



免疫生物钟与肿瘤发生发展

王旭[†], 杨玉青[†], 苏柯予[†], 赵茁然, 刘贤贤, 熊启琿, 彭飞^{*}, 刘强^{*}, 崔柏^{*}

大连医科大学肿瘤干细胞研究院, 大连 116044

[†] 同等贡献

^{*} 联系人, E-mail: pengfei@dmu.edu.cn; liuq9@mail.sysu.edu.cn; cuibai@dmu.edu.cn

2024-08-16 收稿, 2024-12-26 修回, 2025-01-07 接受, 2025-01-21 网络版发表

国家重点研发计划项目(2022YFA1104002)、国家自然科学基金(82373096, 82473131, 82273480)、辽宁省应用基础研究计划项目(2023JH2/101600019)、大连市科技人才创新支持政策项目(2023RY013)和辽宁省教育厅高校基本科研项目科技创新团队(LJ222410161065)资助

摘要 生物钟调控机体内部多种生理过程, 免疫系统作为保护机体免于肿瘤侵袭的关键, 同样展现出昼夜节律变化. 在固有免疫以及适应性免疫中, 生物钟对于维持免疫细胞的数量、分布、迁移以及抗肿瘤免疫功能至关重要. 当熬夜、倒班工作以及夜间进食等行为因素破坏机体的节律稳态时, 能够导致免疫生物钟紊乱, 从而削弱抗肿瘤免疫功能并促进肿瘤的恶性进展. 本文以固有免疫中巨噬细胞、自然杀伤细胞、肥大细胞和适应性免疫中CD4⁺ T 和CD8⁺ T 细胞为例, 总结了免疫细胞生物钟紊乱如何影响抗肿瘤免疫功能, 阐述了按照免疫节律进行癌症治疗的抗肿瘤免疫时间疗法. 本文还提出在常规肿瘤治疗的基础上, 通过恢复患者的免疫生物钟能够达到更佳疗效, 并系统性地总结免疫生物钟以及昼夜节律紊乱后免疫系统与肿瘤发生发展之间的关系, 进而可以深入研究抗肿瘤免疫的时间疗法, 为肿瘤患者治疗提供新方向.

关键词 免疫节律, 生物钟, 肿瘤, 时间疗法

由于地球自转产生了以24 h为周期的光/暗循环, 绝大多数生物进化出了与外界环境协调一致的内部生物钟, 使得机体能够预测并更好地适应外界环境的时间变化^[1,2]. 在机体水平上, 生物钟系统是一个高度等级化的调控网络. 当位于下丘脑的视交叉上核的中央时钟感受到外界的光照刺激时, 会将信号同步传递给位于非视交叉上核的脑区和外周组织的外周时钟, 从而协调机体各项生理活动的节律^[3].

在分子水平上, 生物钟产生昼夜节律的关键是以CLOCK(circadian locomotor output cycles kaput)-BMAL1(aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like protein 1, ARNTL, 也称BMAL1)为核心构成的转录翻译反馈环路(transcription-translation feedback loop, TTFL). 其中时钟蛋白BMAL1和CLOCK形成异源二聚体, 进而激活下游时钟输出基因的转录. 时钟输出基因

编码的蛋白中包括的抑制性时钟蛋白CRY(cryptochrome)和PER(period), 可以反向抑制BMAL1和CLOCK的转录激活作用, 从而下调自身表达. 随后, CRY和PER解除对CLOCK-BMAL1复合体的抑制, 生物钟周期即可重新开始. 核受体REV-ERBs(nuclear receptor subfamily 1 group D)和RORs(RAR-related orphan receptors)组成的辅助次级环路也通过相似的机制发挥反馈调节作用^[4]. 在TTFL的驱动下, 核心节律基因可节律性调控下游基因的转录、翻译、蛋白质相互作用、磷酸化、蛋白质降解和染色质构象改变等过程, 使许多生理过程展现出节律性特征^[5]. 其中, 消化、内分泌、代谢以及免疫等生理过程表现出昼夜节律特征^[6]. 在这些过程中, 免疫系统是保护机体免受病原体入侵以及癌症损害的关键, 其中免疫细胞的数量、分布以及免疫相关功能均表现出节律性振荡^[7,8]. 例如, 固有

引用格式: 王旭, 杨玉青, 苏柯予, 等. 免疫生物钟与肿瘤发生发展. 科学通报, 2025, 70: 3446–3459

Wang X, Yang Y, Su K, et al. Immune circadian clock and tumorigenesis (in Chinese). Chin Sci Bull, 2025, 70: 3446–3459, doi: 10.1360/TB-2024-0874

免疫中单核细胞、巨噬细胞、中性粒细胞和树突状细胞的迁移、运动、吞噬和抗原呈递等功能,以及适应性免疫中B淋巴细胞和T淋巴细胞亚群对外来抗原的识别以及细胞杀伤等功能,都具有昼夜节律变化^[7,9,10]。相比于节律丧失的情况,免疫系统中各个部分在生物钟的调控下具有更高的效率,既可以长时间维护机体健康,又可以防止发生过度的免疫反应或者免疫耗竭。不仅如此,生物钟的调控还使得免疫系统能够预测发挥免疫功能的时间,保证高效发挥免疫功能的同时降低了能量消耗,从而更好地维持机体免疫稳态。

免疫系统是制约肿瘤发生发展的关键因素,而昼夜节律对于抗肿瘤免疫功能的维持尤为重要。免疫细胞能够节律性分泌穿孔素、干扰素、颗粒酶B等细胞杀伤因子,保证淋巴细胞在肿瘤内的浸润、活化以及细胞毒性,维持自身的抗肿瘤活性并抵抗肿瘤发生发展^[11]。而当昼夜节律被扰乱后,形成免疫抑制微环境,抑制肿瘤浸润T细胞的激活、增殖和杀伤功能,导致肿瘤免疫逃逸并促进肿瘤的发展和转移^[8]。免疫疗法是目前控制肿瘤进展的有效手段之一,其中肿瘤免疫治疗的关键靶点如细胞程序性死亡配体1(programmed cell death ligand 1, PD-L1)和细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4(cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4)同样受到昼夜节律的调控^[12],根据免疫检查点的昼夜节律变化进行免疫治疗有助于提高免疫检查点阻断疗法的治疗效果^[13]。因此深入探究抗肿瘤免疫的时间疗法,并基于患者的昼夜节律设计个体化免疫治疗方案对于肿瘤治疗具有重要意义。

综上所述,免疫系统受到昼夜节律的调控,然而昼夜节律如何影响免疫系统的抗肿瘤功能,以及如何利用昼夜节律来提高肿瘤免疫治疗效果,仍有待进一步探索。本文从固有免疫和适应性免疫两个方面总结了生物钟调控免疫系统的关键机制,以及免疫生物钟在肿瘤发生发展中的作用,并对时间疗法在肿瘤免疫治疗中的应用前景进行了探讨与展望。

1 免疫生物钟

免疫系统保护机体免于组织损伤、病原体入侵以及癌症带来的损害^[14]。免疫系统作为机体维护自身稳态的主要方式,受到生物钟的调控,具体表现为免疫细胞和免疫因子展现出昼夜节律特征。免疫系统的节律性减少了免疫反应中能量的过度消耗,使得免疫系统可以更高效地发挥免疫功能来维护机体健康,从而增

强了机体对外界环境的适应性^[6]。为探究免疫节律紊乱相关疾病新的治疗策略,我们总结了免疫生物钟的最新研究进展。

1.1 生物钟调控免疫系统

以CLOCK-BMAL1为核心的转录翻译反馈环路存在于免疫细胞内部,包括巨噬细胞^[15]、单核细胞^[15]、树突状细胞^[16]、B细胞^[17]和T细胞^[18]等。其中不同时钟蛋白的合成、运输、降解和相互作用具有节律性,使基因表达展现出以24 h为周期的节律性振荡,确立了细胞的内在生物钟^[6]。在外部光照周期和行为节律的调控下,中枢生物钟通过神经和内分泌网络等途径协同免疫细胞的内在生物钟,使免疫细胞在数量和功能上具有昼夜节律特征,进而让免疫系统更为高效地发挥免疫功能,维持机体稳态^[19]。

多种免疫细胞在数量层面上表现出严格的昼夜节律,如单核细胞、粒细胞、自然杀伤细胞以及包括CD4⁺ T细胞和CD8⁺ T细胞在内的多种淋巴细胞亚群等^[7,10]。在小鼠血液中,免疫细胞数量变化的昼夜节律特征为在白天升高,在夜晚降低^[20]。而在人体血液中,免疫细胞的数量呈现的节律特征则与小鼠相反,如未分化的T细胞和自然杀伤细胞的数量变化趋势为在夜晚升至高峰,在白天降至低谷^[21]。

此外,多种免疫细胞的迁移和炎症相关功能具有昼夜节律。例如,在血液到淋巴结之间的运输过程中,T细胞的迁移功能受到内部生物钟调控,T细胞表面的C-C基序趋化因子受体7(C-C motif chemokine receptor 7, CCR7)表现出昼夜振荡,其表达水平在夜间升至波峰,且CCR7的表达峰值与淋巴结内高内皮小静脉上的趋化因子配体21(C-C motif chemokine ligand 21, CCL21)水平同步^[22]。而CCL21-CCR7对控制T细胞迁移到淋巴结这一过程至关重要^[23],当CCR7表达水平在夜间升至波峰时,T细胞亚群中CD4⁺ T细胞和CD8⁺ T细胞在淋巴结内募集量也随即达到最高点^[24]。除T细胞之外,其他免疫细胞的迁移功能同样具有节律振荡现象,如中性粒细胞和自然杀伤细胞在从骨髓进入血液的过程中,受到了由节律性表达的C-X-C基序趋化因子受体4(C-X-C motif chemokine receptor 4, CXCR4)介导的生物钟调控^[7]。当病原体入侵机体并引发一系列免疫反应时,免疫细胞内部生物钟的调控就显得尤为重要。巨噬细胞的多种功能都具有昼夜节律,如编码模式识别受体的基因表达^[25]、细胞因子的释放^[26]以及活性氧的产

生^[25,27]。最重要的是巨噬细胞的吞噬功能同样受到内部生物钟调控,从而确保病原体的有效清除以及组织稳态的维持^[28]。在炎症期间,中性粒细胞由血液向炎症组织募集的过程同样具有昼夜节律,而这一节律性现象则与内部生物钟调控的内皮细胞黏附功能相关^[29]。此外,骨髓和肝脏对衰老中性粒细胞的清除同样存在昼夜节律^[29]。

综上所述,核心节律基因的反馈调节机制使得免疫细胞的基因表达产生节律性振荡,由多种途径传递昼夜节律并调控免疫细胞的数量以及功能^[27]。血液中免疫细胞的数量和分布在一天内会随时间发生节律性变化,这种节律性变化有利于维护机体稳态^[7]。此外,在行使免疫功能的过程中,免疫细胞受到节律性免疫相关因子的调控^[8]。以上均表明免疫系统受到内部生物钟调控,且这种调控机制对于维持机体稳态不可或缺。

1.2 固有免疫生物钟

1.2.1 单核/巨噬细胞受到生物钟调控

在固有免疫中,单核细胞以及单核来源巨噬细胞在参与免疫应答并发挥免疫功能时均受到生物钟调控^[15],如单核细胞的迁移以及巨噬细胞的识别、吞噬和促炎功能。

由造血干细胞分化而来的单核细胞的迁移功能具有昼夜节律。例如,单核细胞在外周血液的循环过程中,受到节律性表达的趋化因子受体CXCR4的调控^[30]。CXCR4在单核细胞上的表达峰值出现在ZT13(夜间)^[31],而当敲除CXCR4后,单核细胞的昼夜节律振荡现象消失,并影响其向肝和肺的归巢能力^[7]。在骨髓特异性敲除*Bmal1*的小鼠模型中,*Bmal1*的缺失会破坏单核细胞在骨髓、血液和外周器官之间的节律性运输^[20],这凸显了内部生物钟对单核细胞调控的重要性。

单核细胞由外周血液迁移到组织后,可发育并分化为巨噬细胞。巨噬细胞的病原体识别功能受到内部生物钟的调控,如巨噬细胞依赖于模式识别受体中Toll样受体9(Toll-like receptor 9, TLR9)与细菌或病毒的DNA结合来感知病原体入侵,且在小鼠体内TLR9展现出白天降低夜晚升高的节律振荡现象^[32]。腹腔来源巨噬细胞的体外实验则证明了巨噬细胞的吞噬功能具有昼夜节律现象^[28],而在*Bmal1*缺失的小鼠模型中,巨噬细胞的吞噬功能昼夜节律丧失且吞噬活性持续性增强,这表明*Bmal1*还作为抑制因子来调控吞噬反应的强

度^[28]。此外,巨噬细胞的促炎功能同样具有节律性,当敲低核受体亚家族1D组成员1(nuclear receptor subfamily 1, group D member 1, REV-ERB α)表达后,促炎因子白介素-6(interleukin-6, IL-6)和C-C基序趋化因子配体2(C-C motif chemokine ligand 2, CCL2)的释放失去了由REV-ERB α 经信号传导产生的节律性抑制,导致巨噬细胞的内部生物钟紊乱并加速巨噬细胞转化为促炎表型^[33](图1)。

由此可见,核心节律基因以及免疫因子共同作用于单核/巨噬细胞并影响其迁移、识别、吞噬以及促炎等功能,这些节律性调控则确保了单核/巨噬细胞对病原体入侵和炎症反应的迅速响应以及适度反应。

1.2.2 中性粒细胞受到生物钟调控

中性粒细胞可有效地清除病原体,但如果在血管内过度激活,则可能导致血栓炎症甚至死亡^[34],严重危害宿主健康。为维持免疫防御和血管健康之间的平衡,中性粒细胞需要转化为衰老状态并及时从血管中排出,这一过程同样受到生物钟的调控^[35]。

研究表明,中性粒细胞内与衰老相关的*Cxcr2*基因表达存在昼夜节律性振荡,在持续黑暗的环境下节律仍然存在,表明中性粒细胞的衰老受到内部生物钟的调控^[29]。衰老的中性粒细胞在数量以及迁移功能方面同样受生物钟调控^[29]。在健康小鼠中,血液中衰老的中性粒细胞的数量存在昼夜振荡,在ZT5(白天)左右达到峰值,在ZT13(夜间)降至低谷^[31,36]。而在中性粒细胞特异性敲除*Bmal1*的小鼠中,衰老的中性粒细胞的数量维持在低水平且失去昼夜节律。此外,小鼠体内的衰老中性粒细胞由血液排出到组织的过程同样存在昼夜节律现象。L-选择素CD62L作为中性粒细胞衰老的标志物,与循环中性粒细胞在血管中的滚动和黏附功能相关,在由骨髓释放进入血液的循环中性粒细胞表面高水平表达^[36]。在白天CD62L的表达量自发性减少并导致中性粒细胞的衰老,而在夜间,衰老的中性粒细胞表面的CXCR4增加,阻止中性粒细胞持续性衰老并促进衰老的中性粒细胞由血管进入组织,从而减少对血管的损伤^[29](图2)。

组织稳态条件下,衰老的中性粒细胞在内部生物钟调控下失去在血管中的循环能力,并从血管有节律地排出到组织中,增强了组织的免疫防御能力。这表明内部生物钟调控了中性粒细胞衰老以及从血管中清除的过程,协调了组织的免疫防御和血管健康,进而维持机体稳态。

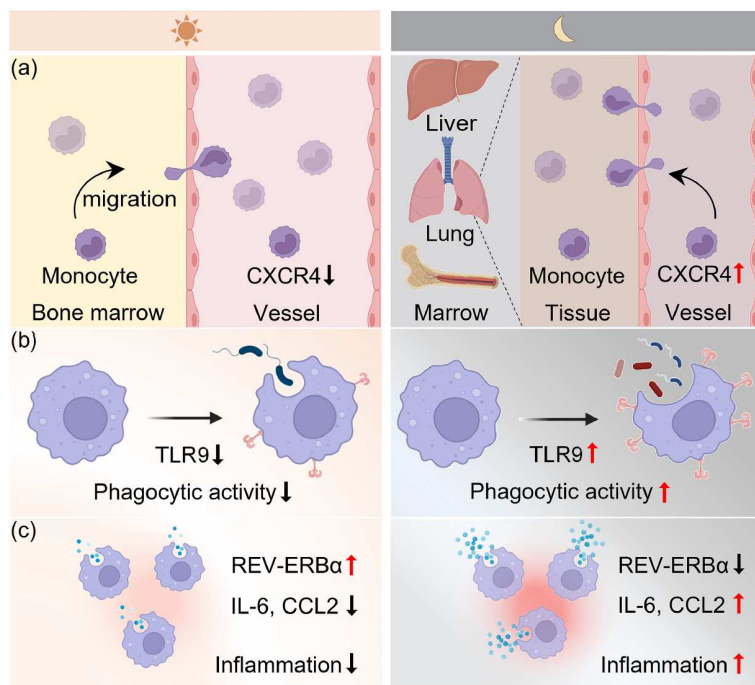


图 1 生物钟调控单核/巨噬细胞的迁移、吞噬功能和炎症反应。(a) 小鼠体内单核细胞的迁移功能具有昼夜节律。由于受到CXCR4的节律性调控,单核细胞在白天由骨髓迁出至血管,在夜间则由血管迁出至组织;(b) 巨噬细胞的吞噬活性具有昼夜节律。相比于白天,巨噬细胞在夜间的吞噬活性更强,表面表达更多的TLR9;(c) 巨噬细胞介导的炎症反应具有节律性。由于REV-ERB α 在夜间表达水平降低,导致受到其抑制的炎症因子IL-6和CCL2表达上调,使得机体炎症反应加剧。图片素材来源于BioRender.com

Figure 1 Mono-macrophages are regulated by the circadian clock. (a) The migration of monocytes is rhythmic. Monocytes migrate from bone marrow to blood vessels during the daytime and from blood vessels to tissues during the nighttime, which is regulated by the rhythmic expression of CXCR4; (b) The phagocytic activity of macrophages is rhythmic. Phagocytic ability and expression of TLR9 in macrophages are stronger at night than during the day; (c) Macrophage-mediated inflammatory response exhibits a rhythmic pattern. Relatively low expression of REV-ERB α relieves its suppression effect on IL-6 and CCL2, leading to the intensification of the inflammatory response. Figure was created with BioRender.com

1.2.3 树突状细胞受到生物钟调控

树突状细胞(dendritic cells, DCs)能够作为抗原呈递细胞启动适应性免疫反应,进而协同固有免疫和适应性免疫。DCs中的核心节律因子如CLOCK、PER1/2和BMAL1表现出自主时钟节律,表明树突状细胞受到内部生物钟调节^[32]。此外,DCs在淋巴结内的数量变化同样具有昼夜节律特征,在ZT9(傍晚,小鼠活动期到来之前)率先达到峰值,随后这种数量变化与T淋巴细胞的数量变化保持同步^[16]。而在启动适应性免疫的过程中,血管与淋巴结中DCs的数量和抗原呈递功能也同样受到内部生物钟的调控^[22](图3)。例如,当小鼠被寄生虫感染时会产生强烈的免疫应答进而将寄生虫从体内排出,且ZT0(清晨)感染的小鼠比ZT12(夜间)感染的小鼠排虫速度更快^[37]。但在DCs特异性缺失*Bmal1*的小鼠模型中,不同时间感染所导致的免疫应答差异消失,表明DCs在向T细胞进行抗原呈递并启动适应性免疫

的过程中受到内部生物钟的调控^[37]。此外,在核心生物钟分子REV-ERB α 和REV-ERB β 缺陷小鼠中,DCs中促炎细胞因子、共刺激分子和组织相容复合体的表达相较于正常小鼠增加,持续性刺激T细胞并引发过度免疫反应^[38],这表明REV-ERBs可调节DCs的发育和活化,并在抗原呈递中起重要调控作用。

树突状细胞作为启动适应性免疫的关键要素,在数量和抗原呈递功能上都表现出了强烈的昼夜节律振荡,其介导的下游适应性免疫也展现出节律性特征。这也说明内部生物钟不仅调控固有免疫,同样也调控适应性免疫应答。

1.3 适应性免疫生物钟

在适应性免疫过程中,淋巴细胞的数量以及功能均受到内部生物钟的调控^[32]。例如,在小鼠体内,淋巴细胞在夜间聚集在外周淋巴结内,增强组织的免疫防

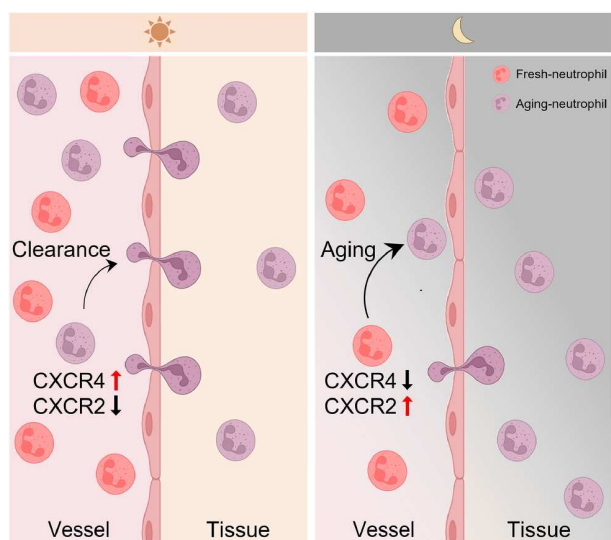


图2 中性粒细胞的衰老与清除具有昼夜节律。在白天, 血管内衰老的中性粒细胞表面CXCR4表达水平上升, 加速中性粒细胞从血管内清除至组织中, 维护血管健康。在夜间, 血管内的中性粒细胞表面CXCR2高表达, 促进中性粒细胞的衰老, 且被清除至组织内的中性粒细胞增强组织的免疫防御能力。图片素材来源于BioRender.com

Figure 2 The aging and clearance of neutrophils are rhythmic. During the daytime, CXCR4 increases on the surface of aging neutrophils, accelerating the removal of neutrophils from the vasculature to the tissues to maintain vascular health. During the nighttime, CXCR2 is highly expressed on the surface of neutrophils in the vasculature, which promotes neutrophil senescence and clearance to enhance the immune defense in the tissues. Figure was created with BioRender.com

御, 防止在活动期可能出现的机体损伤, 在白天则从淋巴结排出, 导致血液中淋巴细胞数量在白天升高^[32]。而在人体血液中, 淋巴细胞的数量在夜间升高, 在清晨开始降低, 随后在白天维持在较低水平^[22]。除数量变化之外, 人体内适应性免疫系统的启动效率和反应强度同样存在昼夜节律特征。一项包含276名高龄人群的大规模随机试验表明, 在疫苗接种30天后, 清晨接种流感疫苗产生的抗体效价仍高于下午接种疫苗后产生的抗体效价^[39]。在一项由302名志愿者构成的研究样本中表明, 早上接种卡介疫苗的人比晚上接种的人表现出更强的特异性免疫反应和训练免疫反应^[18]。这些研究均表明, 因人体内的适应性免疫具有昼夜节律特征, 导致在不同时间接触同种抗原后适应性免疫应答的强度不同。

近年来, 越来越多的研究开始关注T细胞亚群的昼夜节律, 其中CD4⁺ T细胞和CD8⁺ T细胞的数量、迁移以及免疫应答功能均存在昼夜节律振荡现象^[7]。在小鼠体内T淋巴细胞中, CD4⁺ T和CD8⁺ T细胞在数量上表现

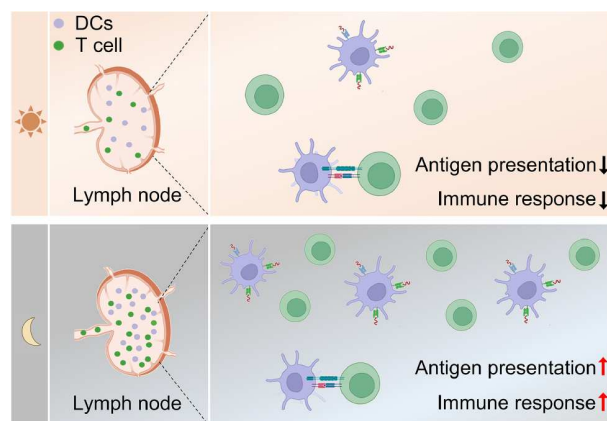


图3 树突状细胞受到生物钟的调控。在小鼠淋巴结内, 树突状细胞的数量与T细胞在夜间同步达到峰值, 此时抗原呈递效率更高, 免疫反应更强。图片素材来源于BioRender.com

Figure 3 Dendritic cells are regulated by the circadian clock. The number of dendritic cells in the lymph nodes of mice is synchronized with T cells that peak at night, when antigen presentation is more efficient and the immune response is stronger. Figure was created with BioRender.com

出相似的波峰和波谷, 由于淋巴细胞的迁移特性, 血液中的波峰出现在ZT5(白天), 在淋巴结中则为ZT13(夜间)^[40]。除数量变化外, T淋巴细胞在小鼠体内的分布同样具有昼夜节律。糖皮质激素的节律性释放导致糖皮质激素受体活化, 进而诱导T细胞节律性表达白介素-7受体(interleukin-7 receptor, IL-7R), 并上调CXCR4的表达, CXCR4与C-X-C基序趋化因子配体12(C-X-C motif chemokine receptor 12, CXCL12)结合后促进T细胞在夜间归巢至外周淋巴器官^[41]。除受到激素调节外, 淋巴细胞的运输还受到细胞内部生物钟的调控, 例如在T细胞特异性敲除*Bmal1*小鼠模型中, CCR7的表达丧失昼夜节律且淋巴细胞在血液与淋巴结之间迁移的昼夜节律丧失^[27]。

此外, CD4⁺ T细胞和CD8⁺ T的适应性免疫应答同样受到内部生物钟调控。在感染甲型肝炎病毒的小鼠模型中, 感染28天后收集淋巴结并利用抗原对其重新刺激, 结果表明, 与ZT19(夜间)接种相比, 在ZT7(下午)接种可导致抗甲肝病毒抗体水平更高, IL-2⁺ CD4⁺ T细胞和CD8⁺ T细胞占比上升^[42]。然而在T细胞特异性敲除*Bmal1*小鼠模型中, 这种因不同时间接种疫苗产生的抗体水平差异和免疫应答强度的差异消失。在小鼠模型中, 在不同时间利用负载OVA人工抗原肽的骨髓来源DCs向T细胞呈递抗原, 相比于白天, CD8⁺ T细胞在傍晚增殖速度更快且数量更多^[43]。另外, CD4⁺ T细胞在

代谢和免疫调节方面同样展现出自主时钟节律。在ZT1(清晨)和ZT13(夜晚)收集小鼠淋巴结并分离其中的 $CD4^+$ T细胞,利用质谱技术对其进行蛋白质组学分析。结果表明,相比于夜间,清晨的 $CD4^+$ T细胞内部的脂质、酮和胺的代谢以及免疫调节信号增强。而在T细胞特异性敲除*Bmal1*小鼠模型中,淋巴结内 $CD4^+$ T细胞的蛋白组学结果表明,只有少数分子仍存在昼夜节律现象,且免疫调节和代谢相关的昼夜差异消失^[42]。这均表明在免疫反应过程中,内部生物钟具有协调T细胞多种功能的重要作用。在这些研究中,T细胞受体(T cell receptor, TCR)本身也被证明受内部生物钟的调控^[44]。转录组学也揭示,由TCR启动的下游信号通路具有节律性,提示免疫细胞的激活、增殖等功能同样受到内部生物钟的调控^[43](图4)。

综上所述,在适应性免疫过程中,T淋巴细胞亚群

在数量、迁移和免疫应答功能上均体现出昼夜节律特征,这也进一步说明了免疫系统的昼夜节律现象是由内部生物钟和外界环境在调控机体稳态过程中共同驱动的。

2 免疫生物钟调控肿瘤发生发展

现如今,“导致昼夜节律紊乱的倒班工作”已经被世界卫生组织国际癌症研究机构列为潜在的人类致癌物^[45]。尽管机体的昼夜节律可以维持以24 h为周期的自主振荡,但仍需要授时因子的校准从而与外界环境的周期性变化保持同步。倒班、夜间进食和熬夜等行为方式会改变授时因子如光线或者食物摄入等正常节律^[46]。长期异常的环境节律若超出机体生物钟的调节能力范围,就可能导致生物节律紊乱。随后,相关基因的表达和生理活动固有的高水平或低水平状态就会持

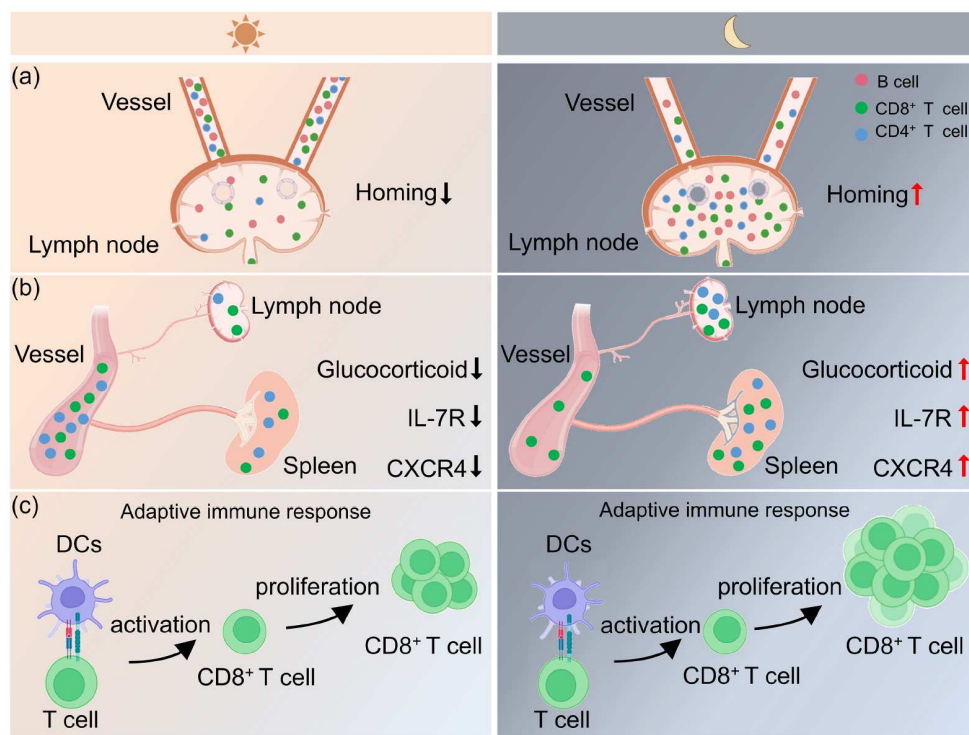


图4 适应性免疫系统受到生物钟调控。(a) 淋巴细胞的数量具有昼夜节律。在白天,淋巴细胞主要在血管中循环,淋巴结内细胞数量减少。而在夜间,淋巴细胞归巢至淋巴结,淋巴结内细胞数量增多;(b) 外周淋巴器官内淋巴细胞的迁移具有节律性。在糖皮质激素以及生物钟的调控下,血管中的淋巴细胞在夜间迁移至脾以及外周淋巴结;(c) 在小鼠体内启动适应性免疫的过程中, $CD8^+$ T细胞的激活与增殖同样具有节律性。在夜间,抗原递效率更高, $CD8^+$ T细胞的激活与增殖更迅速,机体免疫应答更快。图片素材来源于BioRender.com

Figure 4 Adaptive immunity is modulated by the circadian clock. (a) The number of lymphocytes presents circadian fluctuation. During the daytime, lymphocytes mainly circulate in the blood vessels rather than appear in the lymph nodes; During the nighttime, lymphocytes tend to home to the lymph nodes; (b) The migration of lymphocytes between the vasculature and the peripheral lymphoid organs follows a rhythmic pattern. Lymphocytes in the vasculature migrate to the spleen and peripheral lymph nodes during the night, which is regulated by glucocorticoids and the circadian clock; (c) The activation and proliferation of $CD8^+$ T cells in the initiation of adaptive immunity also have a rhythmic pattern in mice. Antigen presentation is more efficient at night, with more rapid activation and proliferation of $CD8^+$ T cells and more prompt immune response. Figure was created with BioRender.com

续暴露出来, 对健康产生不利影响. 不良生活方式引起的中枢节律破坏可能会导致癌基因表达和抑癌基因突变^[47,48]、代谢紊乱^[49,50]、免疫受损、内分泌异常^[51,52]等致癌风险因素增加, 在此基础上生物钟反馈机制的破坏可能是驱动肿瘤恶性进展的重要原因.

免疫系统的正常运转需要生物钟来维持, 而昼夜节律紊乱则会加速癌症的恶性进展. 肿瘤细胞的消除或抑制离不开免疫系统所提供的复杂防御机制^[14], 这表明内部生物钟在免疫系统抵抗肿瘤的过程中至关重要. 慢性时差模型能够打破自发性乳腺癌小鼠的昼夜节律, 使肿瘤中浸润的CD8⁺ T细胞数量减少, 且肿瘤的恶性程度更严重^[8]. 持续光照环境同样能够破坏小鼠昼夜节律, 使胶质母细胞瘤内浸润的促癌类型巨噬细胞数量增加, 从而促进肿瘤生长^[53]. 这些研究表明免疫生物钟紊乱与肿瘤的发生发展有着密切联系, 因此深入探究免疫生物钟紊乱导致癌症发生发展的机制将为肿瘤治疗奠定坚实的理论基础. 在此, 本文将从固有免疫和适应性免疫两个方面介绍免疫生物钟紊乱在肿瘤发生发展中的作用.

2.1 固有免疫生物钟调控肿瘤发生发展

固有免疫是抵抗肿瘤的一道重要防线, 其中固有免疫细胞在内部生物钟的调控下发挥抗肿瘤功能并维持肿瘤微环境代谢平衡进而起到抑制肿瘤的作用^[54]. 当昼夜节律紊乱时, 固有免疫细胞的抗肿瘤功能被扰乱, 进而加速癌症进展, 表明固有免疫生物钟对于限制肿瘤的发生发展具有重要作用.

2.1.1 巨噬细胞生物钟紊乱促癌

巨噬细胞内部生物钟的破坏能够导致巨噬细胞的数量异常和代谢紊乱, 进而削弱巨噬细胞的抗肿瘤功能并促进肿瘤的发生发展. 一方面, 巨噬细胞昼夜节律紊乱导致浸润在肿瘤微环境中的巨噬细胞数量比例失调, 从而降低抗肿瘤的作用. 例如, 在非转移性黑色素瘤小鼠模型中, 对照组小鼠肿瘤中M1/M2型巨噬细胞的数量比例具有昼夜节律, 在夜间抗肿瘤免疫活性更强. 而慢性时差模型导致M1/M2比例的昼夜节律丧失, 形成免疫抑制的肿瘤微环境, 帮助肿瘤细胞逃脱免疫监视^[55]. 另一方面, 巨噬细胞昼夜节律紊乱还可重塑代谢过程并抑制巨噬细胞的抗肿瘤功能. 黑色素瘤小鼠模型中, 在干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)和脂多糖的刺激下, 节律基因*Bmal1*缺失的巨噬细胞维持线粒体氧化反应的功能受损, 线粒体内部的活性氧增加, 由缺氧诱

导因子1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)介导的糖代谢重塑以及经典炎症转录因子上调, 形成免疫抑制微环境进而加速肿瘤生长^[56].

巨噬细胞生物钟正常运转时, 能够维持M1/M2型巨噬细胞比例的平衡, 保证肿瘤微环境中代谢等生理过程的稳态并发挥抑制肿瘤的功能. 而巨噬细胞内部生物钟的紊乱能够打破这种稳态, 进而促进癌症的恶性进展.

2.1.2 NK细胞生物钟紊乱促进肿瘤发生发展

自然杀伤(natural killer, NK)细胞是固有免疫系统中重要的一环, 也是癌症免疫监视的关键. NK细胞在内部生物钟的调控下通过释放细胞溶解因子和其他细胞因子行使裂解和杀伤肿瘤的功能^[57]. 当NK细胞昼夜节律紊乱后, 其裂解杀伤肿瘤的能力受到限制, 从而促进肿瘤生长. 大鼠肺癌模型中, 施加慢性时差破坏了机体中NK细胞的节律基因*Per2*和*Bmal1*, 随后影响了穿孔素、颗粒酶B(granzyme B, GzmB)和干扰素IFN γ 的节律性表达, 抑制了NK细胞裂解肿瘤细胞的能力^[58,59]. 临床研究证实了相似的结论, 在昼夜节律紊乱的转移性乳腺癌患者中, 血液中NK细胞昼夜节律的紊乱使得NK细胞的数量和溶解因子活性下降, 促进肿瘤的恶性进展^[60,61].

NK细胞在内部生物钟的调控下节律性释放溶解因子和细胞因子等肿瘤杀伤物质. 当昼夜节律紊乱时, 扰乱了NK细胞中肿瘤杀伤物质的节律性释放, 损伤了NK细胞裂解和杀伤肿瘤的功能. 未来进一步研究在节律紊乱后如何恢复NK细胞的抗肿瘤功能, 将有助于开发NK细胞在预防和治疗癌症方面的临床策略.

2.1.3 肥大细胞生物钟紊乱造成肿瘤恶化

肥大细胞在内部生物钟的调控下具有节律性释放炎性物质组胺和介导节律性过敏反应的特征^[62], 而在抗肿瘤免疫过程中的肥大细胞具有多面性. 其中, 分泌小鼠肥大细胞蛋白酶2(mouse mast cell protease 2, mMCP2)的上皮内肥大细胞以及分泌小鼠肥大细胞蛋白酶6(mouse mast cell protease 6, mMCP6)的基质肥大细胞比例失调可促进结肠基质的癌变^[63,64]. 在酒精诱导的结直肠癌小鼠模型中, 光暗周期颠倒破坏了小鼠的昼夜节律, 导致mMCP6⁺(基质)/mMCP2⁺(上皮内)两种类型的肥大细胞比例上调, 促进了酒精诱导的结肠癌恶性进展^[65]. 这表明内部生物钟对于维持肥大细胞不同类型之间的比例起到关键作用, 然而内部生物钟如何维持不同类型肥大细胞的比例平衡以及如何调控

肥大细胞抗肿瘤免疫功能, 仍有待进一步研究。

综上所述, 内部生物钟的调控对于巨噬细胞、NK细胞和肥大细胞在限制肿瘤发生发展的过程中表现出极其重要的作用。此外, 有相关文献报道, 在抗肿瘤免疫过程中, 中性粒细胞^[66]和嗜酸性粒细胞^[67]也存在昼夜节律。未来深入探究固有免疫生物钟在肿瘤发生发展的作用, 将有利于从崭新的视角发现肿瘤防治的新靶点。

2.2 适应性免疫生物钟调控肿瘤发生发展

生物钟维持着适应性免疫系统的正常运转^[68], 确保淋巴细胞尤其是T淋巴细胞在机体中高效发挥特异性识别、激活、增殖和杀伤等功能, 进而起到杀伤和清除肿瘤细胞的作用^[27,69,70]。当外界光照环境紊乱、肿瘤微环境中其他细胞的节律破坏或T细胞自身节律基因表达异常时, 将导致T细胞抗肿瘤功能的减弱或丧失, 最终促进肿瘤的发生发展^[69]。

机体生物钟紊乱后, 破坏了肿瘤中浸润T细胞的数量和功能的节律, 致使其抗肿瘤功能减弱。慢性时差模型导致小鼠乳腺肿瘤中免疫抑制性CD4⁺ FoxP3⁺ Treg群体显著富集, 同时CD8⁺ T细胞数量减少、抗肿瘤活性减弱, 由此形成的免疫抑制性微环境促进了乳腺癌恶性进展^[8]。

肿瘤微环境中其他细胞内部生物钟紊乱也能够损害T细胞功能, 加速肿瘤的恶性进展。在胶质母细胞瘤小鼠模型中, 肿瘤细胞中CLOCK-BMAL1上调嗅觉调节素样3(olfactomedin-like 3, OLFML3)的表达, 随后OLFML3通过激活HIF-1 α 的信号进而增加天冬酰胺内肽酶(legumain, LGMN)的表达, 促进小胶质细胞向肿瘤迁移, 并极化为免疫抑制类型。抑制胶质母细胞瘤中的Clock基因表达可降低免疫抑制类型的小胶质细胞数量, 可增强肿瘤中CD8⁺ T细胞的浸润、活化和细胞毒性, 从而减小肿瘤的体积^[11]。在黑色素瘤小鼠模型中, 内皮细胞节律性地表达细胞间黏附分子1(intercellular cell adhesion molecule 1, ICAM-1), 通过与CD8⁺ T细胞表面的淋巴细胞功能相关抗原1(leukocyte function-associated antigen 1, LFA-1)分子结合, 调控CD8⁺ T细胞节律性浸润到肿瘤的过程。然而长期使用LFA-1抗体将破坏CD8⁺ T细胞浸润到肿瘤的节律, 并显著增加肿瘤的体积^[13]。

此外, 当T细胞自身的节律基因异常表达时, 将重塑代谢过程并削弱CD8⁺ T细胞抗肿瘤功能。在结肠癌

中, 使用拮抗剂抑制核心时钟蛋白ROR α 能够激活核因子 κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)的转录活性从而促进胆固醇酯化和外排基因的表达, 胆固醇稳态的失衡抑制了CD8⁺ T细胞的活化和增殖, 进而破坏CD8⁺ T细胞的抗肿瘤功能^[71]。

现有研究大多数聚焦于CD8⁺ T细胞内部生物钟在癌症进展中的作用, 而B细胞和CD4⁺ T细胞等其他适应性免疫细胞的内部生物钟在肿瘤恶性进展中同样有十分重要的作用。机体昼夜节律紊乱使得调节性B细胞(regulatory B, Breg)的内部生物钟异常, 进而引发效应CD4⁺ T细胞的功能障碍以及激活后CD4⁺ T细胞的凋亡, 促进肿瘤的发生发展。例如, 将结肠炎小鼠模型的核心节律基因*Bmal1*敲除后, 肠上皮内淋巴细胞中PD-L1⁺ Breg细胞群体数量减少, 导致凋亡抑制因子Bcl-2(B cell lymphoma-2, Bcl-2)水平降低, 胱天蛋白酶-3的表达上调, 促进CD4⁺ T细胞凋亡, 并使得IFN γ ⁺ CD4⁺ T和GzmB⁺ CD4⁺ T等效应性CD4⁺ T细胞的数量显著降低, 免疫抑制性PD-1⁺ CD4⁺ T细胞占比增加, 促进了肠炎相关的结直肠癌的发展^[72]。

总之, 适应性免疫细胞尤其是T细胞, 在内部生物钟调控下以最高效的方式应对机体中出现的肿瘤细胞, 进而维持机体健康。当外界环境破坏机体昼夜节律、肿瘤微环境中其他细胞生物钟或T细胞自身节律基因紊乱时, 均会损伤肿瘤中浸润T细胞的激活、增殖以及杀伤功能, 从而抑制抗肿瘤功能并促进肿瘤的发展和转移。

2.3 固有免疫和适应性免疫生物钟共同调控肿瘤发生发展

如上文所述, 固有和适应性免疫系统在内部生物钟的调控下对于肿瘤的发生发展及治疗具有重要影响^[68]。其中固有免疫和适应性免疫系统之间的配合对于抵抗肿瘤至关重要, 二者共同发挥肿瘤免疫监视的作用, 消除健康组织中出现的肿瘤细胞, 保护机体免受肿瘤侵袭。只有当固有免疫细胞和适应性免疫细胞内部生物钟协调一致时, 才能实现最佳的抗肿瘤免疫效应^[6]。

固有免疫生物钟的正常运转是适应性免疫高效发挥抗肿瘤功能的前提条件, 将节律基因*Bmal1*缺失的巨噬细胞与肿瘤细胞共同注射到小鼠中, 可导致肿瘤中浸润的CD8⁺ T细胞数量减少, 抗肿瘤作用削弱并促进肿瘤细胞的增殖^[56]。最新研究开始揭示固有免疫和适

应性免疫生物钟共同调控肿瘤发生的具体机制。BMAL1和共刺激因子CD80启动子区域的增强子结合,进而节律性调控CD80的表达,树突状细胞节律性运输到肿瘤引流淋巴结后通过CD80调控肿瘤抗原特异性CD8⁺ T细胞的节律性反应。在节律基因*Bmal1*缺失的小鼠模型中,由于机体或免疫生物钟遭到破坏,导致肿瘤抗原特异性CD8⁺ T细胞的功能丧失,从而促进肿瘤生长^[69]。

总之,固有免疫和适应性免疫的细胞内部生物钟可共同调控机体杀伤肿瘤的过程。当机体昼夜节律被打破时,固有免疫协调适应性免疫共同抵抗肿瘤的功能丧失,导致肿瘤的恶性进展(图5)。因此,未来应深入探究固有免疫和适应性免疫之间内部生物钟的协调作用,对于开发免疫生物钟调控肿瘤发展的治疗策略具有十分重要的意义。

3 肿瘤免疫时间疗法的研究进展

在肿瘤患者群体中,肿瘤细胞转移和耐药等特点常常导致癌症复发,仅依靠化疗药物来进行癌症治疗的方法已无法满足临床患者癌症治疗的需求。因此,通过免疫治疗联合化疗的策略,可重新激活患者自身免疫系统,进而更好地杀伤肿瘤细胞。由于免疫系统受到

生物钟的调控,抗肿瘤免疫疗法的效果也随免疫细胞的昼夜节律变化而存在差异^[13],为此针对肿瘤治疗改进的免疫时间疗法对于临床治疗具有重要意义。

抗肿瘤免疫的时间疗法目前主要有两种类型:免疫检查点时间疗法和嵌合抗原受体T细胞(chimeric antigen receptor T cells, CAR-T)时间疗法。首先,根据免疫检查点的节律变化,在理论上阻断效果最强的时间点使用免疫检查点抑制剂进行治疗,治疗效果可能更佳^[13]。临床数据发现,在多种类型癌症的治疗过程中,选择适宜的治疗时间可以获得更佳的疗效,包括转移性食管鳞状细胞癌^[73]、黑色素瘤^[74]和非小细胞肺癌^[75]等患者。例如,黑色素瘤IV期患者在接受免疫检查点抑制剂(伊匹单抗、纳武单抗或派姆单抗)治疗时,与在夜晚接受治疗相比,在清晨接受治疗的患者其适应性免疫反应更强,治疗效果更好^[76],就患者5年总生存期而言,早间治疗组为68%,晚间治疗组为49%^[77]。在非小细胞肺癌晚期患者中,在清晨进行免疫检查点抑制剂治疗的患者,相比于下午或傍晚接受治疗的患者,药效较好且总生存期较长^[75,78]。另一种则是根据肿瘤中效应T细胞浸润的节律变化,选择不同时间进行CAR-T细胞注射,治疗效果具有显著区别。例如,在一天中按

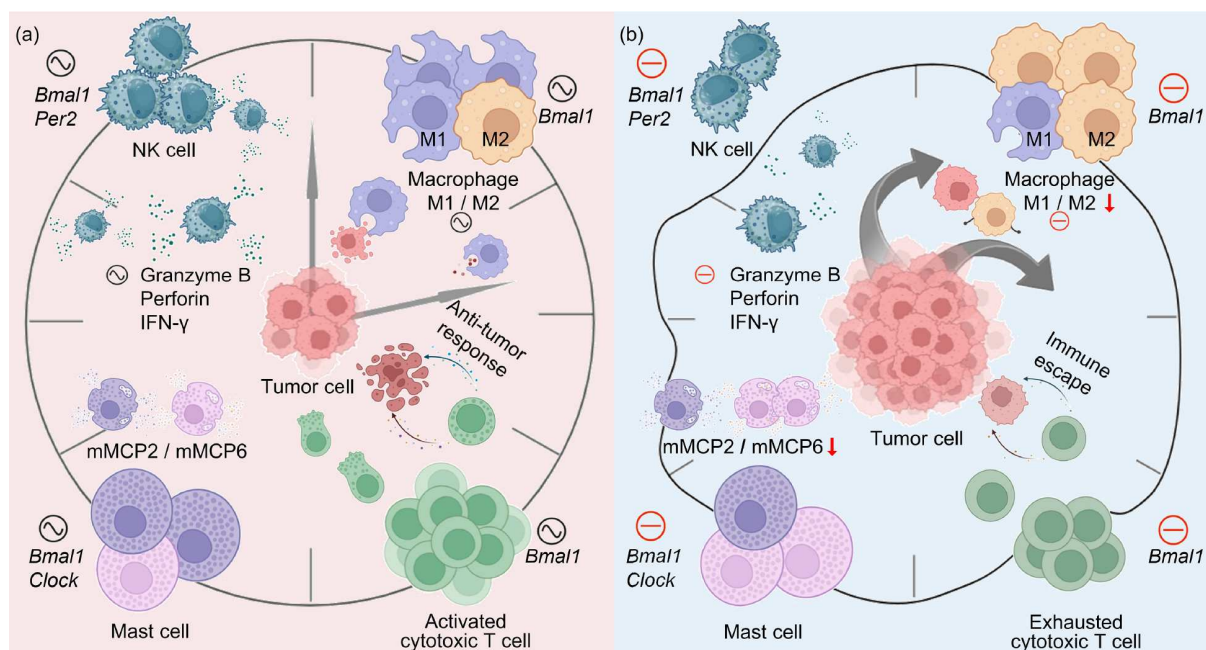


图5 免疫细胞昼夜节律的破坏与肿瘤发生发展密切相关。(a) 肿瘤中节律正常下的免疫细胞发挥抗肿瘤功能,抑制肿瘤细胞的发展;(b) 肿瘤中节律紊乱后的免疫细胞的抗肿瘤功能削弱,促进肿瘤的恶性进展。图片素材来源于BioRender.com

Figure 5 The disruption of circadian rhythm in immune cells is associated with tumorigenesis. (a) Immune cells in tumors with normal rhythms exert anti-tumor functions and inhibit the development of tumor cells; (b) immune cells in tumors with disturbed rhythms show weakened anti-tumor functions and promote tumor progression. Figure was created with BioRender.com

照不同的时间点对荷瘤小鼠进行CAR-T治疗, 结果表明在ZT13(夜间)注射CAR-T细胞后, 肿瘤体积明显缩小, 而在ZT1(清晨)注射CAR-T细胞, 肿瘤体积则无明显变化. 数据表明, 在一天内肿瘤中淋巴细胞浸润最丰富时进行CAR-T细胞注射, T细胞治疗的效果明显增强, 可显著抑制肿瘤生长^[13].

除免疫治疗外, 其他治疗方式如抗肿瘤药物的时间疗法, 以及利用行为节律进行干预的辅助疗法, 都可作为未来肿瘤治疗的方法来进一步开发. 首先, 抗肿瘤药物的时间疗法可根据机体对于药物反应以及毒副作用耐受的昼夜节律变化, 通过改变用药时间, 进而提升治疗效果并降低毒副作用对患者的影响. 例如, 在186例结直肠癌患者中进行的随机对照试验显示, 使用时间疗法进行奥沙利铂-5-氟尿嘧啶-叶酸联合治疗比恒定给药的效果更好, 并且使严重黏膜毒性降低到恒定剂量组的1/5、外周敏感神经病变的发生率降低了1/2. 在此基础上, 如果使得药物治疗时间节点与患者自身免疫周期同步化, 可能会实现药物抗肿瘤的最佳疗效. 其次, 在化免联合治疗的同时, 还可辅以行为节律手段对肿瘤发展进行干预. 通过调节进食时间来纠正荷瘤小鼠的代谢紊乱, 能恢复宿主代谢节律以及所携带肿瘤的代谢节律, 从而抑制肿瘤的生长^[79]. 例如, 与自由进食相比, 时间限制性饮食能显著抑制小鼠的肺癌进展, 并且恢复肿瘤中参与糖酵解的基因及代谢物的昼夜节律. 在小鼠异种移植模型中, 通过抑制肺癌相关的时钟基因表达并联合时间限制性饮食疗法, 其疗效与化疗效果相当^[80]. 同样地, 时间限制性进食能抑制小鼠胰腺癌的生长. 在小鼠模型中, 时间限制性进食在抑制肿瘤生长的同时, 恢复了时钟缺陷的癌细胞中的基因振荡, 这表明宿主的代谢变化可能通过驱动肿瘤细胞

的代谢变化, 进而抑制肿瘤进展. 同时, 可以根据患者自身的昼夜节律来调整最佳的治疗时间, 从而开发个体化的时间免疫疗法. 然而, 时间免疫疗法仍处于发展的早期阶段, 还存在诸多影响节律疗法的因素, 如患者的肿瘤恶性程度不同, 药物之间的半衰期不同以及患者的年龄、性别等个体差异对于药物的响应程度不同, 因此需要进一步研究其机制以优化当前的免疫节律治疗方案.

4 总结与展望

免疫系统受到内部生物钟的调控, 无论在固有免疫或适应性免疫中, 免疫细胞的数量、分布以及迁移过程都表现出节律振荡现象, 并且各类免疫细胞在行使不同的免疫功能时也都随昼夜变化而展现出节律的差异性, 这种调控机制对于维持机体的稳态不可或缺. 当机体生物钟紊乱后, 免疫细胞的多种节律性特征遭到破坏, 导致免疫系统受损, 抗肿瘤免疫功能削弱, 进而加速肿瘤的发展和转移, 严重危害癌症患者的生命. 免疫细胞的昼夜节律对于抗肿瘤功能的调控具有不可忽视的作用, 因此深入揭示免疫生物钟调控抗肿瘤免疫的机制, 将为发现新的肿瘤治疗靶点提供理论基础. 同时, 在肿瘤治疗的过程中, 开发抗肿瘤免疫的时间疗法是十分必要的. 根据肿瘤患者自身的节律变化而改进的免疫检查点时间疗法以及CAR-T时间疗法, 相较于单一的免疫疗法效果显著增加. 除免疫治疗外, 将抗肿瘤药物采用节律性给药的方式可以在减小毒副作用的同时增强药物响应, 在此基础上协同患者自身免疫周期进行联合治疗可能会是未来肿瘤患者用药的新思路, 这提示从时间维度来思考新的治疗模式可能是肿瘤患者未来临床治疗的新方向.

参考文献

- 1 Bell-Pedersen D, Cassone V M, Earnest D J, et al. Circadian rhythms from multiple oscillators: lessons from diverse organisms. *Nat Rev Genet*, 2005, 6: 544–556
- 2 Roenneberg T, Mrosovsky M. Circadian clocks — the fall and rise of physiology. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005, 6: 965–971
- 3 Buijs R M, Kalsbeek A. Hypothalamic integration of central and peripheral clocks. *Nat Rev Neurosci*, 2001, 2: 521–526
- 4 Cao X, Yang Y, Selby C P, et al. Molecular mechanism of the repressive phase of the mammalian circadian clock. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, 118: e2021174118
- 5 Partch C L, Green C B, Takahashi J S. Molecular architecture of the mammalian circadian clock. *Trends Cell Biol*, 2014, 24: 90–99
- 6 Man K, Loudon A, Chawla A. Immunity around the clock. *Science*, 2016, 354: 999–1003
- 7 He W, Holtkamp S, Hergenhan S M, et al. Circadian expression of migratory factors establishes lineage-specific signatures that guide the homing of leukocyte subsets to tissues. *Immunity*, 2018, 49: 1175–1190.e7
- 8 Hadadi E, Taylor W, Li X M, et al. Chronic circadian disruption modulates breast cancer stemness and immune microenvironment to drive

- metastasis in mice. *Nat Commun*, 2020, 11: 3193
- 9 Pick R, He W, Chen C S, et al. Time-of-day-dependent trafficking and function of leukocyte subsets. *Trends Immunol*, 2019, 40: 524–537
- 10 Palomino-Segura M, Hidalgo A. Circadian immune circuits. *J Exp Med*, 2021, 218: e20200798
- 11 Xuan W, Hsu W H, Khan F, et al. Circadian regulator CLOCK drives immunosuppression in glioblastoma. *Cancer Immunol Res*, 2022, 10: 770–784
- 12 Wu Y, Tao B, Zhang T, et al. Pan-cancer analysis reveals disrupted circadian clock associates with T cell exhaustion. *Front Immunol*, 2019, 10: 2451
- 13 Wang C, Zeng Q, Gül Z M, et al. Circadian tumor infiltration and function of CD8⁺ T cells dictate immunotherapy efficacy. *Cell*, 2024, 187: 2690–2702.e17
- 14 Xia L, Oyang L, Lin J, et al. The cancer metabolic reprogramming and immune response. *Mol Cancer*, 2021, 20: 28
- 15 Timmons G A, O’Siorain J R, Kennedy O D, et al. Innate rhythms: clocks at the center of monocyte and macrophage function. *Front Immunol*, 2020, 11: 1743
- 16 Holtkamp S J, Ince L M, Barnoud C, et al. Circadian clocks guide dendritic cells into skin lymphatics. *Nat Immunol*, 2021, 22: 1375–1381
- 17 Gray K J, Gibbs J E. Adaptive immunity, chronic inflammation and the clock. *Semin Immunopathol*, 2022, 44: 209–224
- 18 Cervantes-Silva M P, Carroll R G, Wilk M M, et al. The circadian clock influences T cell responses to vaccination by regulating dendritic cell antigen processing. *Nat Commun*, 2022, 13: 7217
- 19 Kolbe I, Brehm N, Oster H. Interplay of central and peripheral circadian clocks in energy metabolism regulation. *J Neuroendocrinol*, 2019, 31: e12659
- 20 Yuan Y, Wu S, Li W, et al. A tissue-specific rhythmic recruitment pattern of leukocyte subsets. *Front Immunol*, 2020, 11: 102
- 21 Shimba A, Ikuta K. Glucocorticoids regulate circadian rhythm of innate and adaptive immunity. *Front Immunol*, 2020, 11: 2143
- 22 Druzd D, Matveeva O, Ince L, et al. Lymphocyte circadian clocks control lymph node trafficking and adaptive immune responses. *Immunity*, 2017, 46: 120–132
- 23 Donnelly H, Mandrou E, Insall R. Sinking while you swim: a dual role for CCR7 in leukocyte migration. *Sci Immunol*, 2023, 8: eadj3102
- 24 Xu D, Liu X, Ke S, et al. CCL19/CCR7 drives regulatory T cell migration and indicates poor prognosis in gastric cancer. *BMC Cancer*, 2023, 23: 464
- 25 Early J O, Menon D, Wyse C A, et al. Circadian clock protein BMAL1 regulates IL-1 β in macrophages via NRF2. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115: E8460–E8468
- 26 Kiessling S, Dubeau-Laramée G, Ohm H, et al. The circadian clock in immune cells controls the magnitude of Leishmania parasite infection. *Sci Rep*, 2017, 7: 10892
- 27 Zeng Y, Guo Z, Wu M, et al. Circadian rhythm regulates the function of immune cells and participates in the development of tumors. *Cell Death Discov*, 2024, 10: 199
- 28 Kitchen G B, Cunningham P S, Poolman T M, et al. The clock gene *Bmal1* inhibits macrophage motility, phagocytosis, and impairs defense against pneumonia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117: 1543–1551
- 29 Adrover J M, del Fresno C, Crainiciuc G, et al. A neutrophil timer coordinates immune defense and vascular protection. *Immunity*, 2019, 50: 390–402.e10
- 30 Chai H, Qu H, He S, et al. Zedoarondiol inhibits atherosclerosis by regulating monocyte migration and adhesion via CXCL12/CXCR4 pathway. *Pharmacol Res*, 2022, 182: 106328
- 31 Lange T, Luebber F, Grasshoff H, et al. The contribution of sleep to the neuroendocrine regulation of rhythms in human leukocyte traffic. *Semin Immunopathol*, 2022, 44: 239–254
- 32 Lin Y, He L, Cai Y, et al. The role of circadian clock in regulating cell functions: implications for diseases. *MedComm*, 2024, 5: e504
- 33 Pariollaud M, Gibbs J E, Hopwood T W, et al. Circadian clock component REV-ERB α controls homeostatic regulation of pulmonary inflammation. *J Clin Invest*, 2018, 128: 2281–2296
- 34 Arrué P, Laksari K, Russo M, et al. Associating frailty and dynamic dysregulation between motor and cardiac autonomic systems. *Front Aging*, 2024, 5: 1396636
- 35 Zhang D, Chen G, Manwani D, et al. Neutrophil ageing is regulated by the microbiome. *Nature*, 2015, 525: 528–532
- 36 Casanova-Acebes M, Pitaval C, Weiss L A, et al. Rhythmic modulation of the hematopoietic niche through neutrophil clearance. *Cell*, 2013, 153: 1025–1035
- 37 Hopwood T W, Hall S, Begley N, et al. The circadian regulator BMAL1 programmes responses to parasitic worm infection via a dendritic cell clock. *Sci Rep*, 2018, 8: 3782
- 38 Amir M, Campbell S, Kamenecka T M, et al. Pharmacological modulation and genetic deletion of REV-ERB α and REV-ERB β regulates dendritic cell development. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 527: 1000–1007

- 39 Long J E, Drayson M T, Taylor A E, et al. Morning vaccination enhances antibody response over afternoon vaccination: a cluster-randomised trial. *Vaccine*, 2016, 34: 2679–2685
- 40 Cermakian N, Stegeman S K, Tekade K, et al. Circadian rhythms in adaptive immunity and vaccination. *Semin Immunopathol*, 2022, 44: 193–207
- 41 Shimba A, Cui G, Tani-ichi S, et al. Glucocorticoids drive diurnal oscillations in T cell distribution and responses by inducing interleukin-7 receptor and CXCR4. *Immunity*, 2018, 48: 286–298.e6
- 42 Ince L M, Barnoud C, Lutes L K, et al. Influence of circadian clocks on adaptive immunity and vaccination responses. *Nat Commun*, 2023, 14: 476
- 43 Nobis C C, Dubeau Laramée G, Kervezee L, et al. The circadian clock of CD8 T cells modulates their early response to vaccination and the rhythmicity of related signaling pathways. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116: 20077–20086
- 44 Bollinger T, Leutz A, Leliavski A, et al. Circadian clocks in mouse and human CD4⁺ T Cells. *PLoS One*, 2011, 6: e29801
- 45 Ward E M, Germolec D, Kogevinas M, et al. Carcinogenicity of night shift work. *Lancet Oncol*, 2019, 20: 1058–1059
- 46 Mohawk J A, Green C B, Takahashi J S. Central and peripheral circadian clocks in mammals. *Annu Rev Neurosci*, 2012, 35: 445–462
- 47 Mocellin S, Tropea S, Benna C, et al. Circadian pathway genetic variation and cancer risk: evidence from genome-wide association studies. *BMC Med*, 2018, 16: 20
- 48 Morales-Santana S, Morell S, Leon J, et al. An overview of the polymorphisms of circadian genes associated with endocrine cancer. *Front Endocrinol*, 2019, 10: 104
- 49 Aviram R, Manella G, Kopelman N, et al. Lipidomics analyses reveal temporal and spatial lipid organization and uncover daily oscillations in intracellular organelles. *Mol Cell*, 2016, 62: 636–648
- 50 Minami Y, Kasukawa T, Kakazu Y, et al. Measurement of internal body time by blood metabolomics. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 9890–9895
- 51 Gamble K L, Berry R, Frank S J, et al. Circadian clock control of endocrine factors. *Nat Rev Endocrinol*, 2014, 10: 466–475
- 52 Bedrosian T A, Fonken L K, Nelson R J. Endocrine effects of circadian disruption. *Annu Rev Physiol*, 2016, 78: 109–131
- 53 Guerrero-Vargas N N, Navarro-Espíndola R, Guzmán-Ruiz M A, et al. Circadian disruption promotes tumor growth by anabolic host metabolism; experimental evidence in a rat model. *BMC Cancer*, 2017, 17: 625
- 54 Zhang Z, Zeng P, Gao W, et al. Circadian clock: a regulator of the immunity in cancer. *Cell Commun Signal*, 2021, 19: 37
- 55 Aiello I, Fedele M L M, Román F, et al. Circadian disruption promotes tumor-immune microenvironment remodeling favoring tumor cell proliferation. *Sci Adv*, 2020, 6: eaaz4530
- 56 Alexander R K, Liou Y H, Knudsen N H, et al. Bmal1 integrates mitochondrial metabolism and macrophage activation. *eLife*, 2020, 9: e54090
- 57 Myers J A, Miller J S. Exploring the NK cell platform for cancer immunotherapy. *Nat Rev Clin Oncol*, 2021, 18: 85–100
- 58 Logan R W, Zhang C, Murugan S, et al. Chronic shift-lag alters the circadian clock of NK cells and promotes lung cancer growth in rats. *J Immunol*, 2012, 188: 2583–2591
- 59 Wang Y, Guo H, He F. Circadian disruption: from mouse models to molecular mechanisms and cancer therapeutic targets. *Cancer Metastasis Rev*, 2023, 42: 297–322
- 60 Sephton S E. Diurnal cortisol rhythm as a predictor of breast cancer survival. *J Natl Cancer Institute*, 2000, 92: 994–1000
- 61 Zeng X, Liang C, Yao J. Chronic shift-lag promotes NK cell ageing and impairs immunosurveillance in mice by decreasing the expression of CD122. *J Cell Mol Med*, 2020, 24: 14583–14595
- 62 Nakamura Y, Nakano N, Ishimaru K, et al. Circadian regulation of allergic reactions by the mast cell clock in mice. *J Allergy Clin Immunol*, 2014, 133: 568–575.e12
- 63 Khazaie K, Blatner N R, Khan M W, et al. The significant role of mast cells in cancer. *Cancer Metastasis Rev*, 2011, 30: 45–60
- 64 Ligan C. The regulatory role and mechanism of mast cells in tumor microenvironment. *Am J Cancer Res*, 2024, 14: 1–15
- 65 Bishehsari F, Saadalla A, Khazaie K, et al. Light/dark shifting promotes alcohol-induced colon carcinogenesis: possible role of intestinal inflammatory milieu and microbiota. *Int J Mol Sci*, 2016, 17: 2017
- 66 Wu L, Saxena S, Singh R K. Neutrophils in the Tumor Microenvironment? *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1224: 1–20
- 67 Ghaffari S, Rezaei N. Eosinophils in the tumor microenvironment: implications for cancer immunotherapy. *J Transl Med*, 2023, 21: 551
- 68 Scheiermann C, Gibbs J, Ince L, et al. Clocking in to immunity. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18: 423–437
- 69 Wang C, Barnoud C, Cenerenti M, et al. Dendritic cells direct circadian anti-tumour immune responses. *Nature*, 2023, 614: 136–143
- 70 Murgo E, De Santis E, Sansico F, et al. The circadian clock circuitry modulates leukemia initiating cell activity in T-cell acute lymphoblastic leukemia. *J Exp Clin Cancer Res*, 2023, 42: 218
- 71 Lee I K, Song H, Kim H, et al. ROR α regulates cholesterol metabolism of CD8⁺ T cells for anticancer immunity. *Cancers*, 2020, 12: 1733
- 72 Liu J L, Wang C Y, Cheng T Y, et al. Circadian clock disruption suppresses PDL1⁺ intraepithelial B cells in experimental colitis and colitis-associated colorectal cancer. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2021, 12: 251–276
- 73 Nomura M, Hosokai T, Tamaoki M, et al. Timing of the infusion of nivolumab for patients with recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of

- the esophagus influences its efficacy. [Esophagus](#), 2023, 20: 722–731
- 74 Yeung C, Kartolo A, Tong J, et al. Association of circadian timing of initial infusions of immune checkpoint inhibitors with survival in advanced melanoma. [Immunotherapy](#), 2023, 15: 819–826
- 75 Rousseau A, Tagliamento M, Auclin E, et al. Clinical outcomes by infusion timing of immune checkpoint inhibitors in patients with advanced non-small cell lung cancer. [Eur J Cancer](#), 2023, 182: 107–114
- 76 Gonçalves L, Gonçalves D, Esteban-Casanelles T, et al. Immunotherapy around the clock: impact of infusion timing on stage IV melanoma outcomes. [Cells](#), 2023, 12: 2068
- 77 Qian D C, Kleber T, Brammer B, et al. Effect of immunotherapy time-of-day infusion on overall survival among patients with advanced melanoma in the USA(MEMOIR): a propensity score-matched analysis of a single-centre, longitudinal study. [Lancet Oncol](#), 2021, 22: 1777–1786
- 78 Karaboué A, Collon T, Pavese I, et al. Time-dependent efficacy of checkpoint inhibitor nivolumab: results from a pilot study in patients with metastatic non-small-cell lung cancer. [Cancers](#), 2022, 14: 896
- 79 Li X M, Delaunay F, Dulong S, et al. Cancer inhibition through circadian reprogramming of tumor transcriptome with meal timing. [Cancer Res](#), 2010, 70: 3351–3360
- 80 Shi D, Fang G, Chen Q, et al. Six-hour time-restricted feeding inhibits lung cancer progression and reshapes circadian metabolism. [BMC Med](#), 2023, 21: 417

Summary for “免疫生物钟与肿瘤发生发展”

Immune circadian clock and tumorigenesis

Xu Wang[†], Yuqing Yang[†], Keyu Su[†], Zhuoran Zhao, Xianxian Liu, Qihui Xiong, Fei Peng^{*},
Quentin Liu^{*} & Bai Cui^{*}

Institute of Cancer Stem Cell, Dalian Medical University, Dalian 116044, China

[†] Equally contributed to this work

^{*} Corresponding authors, E-mail: pengfei@dmu.edu; liuq9@mail.sysu.edu.cn; cuibai@dmu.edu.cn

In order to accommodate the light/dark cycle generated by the Earth's rotation with a period of about 24 hours, circadian clocks evolved in most organisms to coordinate with the external cyclic environment during the long process of evolution. The molecular circadian clock is a transcription-translation feedback loop (TTFL) mainly composed of the positive arm driven by CLOCK (circadian locomotor output cycles kaput)-BMAL1 (basic helix-loop-helix ARNT like 1, BMAL1) and the negative arm driven by CRY (cryptochrome)-PER (period). This negative feedback mechanism enables the circadian transcription of downstream circadian-controlled genes that participate in regulating circadian physiological processes. The circadian clock regulates a multitude of physiological functions, including immunity that plays a crucial role in fighting against tumor invasion. The circadian clock orchestrates the quantity, spatial arrangement, and mobilization of immune cells, as well as modulating the anti-tumor immune response in both innate and adaptive immunity. Innate immunity exhibits significant circadian rhythms in the functions of migration, motility, phagocytosis and antigen presentation of monocytes, macrophages, neutrophils and dendritic cells. Similarly, adaptive immunity showed circadian oscillations in the recognition of foreign antigens by B cells and subsets of T cells and cytotoxicity.

The circadian clock is critical for the preservation of efficient antitumor immune function. Immune cells rhythmically secrete perforin, granzyme B, interferon and other cytotoxic factors to ensure lymphocyte infiltration, activation and cytotoxicity within the tumor, which maintains effective anti-tumor activity to resist tumor development. In modern society, people's lifestyles have undergone great changes, shift work, night-time feeding and staying up late and other unhealthy lifestyles harm health, and cause the internal immune rhythm of the organism to lose synchronization with the external environment. This forms an immunosuppressive microenvironment that undermines anti-tumor immune function and promotes the malignant progression of tumors by inhibiting the activation, proliferation or cytotoxicity of tumor-infiltrating T cells. Importantly, the efficacy of anti-tumor immunotherapy depends on the rhythmic variation of immune cells across the day, considering that the immune system might be differentially modulated by the circadian clock in individuals, individualized chrono-immunotherapy is of great significance for cancer treatment.

In this review, we summarize the latest understanding of the immune circadian clock and the mechanisms of how rhythm disturbances in immune cells attenuate anti-tumor immune function. Further, we illustrate that chrono-immunotherapy restores immune rhythm for cancer treatment, and propose that restoring the patient's immune rhythm in addition to conventional cancer treatment can achieve improved therapeutic efficacy. Understanding the role of immune clock disruption in tumor development, as well as in-depth investigation on chrono-immunotherapy will be of benefit for developing novel strategies for the treatment of patients with cancer.

immune rhythm, circadian clock, tumor, chronotherapy

doi: [10.1360/TB-2024-0874](https://doi.org/10.1360/TB-2024-0874)