

综述

CD137⁺ T细胞效应功能研究进展姬雪娇^{1,2}, 沈洪波², 王菲菲^{3*}, 郑碧英^{1*}¹广东医科大学检验医学研究所临床免疫学研究室, 东莞 523808;²同济大学附属上海市肺科医院结核病临床研究中心, 上海 200433; ³复旦大学上海医学院基础医学院病原生物学系, 教育部、卫健委、医科院医学分子病毒学重点实验室, 上海 200032)

摘要: CD137⁺(又称4-1BB、TNFRSF9) T细胞亚群是一类抗原特异性活化的效应细胞。CD137⁺ T细胞产生细胞毒效应因子以及在抗原刺激后进行增殖的能力较强, 使其在多种疾病中发挥免疫调节作用, 其中CD137⁺调节性T细胞分泌的分泌型CD137具有重要的免疫抑制作用。因此, 全面了解CD137⁺ T细胞在疾病中的作用, 对开发有效的疾病免疫防治策略至关重要。本文通过介绍CD137相关信号对T细胞尤其是CD8⁺ T细胞功能的调控机制、CD137⁺ T细胞的特征和效应功能、CD137⁺ T细胞在多种疾病进展中的免疫调控作用, 为靶向CD137⁺ T细胞的免疫治疗提供参考。

关键词: CD137⁺ T细胞; 抗原特异性T细胞; 免疫微环境; 免疫治疗

Research progress of CD137⁺ T cells effector functionJI Xuejiao^{1,2}, SHEN Hongbo², WANG Feifei^{3*}, ZHENG Biying^{1*}¹Department of Clinical Immunology, Institute of Clinical Laboratory Medicine, Guangdong Provincial Key Laboratory of Medical Molecular Diagnostics, Guangdong Medical University, Dongguan 523808, China; ²Clinic and Research Center of Tuberculosis, Shanghai Pulmonary Hospital, Tongji University School of Medicine, Shanghai 200433, China;³Key Laboratory of Medical Molecular Virology, MOE/NHC/CAMS, Shanghai Institute of Infectious Disease and Biosecurity, School of Basic Medical Sciences, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Abstract: CD137⁺ (also named 4-1BB; tumor necrosis factor receptor superfamily 9, TNFRSF9) T cells are antigen-specific activated effector cells. CD137⁺ T cells have a strong ability to proliferate and produce cytotoxic effector factors after antigen stimulation, enabling them to play an immunomodulatory role in various diseases. Among these CD137⁺ T cells, the soluble CD137 protein secreted by CD137⁺ regulatory T cells has a potent anti-inflammatory effect. Therefore, a comprehensive understanding of the role of CD137⁺ T cells in disease is essential to develop effective disease immune prevention strategies. This review focuses on the regulatory mechanism of CD137-related signals on the function of T cells, especially CD8⁺ T cells, the characteristics and effector functions of CD137⁺ T cells, and the immunoregulatory role of CD137⁺ T cells in the progression of various diseases. This review aims to provide implications for the immunotherapy of CD137⁺ T cells in the future.

Key Words: CD137⁺ T cells; antigen-specific T cells; immune microenvironments; immune therapy

收稿日期: 2022-11-24

基金项目: 上海市自然科学基金项目(20ZR1406200, 20ZR1446900)

第一作者: E-mail: Jixuejiao2022@outlook.com

*通信作者: 郑碧英, E-mail: 469069691@qq.com; 王菲菲, E-mail: wangfeifei@fudan.edu.cn

免疫治疗主要通过特异性调控宿主的免疫功能来维持机体的免疫稳态。目前存在的免疫疗法如免疫检查点抑制剂、树突状细胞疫苗、T细胞过继转移等治疗方法,其主要目的是特异性激活效应T细胞以杀死表达疾病相关抗原的靶细胞。CD137⁺ (又称4-1BB、TNFRSF9) T细胞亚群是抗原特异性活化的细胞,在免疫微环境中含量较高,与肿瘤以及感染性疾病的预后以及对免疫治疗的良好响应呈正相关。CD137配体与CD137结合向T细胞内传递信号,能够增强T细胞存活、增殖分化,产生效应性细胞因子。CD137⁺ T细胞具有细胞毒效应功能,同时在体外被抗原刺激时,CD137⁺ T细胞可以迅速响应抗原刺激进行增殖,以上特点使CD137⁺ T细胞具有过继性细胞治疗的良好应用前景。CD137靶向的单克隆抗体已经被证实能够在免疫治疗中显著增强T细胞的效应功能。本文将讨论CD137⁺ T细胞在不同免疫环境下的效应功能,为未来的免疫治疗提供新思路。

1 CD137相关信号与T细胞的活化密切相关

CD137是一种膜表面糖蛋白,可以在多种白细胞表面诱导表达,属于肿瘤坏死因子受体(tumor necrosis factor receptor, TNFR)超家族。CD137的天然配体(CD137 ligand, CD137L)主要表达于活化的抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC),如B细胞、巨噬细胞和树突状细胞等。CD137-CD137L信号轴提供双向信号。CD137介导进入T细胞内的信号,可以通过核因子 κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)的经典通路与非经典通路,激活核转录因子向细胞核内转位,促进相关基因的表达,从而增强细胞增殖、存活;也可以通过激活p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK)通路与c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)通路,促进细胞因子的合成分泌并参与炎症反应;还可以通过细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)通路,下调凋亡相关蛋白表达,抑制细胞凋亡,促进T细胞的克隆扩增、分化和存活(图1)^[1-4]。进入抗原提呈细胞的CD137L反向信号可以促进抗原提呈细胞的活化和成熟,并增强其抗原提呈能力(图1)。表达CD137L信号的树突状细胞

由于激活了哺乳动物雷帕霉素复合物1(mammalian target of rapamycin complex 1, mTORC1)通路(图1),表现出更高的基础糖酵解速率和糖酵解能力,有利于树突状细胞的成熟和持续激活^[5]。

TNFR成员的特征是通过二硫键结合肿瘤坏死因子,形成富含半胱氨酸的细胞外结构域,三条单体的CD137链可以与三聚体的CD137L结合激活细胞内信号传导(图1)。肿瘤坏死因子受体蛋白介导的信号传导主要引起两类下游反应,其一是通过激活死亡受体如CD95、死亡受体4或者死亡受体5,最终激活含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶介导的细胞编程性死亡;另一类反应是通过与TRAF结合蛋白结合,激活NF- κ B等通路,促进细胞增殖^[4,6,7]。

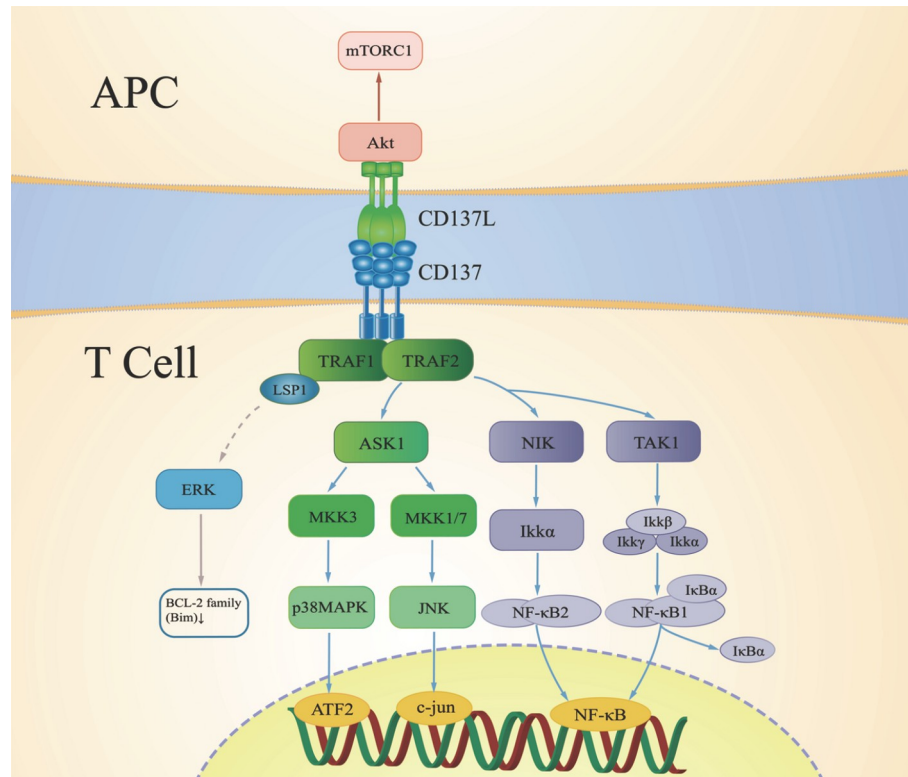
CD137依赖TRAF衔接蛋白来构建CD137信号体,用以将信号传导到细胞内部。CD137与CD137L结合,能够将TRAF1与TRAF2蛋白募集到CD137蛋白上,这两个TRAF家族成员都参与了CD137的信号转导和功能调节。随后开启TRAF介导的NF- κ B通路和MAPK通路的细胞内信号激活,促进T细胞分化和增殖,并增强CD4⁺ T细胞和CD8⁺ T细胞的效应功能(图1)^[3,8]。

2 CD137⁺ T细胞的效应功能

2.1 CD137⁺ T细胞能够产生效应性细胞因子并诱导单核细胞产生细胞因子

在体外刺激条件下,CD137分子的表达模式与CD27、CD28等分子在T细胞活化时快速高水平表达不同,小鼠来源的初始T细胞在特异抗原和anti-CD3抗体联合刺激48 h后,CD137的表达量才达到最大值,CD137的高水平表达持续到第4~5天后开始下降^[9,10]。在体内刺激条件下,CD137激活后的表达发生早于体外,在经抗原刺激后12 h开始升高^[11]。有研究者将OT- II T细胞受体(T cell receptor, TCR)转基因小鼠来源的纯化T细胞经静脉转移至C57BL/6小鼠,在24 h后,皮下注射卵清蛋白和细菌脂多糖,免疫后12~24 h,观察到在TCR转基因T细胞上CD137的表达达到峰值,在免疫36 h后表达量降低至基本无法检测到^[12]。

CD137是活化T细胞表达的重要表面标志物。表达CD137的T细胞,即CD137⁺ T细胞具有重要的



Akt: 蛋白激酶B(protein kinase B); TRAF: 肿瘤坏死因子受体相关因子(tumor necrosis factor receptor-associated factors); LSP-1: 淋巴细胞特异性蛋白-1(lymphocyte specific protein 1); BCL-2 family: B细胞淋巴瘤2家族蛋白(B cell lymphoma 2 family protein); Bim: Bcl-2家族细胞死亡调节子(Bcl-2 interacting mediator of cell death); ASK1: 凋亡信号调节激酶1(apoptosis signal regulating kinase 1); MKK: 丝裂原活化蛋白激酶激酶(mitogen-activated protein kinase kinase); ATF2: 激活转录因子2(activating transcription factor2); NIK: 核因子κB诱导激酶(nuclear factor-κB inducing kinase); TAK1: 转化生长因子β活性激酶1(transforming growth factor beta-activated kinase 1); Ikk: κB抑制因子激酶(inhibitor of kappa B kinase); IκBα: 核因子κB抑制因子α(inhibitory subunit of NF-Kappa B Alpha), CD137将刺激信号向T细胞内传递, 可以通过NF-κB通路的经典通路与非经典通路, 激活核转录因子向细胞核内转位, 促进下游转录因子表达, 增强细胞增殖存活; 也可以通过激活p38 MAPK通路与JNK通路, 促进细胞因子的合成分泌并参与炎症反应; 还可以通过ERK通路, 下调凋亡相关蛋白表达, 抑制细胞凋亡. CD137L将相关信号向抗原提呈细胞内传递, 激活mTORC1通路, 增强细胞糖酵解能力, 促进抗原提呈细胞的成熟并维持其存活

图1 CD137-CD137L信号模式图

效应功能。在相同刺激条件下, 不同类型细胞中的CD137⁺细胞产生的细胞因子也有差异, 如在CD137L依赖的刺激条件下, 表达CD137分子的CD8⁺ T细胞产生白细胞介素(interleukin, IL)-2和干扰素-γ(interferon-γ, IFN-γ); 但是相同刺激条件下, 表达CD137分子的CD4⁺ T细胞分泌IL-2和IL-4^[9]。

同时, 在特异配体CD137L刺激后, 表达CD137分子的CD8⁺ T细胞产生大量细胞毒作用因子, 包括颗粒酶A、穿孔素、干扰素-γ和其它细胞因子, 而且能够诱导CD8⁺ T细胞由记忆表型向效应表型分化^[13,14]。

CD137⁺ T细胞被CD137-CD137L轴的双向信号传导功能调控, 使单核细胞在组织中遇到表达CD137的T细胞时, 通过CD137L介导的反向信号

进入单核细胞, 诱导促炎因子如TNF、IL-6、IL-8分泌, 同时抑制抗炎因子IL-10的分泌, 并诱导单核细胞增殖分化为炎症树突状细胞并向炎症部位迁徙; 同时, 由CD137L信号刺激产生的树突状细胞是1型辅助T细胞和杀伤性T细胞免疫反应的强诱导剂, 可以有效刺激产生高水平IFNγ的T细胞增殖^[15,16]。

2.2 CD137相应信号能够延长T细胞的存活

CD137受体传递的相关信号能够有效延长T细胞的存活时间, 阻止细胞活化诱导的细胞死亡。与此相对应, 即CD137诱导的信号应答晚于TCR和CD28介导的活化信号的产生时间。在此过程中, CD137信号下调了促凋亡蛋白Bim的表达, 诱导了抗凋亡蛋白Bcl-XL和Bfl-1的表达, 从而阻止细胞活化诱导的细胞死亡^[17]。进一步研究表明, CD137

信号能够刺激线粒体代谢来促进T细胞的呼吸能力,并诱导CD8⁺ T细胞中的主要基因进行DNA去甲基化和核糖体重编程,使细胞进行增殖或发挥效应功能^[18-20]。此外,CD137分子还可以通过CD137与TRAF蛋白形成的信号小体向T细胞内传递信号从而诱导细胞毒作用T细胞扩增,并增强其效应功能^[3]。在抗原的持续刺激下,即使缺少CD28信号,被anti-CD3和CD137L刺激的CD137⁺ T细胞仍然能够产生IL-2维持细胞的增殖^[11,21-23]。

3 CD137信号与CD8⁺ T细胞及CD4⁺调节性T细胞的关系

CD8⁺ T细胞和CD4⁺ T细胞都能被诱导上调表达CD137,但是CD137在CD8⁺ T细胞中的表达时间更早、表达量更高^[12],而且CD137对CD8⁺ T细胞的效应功能发挥更加显著的调控作用^[24]。CD137编码基因缺乏的小鼠表现出CD8⁺ T细胞介导的抗病毒反应受损^[25]。同样,用OT-I衍生的CD8⁺ T细胞过继转移CD137L缺乏的小鼠,在早期反应和第二次增殖时,这些卵清蛋白特异性T细胞都显著减少^[12]。此外,利用靶向CD137的单克隆抗体激动剂靶向治疗肿瘤时,能够显著诱导CD8⁺ T细胞的扩增和活化,而对CD4⁺ T细胞的影响较小,由此证实CD137的体内活化状态对CD8⁺ T细胞功能影响更大^[26,27]。

目前,CD137⁺CD4⁺ T细胞的功能尚未完全阐明,可能与CD137⁺CD8⁺ T细胞的功能存在较大差异^[4]。调节性T细胞(regulatory T cells, Tregs)是CD4⁺ T细胞的一个免疫抑制亚群,在维持自身耐受中起着至关重要的作用。此外,Tregs细胞还可以抑制抗肿瘤免疫,阻碍对肿瘤形成的保护性免疫监测,阻碍荷瘤宿主的有效抗肿瘤免疫反应,从而促进肿瘤的发生和进展^[28]。

CD137是Tregs细胞进行功能调节的重要工具。CD137可以分为膜型与分泌型,分泌型CD137(soluble CD137, sCD137)是一种膜结合CD137(membrane-bound CD137, mCD137)的剪接变体,而CD137⁺ Tregs是sCD137的主要来源^[29]。sCD137、mCD137竞争性地与CD137L结合,阻断细胞间的相互作用,从而抑制CD4⁺效应T细胞的功能。此外,sCD137能够抑制所有T细胞亚群功能,

包括先前抗原暴露的各种类型的记忆性T细胞^[30]。表达高水平mCD137的CD8⁺ T细胞产生的sCD137少于表达高水平mCD137的CD4⁺ T细胞^[31]。在生理条件下,宿主可以通过Tregs细胞产生sCD137,实现免疫平衡,防止T细胞共刺激过度。

4 CD137信号与疾病

4.1 CD137分子在肿瘤免疫微环境中的作用

高水平表达CD137分子的T细胞具有较强的肿瘤免疫活性。针对不同实体肿瘤的外显子测序数据证明,癌细胞表达的突变新抗原具有高度的异质性,肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)富含针对特定抗原的T细胞,即肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocytes, TILs),这些抗原特异性CD8⁺ T细胞具有针对癌细胞的细胞溶解能力^[32]。CD137大多数由活化的抗原特异性CD8⁺ T细胞表达,所以可以利用CD137分子从血液中分离出肿瘤抗原特异性效应T细胞。这样筛选效应T细胞时就无需知道相应肿瘤的免疫原表位,对CD137⁺ TILs分离出的T细胞受体进行检测时,发现它们对肿瘤来源抗原的各种突变具有反应性^[33,34]。尽管此类细胞数量比例较低,但是利用肿瘤抗原进行体外再刺激,就能够大量扩增并杀死表达肿瘤抗原的癌细胞^[35-37]。

已有数据表明,与脾脏或者淋巴结来源的CD8⁺ T细胞相比,CD137在TILs中高水平表达,CD137在肿瘤部位T细胞中的高水平表达,是由于缺氧引起缺氧诱导因子(hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)上调表达导致的,当T细胞中敲除HIF-1 α 基因时,即使该细胞成为TILs也会保持CD137阴性^[38]。研究卵巢癌患者肿瘤微环境、腹水与外周血中CD137⁺ T细胞群数量的比例,发现CD137⁺ T细胞在外周血中比例最少,在腹水中次之,在肿瘤组织中比例最高。分离TILs并与自体肿瘤细胞共培养过夜,发现CD137⁺ TILs数量比例显著增加,CD137⁺ TILs产生IFN- γ 的能力也相应增强,最重要的是过继转移CD137⁺ TILs细胞,可以抑制荷瘤小鼠的肿瘤生长^[39]。对黑色素瘤患者的研究发现,肿瘤部位较低的TNFRSF9基因甲基化水平和较高的TNFRSF9 mRNA表达量与黑色素瘤患者更高的生存率与较长的无进展生存期呈正相关,且

TNFRSF9 mRNA的表达量与肿瘤部位效应和记忆TILs的数量比例及IFN γ 的分泌水平呈正相关^[34,40]。

CD137在肿瘤免疫中介导负性免疫调节。sCD137在肺癌患者血液中浓度升高, 血液中sCD137浓度与肿瘤免疫化疗疗效预后呈现负相关, 且肿瘤患者CD137⁺ Tregs细胞数量比例增加, 并在肿瘤部位进一步富集, 在CD137⁺CD8⁺ T细胞浸润水平较高的患者中, 肿瘤部位高比例的CD137⁺ Tregs细胞与较差的总生存期相关, 使用CD137激动剂靶向CD137⁺ Tregs细胞减少了荷瘤小鼠模型中的Tregs细胞总数, 并抑制肿瘤生长^[41]。

4.2 CD137分子在自身免疫病中的作用

在自身免疫病中, 自身反应性CD8⁺效应T细胞和CD4⁺效应T细胞被异常激活, 并在遇到相同抗原刺激时克隆扩增, 对正常组织细胞造成损伤。CD137信号阻断可以引起1型辅助T细胞、17型辅助T细胞相关细胞因子分泌减少, 影响CD8⁺ T细胞生成, 从而改变免疫平衡, 在实验性自身免疫性脑炎小鼠模型中, 敲除*CD137L*, 阻断CD137信号, 这时T细胞分泌1型辅助T细胞与17型辅助T细胞相关的细胞因子减少而且白细胞向中枢神经系统的趋化也减弱, 这将很大程度上延缓小鼠的疾病进展^[42]。在1型糖尿病模型中, 敲除*CD137*分子的小鼠 β 细胞特异型CD8⁺ T细胞减少^[43]。然而, 在以2型辅助T细胞免疫占主导的疾病类型(如系统性红斑狼疮)中, 阻断CD137信号会在多种小鼠模型中引起更为严重的肾损害、脾肿大、淋巴结病变和皮肤病变^[44]。

在多种自身免疫疾病中, 都能检测出高水平的sCD137, 活化的CD4⁺ T细胞与CD8⁺ T细胞都产生sCD137, 但是CD4⁺ T细胞是产生sCD137的主要来源^[31]。在1型糖尿病小鼠模型中, sCD137诱导CD4⁺ 1型辅助T细胞失能, 抑制抗原特异性T细胞增殖和IL-2、IFN- γ 的释放分泌, 显著延缓了小鼠终末期疾病的发展^[29]。主要来源于CD4⁺ Tregs细胞的sCD137与CD137L直接相互作用, 导致CD4⁺效应T细胞功能受抑制, 因此sCD137可以保护小鼠免于发生胰岛炎症^[29,45]。然而在自身免疫病中, CD137⁺ Tregs细胞在免疫激活时, 常出现细胞数量比例下降或者功能失调, 伴随sCD137的分泌整体减少, 不能再消除由T细胞扩增引起的CD137-

CD137L相互作用^[30]。

4.3 CD137相关信号在感染性疾病中的调控作用

病毒可以篡改CD137-CD137L系统的负反馈机制, 从而削弱细胞免疫反应。感染人1型T细胞嗜淋巴病毒可以诱导CD137的表达, 这种表达是由病毒转录激活因子介导的, 同样的, 感染EB病毒或者转染表达EB病毒相关膜潜伏蛋白1的质粒也可以诱导CD137的表达^[46]。病毒诱导宿主细胞表达的CD137, 易于被表达CD137L的抗原提呈细胞通过胞吞作用内化和降解, 所以病毒感染的T细胞通过CD137介导的共刺激减少, 使细胞免疫反应减弱, 这有助于病毒从免疫监视中逃逸^[47]。

在小鼠被产单核李斯特菌(*listeria monocytogenes*, LM)感染期间, CD137刺激增强了小鼠LM感染急性期 $\gamma\delta$ T细胞的活性, CD137诱导 $\gamma\delta$ T细胞产生的IFN- γ 是控制LM感染的主要细胞因子^[48]。在小鼠和人类中, 经抗原刺激后, $\gamma\delta$ T细胞快速诱导表达CD137; 在经过CD137活化性抗体处理后, $\gamma\delta$ T细胞的分裂能力与产生细胞因子的能力明显增强^[49]。

5 总结

近些年的研究证实, CD137⁺ T细胞具有多种效应功能。CD137信号促进效应性细胞因子的分泌, 并且能够延长T细胞的存活。CD4⁺ T细胞和CD8⁺ T细胞都能上调CD137的表达, CD8⁺ T细胞能够更早表达CD137, 在特定的抗肿瘤免疫应答中发挥重要作用。Treg细胞中表达CD137的细胞数量比例较高。在自身免疫病中, CD137⁺ Tregs细胞分泌的sCD137与CD137L竞争结合, 通过阻断CD137-CD137L相互作用, 抑制过度的免疫应答。CD137⁺ T细胞用于过继性细胞治疗已经在肿瘤免疫治疗方面显示出良好的应用前景, CD137⁺ T细胞疗法与多数细胞疗法存在相同的问题, 即培育细胞的成本较高, 每位患者都需要采集自体T细胞并将其转化为CD137⁺ T细胞。如果能够开发出新的方法, 利用特定条件, 在患者体内诱导产生大量特异性的CD137⁺ T细胞, 将对控制疾病发展具有重要作用。所以, 全面了解CD137⁺ T细胞的分化机制, 将有助于理解CD137⁺ T细胞在体内的效应功能; 将有助于深入揭示CD137⁺ T细胞在不同疾病中的免疫作用机制。

参考文献

- [1] Cannons JL, Choi Y, Watts TH. Role of TNF receptor-associated factor 2 and p38 mitogen-activated Protein kinase activation during 4-1BB-dependent immune response. *J Immunol*, 2000, 165(11): 6193-6204
- [2] Sabbagh L, Pulle G, Liu Y, et al. ERK-Dependent Bim modulation downstream of the 4-1BB-TRAF1 signaling axis is a critical mediator of CD8 T cell survival *in vivo*. *J Immunol*, 2008, 180(12): 8093-8101
- [3] Zapata JM, Perez-Chacon G, Carr-Baena P, et al. CD137 (4-1BB) Signalosome: Complexity Is a Matter of TRAFs. *Front Immunol*, 2018, 9: 2618
- [4] Etcheberria I, Glez-Vaz J, Teijeira A, et al. New emerging targets in cancer immunotherapy: CD137/4-1BB costimulatory axis. *ESMO Open*, 2020, 4: e000733
- [5] Zeng Q, Mallilankaraman K, Schwarz H. Increased Akt-driven glycolysis is the basis for the higher potency of CD137L-DCs. *Front Immunol*, 2019, 10: 868
- [6] Hashimoto K. CD137 as an attractive T cell co-stimulatory target in the TNFRSF for immuno-oncology drug development. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(10): 2288
- [7] Kim AMJ, Nemeth MR, Lim SO. 4-1BB: a promising target for cancer immunotherapy. *Front Oncol*, 2022, 12: 968360
- [8] Wang YT, Ji WD, Jiao HM, et al. Targeting 4-1BB for tumor immunotherapy from bench to bedside. *Front Immunol*, 2022, 13: 975926
- [9] Cannons JL, Lau P, Ghumman B, et al. 4-1BB ligand induces cell division, sustains survival, and enhances effector function of CD4 and CD8 T cells with similar efficacy. *J Immunol*, 2001, 167(3): 1313-1324
- [10] Chester C, Sanmamed MF, Wang J, et al. Immunotherapy targeting 4-1BB: mechanistic rationale, clinical results, and future strategies. *Blood*, 2018, 131(1): 49-57
- [11] Saoulli K, Lee SY, Cannons JL, et al. CD28-independent, TRAF2-dependent costimulation of resting T cells by 4-1BB ligand. *J Exp Med*, 1998, 187(11): 1849-1862
- [12] Dawicki W, Watts T. Expression and function of 4-1BB during CD4 versus CD8 T cell responses *in vivo*. *Eur J Immunol*, 2004, 34(3): 743-751
- [13] Bukczynski J, Wen T, Ellefsen K, et al. Costimulatory ligand 4-1BBL (CD137L) as an efficient adjuvant for human antiviral cytotoxic T cell responses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(5): 1291-1296
- [14] Bukczynski J, Wen T, Watts T. Costimulation of human CD28 T cells by 4-1BB ligand. *Eur J Immunol*, 2003, 33(2): 446-454
- [15] Dharmadhikari B, Wu M, Abdullah NS, et al. CD137 and CD137L signals are main drivers of type 1, cell-mediated immune responses. *Oncoimmunology*, 2016, 5(4): e1113367
- [16] Zeng Q, Zhou Y, Schwarz H. CD137L-DCs, potent immune-stimulators—history, characteristics, and perspectives. *Front Immunol*, 2019, 10: 2216
- [17] Lee HW, Park SJ, Choi BK, et al. 4-1BB promotes the survival of CD8⁺ T lymphocytes by increasing expression of Bcl-xL and Bfl-1. *J Immunol*, 2002, 169(9): 4882-4888
- [18] Menk AV, Scharping NE, Rivadeneira DB, et al. 4-1BB costimulation induces T cell mitochondrial function and biogenesis enabling cancer immunotherapeutic responses. *J Exp Med*, 2018, 215(4): 1091-1100
- [19] Aznar MA, Labiano S, Diaz-Lagares A, et al. CD137 (4-1BB) costimulation modifies DNA methylation in CD8⁺ T cell-relevant genes. *Cancer Immunol Res*, 2018, 6(1): 69-78
- [20] Teijeira A, Labiano S, Garasa S, et al. Mitochondrial morphological and functional reprogramming following CD137 (4-1BB) costimulation. *Cancer Immunol Res*, 2018, 6(7): 798-811
- [21] Halstead ES, Mueller YM, Altman JD, et al. *In vivo* stimulation of CD137 broadens primary antiviral CD8⁺ T cell responses. *Nat Immunol*, 2002, 3(6): 536-541
- [22] Maus MV, Thomas AK, Leonard DGB, et al. *Ex vivo* expansion of polyclonal and antigen-specific cytotoxic T lymphocytes by artificial APCs expressing ligands for the T-cell receptor, CD28 and 4-1BB. *Nat Biotechnol*, 2002, 20(2): 143-148
- [23] Bertram EM, Lau P, Watts TH. Temporal segregation of 4-1BB versus CD28-mediated costimulation: 4-1BB ligand influences T cell numbers late in the primary response and regulates the size of the T cell memory response following influenza infection. *J Immunol*, 2002, 168(8): 3777-3785
- [24] Freeman ZT, Nirschl TR, Hovelson DH, et al. A conserved intratumoral regulatory T cell signature identifies 4-1BB as a pan-cancer target. *J Clin Invest*, 2020, 130(3): 1405-1416
- [25] Kwon BS, Hurtado JC, Lee ZH, et al. Immune responses in 4-1BB (CD137)-deficient mice. *J Immunol*, 2002, 168(11): 5483-5490
- [26] Melero I, Shuford WW, Newby SA, et al. Monoclonal antibodies against the 4-1BB T-cell activation molecule eradicate established tumors. *Nat Med*, 1997, 3(6): 682-685
- [27] Shuford WW, Klussman K, Tritchler DD, et al. 4-1BB costimulatory signals preferentially induce CD8⁺ T cell proliferation and lead to the amplification *in vivo* of cytotoxic T cell responses. *J Exp Med*, 1997, 186(1): 47-55
- [28] Togashi Y, Shitara K, Nishikawa H. Regulatory T cells in cancer immunosuppression—implications for anticancer

- therapy. *Nat Rev Clin Oncol*, 2019, 16(6): 356-371
- [29] Kachapati K, Adams DE, Wu Y, et al. The B10 *Idd9.3* locus mediates accumulation of functionally superior CD137⁺ regulatory T cells in the nonobese diabetic type 1 diabetes model. *J Immunol*, 2012, 189(10): 5001-5015
- [30] Itoh A, Ortiz L, Kachapati K, et al. Soluble CD137 ameliorates acute type 1 diabetes by inducing T cell anergy. *Front Immunol*, 2019, 10: 2566
- [31] Shao Z, Sun F, Koh DR, et al. Characterisation of soluble murine CD137 and its association with systemic lupus. *Mol Immunol*, 2008, 45(15): 3990-3999
- [32] Romero P, Rod Dunbar P, Valmori D, et al. *Ex Vivo* staining of metastatic lymph nodes by class I major histocompatibility complex tetramers reveals high numbers of antigen-experienced tumor-specific cytolytic T lymphocytes. *J Exp Med*, 1998, 188(9): 1641-1650
- [33] Parkhurst M, Gros A, Pasetto A, et al. Isolation of T-cell receptors specifically reactive with mutated tumor-associated antigens from tumor-infiltrating lymphocytes based on CD137 expression. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(10): 2491-2505
- [34] Ugolini A, Nuti M. CD137⁺ T-cells: protagonists of the immunotherapy revolution. *Cancers*, 2021, 13(3): 456
- [35] Wolf M, Kuball J, Ho WY, et al. Activation-induced expression of CD137 permits detection, isolation, and expansion of the full repertoire of CD8⁺ T cells responding to antigen without requiring knowledge of epitope specificities. *Blood*, 2007, 110(1): 201-210
- [36] Watanabe K, Suzuki S, Kamei M, et al. CD137-guided isolation and expansion of antigen-specific CD8 cells for potential use in adoptive immunotherapy. *Int J Hematol*, 2008, 88(3): 311-320
- [37] Wehler TC, Nonn M, Brandt B, et al. Targeting the activation-induced antigen CD137 can selectively deplete alloreactive T cells from antileukemic and antitumor donor T-cell lines. *Blood*, 2007, 109(1): 365-373
- [38] Palazón A, Martínez-Forero I, Teijeira A, et al. The HIF-1 α hypoxia response in tumor-infiltrating T lymphocytes induces functional CD137 (4-1BB) for immunotherapy. *Cancer Discov*, 2012, 2(7): 608-623
- [39] Ye Q, Song DG, Poussin M, et al. CD137 accurately identifies and enriches for naturally occurring tumor-reactive T cells in tumor. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(1): 44-55
- [40] Fröhlich A, Loick S, Bawden EG, et al. Comprehensive analysis of tumor necrosis factor receptor TNFRSF9 (4-1BB) DNA methylation with regard to molecular and clinicopathological features, immune infiltrates, and response prediction to immunotherapy in melanoma. *EBioMedicine*, 2020, 52: 102647
- [41] Yi L, Jin X, Wang J, et al. CD137 agonists targeting CD137-mediated negative regulation show enhanced antitumor efficacy in lung cancer. *Front Immunol*, 2022, 13: 771809
- [42] Martínez Gómez JM, Croxford JL, Yeo KP, et al. Development of experimental autoimmune encephalomyelitis critically depends on CD137 ligand signaling. *J Neurosci*, 2012, 32(50): 18246-18252
- [43] Forsberg MH, Cieccko AE, Bednar KJ, et al. CD137 plays both pathogenic and protective roles in type 1 diabetes development in NOD mice. *J Immunol*, 2017, 198(10): 3857-3868
- [44] Vinay DS, Choi JH, Kim JD, et al. Role of endogenous 4-1BB in the development of systemic lupus erythematosus. *Immunology*, 2007, 122(3): 394-400
- [45] Forsberg MH, Foda B, Serreze DV, et al. Combined congenic mapping and nuclease-based gene targeting for studying allele-specific effects of *Tnfrsf9* within the *Idd9.3* autoimmune diabetes locus. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 4316
- [46] Ho WT, Pang WL, Chong SM, et al. Expression of CD137 on Hodgkin and Reed-Sternberg cells inhibits T-cell activation by eliminating CD137 ligand expression. *Cancer Res*, 2013, 73(2): 652-661
- [47] Wu M, Wong HY, Lin JL, et al. Induction of CD137 expression by viral genes reduces T cell costimulation. *J Cell Physiol*, 2019, 234(11): 21076-21088
- [48] Lee SJ, Kim YH, Hwang SH, et al. 4-1BB signal stimulates the activation, expansion, and effector functions of $\gamma\delta$ T cells in mice and humans. *Eur J Immunol*, 2013, 43(7): 1839-1848
- [49] Pei Y, Wen K, Xiang Z, et al. CD137 costimulation enhances the antiviral activity of V γ 9V δ 2-T cells against influenza virus. *Sig Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 74