



李斌, 二级研究员、余灏学者、上海交通大学特聘教授、国家基金委免疫学杰出青年、上海市领军人才、上海市优秀学科带头人、上海市免疫学研究所科研副所长&课题组长; 普米斯生物联合创始人&科学委员会主席; 高探生物科学委员会主席; 中国细胞生物学学会科学普及工作委员会主任&免疫细胞生物学分会副会长、欧美同学会上海生物医药分会会长, *Science Bulletin* 副主编(2018)、*Cellular & Molecular Immunology* 编委(2018)、*European Journal of Immunology* 执行副主编(2020)、*JGG* 编委(2020)。主持国家基金委杰出青年基金、重点项目(3项)、中美及中波国际合作项目等; 2009年回国以来, 在国际学术刊物如*Nat Immunol*、*Immunity*、*PNAS*、*Nat Comms*、*J Biol Chem*、*J Immunol*、*Cutting Edge*、*J Virol*、*PLoS Pathogens*、*EMBO Rep*等杂志以通讯作者及共同通讯作者发表文章60余篇。

利用单克隆抗体靶向清除Treg的肿瘤免疫疗法

翟天航, 张温乐, 梁瑞, 李斌*

(上海交通大学医学院, 上海市免疫学研究所, 上海 200025)

摘要: 以抗PD-1/PD-L1免疫检查点为靶点, 通过激活肿瘤微环境T细胞杀伤肿瘤的作用机制, 已在多种实体瘤临床免疫治疗中获得验证。但以清除肿瘤微环境免疫抑制性Treg细胞为靶点, 通过激活肿瘤微环境效应性免疫反应来杀伤肿瘤的作用机制目前仍有待更深入研究。本文系统探讨了以CTLA-4、TIGIT、CCR8为代表的靶向Treg表面分子的单克隆抗体疗法的最新进展及潜在作用机制, 以期为更加安全有效地靶向清除Treg的抗体药物研发提供新思路, 为更多晚期恶性肿瘤患者免疫治疗临床获益提供新的可选药物。

关键词: 肿瘤免疫治疗; Treg; 抗体疗法; CTLA-4; TIGIT; CCR8

Treg depletion by monoclonal antibodies for cancer immunotherapy

ZHAI Tianhang, ZHANG Wenle, LIANG Rui, LI Bin*

(Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai Institute of Immunology, Shanghai 200025, China)

Abstract: The mechanism of blocking inhibitory signal in T cells to kill tumor cells, such as anti-PD-1/PD-L1 monoclonal antibodies, has been approved in several different types of tumors in clinical stage. However, the mechanism of Treg depletion by monoclonal antibodies to inhibit tumor growth is controversy, especially in patients. In this paper, the advances of Treg depletion monoclonal antibodies targeting CTLA-4, TIGIT, CCR8 are summarized, and the controversies are discussed, so as to provoke new insight for further development of efficacious and safe Treg depletion therapy to benefit tumor patients.

收稿日期: 2022-03-24

基金项目: 国家杰出青年科学基金项目(31525008); 国家自然科学基金项目(32130041, 81830051, 31961133011); 国家重点研发计划(2019YFA0906102); 上海市细胞稳态调控与疾病前沿科学研究基地项目; 上海交通大学(SJTU)-香港中文大学(CUHK)联合研究合作基金项目; 中央高校基本科研专项资金项目

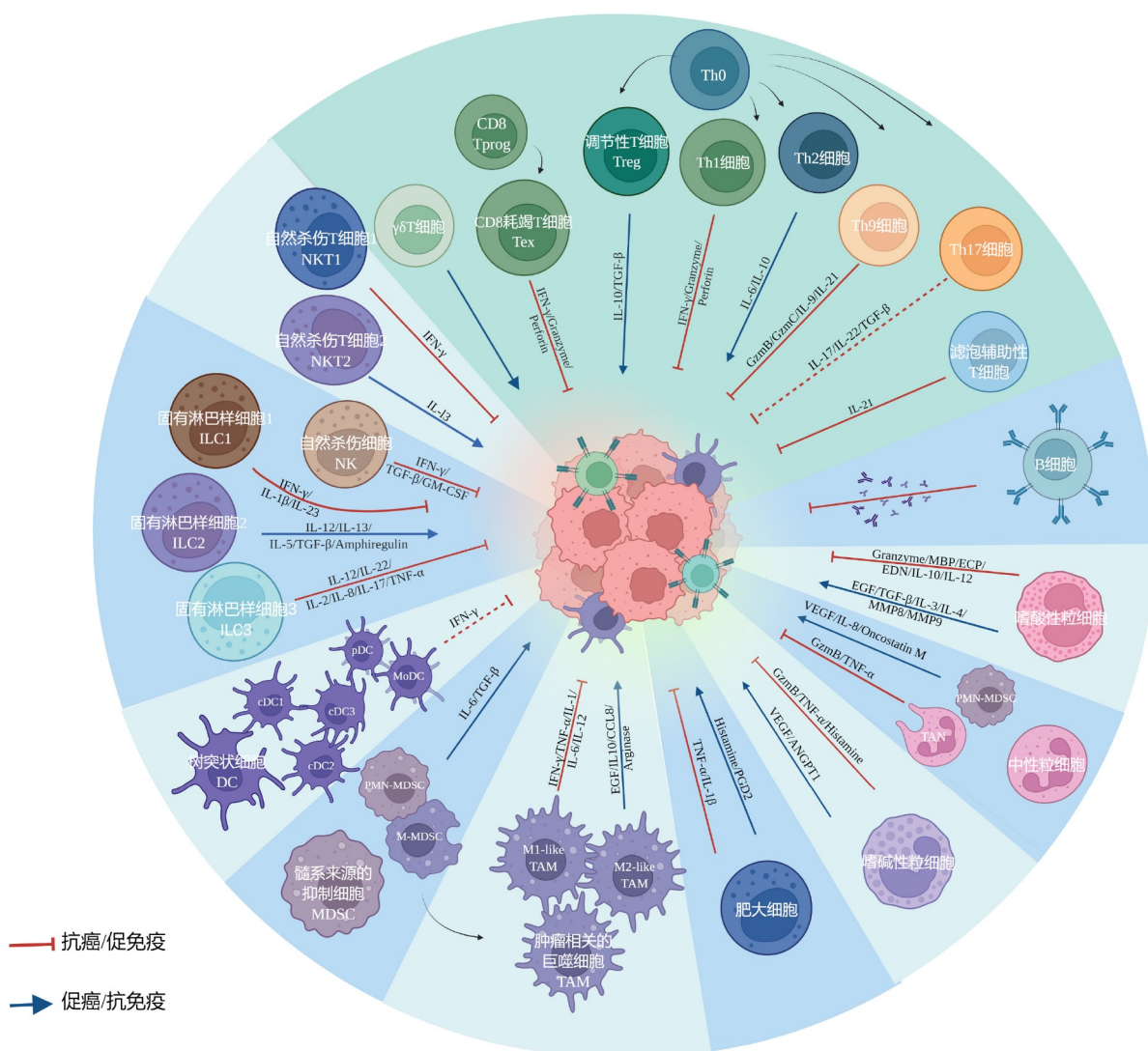
第一作者: E-mail: tianhangzhai@163.com

*通信作者: E-mail: binli@shsmu.edu.cn

Key Words: cancer immunotherapy; Treg; antibody therapy; CTLA-4; TIGIT; CCR8

不同于传统的放射疗法和化学疗法效果差、毒副作用大等特点，以抗PD-1/PD-L1单克隆抗体为代表的肿瘤免疫治疗取得了突破性进展。但是该疗法在实体肿瘤中整体响应率仅为10%~30%^[1]。因此，开发新的免疫疗法提高肿瘤患者的响应率和生存期仍是未被满足的临床需求。肿瘤微环境中浸润的免疫细胞种类、功能复杂(图1)，调节性T细胞(regulatory T cells, Treg)作为免疫负调控细胞在肿瘤的发生发展中发挥重要作用^[2]。多项研究表明，

在肿瘤微环境中存在大量Treg细胞浸润，通过细胞表面高表达的细胞毒T淋巴细胞相关抗原-4(cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4)竞争结合CD80、CD86激活信号，高亲和力IL-2受体CD25竞争结合IL-2，释放免疫抑制因子TGF- β 、IL-10等机制抑制免疫应答，从而促进肿瘤发生发展^[3-6]。因此，多家药企和研究机构致力于开发清除肿瘤微环境Treg的疗法，期望解除免疫抑制，增加患者对肿瘤的免疫应答。其中，开发单克隆抗体靶向Treg高



肿瘤组织微环境中有非常复杂的免疫细胞，从先天免疫到适应性免疫细胞。大部分免疫细胞对肿瘤发生发展都具有包括正向和负向的双向影响。免疫细胞也受肿瘤微环境的影响，肿瘤相关的巨噬细胞(TAM)、肿瘤相关的中性粒细胞(TAN)等的功能水平和发育分化受到肿瘤细胞及微环境的调控

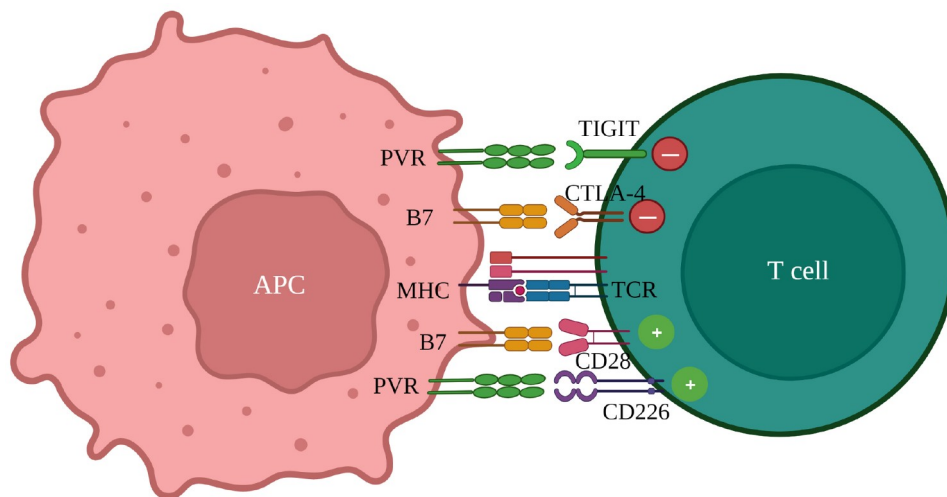
图1 肿瘤微环境中的免疫细胞

表达的CD25、CCR4、TNFR2、CTLA-4、T细胞免疫球蛋白和ITIM结构域(T cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains, TIGIT)、趋化因子受体8[chemokine (C- C motif) receptor 8, CCR8]等分子,通过抗体依赖性的细胞介导的细胞毒作用(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)杀伤Treg是一个重要研究方向^[7-9]。本文将重点综述目前作用机制争议较大或极具临床开发潜力的靶向CTLA-4、TIGIT、CCR8的单克隆疗法的最新研究进展,以期更好地了解单克隆抗体清除Treg的作用机制,并为开发更加安全有效的靶向清除Treg的免疫疗法提供新思路。

1 CTLA-4单克隆抗体靶向清除Treg研究进展

CTLA-4在活化的T细胞上高表达,作为抑制性受体,以更高的亲和力与T细胞激活受体CD28竞争结合CD80、CD86配体进而抑制T细胞对肿瘤细胞的杀伤活性(图2)。基于三期中位总生存期显著优于标准治疗的临床数据,首个CTLA-4阻断型IgG1单克隆抗体Ipilimumab在2011年获得美国FDA批准用于晚期黑色素瘤的治疗,从而开启了肿瘤免疫治疗时代^[10]。但随后研究发现,CTLA-4阻断型IgG2单克隆抗体Tremelimumab在晚期黑色素瘤的三期临床试验中与标准化疗组相比,中位无进展生存期无显著差异而宣告失败^[11]。尽管没有头

对头的直接临床数据对比,不同Fc亚型抗体的不同临床表现也引发了大家对CTLA-4单克隆抗体作用机制的思考。CTLA-4除了在活化的T细胞上高表达以外,在肿瘤浸润的Treg上也呈现高表达。近年来,越来越多的研究表明,针对CTLA-4靶点的抗体药物并非通过阻断CTLA-4/B7信号,而是通过靶向清除肿瘤浸润Treg的方式发挥功效。Seldy等^[12]在小鼠结肠直肠癌MC38和CT-26模型中发现,小鼠IgG2a亚型的抗小鼠CTLA-4单抗可以显著抑制肿瘤生长,而小鼠IgG1和小鼠IgG1-D265A亚型的抗体未见肿瘤抑制活性。进一步分析发现,小鼠IgG2a亚型的CTLA-4单抗可以显著降低肿瘤浸润的Treg细胞数量。Bulliard等^[13]在FcγR敲除小鼠中发现,不同于野生型小鼠接受阻断型CTLA-4抗体治疗后小鼠肿瘤生长被显著抑制,FcγR敲除小鼠接受治疗后肿瘤生长未见延缓。Simpson等^[14]在小鼠黑色素瘤模型中发现,抗CTLA-4抗体通过清除肿瘤浸润Treg发挥抗肿瘤活性。Ingram等^[15]发现,完整小鼠IgG2a的抗CTLA-4抗体(抗CTLA-4-mG2a)或者抗CTLA-4的抗体片段均可以有效阻断CTLA-4抑制信号,但只有完整的抗CTLA-4-mG2a抗体可以抑制肿瘤生长并下调肿瘤浸润的Treg细胞数量/比例,具有阻断活性的CTLA-4抗体片段不具备抑制肿瘤生长的能力。Du等^[10]采用CTLA-4人源化小鼠模型、CTLA-4人鼠嵌合小鼠模型,利用非阻断型CTLA-4抗体,证实CTLA-4抗体通过Fc介导的肿瘤



CTLA-4能够以更高的亲和力与CD28竞争结合B7(CD80/CD86),阻断T细胞的第二活化信号传递。TIGIT以更高的亲和力结合PVR,阻断CD226同型二聚化与下游的信号,产生抑制信号,下调T细胞和NK细胞的功能

图2 CTLA-4、TIGIT作为T细胞表面抑制分子的作用机制

浸润Treg清除而非阻断活性来发挥抗肿瘤作用。Arce Vargas等^[16]在人FcγR转基因小鼠研究中发现, Fc功能增强型抗CTLA-4单抗具有显著增强的抗肿瘤活性和清除肿瘤浸润Treg的能力, 与之对应的在晚期黑色素瘤病人中发现, 对Ipilimumab的响应率与病人CD16a-V158F突变呈正相关。Romano等^[17]分析经Ipilimumab治疗响应和非响应的晚期黑色素瘤病人发现, Ipilimumab可以介导离体(*ex-vivo*)表达CD16(FcγR III A)的非经典单核细胞通过ADCC裂解Treg细胞。在肿瘤微环境中, 应答者在基线时具有较高的表达Fc受体的巨噬细胞比率, 并且在治疗4周后肿瘤浸润的Treg细胞明显减少^[17]。而Sharma等^[18]对经Ipilimumab治疗的膀胱癌、前列腺癌、黑色素瘤的案例分析发现, Ipilimumab并未改变患者肿瘤浸润的Treg数目。

以上研究提示, 在临床前小鼠模型中, 具有完整Fc功能的CTLA-4抗体可以显著清除肿瘤浸润的Treg进而发挥抗肿瘤活性。但是, 在临床病人体内, CTLA-4抗体是否通过清除肿瘤浸润的Treg发挥作用还需要进一步探索。同时, Ipilimumab的临床毒副作用也一定程度上限制了其进一步广泛应用。因此, 明确CTLA-4抗体在人体内的作用机理, 开发更加安全有效的CTLA-4抗体是多家药企和机构现阶段的研究重点, 如国内天演药业开发的弱阻断、强ADCC活性的抗体^[19], BMS开发的去岩藻糖化ADCC增强型的Ipilimumab。同时, 天演药业和BMS也都研发了抗CTLA-4 Probody^[20], 机制上可以在肿瘤微环境蛋白酶的作用中去除屏蔽肽, 提高药物选择性, 减少毒副作用。Zhang等^[21]则开发了pH敏感的CTLA-4抗体, 通过避免溶酶体对CTLA-4的降解机制来平衡安全性和有效性。上述新型CTLA-4抗体已经陆续进入临床研究阶段, 后续的临床数据将有助于更好地在人体内了解抗CTLA-4抗体的作用机理, 为肿瘤患者提供潜在安全有效的免疫治疗药物。

2 TIGIT单克隆抗体靶向清除Treg研究进展

与CTLA-4作用机理相似的另一分子为T细胞免疫球蛋白和ITIM结构域(T cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains, TIGIT)。TIGIT最早被基因泰克公司发现, 在CD8⁺ T细胞上高表达, 作

为免疫抑制受体与免疫激活分子CD226竞争结合配体PVR进而传递抑制信号, 抑制T细胞对病毒感染细胞或肿瘤细胞的杀伤(图2)^[22,23]。同时, 后续研究发现与CTLA-4相似, TIGIT在肿瘤浸润Treg细胞上高表达。随着研究的深入, 多家研究机构在临床前小鼠模型中发现具有完整Fc功能的TIGIT抗体可以显著抑制小鼠肿瘤生长, 且抑瘤活性显著优于Fc功能缺失的TIGIT抗体。Yang等^[24]在多种小鼠肿瘤模型中发现, Fc功能增强型的TIGIT抗体可以进一步增强抗肿瘤活性, 且该活性与清除肿瘤浸润的Treg相关, 而这一现象也在Argast等^[25]的研究中得到验证。Cuende等^[26]在*ex-vivo*体系中发现, 具有完整Fc功能的TIGIT抗体可以选择性清除肿瘤患者PBMC里面的Treg细胞。而真正让研究者认识到Fc功能对TIGIT的重要作用为首个临床阶段的IgG1型抗TIGIT单克隆抗体Tiragolumab与Atezolizumab联合一线治疗非小细胞肺癌的数据, 与安慰剂+Atezolizumab相比, Tiragolumab+Atezolizumab联合治疗组患者的客观缓解率(ORR)为20.6% VS 38.8%。而且, 联合用药还将疾病恶化或死亡的风险(无进展生存期)降低了38%。此外, 在PD-L1高表达(肿瘤比例评分TPS ≥ 50%)患者中的一项探索性分析显示, 与Atezolizumab单药治疗相比, 联合用药使疾病进展或死亡的风险降低了71%, 两者的ORR分别为24.1%和69%。而在安全性方面, 联合用药表现出良好的耐受性^[27]。但是该研究没有伴随检测肿瘤浸润Treg的数据, 因此, 抗TIGIT单抗与抗PD-L1单抗联合用药的临床药效是否和肿瘤浸润Treg清除相关, 目前尚无定论。

除Tiragolumab之外, 百济神州的IgG1型抗TIGIT单抗Ociperlimab、Merck的IgG1型抗TIGIT单抗Vibostolimab、Acrus的IgG4型抗TIGIT单抗Domvanalimab^[28]、信达生物的IgG4型抗TIGIT单抗IBI939等都在开展与PD-1抗体的联合用药临床探索。随着研究的深入, 后续的临床结果将有助于研究者更好地理解抗TIGIT抗体的作用机制, 为开发新一代抗TIGIT单抗和双特异性抗体提供数据支持。

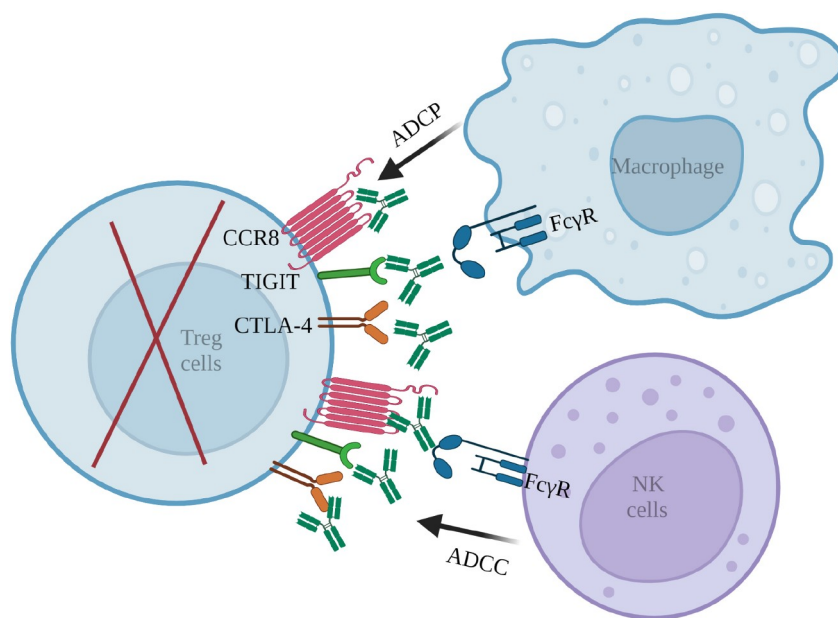
3 CCR8单克隆抗体靶向清除Treg研究进展

不同于CTLA-4、TIGIT等免疫检查点分子在T

细胞上高表达、在外周Treg细胞上表达等特性，CCR8在肿瘤浸润的Treg细胞上特异性高表达^[29]。Plitas等^[30]比对了乳腺癌患者的肿瘤组织、正常组织以及外周血中Treg的RNA-seq数据，发现肿瘤部位的Treg呈现CCR8特异性高表达，且CCR8⁺ Treg细胞与患者预后差呈正相关。随后，Zheng等^[31]在肝细胞癌、Zhang等^[32]在结直肠癌、Guo等^[33]在非小细胞肺癌、Yi等^[34]在胰腺癌的分析数据均显示，CCR8在肿瘤浸润的Treg上特异性高表达。Yi等^[34]同时还发现，CCR8⁺ Treg细胞与胰腺癌患者总生存期呈负相关。Villareal等^[35]在小鼠模型中也观察到了同样的现象——与外周Treg细胞相比，CCR8在肿瘤浸润的Treg细胞上高表达，同时发现CCR8阻断型抗体可以显著下调肿瘤浸润Treg细胞数目进而发挥抗肿瘤活性。随后，Whiteside等^[36]基于CCR8基因敲除小鼠模型的研究结果却不符合这一结论，该研究发现，敲除CCR8基因并不影响小鼠肿瘤微环境内浸润的Treg细胞数目，而CCR8单抗发挥药效的潜在作用机制是借助抗体ADCC活性清除肿瘤浸润的Treg细胞。最近，Van Damme等^[37]在小鼠李维斯肺癌模型中发现，与外周Treg相比，CCR8在小鼠肿瘤浸润的Treg细胞特异性高表达。当同时采用Fc功能缺失的CCR8阻断性抗体和具有

完整ADCC功能的CCR8单抗进行治疗时，仅具有ADCC功能的抗体可以显著抑制小鼠肿瘤的生长，阻断性抗体和对照组小鼠在肿瘤生长上无显著差异。同时，具有ADCC功能的抗体和PD-1抗体被发现具有协同抗肿瘤活性^[37]。Campbell等^[38]则在野生型IgG1抗体的基础上，基于工程改造开发去岩藻糖ADCC增强型的CCR8单克隆抗体，并在体外病人肿瘤组织共培养体系中发现，去岩藻糖的CCR8单抗可以在病人肿瘤组织中清除肿瘤浸润的Treg细胞。

BMS公司开发的去岩藻糖的CCR8单抗BMS-986340、Gilead/Jounce开发的去岩藻糖的CCR8单抗JTX-471、礼新医药的CCR8单抗LM-108目前已在开展单药或和PD-1单抗联合的一期临床研究^[39]。和铂医药的CCR8单抗HBM1022、Surface Oncology的去岩藻糖CCR8单抗SRF114等目前在临床前研究阶段^[40,41]。随着临床研究的进展，在不久的将来，我们将明确CCR8单抗是否可以在实体瘤内特异性清除肿瘤浸润的Treg细胞，增加病人对肿瘤免疫治疗的响应率和响应时间。同时，McCully等^[42]发现，CCR8在皮肤组织驻留的记忆性T细胞上高表达。尽管CCR8单克隆抗体相较于其他靶点可以避免因全身清除Treg导致自身免疫疾病的潜在



CTLA-4、TIGIT和CCR8单克隆抗体，通过巨噬细胞介导的抗体依赖的细胞介导的吞噬作用(ADCP)和NK细胞介导的抗体依赖的细胞介导的细胞毒作用(ADCC)靶向杀伤CTLA-4、TIGIT和CCR8高表达的Treg细胞

图3 CTLA-4、TIGIT、CCR8单克隆抗体清除Treg作用机制

风险, 也要重点关注临床因为清除皮肤组织驻留的记忆性T细胞导致的潜在感染风险。

4 总结与展望

在临床前小鼠模型中, 多种单克隆抗体靶向清除Treg进而抑制肿瘤生长的机制已得到充分论证, 但人体内临床试验与复杂的作用机制尚未得到充分证实。靶向CTLA-4的单克隆抗体虽然在晚期黑色素瘤临床治疗上获得了成功, 但伴随的毒副作用限制了其进一步的开发; 靶向TIGIT单克隆抗体虽然和抗PD-L1单抗联合用药在一线PD-L1高表达的非小细胞肺癌二期临床试验中取得成功, 但是患者接受TIGIT单克隆抗体单药治疗未见明显临床获益; 靶向CCR8单克隆抗体目前都在临床前期, 具体的安全性和有效性还需要进一步验证。因此, 开发靶向清除肿瘤浸润Treg发挥抗肿瘤活性、避免外周毒副作用的新一代免疫治疗产品仍是亟待解决的科学问题。本文对未来发展提出如下展望: (1)通过单细胞测序等手段发现新的肿瘤浸润Treg特异性表面分子, 开发新机制的靶向清除抗体; (2)在现有靶点基础上开发ADCC/ADCP增强型单克隆抗体, 提高清除肿瘤浸润Treg的效率与安全性; (3)与PD-1/PD-L1单克隆抗体等免疫调节剂联用, 开展临床探索; (4)开发Fc增强型双特异抗体精准靶向肿瘤浸润抑制性最强的Treg群体, 如CCR8/CTLA-4双抗等^[43]。未来, 靶向清除肿瘤浸润Treg的免疫疗法定将在抗肿瘤免疫中发挥重要作用。

参考文献

- [1] Ribas A, Wolchok JD. Cancer immunotherapy using checkpoint blockade. *Science*, 2018, 359(6382): 1350-1355
- [2] Ohue Y, Nishikawa H. Regulatory T (Treg) cells in cancer: can Treg cells be a new therapeutic target? *Cancer Sci*, 2019, 110(7): 2080-2089
- [3] Walker LSK, Sansom DM. The emerging role of CTLA4 as a cell-extrinsic regulator of T cell responses. *Nat Rev Immunol*, 2011, 11(12): 852-863
- [4] Setoguchi R, Hori S, Takahashi T, et al. Homeostatic maintenance of natural Foxp3⁺ CD25⁺ CD4⁺ regulatory T cells by interleukin (IL)-2 and induction of autoimmune disease by IL-2 neutralization. *J Exp Med*, 2005, 201(5): 723-735
- [5] Takahashi T, Kuniyasu Y, Toda M, et al. Immunologic self-tolerance maintained by CD25⁺CD4⁺ naturally anergic and suppressive T cells: induction of autoimmune disease by breaking their anergic/suppressive state. *Int Immunol*, 1998, 10(12): 1969-1980
- [6] Collison LW, Workman CJ, Kuo TT, et al. The inhibitory cytokine IL-35 contributes to regulatory T-cell function. *Nature*, 2007, 450(7169): 566-569
- [7] Rech AJ, Mick R, Martin S, et al. CD25 blockade depletes and selectively reprograms regulatory T cells in concert with immunotherapy in cancer patients. *Sci Transl Med*, 2012, 4(134): 134ra62
- [8] Kurose K, Ohue Y, Wada H, et al. Phase Ia study of FoxP3⁺ CD4⁺ Treg depletion by infusion of a humanized anti-CCR4 antibody, KW-0761, in cancer patients. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(19): 4327-4336
- [9] Yang Y, Islam MS, Hu Y, et al. TNFR2: role in cancer immunology and immunotherapy. *Immunotargets Ther*, 2021, 10: 103-122
- [10] Du X, Tang F, Liu M, et al. A reappraisal of CTLA-4 checkpoint blockade in cancer immunotherapy. *Cell Res*, 2018, 28(4): 416-432
- [11] Ribas A, Kefford R, Marshall MA, et al. Phase III randomized clinical trial comparing tremelimumab with standard-of-care chemotherapy in patients with advanced melanoma. *J Clin Oncol*, 2013, 31(5): 616-622
- [12] Selby MJ, Engelhardt JJ, Quigley M, et al. Anti-CTLA-4 antibodies of IgG2a isotype enhance antitumor activity through reduction of intratumoral regulatory T cells. *Cancer Immunol Res*, 2013, 1(1): 32-42
- [13] Bulliard Y, Jolicoeur R, Windman M, et al. Activating Fc γ receptors contribute to the antitumor activities of immunoregulatory receptor-targeting antibodies. *J Exp Med*, 2013, 210(9): 1685-1693
- [14] Simpson TR, Li F, Montalvo-Ortiz W, et al. Fc-dependent depletion of tumor-infiltrating regulatory T cells co-defines the efficacy of anti-CTLA-4 therapy against melanoma. *J Exp Med*, 2013, 210(9): 1695-1710
- [15] Ingram JR, Blomberg OS, Rashidian M, et al. Anti-CTLA-4 therapy requires an Fc domain for efficacy. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(15): 3912-3917
- [16] Arce Vargas F, Furness AJS, Litchfield K, et al. Fc effector function contributes to the activity of human anti-CTLA-4 antibodies. *Cancer Cell*, 2018, 33(4): 649-663
- [17] Romano E, Kusio-Kobialka M, Foukas PG, et al. Ipilimumab-dependent cell-mediated cytotoxicity of regulatory T cells *ex vivo* by nonclassical monocytes in melanoma patients. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(19): 6140-6145
- [18] Sharma A, Subudhi SK, Blando J, et al. Anti-CTLA-4

- immunotherapy does not deplete FOXP3⁺ regulatory T cells (Tregs) in human cancers. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(4): 1233-1238
- [19] Liu GZ, Fangyong F, She K, et al. Development of ADG116, a novel antagonist anti-CTLA-4 human antibody for cancer immunotherapy. *J Immunother Cancer*, 2019, 7(Suppl 1): 78-88
- [20] Liu GZ, She XH, Li Y, et al. A novel anti-CTLA-4 checkpoint inhibitor prodrug to address on-target off-tumor toxicity for cancer immunotherapy. *Cancer Res*, 2021, 81(13 Supplement): 1853
- [21] Zhang Y, Du X, Liu M, et al. Hijacking antibody-induced CTLA-4 lysosomal degradation for safer and more effective cancer immunotherapy. *Cell Res*, 2019, 29(8): 609-627
- [22] Chauvin JM, Zarour HM. TIGIT in cancer immunotherapy. *J Immunother Cancer*, 2020, 8(2): e000957
- [23] Harjunpää H, Guillerey C. TIGIT as an emerging immune checkpoint. *Clin Exp Immunol*, 2020, 200(2): 108-119
- [24] Yang F, Zhao L, Wei Z, et al. A cross-species reactive TIGIT-blocking antibody Fc dependently confers potent antitumor effects. *J Immunol*, 2020, 205(8): 2156-2168
- [25] Argast GM, Cancilla B, Cattaruzza F, et al. Anti-TIGIT biomarker study: inhibition of TIGIT induces loss of Tregs from tumors and requires effector function for tumor growth inhibition. *Cancer Res*, 2018, 78(13): 5627-5627
- [26] Cuende J, Rabolli V, Nyawouame F, et al. E0S884448, a high affinity fully human antibody directed against TIGIT, mediates *in vitro* anti-tumor activity through multiples mechanisms of action involving activation of intratumor effector cells and depletion of regulatory T cells. *Cancer Res*, 2019, 79(13): 3240-3240
- [27] Cho BC, Rodriguez-Abreu D, Hussein M, et al. LBA2 Updated analysis and patient-reported outcomes (PROs) from CITYSCAPE: a randomised, double-blind, phase II study of the anti-TIGIT antibody tiragolumab + atezolizumab (TA) versus placebo+atezolizumab (PA) as first-line treatment for PD-L1+NSCLC. *Ann Oncol*, 2021, 32: S1428
- [28] Li Y, Krishnan K, Gilbert H, et al. P16.07 ARC-10: phase 3 study of zimberelimab+domvanalimab vs standard chemotherapy in front-line, PD-L1-high, metastatic NSCLC. *J Thoracic Oncol*, 2021, 16(10): S1018
- [29] Barsheshet Y, Wildbaum G, Levy E, et al. CCR8⁺ FOXP3⁺ T_{reg} cells as master drivers of immune regulation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(23): 6086-6091
- [30] Plitas G, Konopacki C, Wu K, et al. Regulatory T cells exhibit distinct features in human breast cancer. *Immunity*, 2016, 45(5): 1122-1134
- [31] Zheng C, Zheng L, Yoo JK, et al. Landscape of infiltrating T cells in liver cancer revealed by single-cell sequencing. *Cell*, 2017, 169(7): 1342-1356.e16
- [32] Zhang L, Yu X, Zheng L, et al. Lineage tracking reveals dynamic relationships of T cells in colorectal cancer. *Nature*, 2018, 564(7735): 268-272
- [33] Guo X, Zhang Y, Zheng L, et al. Global characterization of T cells in non-small-cell lung cancer by single-cell sequencing. *Nat Med*, 2018, 24(7): 978-985
- [34] Yi G, Guo S, Liu W, et al. Identification and functional analysis of heterogeneous FOXP3⁺ Treg cell subpopulations in human pancreatic ductal adenocarcinoma. *Sci Bull*, 2018, 63(15): 972-981
- [35] Villarreal DO, L'Huillier A, Armington S, et al. Targeting CCR8 induces protective antitumor immunity and enhances vaccine-induced responses in colon cancer. *Cancer Res*, 2018, 78(18): 5340-5348
- [36] Whiteside SK, Grant FM, Gyori DS, et al. CCR8 marks highly suppressive Treg cells within tumours but is dispensable for their accumulation and suppressive function. *Immunology*, 2021, 163(4): 512-520
- [37] Van Damme H, Dombrecht B, Kiss M, et al. Therapeutic depletion of CCR8⁺ tumor-infiltrating regulatory T cells elicits antitumor immunity and synergizes with anti-PD-1 therapy. *J Immunother Cancer*, 2021, 9(2): e001749
- [38] Campbell JR, McDonald BR, Mesko PB, et al. Fc-optimized anti-CCR8 antibody depletes regulatory T cells in human tumor models. *Cancer Res*, 2021, 81(11): 2983-2994
- [39] Depis F, Hu CY, Weaver J, et al. Preclinical evaluation of JTX-1811, an anti-CCR8 antibody with enhanced ADCC activity, for preferential depletion of tumor-infiltrating regulatory T cells. *Cancer Res*, 2020, 80(16): 4532
- [40] Lu S, Hu SP, Gan X, et al. HBM1022, a novel anti-CCR8 antibody depletes tumor-infiltrating regulatory T cells via enhanced ADCC activity, mediates potent anti-tumor activity with keytruda. *J Immunother Cancer*, 2020, 8: A426-A426
- [41] Lake A, Warren M, Das S, et al. SRF114 is a fully human, CCR8 selective IgG1 antibody that induces destruction of tumor Tregs through ADCC. *J Immunother Cancer*, 2020, 8: A434-A435
- [42] McCully ML, Ladell K, Andrews R, et al. CCR8 expression defines tissue-resident memory T cells in human skin. *J Immunol*, 2018, 200(5): 1639
- [43] Bereznoy A, Shah K, Liu DR, et al. Investigational CD25 x CTLA-4 bispecific DART (R) molecule for depletion of tumor infiltrating Tregs via an enhanced Fc-dependent effector mechanism. *Cancer Res*, 2020, 80(16): 2288