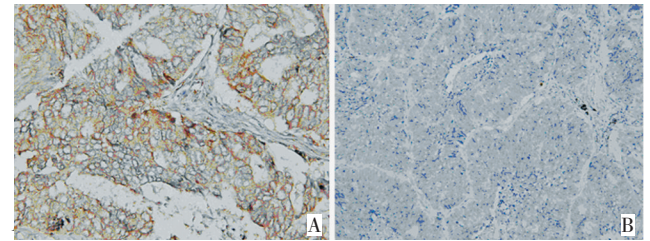
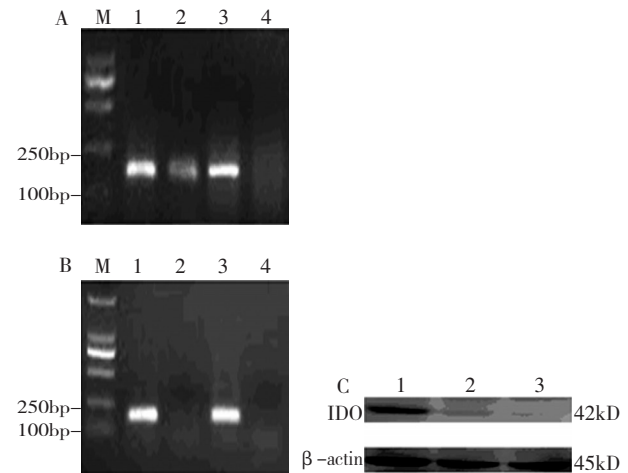


图2 IDO 在肺癌组织中的表达 (SP $\times 400$)

Figure 2 Expression of indoleamine 2,3-dioxygenase in lung cancer tissues



A: IDO 阳性表达的肺癌组织及其相应癌旁正常肺组织; M: Marker; 1、2: 肺癌组织中 β -actin 和 IDO; 3、4: 正常肺组织中 β -actin 和 IDO; B: IDO 阴性表达的肺癌组织及其相应癌旁正常肺组织; M: Marker; 1、2: 肺癌组织中 β -actin 和 IDO; 3、4: 正常肺组织中 β -actin 和 IDO; C: 1、2: 肺癌组织; 3: 癌旁正常肺组织

图3 肺癌组织、癌旁正常肺组织中 IDO 基因及蛋白的表达

Figure 3 Expression of IDO mRNA and protein in lung cancer and normal lung tissues

2.4 IDO 对 Vav1 的表达及活化的影响

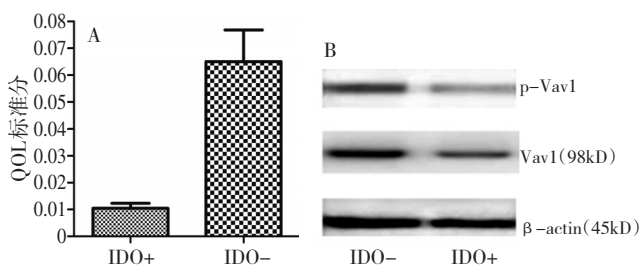
IDO 在不同组肺癌组织中的表达见表 1。提示

Vav1低表达组IDO阳性率明显高于Vav1高表达组($P<0.05$)。IDO阳性标本与阴性标本中Vav1的表达及活化情况见图4。图4A所示,IDO阳性组TIL-T中Vav1 mRNA表达水平显著低于阴性组,差异有统计学意义($P<0.05$),说明IDO作用于TIL-T后,可能导致T细胞中Vav1基因表达水平降低。Western blot结果显示,IDO阳性组T细胞Vav1蛋白条带与内参 β -actin的IOD比值为(0.093 ± 0.039),IDO阴性组T细胞Vav1蛋白条带与内参 β -actin的IOD比值为(0.745 ± 0.758),差异有统计学意义($P<0.05$)。此变化趋势与Vav1 mRNA变化水平一致,说明IDO作用于TIL-T后可能引起Vav1基因转录和表达下降。检测IDO对Vav1蛋白活化的影响如图4B所示,IDO阳性组TIL-T Vav1蛋白的磷酸化条带与Vav1蛋白条带的IOD比值为(0.093 ± 0.037),阴性组Vav1蛋白的磷酸化条带与Vav1蛋白条带的IOD比值为(0.677 ± 0.028),两组比较差异有统计学意义($P<0.05$),表明IDO阳性组TIL-T中Vav1蛋白磷酸化水平下降。因此,本研究推测IDO可能影响了Vav1的表达及活化过程。

表1 IDO在不同组肺癌组织中的表达 例

Table 1 Expression of indoleamine 2,3-dioxygenase in different groups of lung cancer tissues

组别	例数	IDO表达阳性	χ^2	P
Vav1高表达组	17	3	8.937	<0.05
Vav1低表达组	23	15		



A: IDO阳性组及阴性组中Vav1 mRNA的表达;B: IDO阳性组及阴性组中Vav1蛋白及磷酸化情况

图4 肺癌组织TIL-T中Vav1 mRNA、蛋白表达及磷酸化情况

Figure 4 Expression of Vav1 mRNA, protein, and phosphorylation in TIL-T derived from lung cancer tissues

3 讨论

近年来,肿瘤微环境在恶性肿瘤发生、发展及转移中的作用受到重视。大量研究发现,在肿瘤微环境中,TIL-T数量和功能均明显低下,与自体外周血淋巴细胞或在远离肿瘤部位分离的淋巴细胞相比,TIL-T对传统的活化刺激信号表现为低反应或者是无反应^[6],对有丝分裂原及抗原刺激无反应。并且

TIL-T分泌细胞因子的表达谱与正常的T细胞不同。甚至有研究发现在乳腺癌原位癌中的TIL-T细胞不能产生IL-2,不能表达IL-2R,IL-2 mRNA的翻译过程也出现障碍^[7]。Kudoh等^[8]发现B细胞非霍奇金淋巴瘤(NHL)中TIL-T的功能存在缺陷,在体外刺激TCR/CD3或IL-2R时T细胞呈现对刺激的无反应性,出现低或无的增殖反应。另外这种低反应性的T细胞分泌细胞因子,如IFN- γ 、IL-2、IL-4、IL-10的能力均降低。研究肿瘤局部浸润的T细胞失能的机制对于纠正肿瘤局部的免疫状况具有重要的意义。

Vav1主要表达于血液系统细胞中,在TCR诱导的钙流,细胞外信号调节激酶(ERK)以及转录因子NF- κ B的激活,淋巴细胞功能相关抗原(LFA-1)的激活,TCR簇集和T细胞极化等方面发挥关键的作用^[9]。Vav1蛋白在这些生理过程中除起到接头蛋白的功能外,几乎均发挥GEF的功能。Vav1在TCR信号传导途径的早期活化后下传信号,引发细胞骨架蛋白和转录因子的活化,并促进各种因子转录,最终引起细胞形态改变、生长因子分泌、细胞黏附性改变等免疫效应。Vav1的缺失可造成T细胞中TCR信号无法下传,T细胞无法发挥正常的功能活性^[10]。Kudoh等^[8]用PMA或离子霉素刺激TIL-T可以产生IFN- γ ,而用OKT3或OKT3联合IL-2刺激时则不能产生IFN- γ ,这说明TCR/CD3通路的早期信号传导分子可能存在缺陷。近期对于TIL-T活性的研究显示,低活性的原位T细胞中存在TCR活化障碍,导致ZAP-70磷酸化水平减弱,从而出现以下改变:LAT和PLC γ 1缺乏磷酸化,T细胞活化时的钙流消失等^[2]。另有研究发现,肾细胞癌的TIL-T中NF- κ B的活化也存在缺陷^[11]。这与Vav1缺陷的T细胞变化一致。在本研究中,利用实时定量PCR的方法对40例肺癌原位TIL-T中Vav1的基因含量进行了检测。结果发现增殖活性不同的TIL-T,其Vav1的表达亦存在差异,增殖活性低的TIL-T中Vav1的表达水平明显低于增殖活性高的TIL-T($P<0.05$)。因此推测TIL-T中Vav1的表达量降低,可能是造成T细胞功能抑制的原因之一。

对于肿瘤是如何造成TIL-T中Vav1表达量降低,本研究推测可能是存在于肿瘤微环境中的某些因素造成了TIL-T中Vav1的下降。最近研究表明,IDO可能是肿瘤微环境中免疫耐受形成过程中的一个关键因素。IDO是色氨酸沿犬尿氨酸代谢的限速酶,可由肿瘤细胞或APC分泌至肿瘤微环境中,对TIL-T产生抑制作用。目前,已经在多种肿瘤细胞中发现IDO表达增强,研究同时还表明IDO表达增强与恶性肿瘤患者远处转移的发生率和预后等均具有明显相关性^[12-13]。Nakamura等^[14]通过研究宫颈癌患者

病理标本后发现,表达IDO的癌细胞具有更强的侵袭能力。在本研究组之前的研究中,应用稳定表达IDO的CHO细胞株,与纯化的外周血T细胞共孵育,发现IDO可抑制T细胞的增殖,T细胞中Vav1 mRNA水平明显下降($P<0.05$),而且IDO还能使Vav1蛋白的表达和磷酸化水平降低^[15]。有研究报道,IDO可通过多种机制参与肿瘤局部的免疫耐受,如IDO高表达可导致肿瘤微环境处于色氨酸饥饿状态,使得色氨酸依赖的T细胞合成停滞于G₁期^[5]。而且,这种静息状态的T细胞对凋亡更加敏感,也会造成T细胞的缺乏,引起细胞免疫的障碍^[16]。此外IDO作用下色氨酸的代谢产物(如N-Kyn)存在细胞毒性作用,可对T细胞产生直接溶解作用并诱导凋亡^[17]。更有研究指出,IDO阳性的肿瘤细胞可诱导CD4⁺CD25⁻T细胞转化为CD4⁺CD25⁺调节性T细胞^[18]。在本研究中,40例肺癌患者标本中IDO阳性表达率为45%,IDO阳性表达的肺癌组织中Vav1的表达量较阴性肺癌组织明显降低($P<0.05$),且Vav1的磷酸化水平也受到了不同程度的抑制,这说明IDO可能影响了Vav1的表达及活化过程。研究结果提示Vav1蛋白表达降低及活化障碍可能是IDO抑制TIL-T活性的另一重要的分子机制。

综上所述,本研究认为Vav1蛋白的表达及活化在TIL-T失能中具有重要的作用。IDO及其代谢产物通过抑制TCR/CD3信号传导途径中Vav1的表达及活化过程而抑制TIL-T的活性,这可能是IDO引起T细胞免疫抑制的又一重要的方面。本研究为进一步探讨IDO对T细胞的抑制作用提供了另一个研究方向,同时为抗肿瘤免疫治疗方法的发展提供了新的佐证。

参考文献

- Katzav S. Vav1: an oncogene that regulates specific transcriptional activation of T cells[J]. *Blood*, 2004, 103(7): 2443–2451.
- Koneru M, Schaer D, Monu N, et al. Defective proximal TCR signaling inhibits CD8⁺ tumor-infiltrating lymphocyte lytic function[J]. *J Immunol*, 2005, 174(4):1830–1840.
- Miller CH, Graham L, Bear HD. Phenotype, functions and fate of adoptively transferred tumor draining lymphocytes activated ex vivo in mice with an aggressive weakly immunogenic mammary carcinoma[J]. *BMC Immunol*, 2010, 11(4):54.
- Wei J, Barr J, Kong LY, et al. Glioblastoma cancer-initiating cells inhibit T-cell proliferation and effector responses by the signal transducers and activators of transcription 3 pathway[J]. *Mol Cancer Ther*, 2010, 9(1): 67–78.
- Sucher R, Kurz K, Weiss G, et al. IDO-Mediated Tryptophan Degradation in the Pathogenesis of Malignant Tumor Disease[J]. *Int J Tryptophan Res*, 2010, 3: 113–120.
- Whiteside TL. Immune responses to malignancies[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2010, 125(2): S272–S283.
- 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.
- Kudoh S, Wang Q, Hidalgo OF, et al. Responses to T cell receptor/CD3 and interleukin-2 receptor stimulation are altered in T cells from B cell non-Hodgkin's lymphomas[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 1995, 41(3): 175–184.
- Turner M, Billadeau DD. Vav proteins as signal integrators for multisubunit immune-recognition receptors[J]. *Nat Rev Immunol*, 2002, 2 (7): 476–486.
- Ruiz S, Santos E, Bustelo XR. The use of knockout mice reveals a synergistic role of the Vav1 and Rasgrf2 gene deficiencies in lymphomagenesis and metastasis[J]. *PLOS One*, 2009, 4(12): e8229.
- Thornton MV, Kudo D, Rayman P, et al. Degradation of NF-kappa B in T cells by gangliosides expressed on renal cell carcinomas [J]. *J Immunol*, 2004, 172(6): 3480–3490.
- Yu J, Sun J, Wang SE, et al. Upregulated expression of indoleamine 2, 3-dioxygenase in primary breast cancer correlates with increase of infiltrated regulatory T cells in situ and lymph node metastasis [J]. *Clin Dev Immunol*, 2011, 2011: 469135.
- Inaba T, Ino K, Kajiyama H, et al. Indoleamine 2, 3-dioxygenase expression predicts impaired survival of invasive cervical cancer patients treated with radical hysterectomy[J]. *Gynecol Oncol*, 2010, 117(3): 423–428.
- Nakamura T, Shima T, Saeki A, et al. Expression of indoleamine 2, 3-dioxygenase and the recruitment of Foxp3-expressing regulatory T cells in the development and progression of uterine cervical cancer[J]. *Cancer Sci*, 2007, 98(6): 874–881.
- Runmei L, Feng W, Jinpu Y, et al. IDO inhibits T-cell function through suppressing Vav1 expression and activation[J]. *Cancer Biol Ther*, 2009, 8(14): 1402–1408.
- Lee GK, Park HJ, Macleod M, et al. Tryptophan deprivation sensitizes activated T cells to apoptosis prior to cell division[J]. *Immunology*, 2002, 107(4): 452–460.
- Terness P, Chuang JJ, Opelz G. The immunoregulatory role of IDO-producing human dendritic cells revisited[J]. *Trends Immunol*, 2006, 27(2): 68–73.
- Suzuki J, Ricordi C, Chen Z. Immune tolerance induction by integrating innate and adaptive immune regulators[J]. *Cell Transplant*, 2010, 19(3): 253–268.

(2012-02-02收稿)

(2012-04-03修回)

(本文编辑:邢颖)