

# LAG-3分子在非小细胞肺癌中的研究进展

王思帆<sup>1</sup>, 张易青<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>青海大学, 青海 西宁

<sup>2</sup>青海大学附属医院病理科, 青海 西宁

收稿日期: 2022年5月29日; 录用日期: 2022年6月23日; 发布日期: 2022年6月30日

## 摘要

免疫检查点抑制已经被证明可以成功地重新激活针对肿瘤相关抗原的T细胞反应, 从而显著延长各种实体瘤患者的总生存期。其中, 细胞毒性T淋巴细胞蛋白4 (CTLA-4)和程序性细胞死亡蛋白1 (PD-1)在肿瘤免疫逃逸中起关键作用, 是公认的癌症免疫治疗靶点。然而, PD-1和CTLA-4在肿瘤治疗中的研究达到了不同程度的瓶颈。因此, 在肿瘤微环境研究中寻找可以替代的治疗靶点成为目前研究的热点问题。而淋巴细胞活化基因-3 (LAG-3)通过与配体的细胞外结构域结合, 负向调节T淋巴细胞, 从而避免T细胞过度活化引起的自身免疫。故LAG-3现在被认为是新一代的免疫治疗靶点。本文综述了LAG-3在非小细胞肺癌中的研究进展, 为进一步研究LAG-3提供参考。免疫检查点LAG-3在癌症发展中起着至关重要的作用, 可能会用于未来的癌症治疗临床实践。

## 关键词

淋巴细胞活化基因-3, T淋巴细胞, 免疫检查点, 非小细胞肺癌

# Research Progress of LAG-3 Molecule in Non-Small Cell Lung Cancer

Sifan Wang<sup>1</sup>, Yiqing Zhang<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Qinghai University, Xining Qinghai

<sup>2</sup>Department of Pathology, Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining Qinghai

Received: May 29<sup>th</sup>, 2022; accepted: Jun. 23<sup>rd</sup>, 2022; published: Jun. 30<sup>th</sup>, 2022

## Abstract

Immune checkpoint inhibition has been shown to successfully reactivate t-cell responses to tumor-associated antigens, thereby significantly prolonging overall survival in patients with a va-

\*通讯作者。

riety of solid tumors. Among them, cytotoxic T lymphocyte protein 4 (CTLA-4) and programmed cell death protein 1 (PD-1) play key roles in tumor immune escape and are recognized as cancer immunotherapy targets. However, the research of PD-1 and CTLA-4 in tumor therapy has reached different degrees of bottleneck. Therefore, it has become a hot topic to find alternative therapeutic targets in tumor microenvironment research. While lymphocyte activation gene-3 (LAG-3) negatively regulates T lymphocytes by binding to the extracellular domain of ligand, thus avoiding autoimmunity caused by T cell overactivation. Therefore, LAG-3 is now considered as a new immunotherapy target. This paper reviews the research progress of LAG-3 in non-small cell lung cancer, and provides reference for the further study of LAG-3. Immune checkpoint LAG-3 plays a critical role in cancer development and may be used in future cancer treatment clinical practice.

## Keywords

Lymphocyte-Activation Gene-3, T Cell, Immune Checkpoint, Non-Small Cell Lung Cancer

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 前言

肿瘤的免疫治疗在近几十年里得到了突飞猛进的发展, 目前已经被医学界公认为是控制恶性肿瘤发展的关键措施[1]。免疫治疗方法有很多种, 其中嵌合抗原受体 T 细胞方法[2]、双特异性抗体方法[3]以及免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors, ICI)方法[4]在这些免疫治疗的方法里目前被认为是最有前途的肿瘤免疫治疗措施。在以上三者中研究最为充分、结论相对明确的免疫治疗方法则为免疫检查点抑制剂(ICI)方法。ICI 方法的原理则是通过利用免疫检查点抑制剂来阻断抑制性信号的传递, 当所传导的抑制信号受到阻断后, 刺激细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL), 使其活化, 其抗肿瘤发生、发展作用也得到诱导。目前为止已经研究了两种 ICI 方法, 分别是程序性细胞死亡蛋白 1 及其配体(programmed death-1 及 programmed death-ligand 1, PD-1 及 PD-L1) [5]和细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4) [6]。然而, 经过较长时间的研究及实验, 人们逐渐发现在癌症患者中, 抗 PD-1/PD-L1 的单克隆抗体(monoclonal antibody, mAb)及抗 CTLA-4 的单克隆抗体(mAb)的反应率并不好[7]。导致反应率不好的原因主要是耐药, 根据目前的研究及实验数据显示, 很多癌症病人对于以上 ICI 方法会表现出原发性或获得性、不同程度的耐药。而耐药性的出现则是由于免疫细胞与肿瘤细胞之间复杂的相互作用所导致。在耐药过程中, 肿瘤细胞信号通路会被异常激活, 肿瘤的微环境影响, 肿瘤免疫原性发生改变等等都发挥了重要的作用。在 2020 年美国临床肿瘤学会(American Society of Clinical Oncology, ASCO)上的一项关于 PD-1 抑制剂治疗非小细胞肺癌患者后耐药性的研究中, 共 1201 例患者, 其中达到初始应答的患者有 243 例(20%), 其中 189 例(约占初始应答患者的 78%)最终出现获得性耐药, 在此项研究中我们可以了解到 PD-1 抑制剂的获得性耐药在 NSCLC 患者中很常见。而目前也有越来越多的研究表明相比于 ICI 方法的疗效, 其所产生的耐药性不可忽视。找到新的免疫治疗靶点, 以及免疫抑制剂的联合或许可为免疫治疗找到新的突破口。

淋巴细胞活化基因-3 (lymphocyte activation gene-3, LAG-3)作为 ICI 家族成员之一, 它是一种抑制性分子, LAG-3 对于 T 细胞的功能是具有较多种生物学效应的。根据目前已有实验及研究数据, 我们发现各种肿瘤浸润淋巴细胞(TILs)中, LAG-3 都有较高的表达, 并且 LAG-3 也在肿瘤发生、发展的免疫逃

逸机制中承担了重要角色[8]。所以,在肿瘤的发生、发展、预后及免疫治疗中,LAG-3可作为重要的靶点。本篇综述主要介绍LAG-3在非小细胞肺癌中的研究进展。

## 2. LAG-3 蛋白的介绍

### 2.1. LAG-3 蛋白的结构特征及其配体

LAG-3分子,又称为CD233,是属于Ig超家族成员之一的一种跨膜蛋白,其分子量为70kDa,位于人类第12号染色体上。LAG-3有4个细胞外Ig样结构域及1个I型跨膜结构域,因此其在结构上类似于CD4共受体[9]。由于LAG-3与CD4的基因均位于同一区域,故LAG-3与CD4具有一定的同源性[10];它们在蛋白质水平上具有约20%的同源性[11]。与CD4类似,LAG-3与抗原呈递细胞(antigen presenting cells, APC)上的主要组织相容性复合物-II (major histocompatibility complex-II, MHC-II)结合,但亲和力更强[11]。LAG-3分子的基因具有外显子8个,对应的cDNA编码一个有498个氨基酸的膜蛋白[12]。LAG-3分子由跨膜、胞内、胞外三个区域组成[13]。膜蛋白包含三个C2区及一个V区,此四个细胞外免疫球蛋白超家族结构域构成[12][13]。在此四个结构域中的V区由于有一个额外的环,并且还包含一个非正常的链内二硫键,故其是特殊的[14]。LAG-3的胞质区由谷氨酸-脯氨酸二肽重复序列(EP序列)、丝氨酸磷酸化位点、'KIEELE'基序三部分组成构成,其中'KIEELE'基序是这三部分中极其保守的序列,在其他蛋白质中并未发现,并且LAG-3分子的细胞内的信号转导过程也有其参与[13][15]。若分子缺乏'KIEELE'基序结构域,则该分子对T细胞的抑制作用就会受到限制,这也说明了LAG-3传导下游的抑制信号过程或于此基序有关[13]。但有关下游信号的传导,此机制目前并未阐明。位于细胞膜上的LAG-3分子,当其在含有金属蛋白酶结构域蛋白(ADAM)17和ADAM10,以及穿膜金属蛋白酶整合素的共同作用下,在连接肽处LAG-3分子裂解为两部分:即跨膜胞质分子与可溶性的LAG-3(sLAG-3)[16]。已发现sLAG-3可诱导树突细胞成熟并靶向肿瘤细胞[17]。目前研究已经发现LAG-3的五个主要配体,有Galectin-3(Gal-3),LSECtin,MHC II蛋白, $\alpha$ -突触核蛋白( $\alpha$ -syn)原纤维,以及纤维蛋白原样蛋白1(FGL1)。而目前研究发现在定量细胞粘附实验中,第一次发现了在两细胞之间可形成一个花环,该花环非常依赖于MHC-II分子以及LAG-3分子,此时若应用抗LAG-3,则可使该花环的形成遭到破坏,因此该实验也证明了MHC II蛋白为LAG-3的配体,并且MHC II蛋白可以与LAG-3分子的D1结构域结合。综上,我们可发现LAG-3在与MHC-II相结合后,通过细胞质结构域传递抑制信号;但信号转导机制仍不清楚[9][18]。Gal-3是一种分子量为31 kDa的半乳糖结合凝集素,可以调控T细胞活化和免疫沉淀。在体外时,Gal-3可以抑制CD8<sup>+</sup>T细胞分泌干扰素- $\gamma$ 并且与LAG-3相互作用,这表示Gal-3也同为LAG-3配体[19]。LAG-3上有四个糖基化位点,而LSECtin与此四个糖基化位点结合,故经实验数据及研究,LSECtin也被提议为LAG-3配体[20]。 $\alpha$ -突触核蛋白( $\alpha$ -syn)原纤维属于一种蛋白质的聚集体,麻痹性震颤患者中,它存在于大脑的黑质,属于Syn原纤维家族的成员。研究发现,当 $\alpha$ -syn原纤维与LAG-3相结合后,会由于其结合而使 $\alpha$ -syn原纤维的细胞间产生病理性传递,若是阻断两者结合,那么就可以使病理性和(或)毒性的 $\alpha$ -syn原纤维的细胞间传递明显减少,这说明 $\alpha$ -syn原纤维也属LAG-3配体之一[21]。最近被确定为LAG-3的主要配体的则是纤维蛋白原相关蛋白1(FGL1)。通过对FGL1蛋白进行功能检测研究,研究结果显示其可与位于T细胞表面的LAG-3受体结合,结合后会明显抑制T细胞的增殖功能,同时其免疫活性也受到了影响[22]。若是阻断FGL1与LAG-3相互结合,此时发现T淋巴细胞的抗肿瘤作用得到增强,这在肿瘤的免疫治疗研究中具有非常重要的意义[23]。

### 2.2. LAG-3 与肿瘤发生、发展之间的关系

通过多年来对肿瘤发生、发展的各项研究,我们发现在癌症病人致病机制中尤其重要的就是肿瘤的

免疫逃逸, 免疫逃逸机制是肿瘤发生过程中, 机体的免疫系统在正常情况下会行使类似于“警察”的角色, 而此时恶性肿瘤细胞则如同使用了伪装面孔的“小偷”, 人体正常免疫细胞无法辨别“小偷”, 此时导致肿瘤细胞的逃逸。在对 LAG-3 分子的研究中, 我们可以发现其对人体免疫系统中的淋巴细胞可产生抑制作用。经过对致癌机制的了解、研究后, 可以知道机体内的正常免疫调节系统尤为重要, 而要保持人体内免疫系统正常运作, 保持正常的免疫调节机制才是最关键的。在此调节机制中, 免疫细胞的较多种细胞表面分子共同参与, 当机体产生免疫应答时, LAG-3 分子作用于免疫系统中的调节性 T 淋巴细胞(regulatory T cell, Treg), 并且使其负性调节作用增强, 也就是说 LAG-3 分子可使 T 淋巴细胞的耗竭得以启动, 此为共抑制分子, 并且根据目前的研究显示, 较多数据都表明了肿瘤的免疫逃逸离不开 LAG-3 分子的参与, 故 LAG-3 分子在探究肿瘤的发生、发展中也逐渐受到越来越多的关注[24]。

1990 年, LAG-3 被首次克隆出来, 迄今为止已有三十余年, 关于 LAG-3 与各类肿瘤研究不在少数。首先介绍在非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)中的部分研究, 马成龙等[25]报道, 在 NSCLC 以及良性病变的肺组织中, LAG-3 的表达存在一定差异, 并且此差异具有统计学意义。还发现 LAG-3 表达较高时, 通常 NSCLC 患者的临床分期较晚, 为 III 期, 故 LAG-3 表达与临床分期有关。研究也发现了对于 LAG-3 的表达模式, 不只是表达在肿瘤组织周围浸润的淋巴细胞, 在肿瘤细胞上也偶有异位表达, 此异位表达是否存在规律, 存在怎样的规律, 或可后续探究。一项关于 NSCLC 患者各临床病理特征及预后与 LAG-3 阳性表达的关系研究中, 黄维等[26]得出结论, 由于 LAG-3 阴性表达的患者中位无病生存时间相较于 LAG-3 阳性表达的患者更短, 两者之间的 3 年中位无病生存率相比同样如此, 故 LAG-3 分子的表达为影响 NSCLC 患者预后的因素之一。

LAG-3 表达率的检测在消化道肿瘤中于其诊断同样具有重要作用。此时便运用到 sLAG-3 的检测, 江露等[27]在胃部恶性肿瘤患者及健康人的血清中检测了 sLAG-3 的表达, 结果显示, 当胃部恶性肿瘤患者血清中 sLAG-3 的水平发生一些变化时, 其肿瘤的浸润深度, 分期以及分化的程度都不同, 并且 sLAG-3 在胃部恶性肿瘤的诊断中, 灵敏性及准确性都高于癌胚抗原, 故在胃部恶性肿瘤患者的诊断中, sLAG-3 可作为潜在的血清标志物。

对于 LAG-3 分子在血液系统的肿瘤中的研究并不是很多, 但 Matsuzaki 等[28]的研究表明, 在患有霍奇金淋巴瘤的病人中, LAG-3 分子的表达在其组织与外周血中均高于正常组织, 若对 LAG-3 阳性表达的 T 淋巴细胞进行去除, 就会恢复淋巴细胞的抗肿瘤功能, 因此将来 LAG-3 分子表达的检测在血液系统的肿瘤研究中或可打开新大门。而在其他类型的肿瘤中, 如食管癌、子宫内膜癌、宫颈癌等等均有关于 LAG-3 分子的不同研究与探讨, 或多或少证实 LAG-3 分子与肿瘤的发生发展有着密切的关系。

### 3. 关于 LAG-3 的表达

#### 3.1. LAG-3 的表达调控机制

为了防止由于过度和不适当的免疫反应而破坏组织, 在反应中的多个部分, 机体的免疫细胞都会受到各种机制的多重检查。细胞毒性 T 淋巴细胞抗原 4 (CTLA-4)与程序性细胞死亡 1 (PD-1)都是抑制性受体, 当肿瘤发生、发展过程中, 癌细胞的免疫逃逸机制启动时, 这些抑制性受体就发挥其“叫停”功能, 以此来阻止免疫系统针对自身及肿瘤的免疫反应, 也可称为免疫检查点。与 PD-1 和 CTLA-4 一样, LAG-3 分子在初始 T 细胞上不表达, 但在 CD4<sup>+</sup>和 CD8<sup>+</sup>T 细胞上, 受到一定刺激后, 会导致 LAG-3 分子的表达[11] [29]。当 LAG-3 分子在细胞表面表达水平有高低差异时, 它的抑制作用也相应随之变化, 所以 LAG-3 表达的调节非常关键[30]。一些常见的慢性感染, 比如寄生虫、病毒和细菌, 它们会导致抗原暴露一直保持, 从而使 LAG-3 以及 CD4<sup>+</sup>和 CD8<sup>+</sup>T 细胞上其余抑制性受体呈高持续表达状态[31] [32] [33]

[34]。之后这些 T 细胞将会丧失强大的效应器功能, 被称为衰竭 T 细胞。一些研究已表明, 阻断 LAG-3 可使衰竭 T 细胞重新或得活力, 并增强机体抵抗感染的免疫力, 但若与 PD-1 阻断相比, 其作用相对较小[32] [34]-[40]。

在其它细胞亚群上也可检测到 LAG-3 的表达, 比如一些具有抑制功能的 CD4<sup>+</sup>T 细胞亚群。或是由于自身抗原的持续激活, LAG-3 可表达于 Foxp3<sup>+</sup>调节性 T (Treg)细胞, 而这对于 Treg 细胞的稳态维持、分化及抑制作用, 是不可缺少的[41] [42]。Zhang 等人证明 Treg 细胞上的 LAG-3 从本质上可抑制其增殖[43]。但在 Treg 细胞的效应功能中, LAG-3 的作用并没有统一的结论, 尚存争议。Huang 等人报道, 当小鼠的 Treg 细胞上 LAG-3 缺少时, 激活效应 T 细胞将更快, 仅需较低的效率, 而其他研究表明 LAG-3 缺陷 Treg 细胞的抑制功能是相当的[41]。目前还需要更多研究以阐明 LAG-3 缺陷与否同 Treg 细胞之间存在怎样的相互关系。CD4<sup>+</sup>1 型 T 调节(Tr1)细胞表现出较强的免疫抑制活性, 但 Tr1 细胞也可以表达 LAG-3, 一度认为其免疫抑制活性的强大是由于其分泌的大量 IL-10, 但是, 直到研究观察到 LAG-3 的表达, 才检测到定义该群体的特定细胞表面标志物[44]。此外, CD4<sup>+</sup> CD25<sup>-</sup> Foxp3<sup>-</sup>的 T 细胞可表达 LAG-3, 此类细胞也分泌产生 IL-10 和转化生长因子(TGF)- $\beta$ 3, 研究发现这类细胞亚群也可表现出调节功能[45] [46]。另有研究观察到天然调节性浆细胞, 这类细胞亚群可产生 IL-10, 也可表达 LAG-3 [47]。目前, 在这些非经典调节细胞中, LAG-3 的表达对于细胞外源抑制功能的作用仍不清楚, 尚需进一步研究。

总而言之, LAG-3 可表达于活化的 CD4<sup>+</sup>和 CD8<sup>+</sup>T 细胞、调节性 T 细胞(Treg)、Tr1 细胞、浆细胞样树突状细胞等等。作为共抑制分子, LAG-3 在淋巴细胞表面表达时可以通过发挥其作用使 T 淋巴细胞发生活化以及增殖, 可以使人体微环境保持稳定。当机体存在恶性肿瘤或者慢性感染情况时, T 细胞则会失去活性乃至永久死亡, 因此作为 PD-1 的共抑制受体, LAG-3 分子可高度表达。LAG-3 的高表达还与自身免疫性疾病、慢性毒性传染病等有关。

### 3.2. LAG-3 在非小细胞肺癌中的表达

LAG-3 在多种恶性肿瘤中高表达, 与配体结合后调节 T 细胞的增值和功能, 参与肿瘤的免疫应答, 而目前关于 LAG-3 在 NSCLC 中的表达的报道并不多见, Ma 等[48]研究结果表明, 在 NSCLC 组织中, 淋巴结有转移的 LAG-3 的阳性表达率高于无淋巴结转移的 NSCLC 组织, 并且 LAG-3 的阳性表达率与 TNM 分期呈正相关。He 等[49]研究显示, LAG-3 阴性表达组的患者, 其总生存期高于 LAG-3 阳性表达组的患者, 而同时具有 PD-L1 阴性与 LAG-3 阴性表达的患者, 相比于仅 LAG-3 阴性的患者, 其生存期更长。故 LAG-3 若作为患者不良预后独立预测指标, 由于 LAG-3 高表达与 PD-1, PD-L1 高表达的显著相关, 所以证据并不充分。因此, 或可探索 LAG-3 与其它免疫检查点之间的相关性, 联合检测表达水平以判断 NSCLC 患者肿瘤的发生、发展及预后。

## 4. 总结与展望

LAG-3 的相应临床试验及其对肿瘤的作用已在美国、澳大利亚等进行[50] [51]。使用 LAG-3 作为癌症免疫靶点的 I 期临床试验正在进行中, 包括血液恶性肿瘤的单中心试验(临床试验编号 NCT02061761)。此外, LAG-3 特异性抗体已用于抗 PD-L1 和抗 LAG-3 联合治疗实体瘤(临床试验编号 NCT01968109)。但关于 LAG-3 的研究, 其中仍有许多未解决的问题。首先, LAG-3 的配体有多种, 与配体结合的功能, 是否还有未发现的、潜在的配体等等这些问题尚不清楚, 我们已知其对 T 细胞具有负性调节功能, 但机制并未明了。其次, LAG-3 虽在很多细胞中可以表达, 但抗肿瘤发生、发展的功能能否发挥还有待考究。第三, 在免疫治疗研究与应用火热的当下, 不同的免疫抑制剂疗法之间是否存在协同或拮抗作用, 若组合两种或两种以上免疫抑制剂是否可有最佳治疗效果。最后, 对于 LAG-3 抑制剂的分子结构的优化, 现

代生物学技术能否使其达到进步, 临床治疗环境又能否得到保证及改善。综上所述, LAG-3 作为肿瘤免疫治疗中的具有定向参与生物学功能的分子及其免疫抑制剂有发挥治疗作用的潜力。但是未知环节还很多, 需要更加深入的了解与探究, 使更多的临床患者早日用上 LAG-3 抑制剂, 且能显著提高患者生存率。LAG-3 的免疫检查点在癌症发展中起着至关重要的作用, 并可能用于未来的癌症治疗临床实践。随着进一步的探索与更多的研究, 需要作为医生或科学家的我们不断进步, 不断探究以期解决将出现的各种各样的科学难题。

## 参考文献

- [1] Galluzzi, L., Vacchelli, E., Bravo-San Pedro, J.M., Buqué, A., Senovilla, L., Baracco, E.E., Bloy, N., Castoldi, F., Abastado, J.P., Agostinis, P., *et al.* (2014) Classification of Current Anticancer Immunotherapies. *Oncotarget*, **5**, 12472-12508. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.2998>
- [2] Fang, Z., Han, H. and Liang, L. (2019) Progression in Chimeric Antigen Receptor T (CAR-T) Cell Therapy of Solid Tumors: A Review. *Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology*, **35**, 944-948.
- [3] Krishnamurthy, A. and Jimeno, A. (2018) Bispecific Antibodies for Cancer Therapy: A Review. *Pharmacology & Therapeutics*, **185**, 122-134. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.12.002>
- [4] Li, X., Shao, C., Shi, Y. and Han, W. (2018) Lessons Learned from the Blockade of Immune Checkpoints in Cancer Immunotherapy. *Journal of Hematology & Oncology*, **11**, 31. <https://doi.org/10.1186/s13045-018-0578-4>
- [5] Weinmann, S.C. and Pisetsky, D.S. (2019) Mechanisms of Immune-Related Adverse Events during the Treatment of Cancer with Immune Checkpoint Inhibitors. *Rheumatology (Oxford)*, **58**, vii59-vii67. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kez308>
- [6] Zhao, Y., Yang, W., Huang, Y., Cui, R., Li, X. and Li, B. (2018) Evolving Roles for Targeting CTLA-4 in Cancer Immunotherapy. *Cellular Physiology and Biochemistry*, **47**, 721-734. <https://doi.org/10.1159/000490025>
- [7] Postow, M.A., Callahan, M.K. and Wolchok, J.D. (2015) Immune Checkpoint Blockade in Cancer Therapy. *Journal of Clinical Oncology*, **33**, 1974-1982. <https://doi.org/10.1200/JCO.2014.59.4358>
- [8] Burugu, S., Gao, D., Leung, S., Chia, S.K. and Nielsen, T.O. (2017) LAG-3+ Tumor Infiltrating Lymphocytes in Breast Cancer: Clinical Correlates and Association with PD-1/PD-L1+ Tumors. *Annals of Oncology*, **28**, 2977-2984. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx557>
- [9] Huard, B., Prigent, P., Tournier, M., Bruniquel, D. and Triebel, F. (1995) CD4/Major Histocompatibility Complex Class II Interaction Analyzed with CD4- and Lymphocyte Activation Gene-3 (LAG-3)-Ig Fusion Proteins. *European Journal of Immunology*, **25**, 2718-2721. <https://doi.org/10.1002/eji.1830250949>
- [10] Dijkstra, J.M., Somamoto, T., Moore, L., Hordvik, I., Ootake, M. and Fischer, U. (2006) Identification and Characterization of a Second CD4-Like Gene in Teleost Fish. *Molecular Immunology*, **43**, 410-419. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2005.03.005>
- [11] Triebel, F., Jitsukawa, S., Baixeras, E., Roman-Roman, S., Genevee, C., Viegas-Pequignot, E. and Hercend, T. (1990) LAG-3, a Novel Lymphocyte Activation Gene Closely Related to CD4. *Journal of Experimental Medicine*, **171**, 1393-1405. <https://doi.org/10.1084/jem.171.5.1393>
- [12] Sierro, S., Romero, P. and Speiser, D.E. (2011) The CD4-Like Molecule LAG-3, Biology and Therapeutic Applications. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, **15**, 91-101. <https://doi.org/10.1517/14712598.2011.540563>
- [13] Workman, C.J., Dugger, K.J. and Vignali, D.A. (2002) Cutting Edge: Molecular Analysis of the Negative Regulatory Function of Lymphocyte Activation Gene-3. *The Journal of Immunology*, **169**, 5392-5395. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.169.10.5392>
- [14] Goldberg, M.V. and Drake, C.G. (2011) LAG-3 in Cancer Immunotherapy. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, **344**, 269-278. [https://doi.org/10.1007/82\\_2010\\_114](https://doi.org/10.1007/82_2010_114)
- [15] Iouzalen, N. andreae, S., Hannier, S. and Triebel, F. (2001) LAP, a Lymphocyte Activation Gene-3 (LAG-3)-Associated Protein That Binds to a Repeated EP Motif in the Intracellular Region of LAG-3, May Participate in the Down-Regulation of the CD3/TCR Activation Pathway. *European Journal of Immunology*, **31**, 2885-2891. [https://doi.org/10.1002/1521-4141\(2001010\)31:10<2885::AID-IMMU2885>3.0.CO;2-2](https://doi.org/10.1002/1521-4141(2001010)31:10<2885::AID-IMMU2885>3.0.CO;2-2)
- [16] Li, N., Wang, Y., Forbes, K., Vignali, K.M., Heale, B.S., Saftig, P., Hartmann, D., Black, R.A., Rossi, J.J., Blobel, C.P., *et al.* (2007) Metalloproteases Regulate T-Cell Proliferation and Effector Function via LAG-3. *EMBO Journal*, **26**, 494-504. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601520>
- [17] Demeure, C.E., Wolfers, J., Martin-Garcia, N., Gaulard, P. and Triebel, F. (2001) T Lymphocytes Infiltrating Various

- Tumour Types Express the MHC Class II Ligand Lymphocyte Activation Gene-3 (LAG-3): Role of LAG-3/MHC Class II Interactions in Cell-Cell Contacts. *European Journal of Cancer*, **37**, 1709-1718. [https://doi.org/10.1016/S0959-8049\(01\)00184-8](https://doi.org/10.1016/S0959-8049(01)00184-8)
- [18] Huard, B., Mastrangeli, R., Prigent, P., Bruniquel, D., Donini, S., El-Tayar, N., Maigret, B., Dréano, M. and Triebel, F. (1997) Characterization of the Major Histocompatibility Complex Class II Binding Site on LAG-3 Protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **94**, 5744-5749. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.11.5744>
- [19] Kouo, T., Huang, L., Pucsek, A., Cao, M., Solt, S., Armstrong, T. and Jaffee, E. (2015) Galectin-3 Shapes Antitumor Immune Responses by Suppressing CD8+ T Cells via LAG-3 and Inhibiting Expansion of Plasmacytoid Dendritic Cells. *Cancer Immunology Research*, **3**, 412-423. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-14-0150>
- [20] Domic, J., Dabelic, S. and Fogel, M. (2006) Galectin-3: An Open-Ended Story. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1760**, 616-635. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2005.12.020>
- [21] Mao, X., Ou, M.T., Karuppagounder, S.S., Kam, T.I., Yin, X., Xiong, Y., Ge, P., Umanah, G.E., Brahmachari, S., Shin, J.H., et al. (2016) Pathological  $\alpha$ -Synuclein Transmission Initiated by Binding Lymphocyte-Activation Gene 3. *Science*, **353**, aah3374. <https://doi.org/10.1126/science.aah3374>
- [22] Visan, I. (2019) New Ligand for LAG-3. *Nature Immunology*, **20**, Article No. 111. <https://doi.org/10.1038/s41590-018-0307-8>
- [23] Wang, J., Sanmamed, M.F., Datar, I., Su, T.T., Ji, L., Sun, J., Chen, L., Chen, Y., Zhu, G., Yin, W., et al. (2019) Fibronogen-Like Protein 1 Is a Major Immune Inhibitory Ligand of LAG-3. *Cell*, **176**, 334-347e312. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.11.010>
- [24] Goldberg, M.V. and Drake, C.G. (2011) LAG-3 in Cancer Immunotherapy. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, **344**, 269-278. [https://doi.org/10.1007/82\\_2010\\_114](https://doi.org/10.1007/82_2010_114)
- [25] 马成龙, 沈冬, 孙晓, 关乃富, 孙岳军, 戚春建. LAG-3 在非小细胞肺癌细胞中的异位表达及其临床意义[J]. 中国医刊, 2019, 54(9): 1005-1008.
- [26] 黄维, 张庆娟, 刘柯, 徐茜, 周美英. 非小细胞肺癌中免疫检查点表达与临床特征及预后的关系分析[J]. 癌症进展, 2019, 17(5): 571-574.
- [27] 江露, 吴昌平, 徐斌, 蒋敬庭. 胃癌患者血清中可溶性 LAG-3 分子的水平及意义[J]. 临床检验杂志, 2014, 32(1): 38-40.
- [28] Matsuzaki, J., Gnjjatic, S., Mhawech-Fauceglia, P., et al. (2010) Tumor-Infiltrating NY-ESO-1-Specific CD8+ T Cells Are Negatively Regulated by LAG-3 and PD-1 in Human Ovarian Cancer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **107**, 7875-7880. <https://doi.org/10.1073/pnas.1003345107>
- [29] Okazaki, T., Okazaki, I.M., Wang, J., et al. (2011) PD-1 and LAG-3 Inhibitory Co-Receptors Act Synergistically to Prevent Autoimmunity in Mice. *Journal of Experimental Medicine*, **208**, 395-407. <https://doi.org/10.1084/jem.20100466>
- [30] Maeda, T.K., Sugiura, D., Okazaki, I.M., et al. (2019) Atypical Motifs in the Cytoplasmic Region of the Inhibitory Immune Co-Receptor LAG-3 Inhibit T Cell Activation. *Journal of Biological Chemistry*, **294**, 6017-6026. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.007455>
- [31] Blackburn, S.D., Shin, H., Haining, W.N., et al. (2009) Coregulation of CD8+ T Cell Exhaustion by Multiple Inhibitory Receptors during Chronic Viral Infection. *Nature Immunology*, **10**, 29-37. <https://doi.org/10.1038/ni.1679>
- [32] Tian, X., Zhang, A., Qiu, C., et al. (2015) The Upregulation of LAG-3 on T Cells Defines a Subpopulation with Functional Exhaustion and Correlates with Disease Progression in HIV-Infected Subjects. *Journal of Immunology*, **194**, 3873-3882. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1402176>
- [33] Phillips, B.L., Mehra, S., Ahsan, M.H., et al. (2015) LAG3 Expression in Active *Mycobacterium tuberculosis* Infections. *The American Journal of Pathology*, **185**, 820-833. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2014.11.003>
- [34] Butler, N.S., Moebius, J., Pewe, L.L., et al. (2011) Therapeutic Blockade of PD-L1 and LAG-3 Rapidly Clears Established Blood-Stage Plasmodium Infection. *Nature Immunology*, **13**, 188-195. <https://doi.org/10.1038/ni.2180>
- [35] Chen, N., Liu, Y., Guo, Y., et al. (2015) Lymphocyte Activation Gene 3 Negatively Regulates the Function of Intrahepatic Hepatitis C Virus-Specific CD8+ T Cells. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, **30**, 1788-1795. <https://doi.org/10.1111/jgh.13017>
- [36] Dong, Y., Li, X., Zhang, L., et al. (2019) CD4+ T Cell Exhaustion Revealed by High PD-1 and LAG-3 Expression and the Loss of Helper T Cell Function in Chronic Hepatitis B. *BMC Immunology*, **20**, Article No. 27. <https://doi.org/10.1186/s12865-019-0309-9>
- [37] Erickson, J.J., Rogers, M.C., Tollefson, S.J., et al. (2016) Multiple Inhibitory Pathways Contribute to Lung CD8+ T Cell Impairment and Protect against Immunopathology during Acute Viral Respiratory Infection. *The Journal of Im-*

- munology*, **197**, 233-243. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1502115>
- [38] Roy, S., Coulon, P.-G., Srivastava, R., *et al.* (2018) Blockade of LAG-3 Immune Checkpoint Combined with Therapeutic Vaccination Restore the Function of Tissue-Resident Anti-Viral CD8+ T Cells and Protect against Recurrent Ocular Herpes Simplex Infection and Disease. *Frontiers in Immunology*, **9**, Article No. 2922. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02922>
- [39] Cook, K.D. and Whitmire, J.K. (2016) LAG-3 Confers a Competitive Disadvantage upon Antiviral CD8+ T Cell Responses. *The Journal of Immunology*, **197**, 119-127. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1401594>
- [40] Richter, K., Agnellini, P. and Oxenius, A. (2010) On the Role of the Inhibitory Receptor LAG-3 in Acute and Chronic LCMV Infection. *International Immunology*, **22**, 13-23. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxp107>
- [41] Huang, C.-T., Workman, C.J., Flies, D., *et al.* (2004) Role of LAG-3 in Regulatory T Cells. *Immunity*, **21**, 503-513. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2004.08.010>
- [42] Li, M.O. and Rudensky, A.Y. (2016) T Cell Receptor Signalling in the Control of Regulatory T Cell Differentiation and Function. *Nature Reviews Immunology*, **16**, 220-233. <https://doi.org/10.1038/nri.2016.26>
- [43] Zhang, Q., Chikina, M., Szymczak-Workman, A.L., *et al.* (2017) LAG3 Limits Regulatory T Cell Proliferation and Function in Autoimmune Diabetes. *Science Immunology*, **2**, eaah4569. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aah4569>
- [44] Gagliani, N., Magnani, C.F., Huber, S., *et al.* (2013) Coexpression of CD49b and LAG-3 Identifies Human and Mouse T Regulatory Type 1 Cells. *Nature Medicine*, **19**, 739-746. <https://doi.org/10.1038/nm.3179>
- [45] Okamura, T., Fujio, K., Shibuya, M., *et al.* (2009) CD4+CD25-LAG3+ Regulatory T Cells Controlled by the Transcription Factor Egr-2. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **106**, 13974-13979. <https://doi.org/10.1073/pnas.0906872106>
- [46] Okamura, T., Sumitomo, S., Morita, K., *et al.* (2015) TGF- $\beta$ 3-Expressing CD4+CD25(-)LAG3+ Regulatory T Cells Control Humoral Immune Responses. *Nature Communications*, **6**, Article No. 6329. <https://doi.org/10.1038/ncomms7329>
- [47] Lino, A.C., Dang, V.D., Lampropoulou, V., *et al.* (2018) LAG-3 Inhibitory Receptor Expression Identifies Immunosuppressive Natural Regulatory Plasma Cells. *Immunity*, **49**, 120-133. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.06.007>
- [48] Ma, C., Sun, X., Shen, D., Sun, Y., Guan, N. and Qi, C. (2020) Ectopic Expression of LAG-3 in Non-Small-Cell Lung Cancer Cells and Its Clinical Significance. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, **34**, e23244. <https://doi.org/10.1002/jcla.23244>
- [49] He, Y., Yu, H., Rozeboom, L., *et al.* (2017) LAG-3 Protein Expression in Non-Small Cell Lung Cancer and Its Relationship with PD-1/PD-L1 and Tumor-Infiltrating Lymphocytes. *Journal of Thoracic Oncology*, **12**, 814-823. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2017.01.019>
- [50] He, Y., Rivard, C.J., Rozeboom, L., Yu, H., Ellison, K., Kowalewski, A., Zhou, C. and Hirsch, F.R. (2016) Lymphocyte-Activation Gene-3, an Important Immune Checkpoint in Cancer. *Cancer Science*, **107**, 1193-1197. <https://doi.org/10.1111/cas.12986>
- [51] Vilgelm, A.E., Johnson, D.B. and Richmond, A. (2016) Combinatorial Approach to Cancer Immunotherapy: Strength in Numbers. *Journal of Leukocyte Biology*, **100**, 275-290. <https://doi.org/10.1189/jlb.5RI0116-013RR>