

免疫检测点 PD-1/PD-L1 的机制研究及免疫治疗

胡耿维¹ 张莹² 吴志浩³

¹皖南医学院临床医学院, 芜湖 241000; ²皖南医学院研究生学院, 芜湖 241000;

³皖南医学院医学生物教研室, 芜湖 241000

通信作者: 吴志浩, Email: zwu2ster@163.com

【摘要】 程序性死亡受体配体-1 (PD-L1) 在多数肿瘤细胞中高表达, 与免疫细胞表面的程序性死亡受体-1 (PD-1) 相互作用, 抑制 T 细胞增殖, 从而在肿瘤免疫逃逸中发挥重要作用。研究发现 PD-1/PD-L1 通路可促进肿瘤细胞糖酵解和上皮间质转化, 在肿瘤微环境中还能诱导巨噬细胞中 PD-L1 的表达, 增强免疫抑制作用。PD-1/PD-L1 被认为是重要的免疫检测点, 派姆单抗、尼伏单抗、阿替珠单抗、度伐鲁单抗和阿维单抗等一系列抗 PD-1 和 PD-L1 抗体在临床上显示出良好疗效, 进一步了解其机制可为临床治疗恶性肿瘤提供新的思路。

【关键词】 肿瘤逃逸; 免疫治疗; PD-1/PD-L1

基金项目: 安徽省自然科学基金 (1708085MH203); 皖南医学院高层次人才启动基金

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-422X.2019.02.005

Mechanism study and immunotherapy of immune checkpoint PD-1/PD-L1

Hu Gengwei¹, Zhang Ying², Wu Zhihao³

¹Clinical Medical College, Wannan Medical College, Wuhu 241000, China; ²Graduate School, Wannan Medical College, Wuhu 241000, China; ³Department of Medical Biology, Wannan Medical College, Wuhu 241000, China

Corresponding author: Wu Zhihao, Email: zwu2ster@163.com

【Abstract】 Programmed death ligand-1 (PD-L1) is highly expressed on most tumor cells, and it interacts with programmed death-1 (PD-1) on the surface of immune cells, which mainly inhibits T cell proliferation and plays an important role in tumor immune escape. The studies find that PD-1/PD-L1 pathway can promote tumor cell glycolysis and epithelial-mesenchymal transition, and can induce PD-L1 expression on macrophages and enhance immunosuppression in tumor microenvironment. Therefore, PD-1/PD-L1 is considered to be an important immunoassay point, and a series of anti-PD-1 and PD-L1 antibodies, such as pembrolizumab, nivolumab, atezolizumab, durvalumab and avelumab, have clinically shown good effects. Further understanding of its mechanism may provide new ideas for the treatment of malignant tumors such as lung tumors.

【Key words】 Tumor escape; Immunotherapy; PD-1/PD-L1

Fund program: Natural Science Foundation of Anhui Province of China (1708085MH203); Wannan Medical College High-level Talents Startup Fund

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-422X.2019.02.005

程序性死亡受体-1 (programmed death-1, PD-1) 是一种包含 268 个氨基酸、大小为 50 000 ~ 55 000 I 型跨膜糖蛋白。PD-1 细胞质区有免疫受体酪氨酸抑制基序和免疫受体酪氨酸激活基序, 可在 PD-1 被激活后发生磷酸化, 被招募的磷酸酶对膜区附近的 T 细胞受体相关信号因子去磷酸化, 从而抑制 T 细胞功能^[1]。PD-1 主要表达于活化的免疫细胞包括 T 细胞、B 细胞、自然杀伤 (natural killer, NK) 细胞和树突状细胞。

程序性死亡受体配体-1 (programmed death ligand-1, PD-L1) 是包含 290 个氨基酸亚基、大小为 40 000 的 I 型跨膜蛋白, 是 PD-1 的配体之一。在许多肿瘤细胞中高表达的 PD-L1 可与肿瘤浸润淋巴细胞表面的 PD-1 受体结合, 向其传递免疫抑制信号, 从而抑制 T 细胞增殖。肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)、 γ -干扰素 (interferon- γ , IFN- γ)、白细胞介素-4 (interleukin 4, IL-4) 和粒细胞刺激因子等多种细胞因子可以上调不同肿瘤细胞中 PD-L1 的表达,

核转录因子- κ B (nuclear transcription factor- κ B, NF- κ B)、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)、磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)和 Janus 激酶(Janus kinase, JAK)/信号传导及转录激活因子(signal transducer and activator of transcription, STAT)等下游信号通路也会影响肿瘤细胞中 PD-L1 的表达。

1 PD-1/PD-L1 的信号通路调控机制

肿瘤细胞中 PD-L1 的转录和转录后调节涉及 RAS/RAF/MEK/MAPK-ERK、PI3K/PTEEN/Akt/mTOR 和 STAT-3 等几种信号传导途径。c-Jun、低氧诱导因子(hypoxia-inducible factor, HIF)或 NF- κ B 等可以进入细胞核,与 PD-L1 启动子上的特定位点结合并诱导其表达。PD-L1 在转录后会被微小 RNA 修饰,微小 RNA 与 mRNA 结合可抑制或增强其翻译水平。

PD-L1 介导的细胞代谢可通过蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)通路调节肿瘤细胞利用葡萄糖的能力,阻断或敲低 PD-L1 会降低 Akt 的磷酸化水平,进而抑制 mTOR 的活性,导致糖酵解减少^[2]。也有实验表明雷帕霉素对 mTOR 的抑制作用可降低人非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)细胞株和小鼠模型中 PD-L1 的水平,并且雷帕霉素和抗 PD-1 抗体的联合治疗可抑制小鼠肿瘤生长的速度^[3]。最近一项研究结果显示增强肺肿瘤细胞中的糖酵解可上调 PD-L1 的表达,通过乳酸激活其受体 G 蛋白偶联受体 81,可降低细胞内环磷酸腺苷水平并抑制蛋白激酶 A 的活性,导致转录共激活因子的活化,使其与转录因子 TEAD 相互作用并诱导 PD-L1 的表达^[4]。MAPK 的活化会导致肿瘤的进展,细胞外信号调节激酶(extracellular regulated kinase, ERK)-MAPK 通路可以调节不同肿瘤类型中 PD-L1 的表达^[5]。缺氧信号也是肿瘤发生的重要途径,肿瘤细胞通过 HIF-1 α 和 HIF-2 α 转录复合物来适应缺氧条件^[6],HIF-1 α 通过结合其启动子上缺氧反应元件转录调节 PD-L1 的表达。缺氧信号传导损伤 T 细胞功能的机制之一就是在缺氧条件下诱导髓源抑制性细胞上 PD-L1 的表达^[7]。这些致癌信号通路有可能会作为未来肿瘤免疫治疗靶点,对于优化肿瘤免疫治疗有重要作用。

2 PD-1/PD-L1 免疫逃逸机制

2.1 通过上皮间质转化调节 PD-L1 的表达促进肿瘤的发生

上皮间质转化(epithelial mesenchymal transition, EMT)指上皮细胞逐渐失去其上皮分化特性并获得间

质表型的过程,包括细胞骨架和形状改变、细胞伪足和运动能力的增强,是肿瘤细胞获得侵袭和转移能力的最重要途径。最近的研究表明,肿瘤细胞中的 EMT 与免疫逃逸有关,而 PD-1/PD-L1 是肿瘤免疫逃逸的主要途径,它能降低肿瘤细胞对靶向药物的敏感性^[8]。EMT 可上调 PD-L1 的表达^[9-10]。有研究表明 Crk 衔接蛋白在自分泌激活环中可与肿瘤转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)协同促进肺肿瘤细胞中的 EMT^[11],低表达 Crk 的肿瘤组织中表现出肿瘤内 CD8⁺、CD3⁺ T 细胞、NK 细胞和中性粒细胞的增多,PD-L1 表达的降低和锌指 E 盒同源结合蛋白 1 诱导的 EMT 程序的逆转^[12]。但 EMT 通过何种具体的机制来影响 PD-L1 的表达仍需要进一步研究。

2.2 肿瘤相关巨噬细胞表达的 PD-L1 促进肿瘤细胞发生免疫逃逸

肿瘤相关巨噬细胞(tumor associated macrophage, TAM)占有肿瘤浸润性免疫细胞的比例较大,TAM 的大量浸润通常与不良临床预后相关^[13]。肿瘤细胞在微环境中可产生 IL-10 和巨噬细胞集落刺激因子诱导肿瘤内巨噬细胞过表达,从而抑制正常抗原呈递和免疫防御功能^[14]。TAM 分泌的表皮生长因子能够降低上皮钙黏着蛋白、 β -连环蛋白的表达水平^[15],使细胞黏附能力下降,从而使肿瘤细胞易于扩散。Chen 等^[16]提出在肿瘤微环境中,TAM 所产生的炎性细胞因子可通过 NF- κ B 与 STAT-3 信号通路促进 PD-L1 的表达。最近有研究显示晚期胃癌衍生的外泌体也可以有效诱导 PD-1⁺ TAM 的产生,并且这些细胞可以产生大量的 IL-10,从而抑制 CD8⁺ T 细胞功能^[17]。

2.3 PD-1/PD-L1 促进调节性 T 细胞分化

调节性 T 细胞(regulatory cell, Treg)属于 T 细胞的一种具有免疫调节功能的亚型,在维持机体免疫耐受和建立机体稳态中发挥重要作用,转录因子叉头蛋白(forkhead box p3, Foxp3)是 Treg 的特征性标志,CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ Treg 可通过细胞接触或分泌 IL-10、TGF- β 等抑制性细胞因子抑制免疫应答^[18]。Treg 可通过抑制抗肿瘤免疫反应促进肿瘤的发生。PD-1/PD-L1 信号通路在肿瘤细胞中发挥着负性调控作用,Treg 通过抑制机体对外来抗原和自身抗原的免疫应答来建立免疫耐受,有研究表明拮抗 PD-1 信号通路可抑制 Treg 的活化^[19]。Woods 等^[20]的研究显示用 STAT3 抑制剂处理后,Treg 的免疫抑制功能增强而 IL-10 分泌能力降低,此研究还发现 Treg 对抗肿瘤免疫的抑制作用与 Treg 表面 PD-1 的表达上调密

切相关,但是具体的调控机制目前仍不清楚。

3 免疫检查点抑制剂与恶性肿瘤的免疫治疗

3.1 抗 PD-1 抗体

派姆单抗是一种高度选择拮抗 PD-1 的人源性免疫球蛋白 G 亚型 4- κ 同源性抗体,可以通过 T 淋巴细胞阻断 PD-1,从而达到负性调节的作用^[21]。2014 年 9 月美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准派姆单抗用于治疗晚期或不可切除的恶性黑色素瘤。有研究表明在 305 例 PD-L1 表达率 $\geq 50\%$ 且不伴有 EGFR 基因突变或 ALK 基因融合的晚期 NSCLC 中,使用派姆单抗比使用顺铂化疗的客观缓解率更高(44.8% : 27.8%, $P = 0.005$),6 个月的总生存率分别为 80.2% 和 72.4% ($HR = 0.60$, 95% CI 为 0.41 ~ 0.89, $P = 0.005$),治疗相关不良事件发生率及严重不良事件发生率也更低(73.4% : 90.0%, 26.6% : 53.3%)^[22]。

尼伏单抗是第 1 个被 FDA 批准用于临床使用的抗 PD-1 抑制剂,是一个转基因全人源化的单克隆抗体。两项临床试验(CHECKMATE-017、CHECKMATE-057)结果显示,对于含铂类化疗失败的 NSCLC 患者而言,尼伏单抗单独使用的总生存期、无进展生存期及缓解率均优于使用多西他赛^[23]。其不良反应为皮疹、瘙痒、红斑、腹泻、甲状腺功能减退症、丙氨酸氨基转移酶升高、天冬氨酸氨基转移酶升高、输注相关反应和肺炎。Borghaei 等^[24]报道尼伏单抗在生存率上也优于多西他赛组(51% : 39%)。

3.2 抗 PD-L1 抗体

阿替珠单抗是第 1 个针对 PD-L1 的单克隆抗体,且首个被 FDA 批准用于晚期尿路上皮癌的二线治疗或者一线用于不适宜含铂类药物治疗的尿路上皮癌。早期的非随机对照临床研究已证实阿替珠单抗在晚期 NSCLC 的疗效确切、不良反应发生率低^[25]。最近一项基于血液检测肿瘤突变负荷的技术数据显示,外周血的高肿瘤突变负荷可为阿替珠单抗治疗 NSCLC 提供帮助^[26]。

度伐鲁单抗是 FDA 批准的首个针对 III 期 NSCLC 的药物。度伐鲁单抗治疗 III 期 NSCLC 用药可能会导致免疫系统攻击正常的细胞和器官,引发诸如肺炎、肝炎、结肠炎、肾炎、内分泌疾病等,患者用药时应采取相关措施严防此类风险。有报道显示在 709 例接受巩固治疗的 NSCLC 患者中,473 例接受度伐鲁单抗治疗,236 例接受安慰剂治疗,度伐鲁单抗组患者的中位无进展生存期更长;度伐鲁单抗组的客观反应率高于安慰剂组(28.4% : 16.0%, $P < 0.001$),中位反应持续时间更长(72.8% : 46.8%, $P < 0.001$),度

伐鲁单抗组无远处转移时间长于安慰剂组(23 个月 : 15 个月, $P < 0.001$),此研究结果还显示在局部晚期无法切除的 NSCLC 患者中,接受度伐鲁单抗治疗患者的无进展生存期比接受安慰剂的患者长 11 个月 ($P < 0.001$)^[27]。

阿维单抗于 2017 年 3 月被 FDA 批准用于治疗成人和 12 岁以上患儿转移性 Merkel 细胞癌,成为第一个采用免疫疗法治疗 Merkel 细胞癌的药物。目前,阿维单抗正处于 II 期临床研究阶段,但初步研究表明,除了对复发或转移 Merkel 细胞癌有效外,该药还对多种实体瘤具有良好的临床疗效,如 NSCLC、膀胱癌、膀胱上皮癌^[28]。但该药可引起免疫介导的相关性疾病和严重输液相关反应甚至危及生命,因此需要进一步验证其安全性和临床疗效。

4 结语

免疫检查点 PD-1/PD-L1 的信号传导可以促进肿瘤细胞糖酵解以及侵袭转移过程,产生免疫抑制的肿瘤微环境。其膜表面上高表达的 PD-L1 蛋白可协助肿瘤细胞实现免疫逃逸。抗 PD-1/PD-L1 途径的免疫治疗通过激发和增强机体的免疫力来达到治疗肿瘤的目的。后续可进一步分析 PD-1/PD-L1 途径的具体作用机制,为临床治疗肿瘤提供新的思路。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Yi M, Jiao D, Xu H, et al. Biomarkers for predicting efficacy of PD-1/PD-L1 inhibitors[J]. Mol Cancer, 2018, 17(1): 129. DOI: 10.1186/s12943-018-0864-3.
- [2] Chang CH, Qiu J, O'Sullivan D, et al. Metabolic competition in the tumor microenvironment is a driver of cancer progression[J]. Cell, 2015, 162(6): 1229-1241. DOI: 10.1016/j.cell.2015.08.016.
- [3] Azuma K, Ota K, Kawahara A, et al. Association of PD-L1 overexpression with activating EGFR mutations in surgically resected non small-cell lung cancer[J]. Ann Oncol, 2014, 25(10): 1935-1940. DOI: 10.1093/annonc/mdu242.
- [4] Feng J, Yang H, Zhang Y, et al. Tumor cell-derived lactate induces TAZ-dependent upregulation of PD-L1 through GPR81 in human lung cancer cells[J]. Oncogene, 2017, 36(42): 5829-5839. DOI: 10.1038/ncr.2017.188.
- [5] Jiang X, Zhou J, Giobbie-Hurder A, et al. The activation of MAPK in melanoma cells resistant to Braf inhibition promotes PD-L1 expression that is reversible by mek and PI3K inhibition[J]. Clin Cancer Res, 2013, 19(3): 598-609. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-2731.
- [6] Li Y, Patel SP, Roszik J, et al. Hypoxia-driven immunosuppressive metabolites in the tumor microenvironment: new approaches for combinational immunotherapy [J]. Front Immunol, 2018, 9: 1591. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01591.
- [7] Noman MZ, Desantis G, Janji B, et al. PD-L1 is a novel direct target

- of HIF-1 α , and its blockade under hypoxia enhanced MDSC-mediated T cell activation[J]. *J Exp Med*, 2014, 211(5): 781-790. DOI: 10.1084/jem.20131916.
- [8] Ye LY, Chen W, Bai XL, et al. Hypoxia-induced epithelial-to-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma induces an immunosuppressive tumor microenvironment to promote metastasis [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(4): 818-830. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-0977.
- [9] Li F, Zhu T, Yue Y, et al. Preliminary mechanisms of regulating PD-L1 expression in nonsmall cell lung cancer during the EMT process[J]. *Oncol Rep*, 2018, 40(2): 775-782. DOI: 10.3892/or.2018.6474.
- [10] Noman MZ, Janji B, Abdou A, et al. The immune checkpoint ligand PD-L1 is upregulated in EMT-activated human breast cancer cells by a mechanism involving ZEB-1 and miR-200[J]. *Oncoimmunology*, 2017, 6(1): e1263412. DOI: 10.1080/2162402X.2016.1263412.
- [11] Elmansuri AZ, Tanino MA, Mahabir R, et al. Novel signaling collaboration between TGF- β and adaptor protein crk facilitates EMT in human lung cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(19): 27094-27107. DOI: 10.18632/oncotarget.8314.
- [12] Kumar S, Davra V, Obr AE, et al. Crk adaptor protein pre-signifies PD-L1 expression, EMT and immune evasion in a murine model of triple-negative breast cancer[J]. *Oncoimmunology*, 2017, 7(1): e1376155. DOI: 10.1080/2162402X.2017.1376155.
- [13] Zhang M, He Y, Sun X, et al. A high M1/M2 ratio of tumor-associated macrophages is associated with extended survival in ovarian cancer patients [J]. *J Ovarian Res*, 2014, 7(1): 19. DOI: 10.1186/1757-2215-7-19.
- [14] Wu G, Ma Z, Cheng Y, et al. Targeting Gas6/TAM in cancer cells and tumor microenvironment[J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1): 20. DOI: 10.1186/s12943-018-0769-1.
- [15] Illemann M, Laerum OD, Hasselby JP, et al. Urokinase-type plasminogen activator receptor (uPAR) on tumor-associated macrophages is a marker of poor prognosis in colorectal cancer [J]. *Cancer Med*, 2014, 3(4): 855-864. DOI: 10.1002/cam4.242.
- [16] Chen J, Li G, Meng H, et al. Upregulation of B7-H1 expression is associated with macrophage infiltration in hepatocellular carcinomas. [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2012, 61(1): 101-108. DOI: 10.1007/s00262-011-1094-3.
- [17] Wang F, Li B, Wei Y, et al. Tumor-derived exosomes induce PD1⁺ macrophage population in human gastric cancer that promotes disease progression [J]. *Oncogenesis*, 2018, 7(5): 41. DOI: 10.1038/s41389-018-0049-3.
- [18] Kim J, Byeon H, Im K, et al. Effects of ginsenosides on regulatory T cell differentiation[J]. *Food Sci Biotechnol*, 2018, 27(1): 227-232. DOI: 10.1007/s10068-017-0255-3.
- [19] Leung CS, Yang KY, Li X, et al. Single-cell transcriptomics reveal that PD-1 mediates immune tolerance by regulating proliferation of regulatory T cells[J]. *Genome Med*, 2018, 10(1): 71. DOI: 10.1186/s13073-018-0581-y.
- [20] Woods DM, Ramakrishnan R, Laino AS, et al. Decreased suppression and increased phosphorylated STAT3 in regulatory T-cells are associated with benefit from adjuvant PD-1 blockade in resected metastatic melanoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(24): 6236-6247. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-1100.
- [21] McDermott J, Jimeno A. Pembrolizumab: PD-1 inhibition as a therapeutic strategy in cancer [J]. *Drugs Today (Barc)*, 2015, 51(1): 7-20. DOI: 10.1358/dot.2015.51.1.2250387.
- [22] Reck M, Rodriguez-Abreu D, Robinson AG, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for PD-L1-positive non-small-cell lung cancer [J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(19): 1823-1833. DOI: 10.1056/NEJMoa1606774.
- [23] Sunavala-Dossabhoy GN. Selective sensitization of cancer cells to, and selective protection of non-cancer cells from genotoxic therapies; US, 20160067316[P]. 2016.
- [24] Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, et al. Nivolumab versus docetaxel in advanced nonsquamous non-small-cell lung cancer [J]. *N Engl J Med*, 2015, 373(17): 1627-1639. DOI: 10.1056/NEJMoa1507643.
- [25] Herbst RS, Soria JC, Kowanetz M, et al. Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients [J]. *Nature*, 2014, 515(7528): 563. DOI: 10.1038/nature14011.
- [26] Gandara DR, Paul SM, Kowanetz M, et al. Blood-based tumor mutational burden as a predictor of clinical benefit in non-small-cell lung cancer patients treated with atezolizumab [J]. *Nat med*, 2018, 24(9): 1441-1448. DOI: 10.1038/s41591-018-0134-3.
- [27] Antonia SJ, Villegas A, Daniel D, et al. Durvalumab after chemoradiotherapy in stage III non-small-cell lung cancer [J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(20): 1919-1929. DOI: 10.1056/NEJMoa1709937.
- [28] Patel MR, Ellerton J, Infante JR, et al. Avelumab in metastatic urothelial carcinoma after platinum failure (JAVELIN solid tumor): pooled results from two expansion cohorts of an open-label, phase 1 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2018, 19(1): 51-64. DOI: 10.1016/S1470-2045(17)30900-2.

(收稿日期:2018-09-17 修回日期:2018-10-04)
(本文编辑:孔春燕)