

# PD-1/PD-L1 对脓毒症患者免疫细胞影响的研究进展

王宗培, 汪松, 喻安永, 陆元兰, 张天喜, 谢智慧

(遵义医学院附属医院 急诊科, 遵义 563003)

**摘要:** 脓毒症在世界各地的发病率及死亡率都逐年上升。研究认为, 在脓毒症免疫抑制阶段, PD-1 能够与 PD-L1 结合引起免疫细胞增殖、活化及分泌等功能抑制, 发挥负性免疫调节作用, 导致患者死亡风险增加。文章就脓毒症发生发展过程中, 围绕 PD-1 与 PD-L1 结合后引起中性粒细胞、NK 细胞、T 细胞及 B 细胞等免疫细胞功能抑制的机制进行整理, 并对目前抗 PD-1/PD-L1 抗体治疗脓毒症的研究进展进行简要综述。

**关键词:** 脓毒症; 免疫细胞; 程序性死亡受体 1; 程序性死亡受体-配体 1

**中图分类号:** R392.11

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-2478(2019)06-0518-04

脓毒症是宿主抗感染反应失调引起的威胁生命的多器官功能障碍性疾病<sup>[1]</sup>。近十年来, 美国、德国及中国大陆等国家和地区脓毒症的发病率、死亡率都相对较高<sup>[2-3]</sup>, 而传统的治疗措施并不能改变这一局面, 因此寻求新的治疗方法迫在眉睫。近年来的研究表明, 部分脓毒症患者无法度过最初的细胞因子风暴期, 而幸存的患者仍可能出现促炎与抑炎反应失衡, 引起淋巴细胞、APC、NK 细胞等免疫细胞功能障碍, 导致病原体无法清除, 继发性及机会性感染概率增加, 引起患者死亡<sup>[4]</sup>。其中, 引起免疫细胞功能障碍的一个重要机制是 PD-1 与 PD-L1 结合所引起的一系列免疫系统抑制反应, 最终导致患者死亡<sup>[5]</sup>。

## 1 PD-1/PD-L1 的结构、功能及表达

PD-1 因与细胞凋亡相关而被命名为程序性死亡受体 1<sup>[6]</sup>, 由 IgV 型胞外段、跨膜结构域以及胞内段三部分组成, 是 CD28 免疫球蛋白超家族成员之一, 主要表达于 T、B 细胞及 NK 细胞表面。PD-1 胞外段主要起与配体 PD-L1 结合的作用, 胞内段则主要发挥免疫抑制作用, 因为其尾部存在 2 个关键的发挥免疫抑制作用的功能域——近端的免疫受

体酪氨酸抑制基序(immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif, ITIM)以及远端的免疫受体酪氨酸转换基序(immunoreceptor tyrosine-based switch motif, ITSM)<sup>[7-8]</sup>。PD-1 与 PD-L1 结合后导致 ITIM 或 ITSM 功能域的酪氨酸磷酸化, 使 TCR/CD28 通路下游的信号转导组分去磷酸化, 抑制该通路信号转导, 最终减弱 APC 对 T 细胞的活化作用<sup>[9]</sup>。

PD-L1 作为 PD-1 的配体, 由 IgC 型胞外结构域、跨膜区及一个短胞质区尾部组成, 是 B7 家族分子之一, 主要表达于单核细胞、巨噬细胞及 DC 等 APC 表面。PD-L1 与 PD-1 分子结合后会共刺激信号的传递, 抑制 APC 对 T、B 细胞的活化, 发挥免疫抑制作用<sup>[10]</sup>。另外, 相较于 PD-1 的另一配体 PD-L2, PD-L1 的表达水平明显更高, 故 PD-L1 是目前发现的 PD-1 的主要结合配体<sup>[11]</sup>。

## 2 PD-1/PD-L1 通路与脓毒症免疫细胞的关系

在脓毒症发生发展过程中, PD-1 与 PD-L1 结合引起免疫细胞功能障碍, 诱导免疫耐受, 发挥负性免疫调节作用。其主要表现为中性粒细胞的吞噬功能降低; DC 抗原提呈能力下降; NK 细胞增殖、分泌功能受损; T、B 细胞凋亡增加; Treg 数量增加<sup>[12]</sup>。

**2.1 PD-1/PD-L1 与中性粒细胞** 在脓毒症亚急性期, 中性粒细胞可通过 PD-1/PD-L1 通路抑制 T 细胞增殖、活化, 主要机制涉及患者外周血中 PD-L1<sup>+</sup>低密度中性粒细胞(low-density neutrophil, LDN)的免疫抑制作用。LDN 是中性粒细胞的一个

收稿日期: 2018-12-13

基金项目: 贵州省科技厅联合基金(黔科合 LH 字[2017]7094); 贵州省中医药管理局资助项目(QYZZ-2016-D35); 贵州省教育厅自然科学研究项目(GZZ2017006)

作者简介: 王宗培(1993—), 男, 硕士生, 主要从事脓毒症细胞免疫相关研究

通信作者: 谢智慧(E-mail: xiezhihui71@126.com)

亚群,存在于正常人体内。当机体处于感染状态时LDN数量激增,导致炎症反应增强。而PD-L1<sup>+</sup>LDN会通过PD-1/PD-L1途径抑制T细胞的增殖及活化,诱导免疫耐受<sup>[12-13]</sup>。此外, Demaret等<sup>[14]</sup>研究发现,PD-L1<sup>+</sup>中性粒细胞与淋巴细胞的直接接触可通过巨噬细胞1抗原抑制淋巴细胞增殖并诱导其凋亡。Patera等<sup>[12]</sup>的研究表明,中性粒细胞的吞噬功能与其PD-L1的表达负相关,阻断PD-1/PD-L1通路可改善中性粒细胞的吞噬功能。此外,中性粒细胞上PD-L1的表达水平与急性生理功能和慢性健康状况评分II、序贯器官衰竭评分正相关。因此,中性粒细胞表面PD-1及PD-L1的表达水平与疾病严重程度相关。

**2.2 PD-1/PD-L1与DC** DC作为抗原提呈能力最强的APC,发挥着启动细胞免疫应答的关键作用。成熟DC高表达MHC II类分子以及CD80、CD86和CD40等共刺激分子,可诱导T细胞特异性免疫应答。脓毒症发生发展过程中,抗原刺激免疫细胞产生IFN- $\gamma$ ,后者诱导DC表面表达PD-L1,进而抑制T细胞免疫应答。另外,DC作为一种具有双向免疫调节功能的免疫细胞,一方面,可以诱导机体产生免疫应答反应;另一方面,在一定条件下会转化为耐受性DC,主要受共刺激与共抑制分子之间平衡的调节。在抗原的持续刺激下,IFN- $\alpha$ 会刺激DC表面PD-L1的过表达,诱导DC免疫耐受的建立,早期活跃的DC转化为耐受性DC。而到了多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)阶段,耐受性DC数量占绝对优势,导致共刺激分子及MHC II类分子表达减少,从而减弱正常DC对T细胞的活化作用<sup>[15]</sup>。总之,PD-1和PD-L1表达的上调会引起DC抗原提呈能力下降,抑制T细胞活化,最终促使脓毒症进入免疫抑制阶段。

**2.3 PD-1/PD-L1与NK细胞** 在脓毒症免疫抑制阶段,PD-1/PD-L1参与对NK细胞活化及增殖功能的抑制。一方面,PD-1通过介导蛋白酪氨酸磷酸酶SHP-2的活化来抑制PI3K/AKT信号通路的转导,导致NK细胞增殖、细胞毒作用及IFN- $\gamma$ 分泌等功能的受损。另一方面,成熟DC分泌的IL-12对NK细胞的活化具有正反馈作用,而NK细胞的分泌功能(IFN- $\gamma$ )受损后会抑制DC的成熟。因此,PD-1介导的NK细胞功能受损会进一步抑制其活化并形成恶性循环<sup>[16]</sup>。此外, Giuliani

等<sup>[17]</sup>研究发现,PD-1表达并存在于NK细胞免疫突触中,损害NK细胞对靶细胞的识别能力,继而减弱其杀伤功能。Oyer等<sup>[18]</sup>的研究表明,阻断PD-1/PD-L1通路一方面可减少Treg增殖所诱导的免疫抑制;另一方面会上调NK细胞表面CD16的表达,同时引起CD57<sup>+</sup>NK细胞数量的增加。而CD57<sup>+</sup>NK细胞作为其中的一个亚群,具有较强的细胞毒性,与CD16结合会产生很高的反应性,并提高NK细胞的杀伤活性。总之,PD-1及PD-L1的高表达会抑制NK细胞的增殖及杀伤活性。

**2.4 PD-1/PD-L1与T细胞** 脓毒症的发生发展过程中,PD-1和PD-L1的结合常引起T细胞耗竭,主要表现为其增殖能力下降,凋亡增加和细胞因子分泌减少。一方面,表达上调的PD-1会与配体PD-L1结合限制T细胞活化,抑制炎症反应<sup>[19]</sup>。另一方面,PD-1与PD-L1同时高表达于Treg表面,可促进Treg增殖,抑制效应T细胞的增殖<sup>[20]</sup>。此外,PD-1还可通过对PI3K/AKT和MEK-ERK信号转导通路的选择性作用调节细胞周期,抑制T细胞增殖<sup>[21]</sup>。Watanabe等<sup>[22]</sup>的研究发现,T细胞表面不仅表达PD-1,还表达PD-L1,这意味着T细胞具有依赖PD-1/PD-L1通路的自分泌抑制作用,但具体机制尚不清楚。

**2.5 PD-1/PD-L1与B细胞** B细胞为体液免疫的主要组成部分,脓毒症发生后B细胞数量显著减少,目前发现的机制主要涉及蛋白酪氨酸磷酸酶SHP-2途径对BCR信号转导通路的抑制作用。PD-1/PD-L1相互作用后会对T细胞的活化产生抑制,导致表达在CD4<sup>+</sup>Th表面的黏附分子CD40L表达下调,而B细胞表面的黏附分子CD40在与CD40L结合后会产生活化B细胞的第二信号。因此,PD-1/PD-L1通路所介导的T细胞功能障碍会进一步抑制B细胞活化<sup>[23]</sup>。此外,与T细胞类似的是,PD-1/PD-L1通路会阻断B细胞活化的第二共刺激信号通路,抑制其活化<sup>[24]</sup>。McKay等<sup>[25]</sup>的研究结果表明,PD-1还抑制了B细胞增殖和IgG的产生,并认为在抗原激活B细胞后,同型B细胞之间会相互作用,刺激PD-1与PD-L1结合,抑制B细胞的增殖与活化功能。因此,PD-1/PD-L1对B细胞的增殖及活化具有重要的抑制作用。

### 3 抗PD-1/PD-L1抗体治疗脓毒症

在脓毒症亚急性期免疫抑制过程中,PD-1与

PD-L1 的相互作用发挥重要功能。PD-1/PD-L1 的相互作用发生在 T 细胞和 APC 之间, APC 表面表达的 CD80、MHC II 类分子在与 T 细胞表面的 CD28、TCR 分子结合后分别传递活化后者的第一及第二共刺激信号, 刺激效应 T 细胞增殖、活化及细胞因子分泌, 从而清除病原体。然而, PD-L1 在与 PD-1 结合后会传递负性共刺激信号, 抑制 CD28 通路的第二信号传递, 从而抑制 T 细胞活化、增殖, 最终导致其大量凋亡, 加重免疫抑制状态<sup>[22]</sup>。而抗 PD-1 或抗 PD-L1 抗体的使用可部分逆转脓毒症亚急性期的免疫抑制状态<sup>[26]</sup>。因此, 靶向 PD-1 或 PD-L1 为恢复生理性免疫应答和改善预后提供了有效的治疗方案。

目前在肿瘤治疗方面, 多种 PD-1/PD-L1 阻断性抗体已通过 FDA 批准并上市, 成功减缓了晚期肿瘤进展并提高了患者存活率<sup>[27]</sup>。同样, 多项体外研究表明, 阻断 PD-1/PD-L1 通路可以改善脓毒症患者对感染的抵抗能力, 因此 PD-1 或 PD-L1 抑制剂在这方面作用积极<sup>[22, 28]</sup>。目前, 抗 PD-1 和抗 PD-L1 抗体在治疗脓毒症方面的临床试验已在 clinicaltrials.gov 网站上注册, 但这些小型探索性试验结果尚未正式公布<sup>[29]</sup>。另外, 抗 PD-1 抗体的过度应用可能会导致正常免疫系统的破坏, 引起自身免疫病等副作用<sup>[30]</sup>。虽然目前暂无副作用案例的报道, 但开展 PD-1/PD-L1 阻断治疗脓毒症仍需十分谨慎。

#### 4 结语

在脓毒症免疫抑制阶段, PD-1 与配体 PD-L1 的过度表达及相互作用会诱导免疫细胞产生功能抑制。最近的研究试图在脓毒症亚急性期通过阻断 PD-1/PD-L1 通路来改善免疫细胞功能, 纠正免疫抑制状态, 以提高患者的存活率。大量的体外实验已证实了该治疗方案的可行性。目前抗 PD-1/PD-L1 抗体在脓毒症治疗方面的一些小型探索性试验还在进展中。将来, 相关试验结果的公布及进一步的大量临床试验将对靶向 PD-1/PD-L1 通路治疗脓毒症产生深远的指导意义。

#### 参考文献

- [1] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, *et al.* The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3)[J]. *JAMA*, 2016, 315(8): 801-810.
- [2] Fleischmann C, Thomas-Rueddel DO, Hartmann M, *et al.* Hospital incidence and mortality rates of sepsis[J]. *Dtsch Arztebl Int*, 2016, 113(10): 159-166.
- [3] Weng L, Zeng XY, Yin P, *et al.* Sepsis-related mortality in China: A descriptive analysis[J]. *Intensive Care Med*, 2018, 44(7): 1071-1080.
- [4] Jiang W, Zhong W, Deng Y, *et al.* Evaluation of a combination "lymphocyte apoptosis model" to predict survival of sepsis patients in an intensive care unit[J]. *BMC Anesthesiol*, 2018, 18(1): 89.
- [5] Seidel JA, Otsuka A, Kabashima K. Anti-PD-1 and anti-CTLA-4 therapies in cancer: Mechanisms of action, efficacy, and limitations[J]. *Front Oncol*, 2018, 8: 86.
- [6] Ishida Y, Agata Y, Shibahara K, *et al.* Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death[J]. *EMBO J*, 1992, 11(11): 3887-3895.
- [7] Wilson JK, Zhao Y, Singer M, *et al.* Lymphocyte subset expression and serum concentrations of PD-1/PD-L1 in sepsis-pilot study[J]. *Crit Care*, 2018, 22(1): 95.
- [8] Wlasiuk P, Niedzielski A, Skorka KA, *et al.* Accumulation of CD5<sup>+</sup> CD19<sup>+</sup> B lymphocytes expressing PD-1 and PD-1L in hypertrophied pharyngeal tonsils [J]. *Clin Exp Med*, 2016, 16(4): 503-509.
- [9] Shi J, Hou S, Fang Q, *et al.* PD-1 controls follicular T helper cell positioning and function[J]. *Immunity*, 2018, 49(2): 264-274.
- [10] Holt MP, Punkosdy GA, Glass DD, *et al.* TCR signaling and CD28/CTLA-4 signaling cooperatively modulate T regulatory cell homeostasis[J]. *J Immunol*, 2017, 198(4): 1503-1511.
- [11] Li Y, Liang Z, Tian Y, *et al.* High-affinity PD-1 molecules deliver improved interaction with PD-L1 and PD-L2 [J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(8): 2435-2445.
- [12] Patera AC, Drewry AM, Chang K, *et al.* Frontline science: Defects in immune function in patients with sepsis are associated with PD-1 or PD-L1 expression and can be restored by antibodies targeting PD-1 or PD-L1 [J]. *J Leukoc Biol*, 2016, 100(6): 1239-1254.
- [13] Herteman N, Vargas A, Lavoie JP. Characterization of circulating low-density neutrophils intrinsic properties in healthy and asthmatic horses[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 7743.
- [14] Demaret J, Venet F, Friggeri A, *et al.* Marked alterations of neutrophil functions during sepsis-induced immunosuppression[J]. *J Leukoc Biol*, 2015, 98(6): 1081-1090.
- [15] Patil NK, Bohannon JK, Luan LM, *et al.* Flt3 ligand treatment attenuates T cell dysfunction and improves survival in a murine model of burn wound sepsis[J]. *Shock*, 2017, 47(1): 40-51.
- [16] Liu Y, Cheng Y, Xu Y, *et al.* Increased expression of programmed cell death protein 1 on NK cells inhibits NK-cell-mediated anti-tumor function and indicates poor prognosis in

- digestive cancers[J]. *Oncogene*, 2017, 36(44): 6143-6153.
- [17] Giuliani M, Janji B, Berchem G. Activation of NK cells and disruption of PD-L1/PD-1 axis: Two different ways for lenalidomide to block myeloma progression [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(14): 24031-24044.
- [18] Oyer JL, Gitto SB, Altomare DA, *et al.* PD-L1 blockade enhances anti-tumor efficacy of NK cells[J]. *Oncoimmunology*, 2018, 7(11): e1509819.
- [19] Peled M, Tocheva AS, Sandigursky S, *et al.* Affinity purification mass spectrometry analysis of PD-1 uncovers SAP as a new checkpoint inhibitor[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115(3): E468-E477.
- [20] Sambucci M, Gargano F, de Rosa V, *et al.* Foxp3 isoforms and PD-1 expression by T regulatory cells in multiple sclerosis[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 3674-3683.
- [21] Patsoukis N, Brown J, Petkova V, *et al.* Selective effects of PD-1 on Akt and Ras pathways regulate molecular components of the cell cycle and inhibit T cell proliferation[J]. *Sci Signal*, 2012, 5(230): ra46.
- [22] Watanabe E, Thampy LK, Hotchkiss RS. Immunoadjuvant therapy in sepsis: Novel strategies for immunosuppressive sepsis coming down the pike[J]. *Acute Med Surg*, 2018, 5(4): 309-315.
- [23] Gravelle P, Burroni B, Péricart S, *et al.* Mechanisms of PD-1/PD-L1 expression and prognostic relevance in non-Hodgkin lymphoma: A summary of immunohistochemical studies[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(27): 44960-44975.
- [24] Velu V, Shetty RD, Larsson MA. Role of PD-1 co-inhibitory pathway in HIV infection and potential therapeutic options [J]. *Retrovirology*, 2015, 12(1): 1-17.
- [25] McKay JT, Egan RP, Yammani RD, *et al.* PD-1 suppresses protective immunity to streptococcus pneumoniae through a B cell-intrinsic mechanism[J]. *J Immunol*, 2015, 194(5): 2289-2299.
- [26] Shindo Y, McDonough JS, Chang KC, *et al.* Anti-programmed cell death ligand 1 peptide improves survival in sepsis[J]. *J Surg Res*, 2017, 208: 33-39.
- [27] 闵懋, 吴霞. PD-1/PD-L1 阻断治疗及其疗效预测研究进展 [J]. *现代免疫学*, 2018, 38(3): 261-265.
- [28] Rudick CP, Cornell DL, Agrawal DK. Single versus combined immunoregulatory approach using PD-1 and CTLA-4 modulators in controlling sepsis[J]. *Expert Rev Clin Immunol*, 2017, 13(9): 907-919.
- [29] Hotchkiss R, Colston E, Yende S, *et al.* Immune checkpoint inhibitors in sepsis: A phase 1b trial of anti-PD-L1 (BMS-936559)[J]. *Crit Care Med*, 2018, 46(1): 736.
- [30] Alsaab HO, Sau S, Alzhrani R, *et al.* PD-1 and PD-L1 checkpoint signaling inhibition for cancer immunotherapy: Mechanism, combinations, and clinical outcome[J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 561.