

DOI: 10.13376/j.cbbs/2014061

文章编号: 1004-0374(2014)04-0419-04

# PD-1/PD-L1在脓毒症发生发展过程中的作用研究

周园红<sup>1</sup>, 沈雪莲<sup>1</sup>, 刘朝奇<sup>2</sup>, 刘 强<sup>1\*</sup>

(1 三峡大学第一临床医学院/宜昌中心人民医院, 宜昌 443003; 2 三峡大学分子生物学研究所, 宜昌 443002)

**摘要:** 脓毒症是机体应对感染而发生的一种全身性炎性反应, 且发病机制复杂, 免疫调节紊乱是最显著的特点之一。程序性死亡分子-1 (programmed death-1, PD-1) 及其配体 (programmed death ligand-1, PD-L1) 是介导机体免疫反应的负性调节信号, 在脓毒症的发生发展过程中扮演着重要角色。因此, 对 PD-1/PD-L1 在脓毒症的发生发展及治疗中所发挥的作用进行简短归纳。

**关键词:** 脓毒症; PD-1/PD-L1; 免疫调节; 免疫治疗

中图分类号: R459.7

文献标志码: A

## PD-1/PD-L1: the effect on the occurrence and development of sepsis

ZHOU Yuan-Hong<sup>1</sup>, SHEN Xue-Lian<sup>1</sup>, LIU Chao-Qi<sup>2</sup>, LIU Qiang<sup>1\*</sup>

(1 First College of Clinical Medical Science, China Three Gorges University/Yichang Central People's Hospital, Yichang 443003, China; 2 Institute of Molecular Biology, Three Gorges University, Yichang 443003, China)

**Abstract:** Sepsis is the systemic inflammatory reaction responding to the infection, however, the underlying mechanisms have not been fully understood. Immune disorder is one of the most remarkable characteristics for sepsis. Programmed death-1 (PD-1) and its ligand (PD-L1) are the negative-regulated signals mediating immune response, which play an important role in the occurrence and development of sepsis. In this review, we will make a brief summary about the effect of PD-1/PD-L1 on the occurrence, development and treatment of sepsis.

**Key words:** sepsis; PD-1/PD-L1; immunoregulation; immunotherapy

脓毒症 (sepsis) 是指由感染引起的全身炎症反应综合征 (systemic inflammatory response syndrome, SIRS)。脓毒症早期, 倘若全身炎症反应得不到有效的控制, 病情可进一步恶化成脓毒性休克、多器官功能障碍综合征 (multiple organ dysfunction syndrome, MODS), 最终导致患者死亡。

脓毒症的根本发病机制尚未明了, 涉及到复杂的全身炎症网络效应, 是机体对感染性因素的免疫反应。本文就 PD-1/PD-L1 在脓毒症免疫反应中的作用进行简单的归纳。

## 1 PD-1/PD-L

### 1.1 PD-1及其配体的蛋白结构和表达

早在 1992 年, Ishida 等<sup>[1]</sup>首次分离出 PD-1 基因并命名。程序性细胞死亡受体-1 (programmed death-1, PD-1) 是一个相对分子质量为  $5.5 \times 10^4$  的 I

型跨膜表面受体蛋白, 胞外区为免疫球蛋白样 IgV 区。随着后期的进一步研究, PD-1 被确认为 CD28 家族成员, 能够与 B7 家族分子程序性细胞死亡受体配体-1 (programmed death ligand-1, PD-L1) 或程序性细胞死亡受体配体-2 (programmed death ligand-2, PD-L2) 结合。PD-1 分子最显著的特征是胞浆区的尾部含有两个酪氨酸残基, 分别参与组成免疫受体酪氨酸抑制基序结构域和免疫受体酪氨酸转换基序结构域, 其中后者在 PD-1 的负性调节中起着关键的作用。与 CD28 家族其他受体不同的是, 其他成员胞外部分都是二硫键连接的同源二聚体, 而 PD-1 是单体结构; 此外, PD-1 胞外部分的 CDR3 没有 XXPPP (F/Y)

收稿日期: 2013-08-01; 修回日期: 2013-10-09

\*通信作者: E-mail: stellarray@126.com

序列(X代表任意氨基酸),而该序列对CD28家族其他成员的配体结合功能是关键性的<sup>[2]</sup>。

PD-1可表达于T细胞、B细胞、髓系细胞和胸腺细胞,提示PD-1在免疫调节方面有着广泛的作用,这种作用以负性调节作用为主。PD-1在诱导初始T细胞增殖、抑制活化的T细胞和促进T细胞凋亡方面具有重要作用<sup>[3]</sup>。

目前已确知的PD-1配体为PD-L1和PD-L2。PD-L1又称B7-H1,组成性表达于T细胞、B细胞、巨噬细胞和树突状细胞(dendritic cell, DC),在活化后的细胞中表达量增加。除此之外,PD-L1还表达于大量非淋巴细胞的组织细胞,如心脏内皮细胞、胰腺细胞、胎盘的合体滋养层细胞等等。PD-L2的表达相对较局限,主要表达于抗原递呈细胞,如活化的巨噬细胞、DC。因此,在调节免疫方面PD-1/PD-L1发挥主要作用。

## 1.2 PD-1/PD-L1途径的免疫调节作用

PD-1/PD-L1途径参与外周组织的免疫耐受<sup>[4-5]</sup>。PD-1/PD-L1信号途径调控T细胞的激活,诱导外周耐受,减弱微生物和肿瘤引起的免疫。在动物肿瘤模型中,阻断PD-1/PD-L1信号途径可控制肿瘤生长,激活T细胞反应,产生有效的细胞因子<sup>[6-10]</sup>。阻断PD-1/PD-L1信号途径可以使无反应性的T细胞对抗原重新获得反应性<sup>[11]</sup>。在慢性病毒感染时,CD8<sup>+</sup>T细胞中发现PD-1过表达,其减弱了CD8<sup>+</sup>T细胞的反应,损伤了T细胞,而抗PD-L1抗体则可减轻T细胞的损伤<sup>[12-13]</sup>。

## 2 PD-1/PD-L1途径与脓毒症

### 2.1 PD-1/PD-L1途径与淋巴细胞和单核细胞功能障碍

淋巴细胞凋亡和单核细胞功能障碍在脓毒症诱导的免疫抑制中扮演了重要的角色<sup>[14-15]</sup>。临床研究表明,脓毒症患者T淋巴细胞表面PD-1水平以及单核细胞表面PD-L1水平较正常人显著升高,并且PD-1/PD-L1的含量与病情严重程度有相关性;与正常人相比,病情好转出院患者的PD-1和PD-L1呈低含量,而病重死亡患者却呈高含量<sup>[16]</sup>。抗PD-L1抗体可阻断PD-1/PD-L1信号途径,提高脓毒症小鼠的生存率,降低淋巴细胞的死亡率,增加外周血中淋巴细胞的数目,增加细胞因子TNF- $\alpha$ 、IL-6的表达,降低T细胞中caspase 8和caspase 9的活性<sup>[17]</sup>,显著降低TNF- $\alpha$ 、TCR两条诱导凋亡途径中T淋巴细胞的凋亡率<sup>[18]</sup>。同时也能够提高

单核细胞的功能,增强LPS刺激后促炎细胞因子的分泌,降低抗炎细胞因子分泌水平<sup>[19]</sup>。同样的结果也在脓毒症小鼠模型<sup>[20]</sup>以及脓毒症休克患者<sup>[21]</sup>中得到证实。Brahmamdam等<sup>[22]</sup>研究发现,抗PD-1抗体可逆转脓毒症患者免疫功能障碍,提高脓毒症患者的存活率。

综上所述,PD-L1的阻断对脓毒症产生了保护性的影响,抑制了淋巴细胞凋亡,逆转了单核细胞功能障碍。因此,阻断PD-1/PD-L1途径很有可能成为脓毒症临床治疗中一个新的潜在靶点。

### 2.2 PD-1/PD-L1途径与树突状细胞功能障碍

脓毒症早期表现为过度的免疫-炎症反应,而末期发生的免疫抑制和多器官功能障碍综合征(MODS)是导致死亡的重要原因。树突细胞(DC)是专职抗原提呈细胞,能够特异性激发和调节T细胞免疫应答。高表达PD-1/PD-L1的DC具有耐受性DC的功能<sup>[23]</sup>。

通过小鼠腹腔注射酵母多糖复制脓毒症-多器官功能障碍综合征模型发现,PD-1/PD-L1阳性DC含量在MODS病程中呈现升高-降低-再升高的变化趋势,MHC-II(I-Ab)及共刺激分子CD86阳性DC含量在MODS病程中呈现先升高后持续下降的变化趋势。耐受性DC可通过PD-L1和PD-1分子抑制T细胞的功能,发挥负向免疫调节作用,诱导免疫抑制形成和MODS的发生<sup>[24]</sup>。

### 2.3 PD-1/PD-L1途径与巨噬细胞功能障碍

巨噬细胞功能在脓毒症病情演化以及转归过程中具有重要作用<sup>[25]</sup>。研究发现,PD-1/PD-L1途径在脓毒症过程中能够调控外来微生物与过激的免疫炎症反应之间的平衡,也是诱发脓毒症不同转归的一个关键因素。在PD-1<sup>-/-</sup>小鼠中观察到,这类小鼠在脓毒症病程中死亡率较低,且全身炎症反应较野生型小鼠轻微<sup>[26-28]</sup>。首先,这是PD-1在巨噬细胞中的一个显著反应。与脓毒症小鼠模型相比,野生型小鼠腹腔内巨噬细胞中PD-1表达明显增高,同时伴有细胞功能障碍<sup>[29]</sup>。其次,对于PD-1<sup>-/-</sup>小鼠,当腹膜巨噬细胞衰竭时,动物的细菌清除能力下降,炎症因子水平明显上升,致死率升高<sup>[26-28]</sup>。第三,无论是脓毒症患者还是小鼠,其血液中单核细胞PD-1表达均明显增高<sup>[30]</sup>。以上结果表明,在脓毒症发生发展过程中,PD-1可能不仅是一个单核-巨噬细胞功能障碍的标志,还很有可能成为一个治疗靶点,可通过它来调节初始免疫反应引起的强烈机体炎症反应,以改善脓毒症预后。

### 3 PD-1相关分子——脓毒症潜在的新治疗靶点

PD-1 调节免疫反应, 而 PD-1 敲除的脓毒症小鼠死亡率降低<sup>[31]</sup>。研究发现脓毒症休克患者单核细胞表达的 PD-1、PD-L1、PD-L2 增加, 休克发生之后的 1~2 d、3~5 d 内 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞中 PD-1、PD-L1 表达增加。重要的是, 当 PD 分子表达上调, 继发的院内感染率也增加, 脓毒症休克之后的死亡率随之也提高。这些发现提示, PD-1 相关的分子可能为脓毒症提供新的治疗思路。

基于 PD-1/PD-L1 在机体免疫调节中的作用, PD-1 与其配体 PD-L1 介导的信号途径正成为通过免疫干预进行脓毒症治疗的手段之一。许多研究者针对 PD-1 和 PD-L1 分子设计特异性阻断其信号途径的药物, 调节机体的免疫应答, 期望达到免疫治疗作用。而人源化抗体为运用 PD-1/PD-L1 抗体的免疫治疗提供了基础。因此, PD-1/PD-L1 途径有可能成为调节机体免疫应答的理想靶点, 针对 PD-1/PD-L1 信号通路的免疫治疗将会得到广泛应用。

#### [参 考 文 献]

- Ishida Y, Agata Y, Shibahara K, et al. Induced expression of PD-1, a novel member of immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. *EMBO J*, 1992, 11(11): 3887-95
- Zhang X, Schwartz JC, Guo X, et al. Structural and functional analysis of the costimulatory receptor programmed death-1. *Immunity*, 2004, 20(3): 337-47
- Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, et al. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu Rev Immunol*, 2008, 26: 677-704
- Keir ME, Liang SC, Guleria I, et al. Tissue expression of PD-L1 mediates peripheral T cell tolerance. *J Exp Med*, 2006, 203(4): 883-95
- Fife BT, Bluestone JA. Control of peripheral T-cell tolerance and autoimmunity via the CTLA-4 and PD-1 pathways. *Immunol Rev*, 2008, 224: 166-82
- Francisco LM. The PD-1 pathway in tolerance and autoimmunity. *Immunol Rev*, 2010, 236: 219-42
- Blank C, Mackensen A. Contribution of the PD-L1/PD-1 pathway to T-cell exhaustion: an update on implications for chronic infections and tumor evasion. *Cancer Immunol Immunother*, 2007, 56(5): 739-45
- Keir ME. PD-1 and its ligands in T-cell immunity. *Curr Opin Immunol*, 2007, 19(3): 309-14
- Le Tulzo Y, Pangault C, Amiot L, et al. Monocyte human leukocyte antigen-DR transcriptional down-regulation cortisol during septic shock. *Am J Respir Crit Care Med*, 2004, 169: 1144-51
- Tsushima F, Yao S, Shin T, et al. Interaction between B7-H1 and PD-1 determines initiation and reversal of T-cell anergy. *Blood*, 2007, 110: 180-5
- Channappanavar R, Twardy BS, Suvas S. Blocking of PDL-1 Interaction enhances primary and secondary CD8 T cell response to herpes simplex virus-1 infection. *PLoS One*, 2012, 7(7): e39757
- Shin H, Blackburn SD, Intlekofer AM, et al. Molecular signature of CD8<sup>+</sup> T cell exhaustion during chronic viral infection. *Immunity*, 2009, 31(2): 309-20
- Erickson JJ, Gilchuk P, Hastings AK, et al. Viral acute lower respiratory infections impair CD8<sup>+</sup> T cells through PD-1. *J Clin Invest*, 2012, 122(8): 2967-82
- Muszynski JA. Sepsis-induced innate and adaptive immune suppression. *Open Inflam J*, 2011, 4: 67-73
- Unsinger J, McDonough JS, Shultz LD, et al. Sepsis-induced human lymphocyte apoptosis and cytokine production in "humanized" mice. *J Leukoc Biol*, 2009, 86(2): 219-27
- 周莹, 蔡在龙, 焦炳华. PD-1/D-L1途径在脓毒症T淋巴细胞和单核细胞中的作用及机制研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2010
- Zhang Y, Zhou Y, Lou J, et al. PD-L1 blockade improves survival in experimental sepsis by inhibiting lymphocyte apoptosis and reversing monocyte dysfunction. *Crit Care*, 2010, 14(6): R220
- Channappanavar R, Twardy BS, Suvas S. Blocking of PDL-1 interaction enhances primary and secondary CD8 T cells response to herpes simplex virus-1 infection. *PLoS One*, 2012, 7: e39757
- Carter L, Fouser LA, Jussif J, et al. PD-1:PD-L inhibitory pathway affects both CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells and is overcome by IL-2. *Eur J Immunol*, 2002, 32: 634-43
- Chang KC, Burnham CA, Compton SM, et al. Blockade of the negative costimulatory molecules PD-1 and CTLA-4 improves survival in primary and secondary fungal sepsis. *Crit Care*, 2013, 17: R85
- Keir ME, Liang SC, Guleria I, et al. Tissue expression of PDL-1 mediates peripheral T cell tolerance. *J Exp Med*, 2006, 203: 883-95
- Brahmamdam P, Inoue S, Unsinger J, et al. Delayed administration of anti-PD-1 antibody reverses immune dysfunction and improves survival during sepsis. *J Leukoc Biol*, 2010, 88: 233-40
- Selenko GN, Majdic O, Szekeres A, et al. B7-H1 (programmed death-1 ligand) on dendritic cells is involved in the induction and maintenance of T cell anergy. *Immunol*, 2003, 170: 3637-44
- 刘茜, 陆江阳, 王晓虹, 等. MODS小鼠脾脏树突细胞 PD-1、PD-L1 的表达变化及其意义. *解放军医学杂志*, 2010, 35(1): 17-9
- 刘杨. 程序性细胞死亡1信号通路与疾病相关性的研究进展. *国际免疫学杂志*, 2008, 31: 378-83
- Huang X, Venet F, Wang YL, et al. PD-1 expression by macrophages plays a pathologic role in altering microbial clearance and the innate inflammatory response to sepsis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 6303-8
- Stearns-Kurosawa DJ, Osuchowski MF, Valentine C, et al. The pathogenesis of sepsis. *Annu Rev Pathol*, 2011, 6: 19-

- 48
- [28] Huang X, Venet F, Wang YL, et al. PD-1 deficiency protects mice from the lethality of sepsis by balancing efficient pathogen clearance and inflammatory cytokine production. *FASEB J*, 2008, 22: 675-23
- [29] Zhang Y, Zhou Y, Lou J, et al. PD-L1 blockade improves survival in experimental sepsis by inhibiting lymphocyte apoptosis and reversing monocyte dysfunction. *Critl Care*, 2010, 14: R220
- [30] Brahmamdam P, Inoue S, Unsinger J, et al. Delayed administration of anti-PD-1 antibody reverses immune dysfunction and improves survival during sepsis. *J Leukoc Biol*, 2010, 88: 233-40
- [31] Guignant C, Lepape A, Huang X, et al. Programmed death-1 levels correlate with increased mortality, nosocomial infection and immune dysfunctions in septic shock patients. *Crit Care*, 2011, 15: R99