A interação PD-1 – PD-L1 é conhecida por causar disfunção das células T, que pode ser bloqueada por anticorpos anti-PD-1 / PD-L1.

Entretanto, estudos também mostraram que a função do O eixo PD-1 – PD-L1 é afetado pela complexa rede de regulação imunológica, e algumas células T CD8 + podem entrar em um estado disfuncional irreversível que não pode ser resgatado Bloqueio PD-1 / PD-L1.

Na maioria dos cânceres avançados, exceto o linfoma de Hodgkin tem alta expressão PD-L1 / L2) e melanoma (que tem alto índice de mutação tumoral den), a taxa de resposta objetiva com monoterapia anti-PD-1 / PD-L1 é de apenas ~ 20%, e toxicidades relacionadas ao sistema imunológico e hiperprogressão podem ocorrer em um pequeno subgrupo de pacientes durante a terapia de bloqueio PD-1 / PD-L1.

A falta de eficácia em até 80% dos pacientes não foi necessariamente associada à expressão negativa de PD-1 e PD-L1, sugerindo que os papéis de PD-1 / PD-L1 na imunossupressão e os mecanismos de ação de anticorpos continuam a ser melhor definidos. Além disso, importante regulação imunológica mecanismos dentro ou fora da rede PD-1 / PD-L1 precisam ser descobertos e visado para aumentar a taxa de resposta e reduzir as toxicidades do ponto de verificação imunológico terapias de bloqueio.

Este artigo revisa os principais estudos clínicos e funcionais de PD-1 / PD-L1, incluindo aqueles com discrepâncias no papel patológico e biomarcador da PD-1 e PD-L1 e a eficácia do bloqueio de PD-1 / PD-L1. O objetivo é melhorar a a eficácia da imunoterapia bloqueadora PD-1 / PD-L1, bem como melhorar a o desenvolvimento de estratégias terapêuticas para superar os mecanismos de resistência e desencadeie a resposta imune antitumoral para combater o câncer.

INTRODUÇÃO

É amplamente conhecido que a ligação da proteína 1 de morte celular programada (PD-1, também conhecida como CD279) (1) com o ligante 1 PD-1 (PD-L1, também chamado de B7-H1 ou CD274) (2, 3) ativa um teste imunológico crítico, ponto que leva à disfunção, exaustão e tolerância das células T; alta afinidade anti-PD-1 ou anti-PD-L1 os anticorpos monoclonais (mAbs) (4), que bloqueiam a interação PD-1 – PD-L1, podem reverter o checkpoint, liberando o freio nas respostas das células T.

No entanto, nem a expressão de PD-1 nem de PD-L1 é específico para o estado reversível de disfunção das células T, e o efeito do bloqueio PD-1 / PD-L1 pode ser dependente do contexto. Além disso, a sinalização PD-1 e o mecanismo de acção dos mAbs anti-PD-1 / L1 não são completamente compreendidos.

Apesar dessas discrepâncias e incógnitas, PD-1 / PD-L1 bloqueio alcançou grande sucesso clínico no combate ao câncer. Resposta duradoura também pode ser alcançada em pacientes com PD-L1 (5, 6). No entanto, uma grande proporção de pacientes, incluindo aqueles com expressão PD-L1 + / PD-1 +, não respondem a PD-1 / PD-L1 bloqueio. Algumas terapias combinadas racionais mostraram sinergismo in vivo ou em ensaios clínicos (bem como ensaios imunológicos toxicidades, infelizmente). Este artigo resume as funções funcionais e estudos clínicos de PD-1 / PD-L1 e os mecanismos de resistência para o bloqueio PD-1 / L1, e discute várias questões importantes decorrentes dos dados discrepantes, com o objetivo de aumentar a permanência do bloqueio de PD-1, PD-L1 e PD-1 / PD-L1.

EXPRESSÃO PD-1 E PD-1: MARCADORES EXTRAÇÃO OU ATIVAÇÃO DE CÉLULAS

Ao contrário da percepção comum de que PD-1 e PD-L1 expressam é um marcador da disfunção das células T associada ao câncer e infecção viral crônica, PD-1 e PD-L1 também podem ser expressas em condições fisiológicas normais. PD-1 é expresso em 40-80% das células T de memória, mas não nas células T naïve na periferia sangue humano de adultos humanos saudáveis ​​e níveis de expressão de PD-1 não afetam diretamente a função de produção de citocinas do CD8 + Células T (7).

A expressão de PD-1 pode indicar ativação de células T, porque PD-1 é expresso apenas em células T ativadas in vivo, e não em repouso Células T O mRNA PD-1 (PDCD1) é expresso principalmente no timo in vivo, com distribuição adicional possível no baço e pulmão (1). A proteína PD-1 pode ser detectada no timo murino normal e baço de células T em níveis baixos (8), mas é fortemente induzida timócitos e células T no baço e nódulos linfáticos após estimulação com um mAc anti-CD3 in vitro (9) e aumentou Células T no baço e fígado após injeção de células tumorais in vivo (10). A PD-1 também é expressa em células B ativadas in vitro após estimulação com anticorpos anti-IgM, mas era indetectável em macrófagos ativados ou células dendríticas (9, 11). Em reações humanas amígdalas inflamatórias, a PD-1 é expressa principalmente em células T, bem como pequeno subconjunto de células dendríticas foliculares (12).

A associação da expressão de PD-1 com antígeno-específico as células T também foram ilustradas em pacientes com câncer. PD-1 expres- foi significantemente maior nas células T CD8 + antígeno-específicas do que outras células T CD8 + em lesões de melanoma metastático mesmos pacientes (13). Em um modelo de rato com melanoma, comparado com células T CD8 + especificadas por tumor-ignorantes, CD8 + específico de tumor Células T infiltrando o mesmo tumor tiveram níveis significativamente maiores de PD-1, LAG-3, CD69 (marcador de ativação) e 4-1BB (custo expressão da molécula latória) e ganhou 1.414 (mas não relacionadas com exaustão) regiões de cromatina acessíveis (14). Terapia com células T adotivas com células expandidas de PD-1 + CD8 + linfócitos infiltrantes de tumor (TILs), mas não de PD-1− ou bulk CD8 + TILs, mostraram reatividade do tumor e benefício terapêutico in vivo (15).

Por outro lado, a expressão de PD-1 está associada a subcoestimulação ótima e disfunção de células T quando o antígeno é apresentados em antígenos não ativados ou não-profissionais

células (16, 17), e a expressão de PD-1 é freqüentemente induzida por altas

concentração de antígeno e estimulação antigênica prolongada (18,

19). PD-1 pode não ser um bom marcador de ativação de células T

A expressão da superfície da PD-1 não é rapidamente induzida em

Células T CD4 + / CD8 +. A expressão de PD-1 demonstrou ser

aumentou 24–48 h após estimulação in vivo (20–22), 5–7 dias

após a experiência com antígeno (17), 3 a 8 dias após a transferência adotiva de

células T CD8 + reativas ao antígeno pré-ativadas (14), e 19 dias após

imunização in vivo (19), embora a expressão de mRNA PDCD1

foi mostrado para ser aumentado em um ponto anterior do tempo, como foi o

supressão da função das células T. Um estudo cinético in vivo de células T

resposta à infecção pelo vírus da hepatite B também mostrou que

reconhecimento de antígeno intra-hepático, as células T CD8 + mostraram

indução e declínio da capacidade de produção de IFN-γ, seguido de

expansão tardia das células T e aumento da atividade citolítica, e

a oscilação funcional coincidiu com forte indução de PD-1

em cï¿½ulas T especï¿½icas de antigï¿½io (23).

Além disso, em um modelo de melanoma, o “exausto” (mostrando

reduziu a capacidade de produção de citocinas) CD8 + reativo a tumores

Células T, comparadas com células T CD8 + de espectadores “não exauridos”,

teve a regulação positiva de Pdcd1 mas a regulação negativa dos genes envolvidos

Sobrevivência e função de células T CD8 + (Il7r, Bcl2, Cxcr3, Ifngr1 e

Ifngr2) (14). Em pacientes com melanoma metastático, infil-

trating células T tiveram alta expressão PD-1 e diminuiu funcional

avidez em comparação com células T infiltrando tecidos normais, enquanto

As células T circulantes do sangue periférico tinham uma expressão mínima de PD-1

comparável com a de doadores saudáveis. Fração menor

de células T CD8 + antígeno-específicas em lesões de melanoma metastático

produziu IFN-γ em comparação com aqueles que circulam no sangue,

foi inversamente correlacionada com a expressão de PD-1 (13). Similarmente,

A expressão de PD-1 aumentou gradualmente em TILs com crescimento tumoral

mas não em células T de baço num modelo de tumor de melanoma; Apesar

uma maior porcentagem de TILs produziu IFN-γ após estimulação

ex vivo em comparação com as células T do baço, a quantidade de IFN-γ

produzido por TILs foi menor, e menor porcentagem de TILs

produziu TNF-α (19). Em um modelo de câncer de cólon, o

níveis de expressão de PD-1 nas células T intratumorais inversamente

relacionados com a função das células T CD8 + (24).

Durante a infecção crônica pela coriomeninite linfocítica

gitis virus (LCMV), os níveis de mRNA PDCD1 foram aumentados em

Células T CD8 + “exauridas” com produção prejudicada de citocinas

proliferação, mas o PDCD1 não foi regulado

Células T CD8 + de memória específica para LCMV durante infecção viral aguda

(25). Paradoxalmente, a expressão da proteína PD-1 não se limitou a

infecção crônica por LCMV, e a proteína PD-1 também foi transitoriamente

expressa em células T CD8 + na infecção viral aguda e

associado à liberação de LCMV, sugerindo que a proteína PD-1

a expressão não é um marcador específico de exaustão (25). De fato,

durante a infecção aguda com controle rápido da infecção viral,

As células PD-1lo produziram principalmente citocinas antivirais e células PD-1hi

foram os principais mediadores da atividade de citotoxicidade (26). Similarmente,

durante a infecção micobacteriana crônica in vivo, as células T PD-1 +

não estavam funcionalmente exauridos (altamente proliferativos e

diferenciar em células T secretoras de citocinas) e, provavelmente,

para respostas de células T específicas para antígeno (27). Além disso, durante

crescimento tumoral em um modelo de camundongo, embora o aumento de PD-1 e

A expressão de LAG-3 foi acompanhada por efetores de células T diminuídos

função, o aumento do catabolismo de ácidos graxos aumentou a expressão de PD-1

função efectora das células T melhorada; inversamente, inibir

catabolismo de ácidos graxos diminuiu a expressão de PD-1 e diminuiu

Função das células T (28).

A expressão de PD-1hi também não marca a exaustão de células T

pacientes com doença auto-imune ou câncer. Em pacientes com

artrite reumatóide, células PD-1hiCXCR5 − CD4 + são expandidas

em tecidos não linfoides patologicamente inflamados e são

funcionalmente ativo (promovendo respostas de células B) (29). No folicular

pacientes com linfoma, as células T PD-1 + incluem ambos funcionalmente

“Exausto” (incapaz de produzir citocinas) células T PD-1lo e PD-1hi

Células T auxiliares foliculares “não exauridas” (CXCR5 + BCL6 + CD4 +,

apoiando o crescimento e sobrevivência de células B, e secretando IL-21

e IL-4) (30). Células PD-1 + aumentadas em biópsias tumorais

associado com prognóstico favorável em pacientes com

linfoma folicular (31, 32), câncer de pulmão (33), câncer de ovário

(34), ou pior sobrevida em pacientes com câncer (35, 36). Além disso,

em pacientes com melanoma, os clones de células T PD-1 + são específicos para o antígeno

Clonótipos de células T com maior avidez funcional e reatividade

(Produção de IFN-γ e TNF-α após ativação) do que células PD-1− T

clones (37), e a expressão de PD-1 pode ser usada como biomarcador para

Células T específicas de neoantígenos em TILs e no sangue periférico

(38-40). As discrepâncias na associação da expressão de PD-1

com a função das células T (exaustão ou avidez) podem refletir o

interação complexa entre várias forças motrizes e efetores do

PD-1, sugerindo que outros fatores além do PD-1 são também

importante para a funcionalidade da célula T.

Semelhante à PD-1, a expressão de PD-L1 também pode ser um marcador de

ativação imune. PD-L1 não é frequentemente expresso em linhas celulares

in vitro, mas é induzida em tumores e no microenvios

(exceções incluem linfoma e células de mieloma

linhas) (10, 41). IFN-γ produzido por células T efetoras logo após, mas não

antes da ativação da resposta imune (23), é o principal indutor

da expressão de PD-L1 ao nível da transcrição (42). Apoio

isto, em amostras de melanoma metastático, as densidades de células PD-L1 + foram

demonstrou correlacionar-se significativamente com as densidades de células T CD8 + no

tumor e na margem tumoral invasiva (43). IFN-γ e TLR

ligandos induzir PD-L1 através do JAK / STAT / IRF-1, MEK / ERK,

e vias MyD88 / TRAF6 (44-47). JAK2 (46), MEK / ERK,

e p38 MAPK (48) vias de sinalização foram críticas para PD-L1

expressão em células de linfoma de Hodgkin. Além disso, PD-L1

a expressão também é induzida nas células imunes após ativação

incluindo células dendríticas, macrófagos, células B (8, 11), células T

(49), e células natural killer (50), e isso é mediado pela

vias citocina / quimiocina e STAT3 (50-52).

As respostas imunes não são os únicos processos que podem induzir

Expressão de PD-L1; vias oncogênicas tumor-intrínsecas também podem

regulao positiva da express de PD-L1. Por exemplo, oncogenic c-Jun

(AP-1) e sinalização STAT3 (53) e fator induzível por hipóxia

O HIF-1α (54) aumenta a expressão de PD-L1 transcricionalmente; a

escritor epigenético oncogênico EZH2 (55) e leitor epigenético

BET4 aumenta a expressão de PD-L1 (56), enquanto a borracha epigenética

histona desacetilase regula negativamente a expressão de PD-L1 (57). Em

Além disso, perda da função PTEN e ativação oncogênica do

Via PI3K / AKT / mTOR aumentam a expressão de PD-L1 pós-

transcricionalmente (58, 59) [entretanto, a perda PTEN in vivo não

sempre afeta a expressão de PD-L1 significativamente (60)]. Além disso,

CSN5, induzido por NF-κB p65 (61), e romance CMTM6 / 4

proteínas transmembrana (62, 63) diminuem a ubiquitinação e

estabilizar PD-L1. Sinalização EGF induz a glicosilação PD-L1

e antagoniza a fosforilao de PD-L1 mediada por GSK3?

degradação (64). Glicólise aumentada e produção de lactato

ativar coativador transcricional TAZ e induzir PD-L1

expressão em células tumorais (65). O intermediário glicolítico

O piruvato também pode controlar metabolicamente a expressão de PD-L1 em

macrófagos através da sinalização BMP4 / p-SMAD1 / 5 / IRF-1

via (66).

Além disso, a PD-L1 também é expressa em condições normais.

em tecidos linfóides e não linfoides em humanos

trofoblastos placentários, células endoteliais miocárdicas e corticais

células epiteliais tímicas (8, 11, 42), que estão envolvidas na periferia

tolerância e privilégio imunológico (67-69). A expressão de PD-L1 tem

foram correlacionados com uma sobrevida mais pobre ou melhor de câncer

pacientes (70, 71). Em conjunto, esses achados mostram que,

Para PD-1, a expressão de PD-L1 não é um marcador específico para células T

ativação ou exaustão.

EXPRESSÃO PD-1 E PD-L1

EXCITADOR OU BIOMARKER DE IMUNE

SUPRESSÃO: CONDUZIDA POR TUMORES OU

EVOLUÇÃO CONDUZIDA PELO HOSPITAL

Como mencionado acima, a expressão de PD-L1 pode ser imu-

nogênico (tumor-extrínseco, impulsionado pelo sistema imunológico)

(72) ou oncogênica (célula tumoral intrínseca, dirigida por intrínseco

mecanismos nas células cancerígenas). Tem sido controverso se

a expressão imunogênica e oncogênica da PD-L1 no tumor

ou a expressão de PD-L1 em ​​células imunes ativadas do hospedeiro é

essencial para evasão imune. Recentemente, quatro estudos abordaram

esta questão in vivo e mostrou que, embora todas as formas de

A expressão de PD-L1 contribui para a imunossupressão em um

forma não redundante, os papéis relativos (ou seja, predominantes

ou menor) de PD-L1 imunogênica derivada de tumor e

expressão derivada de PD-L1 na supressão da citotoxicidade de células T

e a infiltração variou dependendo dos modelos de mouse usados,

que apresentavam diferentes níveis de imunogenicidade tumoral (73-76).

Deleção do gene PD-L1 em ​​imunossupressores MC38 colorretais

tumores de adenocarcinoma resultaram em perda de proteção

Citotoxicidade das células T, enquanto o crescimento de tumores MC38

Camundongos knockout PD-L1 / PD-L2 (PD-L1 - / - / L2 - / -) foi tão robusto

como nos ratos do tipo selvagem, que elegantemente demonstraram que

induzida a expressão de PD-L1 tumoral direta e suficientemente

inibe a imunidade antitumoral, servindo muito mais do que um marcador

de uma resposta imune ineficaz (74).

Experimentos similares projetados demonstraram que oncogênicos

Expressão de PD-L1 em ​​tumores de melanoma BRAF.PTEN apenas levemente

inibiu a imunidade antitumoral (74), enquanto imunogênica

A expressão de PD-L1 em ​​células não tumorais foi crítica para

evasão. Da mesma forma, em um modelo de camundongo de tumores melanoma com

baixa imunogenicidade, expressão do hospedeiro PD-L1 e PD-1 em

As células tumorais são essenciais para suprimir a imunidade antitumoral.

Portanto, embora a noção predominante seja a de que os tumores exploram

a via da PD-1 e evitar a resposta imune por

expressando PD-L1, este “mecanismo de resistência imune adaptativa”

está amplamente limitada à expressão imunogênica de PD-L1 (74),

é finalmente impulsionado pela resposta imune do hospedeiro (72).

Embora a expressão do tumor PD-L1 no modelo MC38 tenha

um papel condutor, a supressão imunológica mediada pela PD-L1

limitações locais, que um estudo propôs como “molecular

modelo funcional do escudo. Neste modelo, PD-L1 forma apenas um

escudo molecular temporal para proteger células tumorais PD-L1 +, e

a função citolítica das células T contra outras células tumorais PD-L1−

com o mesmo antígeno não é prejudicado (77), provavelmente porque um

proximidade entre PD-1-PD-L1 e sinapses imunológicas

é necessário para a função PD-L1 perturbar o receptor de células T

(TCR) - grande interação do complexo de histocompatibilidade (MHC).

Este modo funcional é um pouco como outro mecanicista

modelo, no qual a interação PD-1 – PD-L1 aumenta a motilidade das células T

através da inibição de “sinais de parada” acionados por TCR (78). Consistente

com este modelo funcional, dois (73, 74) dos quatro estudos recentes

iés mencionado acima mostrou que a expressão do tumor PD-L1 pode

proteger apenas as células tumorais PD-L1 + da morte de células T citolíticas em

situ, e não as células PD-L1− em trans, conferindo um crescimento seletivo

vantagem em células tumorais PD-L1 +.

No entanto, como mostrado em modelos de ratos e em pacientes com câncer,

expressão de tumor imunogênico PD-L1 é heterogênea (76)

transiente (75), o que não sustenta a ideia de que tumores

A expressão PD-L1 derivada é necessária para indução de tolerância e

manutenção ou que os clones tumorais PD-L1 + são preferencialmente

durante a tumorigênese. Postula-se que as células tumorais PD-L1−

escapar da vigilância imunológica através de mecanismos alternativos

como diminuição da expressão de MHC, aumento da expressão de PD-L2

em células tumorais PD-L1−, remodelamento estromal e mesotelização epitelial

transição enchilmal (73), bem como a expressão compensatória PD-L1

em células hospedeiras, incluindo células T (79-81), apresentadoras de antígenos

células supressoras mielóides derivadas de células mielóides (MDSCs) e

tecidos hospedeiros (81, 82). A expressão PD-L1 compensatória pode ser

tanto dependentes de IFN-γ e independentes de IFN-γ (75), e

ser capaz de desencadear um ciclo vicioso de supressão imune no

microambiente tumoral (83). Além disso, a sinalização PD-1 foi

recentemente propôs a afetar mais células apresentadoras de antígeno

células tumorais devido ao aumento da expressão de CD80 / CD86

células apresentadoras de antígenos, dado que o receptor CD28 é o

alvo primário para a desfosforilação mediada por PD-1 / SHP2,

foi recentemente descoberto nesse estudo (84). Portanto, o host-derivado

PD-L1 parece ser indispensável para a função inibitória

do eixo PD-L1 / PD-1. No entanto, se o menor papel de

a expressão oncogênica de PD-L1 no melanoma BRAF.PTEN

modelo se aplica à expressão do tumor PD-L1 regulada por outros

mecanismos tumor-intrínsecos em diferentes tipos de câncer é

não claro.

Além disso, o papel condutor da PD-1 nas células T do hospedeiro

A supressão é demonstrada pelo fato de que os tumores MC38

completamente limpo em camundongos knockout PD-1 (PD-1 - / -). TILs de

Camundongos PD-1 - / - tinham uma razão aumentada de células CD8 + para

Células T (Tregs) e expressão de granzima em comparação com TILs

de ratos do tipo selvagem. Em contraste, os tumores MC38 (com

expressão genética PD-L1) cresceu de forma similar robusta em PD-L1 - / - / L2 - / -

ratinhos como em ratinhos do tipo selvagem; Camundongos PD-L1 - / - / L2 - / - e tipo selvagem

camundongos apresentaram relação CD8 / Treg e PD-1, granzima e

Níveis de expressão de Ki-67 em TILs (74). Além disso, estudos anteriores

também mostrou que o bloqueio da PD-1, mas não da PD-L1, por

deleção ou mAbs eliminaram o crescimento do tumor em modelos tumorais

(10, 74, 85), e o knockout PD-L1 in vivo não teve efeito sobre PD-1

expressão em TILs (74).

Juntos, esses estudos podem sugerir que as respostas imunes

são finalmente regulados pelo hospedeiro, e não pelo tumor.

No entanto, outro estudo mostrou que o antígeno contínuo

encontros e estimulação do TCR, em vez de fatores associados

com o microambiente tumoral, induzem a expressão de PD-1 e

Disfunção de células T (17), que é “impressa” no pré-maligno

fase maligna inicial e mais tarde evolui para uma terapêutica

estado irreversível. Em consonância com a ideia de ditado antígeno

resposta imune, aumento da expressão de PD-1 em

células CD8 + do sangue de pacientes após imunoterapia viral

não era necessariamente um alvo para melhorar a eficácia dos

imunoterapia (86); mutanome personalizado imunogênico

vacinas induziram resposta clínica duradoura no melanoma

pacientes (87, 88). No entanto, a resistência ao neoantigen personalizado

As vacinas ainda podem ser desenvolvidas através da deficiência de β2M e

outros mecanismos pouco claros em alguns pacientes nessas

ensaios de vacinas neoantígenas e pacientes que receberam o bloqueio de PD-1

a terapia combinada alcançou regressão completa (87, 88).

Além disso, em um modelo de tumor, embora as vacinas contra

TILs antígeno-específicos, eles não diminuíram a expressão de PD-1,

que prejudicava a função efetora das TILs, nem

diminuir a porcentagem de MDSCs nas lesões tumorais (o que

acumulado desde o início e acentuado após imunização

(19). Em um ensaio clínico de imunização em pacientes com

Melanoma metastático, a expansão e função (testado in vivo

e in vitro) de células T CD8 + específicas para antígenos estimuladas pelo câncer

as vacinas também foram reguladas pelo aumento da expressão de PD-1 (89).

O papel crítico do antígeno também foi mostrado em um modelo de camundongo

com infecção por LCMV: as células T funcionaram normalmente durante

Infecção (estirpe de Armstrong) com expressão transitória de PD-1

mas estavam exaustos durante a infecção crônica (clone 13) com

expressão estável de PD-1 (25). Embora exausto CD8 + T células

poderia ser revigorado pela terapia anti-PD-L1 in vivo, células T

tornou-se re-exaurido com expressão persistente de PD-1 se o antígeno

a concentração permaneceu alta (90). Portanto, tumor persistente

antígenos pareciam ser o ditador da expressão da PD-1 e

Re-exaustão de células T. No entanto, isso não foi suportado pelo antígeno

retirada in vivo experimento. Após a liberação do antígeno, exausto

Células T e células T exauridas tratadas com anti-PD-L1 não conseguiram

regular a expressão de PD-1 (ou expressão de T-bet e Eomes) e

teve fraca resposta de recordação após o novo desafio do antígeno (90).

Um estudo avaliando mudanças na acessibilidade da cromatina durante

infecção viral revelou que a infecção aguda por LCMV resultou

em mudanças estáveis ​​(5–10%) e dinâmicas (≥25%) em

regiões de cromatina em efetor específico de antígeno e memória CD8 +

Células T Em contraste, a infecção crônica enriqueceu de forma única

regiões de cromatina sible para a transcrição da família NFAT e Nr4a

fatores (incluindo potenciadores do locus PDCD1), mas parcialmente

perdeu a acessibilidade para algumas regiões (como os loci Satb1 e Il7r)

em células T CD8 + exauridas, embora células T CD8 + exauridas e

células T CD8 + efetoras compartilham acessibilidade à cromatina no promotor

regiões de genes chave relacionados a efetores, incluindo Ifng, Gzma, Gzmk,

Fasl e Prf1, bem como em genes de receptores inibitórios, incluindo

Tim3, Lag3 e Ctla4 (91). A terapia anti-PD-L1 in vivo causou

apenas alterações do perfil epigenético mínimas em células T exauridas;

em vez disso, a revigoração da célula T pelo bloqueio PD-L1 resultou

de religação transcricional com diferentes facetas de transcrição

(NF-κB, Jun: AP-1, IRFs e CTCF, em vez de “partnerless”

NFATc1, NFAT: AP-1, Nr4a1, Nur77, Eomes e Egr2) no

paisagem epigenética (90). A inflexibilidade epigenética é pensada

contribuir para a reexpactação com estimulação antigênica sem

resposta de recordação tipo memória após o tratamento anti-PD-L1 (90),

sugerindo a importância da regulação intrínseca das células T do hospedeiro

fatores incluindo PD-1.

Semelhante a este efeito terapêutico não-sustentado em infecções virais

modelos, um mAb anti-PD-L1 mostrou ter apenas

efeitos antitumorais transitórios em um modelo de camundongo, em

supressão completa do crescimento do mieloma por nocaute genético de

PD-1 (85). A terapia anti-PD-L1 in vivo levou à regressão do tumor

com aumento do infiltrado de células T reativas ao antígeno e aumento

Produção de IFN-γ e TNF-α na estimulação antigênica ex vivo.

No entanto, o bloqueio PD-L1 teve apenas um efeito moderado no gene

ativação e acessibilidade da cromatina em infiltração tumoral

Células T, incluindo a regulação de algumas funções importantes

genes (incluindo granzyme e serpin genes) e umedecido

acessibilidade em motivos limitados ligando NFAT, NFAT: AP-1, TCF,

e bZIP: fatores de transcrição IRF. Em contraste, 450 acessíveis

regiões (incluindo as acessíveis para Nr4a e NFAT) foram

ganho em células T “exauridas” em comparação com “não exauridos”

Células T antes do tratamento (14).

Além disso, em um modelo induzido de câncer de fígado, disfunção

de células T antígeno-específicas com duração de mais de 30 dias não foi

resgatados após a retirada do antígeno ou após uma diminuição

Níveis de PD-1 em TILs pela terapia anti-PD-1 / PD-L1 (17), sugerindo

que o estado de disfunção foi mantido por múltiplos fatores

em vez de PD-1 sozinho. Irreversibilidade desses TILs, que

ser discutido mais em seções posteriores, um pouco parecido com o

não responsividade das células T anérgicas tolerantes ao bloqueio de PD-L1

(92). Nesses ambientes, o PD-1 pareceu ser um biomarcador

do que o condutor central da imunossupressão.

PD-1 E PD-L1: FUNCIONALMENTE

DEPENDENTE OU INDEPENDENTE EM

CONDUÇÃO DE SUPRESSÃO IMUNE

A relação receptor e ligante entre PD-1 e PD-L1

foi descoberto por Freeman et al. em 2000 (2), e a relação

entre PD-1 e PD-1 ligante 2 (PD-L2, também chamado de B7-DC ou

CD273) foi descoberto por Latchman et al. em 2001 (93). PD-1

A ligação leva à exaustão das células T (diminuição da proliferação e

função efectora) (25), apoptose (94, 95), ou anergia / tolerância

(um estado hiporresponsivo de células T a um antígeno específico que pode

induzido por falta de co-estimulação) (96-99). Estudos funcionais

demonstraram que a ligação do receptor PD-1 é necessária para

PD-1 para prevenir a ativação das células T e o efeito inibitório da PD-1

ligadura depende da força do TCR (21, 22, 42) e co-localização

de PD-1 com CD3 e / ou CD28 (20, 100).

Molecularmente, a ligação PD-1 inibe a mediação pelo CD28

lação (2, 20, 93); evita sinais de parada acionados por TCR (78); inibe

Sinalização de TCR em células T CD8 + e CD4 +; Bloqueia celular

progressão do ciclo em células T CD4 +; regula negativamente a expressão de

molulas antiapopticas e citocinas prinflamatias; e

aumenta expressão de Cbl-b ubiquitina ligase em células T CD8 +

(20, 93, 100-104). Para expressão de PD-1 derivada de células B, coligação

da região citoplasmática PD-1 com o receptor de células B (BCR)

sinalização BCR inibida in vitro (105). Inibição de TCR / BCR

a sinalização é mediada pela proteína tirosina fosfatase SHP2,

que é recrutado para o imunoreceptor PD-1 baseado em tirosina

Comute o motivo sobre a ligação PD-1 e desfosforila ZAP70

(em células T), Syk, Igβ, PLCγ2 e ERK (em células B / T) e outros

quinases a jusante, incluindo PI3K / AKT (20, 93, 102, 105, 106).

Embora a SHP2 possa estar associada ao imunoreceptor PD-1

motivo de troca à base de tirosina com estimulação de TCR na ausência

do acoplamento PD-1, o acoplamento PD-1 é necessário para bloquear as células T

ativação (20).

No entanto, em contraste com esses estudos anteriores, um estudo recente

mostraram que CD28 e Lck (uma quinase associada ao CD4 /

CD8 que fosforila CD3 / TCR, CD28 e PD-1), mas não

TCR, foram os alvos preferidos da desfosforilação pela PD-1

ligado SHP2 em um sistema de reconstituição bioquímica (84). PD-1

co-clustered com CD28 em micro-clusters de membrana plasmática em

uma maneira dependente de PD-L1, mas apenas parcialmente segregada

TCR em células T CD8 + estimuladas. Além disso, ensaios de células intactas

utilizando células T Jurkat e células Raji B confirmou que CD28, mas

não TCR, foi desfosforilado após a ligação de PD-1 com PD-L1;

no entanto, a desfosforilação foi apenas transitória (84).

A via PI3K / AKT regulada negativamente nas células T na PD-1

A ligação é importante para o ciclo celular, proliferação, sobrevivência,

tosis e metabolismo. PD-1 também inibe a via PI3K / AKT

inibindo a fosforilação de PTEN na cauda C-terminal,

que diminui a estabilidade do PTEN, mas aumenta a fosfatase PTEN

atividade (107). Porque o caminho PI3K / AKT / mTOR é crítico

para reprogramação metabólica, expressão e ligação da PD-1

tem sido associada à disfunção metabólica nas células T. Como mostrado

in vitro, a ligação de PD-1 nas células T CD4 + inibiu a glicólise

(106) e transportador de glicose Glut1, bem como transporte e

catabolismo da glutamina, mas lipólise aumentada e ácido graxo

oxidação (108), que promove o desenvolvimento de Treg

de cï¿½ulas T efectoras (109, 110). Na doença múltipla enxerto-contra-hospedeiro

(GVHD), a expressão de PD-1 mostrou aumentar os níveis

de espécies reativas de oxigênio, que era dependente de

metabolismo da gordura nas células T CD4 + e CD8 +, facilitando

Apoptose de células T CD8 + (95). Por outro lado, o bloqueio PD-1 / PD-L1

diminuiu parcialmente a geração de espécies reativas de oxigênio

e morte celular de PD-1hi alorreactivo, mas não PD-1lo, células T

e aumentou a gravidade da GVHD (95). No entanto, em pacientes

com infecção viral, células T CD8 + específicas para vírus

dependente da glicólise com alta expressão de Glut1 e PD-1

e mitocôndrias despolarizadas que poderiam ser resgatadas por um sinal

3 (111) citocina IL-12, comparada com a CD8 + não esgotada

Células T dentro dos mesmos pacientes com flexibilidade metabólica de

fosforilação oxidativa mitocondrial para alimentar o efetor

função (112). Um estudo recente mostrou que a hipoglicemia in vivo

e estresse metabólico hipóxia causou exaustão de células T CD8 +

(que foi independente da via PD-1, no entanto); ácido graxo

catabolismo acentuado nas células T CD8 + (que também foi observado

pacientes com melanoma) função efetoras antitumoral parcialmente preservada.

de CD8 + TILs mas sobreregulado (possivelmente indiretamente) PD-1

expressão; O bloqueio PD-1 sinergiza (mas não modificou) este

reprogramação metabólica na inibição do crescimento tumoral (28). Em um

Modelo de leucemia de células B com expressão aumentada de PD-1 e PD-L1

ao longo do tempo no microambiente leucêmico, células T deficientes

o metabolismo contribuiu diretamente para a disfunção das células T, enquanto

bloqueio in vivo e in vitro de PD-1 não foi suficiente para melhorar

Função das células T (113).

Em oposição à função da PD-1 na supressão da glicólise,

glicólise aumentada induz a expressão de PD-L1 (65), que

por sua vez, promove a glicólise nas células tumorais e restringe as células T

função competindo metabolicamente pela glicose (114). De importância,

A sinalização PD-1 inibe o PI3K / AKT / mTOR e MAPK /

Vias ERK em células T, mas sinalização PI3K / AKT e MEK / ERK

vias de ativação da expressão de PD-L1 em ​​células tumorais. Tumor

PD-L1 promove a sinalização MTORC1, mas inibe MTORC2 e

autofagia (115). Competição metabólica ou adaptação entre

células tumorais e células T (114) podem contribuir para esses contrastes

caminhos e os resultados paradoxais nos modelos de transplantes:

Células T doadoras alorreativas em camundongos GVHD deficientes em PD-L1

aumento da glicólise aeróbica e fosforilação oxidativa (116),

que as células T deficientes em doador de PD-L1 em ​​ratos do tipo selvagem

glicólise aeróbica reduzida, fosforilação oxidativa, ácido graxo

metabolismo e produção de citocinas (117).

De acordo com a exigência da ligação PD-1 para sua supressão

função siva, no linfoma folicular, que tem PD-L1 muito baixa

expressão, apenas subconjuntos de células T PD-1 + esgotaram

tipos e função (30, 118). No entanto, exaustão de terminally

células PD-1hiCD44intCD8 + diferenciadas durante a infecção viral crônica

a infecção pareceu não depender da expressão de PD-L1, porque

anti-PD-L1 mAbs não conseguiram resgatar essas células T PD-1hi de

apoptose ou restaurar a função efectora (119). Além disso, o PD-1

e a expressão de PD-L1 pode ser temporariamente não sobreposta; uma

O estudo da cinética observou uma explosão rápida, mas transitória, de IFN-γ

após 4 h após a transferência de células T adotivas, enquanto a perda de IFN-γ

expressão coincidiu com indução PD-1 forte tardia (23).

PD-L2, o segundo ligante natural PD-1, possui maior afinidade

do que PD-L1 para PD-1 (120, 121). Entretanto, as interações PD-1 – PD-L2

é muito menos funcionalmente significativa do que a PD-1 – PD-L1

interação devido à baixa expressão de PD-L2 e PD-1–

A interação PD-L1 é sensível à competição PD-L2 somente quando

Os níveis de PD-L2 são muito altos (120). Em forte contraste com PD-L1,

A PD-L2 é raramente expressa em infecções linfo-hematopoiéticas e não

tecidos hematopoiéticos (8, 122), exceto a placenta humana

células epiteliais límbicas e medulares do timo (42). PD-L2 pode ser

induzida em células dendríticas, macrófagos, células T ativadas (8, 11,

21, 42), células B (123-125) e células cancerosas por IL-4 a IL-4R /

STAT6 em macrófagos inflamatórios (126), a via do NF-κB

em cï¿½ulas dendrï¿½icas (8) e IFN-? / IFN-? em cï¿½ulas de melanoma (47).

Além disso, vários estudos mostraram que PD-1 e PD-L1, mas

não PD-L2, induzem tolerância e apoptose de células T, prevenindo

respostas auto / aloimunitárias (16, 67, 97, 116, 127, 128). Estes dados

pode sugerir que a função supressora da PD-1 é amplamente dependente

na expressão de PD-L1 mas não de PD-L2.

Em contraste, PD-L1 e PD-L2 podem exercer função inibitória

independente de PD-1 ligando-se a B7-1 (CD80) (129) e RGMb

(130), respectivamente. A afinidade de ligação de PD-L1-CD80 é menor

do que o de PD-1-PD-L1 (49). Estudos mostraram que PD-L1 – CD80

interação, mas não a interação PD-L1-PD-1, é responsável pela

indução e manutenção da tolerância de células T (131, 132) e

que a interação entre PD-L1 e PD-1 não leva a células T

anergia in vitro (77). Em contraste, em diabéticos não obesos (NOD)

modelos de ratinho, perda de PD-1, mas não de PD-L1, em

As células T CD4 + resultaram em aumento da proliferação de células T CD4 +

e infiltração do pâncreas durante o diabetes tipo 1 (133).

No entanto, estudos iniciais mostraram que semelhante à dependência

da função da PD-1 na ligação do receptor (20), a inibição

A atividade de PD-L1 e PD-L2 requer a expressão de PD-1 (2,

93); na verdade, a expressão de PD-L1 em ​​células T, células natural killer, e

tecidos periféricos podem ter um efeito co-estimulador com

receptores (3, 50, 117, 134-142). PD-L1 expresso em ativado

Demonstrou-se que as células T CD8 + promovem a sobrevivência e a função efetora

células T CD8 + durante a fase de contração após imunização

estimulação de zação / antígeno (134). Expressão de PD-L1 no pâncreas

células beta ilhotas foi mostrado para acelerar a rejeição de aloenxerto, aumento

Proliferação de células T CD8 + e promover diabetes auto-imune

(135). Da mesma forma, a expressão de PD-L1 induzida em células T do doador

letalidade por GVHD (117). Um estudo recente mostrou que após

Depleção de CD4 + T no transplante de células hematopoiéticas in vivo,

A interação PD-L1 – CD80 aumentou a sobrevida ea expansão de

doador de células T CD8 +, resultando em fortes efeitos enxerto-versus-leucemia.

Em contraste, interação de PD-L1 em ​​tecidos receptores com PD-1

células doadoras CD8 + preveniram GVHD (139), sugerindo que

A função inibitória da PD-L1 depende da PD-1. Estas contradições

Os resultados dos estudos sugerem que as interações PD-L1 com PD-1, CD80,

e outros receptores desconhecidos têm funções dependentes do contexto.

Os receptores não identificados de PD-L2 com função estimulatória

também foi relatado (143–145).

PD-1 BLOCKADE E PD-L1 BLOCKADE

POR GENE KNOCKOUT OU ANTICORPOS:

EFICÁCIA E LIMITAÇÕES

Bloqueio da via PD-1 / PD-L1 por deleção genética ou

utilizando anticorpos anti-PD-1 / PD-L1 foi estudado em vários

modelos pré-clínicos e os resultados são bastante variáveis, provavelmente devidos

para os diferentes papéis de PD-1 e PD-L1 em ​​diferentes genética

e configurações imunológicas. Ao contrário do nocaute germinal CTLA-4

Camundongos CTLA-4 - / -, que se desenvolvem espontaneamente e rapidamente

doença linfoproliferativa fatal com expansão maciça de

células T activadas (146, 147), ratinhos PD-1 - / - com diferentes

fundos desenvolveram lentamente artrite proliferativa semelhante ao lúpus,

glomerulonefrite, esplenomegalia ou cardiomiopatia dilatada

com alto título de autoanticorpos nos estudos iniciais de PD-1 (148-150),

sugerindo que a PD-1 pode inibir a proliferação e diferenciação de células B

tiação. Em um estudo posterior, o nocaute PD-1 em camundongos NOD especificamente

acelerou o início ea freqüência do diabetes tipo I, com forte

T helper 1 (Th1) polarização de células T infiltrando em ilhotas

(151). A perda de PD-1, mas não de PD-L1, foi ainda confirmada como sendo

responsável pela proliferação e infiltração de CD4 + reativos

Células T durante o diabetes tipo 1 em um modelo adotivo de transferência de células T

(133). O PD-1 também desempenha um papel na seleção positiva e negativa

de células T, como indicado pelo repertório de timócitos alterado em

Ratinhos PD-1 - / - TCR-transgicos (152) e in vitro (104).

Em contraste, os camundongos PD-L1 - / - pareciam normais, mas

suscetível à hepatite auto-imune experimental (induzida por

acumulação de células T CD8 + ativadas por antigénio no fígado) (153)

encefalomielite autoimune experimental (induzida por

células CD4 + Th1 reactivas com mielina) (81). PD-L1 - / - lúpus-suscetível

Camundongos MRL + / +) desenvolveram miocardite auto-imune e

monite com infiltrados aumentados de macrófagos PD-1 + e células T

no coração e no pulmão (154). Camundongos PD-L2 - / - exibiram

resposta de células T antígeno-específica e quebra de tolerância oral

em comparação com controles do tipo selvagem (155).

Em modelos de formação de tumores, camundongos PD-1 - / -

pressionou a tumorigese de culas de mieloma PD-L1 + (85); PD-1

deficiência também inibiu a disseminação hematogênica

tumores pouco imunogênicos (que eram PD-L1− in vitro) em

Ratinhos PD-1 - / - (10, 85). Nos modelos de infecção viral, ambos PD-L1 - / -

(25) e camundongos PD-1 - / - (156) morreram de imunopatologia

danos dentro de uma semana depois de ser infectado com o clone LCMV

13 cepa, que causa infecções crônicas em camundongos selvagens.

No entanto, ambos os camundongos PD-L1 - / - e PD-1 - / - exibiram células T normais

respostas à infecção aguda pelo LCMV e controlou a infecção

como os camundongos do tipo selvagem (25, 156). A consequência letal de

infecção crônica foi resultado de um vazamento vascular sistêmico

a citólise mediada por perforina grave com células T CD8 + aumentadas

atividade (156). Estes resultados podem sugerir que a eficácia da

resposta imune antiviral é determinada pela cepa do vírus

ou antígeno, mas não o eixo PD-1 / PD-L1, enquanto que os níveis citolíticos

atividade devido à ausência de PD-1 / PD-L1 resulta em imunopatolo-

dano tecidual lógico durante um período prolongado (23). Estes resultados

pode também sugerir que a interação PD-1 / PD-L1 tem uma

papel na geração de respostas antivirais efetivas. De fato,

estudos mostraram que a deleção de PD-1 em células T CD8 + específicas para vírus

proliferação aumentada de células T na fase aguda, mas superestimula-

ção e proliferação robusta levam ao aumento da apoptose durante

a fase de contração, bem como o acúmulo de mais citotóxicos

mas terminalmente diferenciados (as células de Eomeshi evoluíram de T-bethi

células progenitoras), células T CD8 + “profundamente exauridas” durante

Infecção por LCMV (157).

Curiosamente, o bloqueio PD-L1 com anticorpos anti-PD-L1

durante a fase inicial (nos dias 4 a 6) do clone sistêmico de LCMV

13 infecção também causou permeabilidade vascular e, finalmente,

colapso circulatório fatal (156), mas terapia anti-PD-L1 em ​​dias

23-40 após a infecção restaurou a função de CD8 + exaurido

Células T (proliferação, produção de citocinas, degranulação,

e controle viral) com ou sem depleção de células T CD4 + (25).

Embora a ajuda de células T CD4 + seja crítica para células T CD8 + sustentadas

função citotóxica durante infecção crônica por LCMV (158),

estudos mostraram que a combinação do bloqueio PD-L com células T CD4 +

depleção (159) ou depleção de células Treg (160) poderia resgatar

células T CD8 + exauridas durante a fase tardia da infecção e podem

resultar numa redução significativa da carga viral.

Embora as doenças auto-imunes contra auto-antígenos fossem

muito mais suave e, mais tarde, em camundongos deficientes em PD-1 / PD-L1 / L2

que nos camundongos CTLA-4 - / -, os mAbs anti-PD-1 exibiram

efeitos antitumorais do que mAbs anti-CTLA-4 em modelos tumorais (10,

25). Acredita-se que a imunidade antitumoral aumentada resulte

a ocupação do receptor PD-1 pelos mAbs anti-PD-1 que

impede que a PD-1 interaja com seus ligantes naturais PD-L1 /

L2 Foi demonstrado que o bloqueio da PD-1 com anti-PD-1

Os mAbs podem aumentar a proliferação e a produção de citocinas

células T específicas de gen (4, 10, 161), expandem as frequências intratumorais

de células T de memória efectora CD8 + (162), aumentam a citotoxicidade

atividade de células T efetoras (de preferência PD-1 + células T de memória

maior avidez funcional) (37), aumentar o recrutamento de efetores

as células no local do tumor (4, 10, 161), diminuem a mobilidade das células

aumentar a interação célula-dendrítica estável (78), e promover

Priming de células T CD8 + (97, 163) [no entanto, alguns estudos

que o bloqueio de PD-1 sozinho não afetou o priming de células T CD8 + e

coestimulação de CD27 ou CD28 também pode ser necessária para células T

priming (164, 165)].

Além disso, a expressão de PD-1 foi encontrada em 64% dos recém-nascidos

células matadoras naturais isoladas de pacientes com mieloma múltiplo

(166). Tratamento anti-PD-1 in vitro com um anticorpo CT-011

(no entanto, sua especificidade para PD-1 tem sido questionada) reforçada

tráfico de células natural killer, formação de complexos imunes e

citotoxicidade contra células de mieloma múltiplo portadoras de PD-L1 (166).

Em múltiplos modelos tumorais, a IL-18 aumentou a expressão de PD-1

em células matadoras naturais maduras apenas em órgãos linfóides, mas não

em tumores; terapia anti-PD-1 in vivo anulou a mediação de IL-18

metástases (167). A expressão de PD-1 também foi encontrada em tumores

macrófagos associados em pacientes com câncer colorretal (168)

e em células dendríticas mielóides que se infiltram em tumores no ovário

pacientes com câncer (169). Bloqueio de PD-1 / PD-L1 sozinho ou combinado

com terapia anti-CD47 in vivo aumentou a fagocitose macrofágica

tosis, mas diminuiu o crescimento do tumor e aumentou a sobrevida de camundongos

(168). Bloqueio de PD-1 in vitro ou in vivo melhorou células dendríticas

sua função, incluindo liberação de citocinas (TNF-α e IL-6), antígeno

apresentação e co-estimulação devido à ativação de NF-kB.

O bloqueio de PD-L1 também aumentou a liberação de citocinas, embora para

extensão (169, 170).

Semelhante ao bloqueio de PD-1, bloqueio de PD-L1 com anti-PD-L1

Os mAbs também mostraram aumentar a produção de citocinas de T-helper

aumentam a atividade citolítica das células T citotóxicas, e

prolongar a duração da parada da migração de células T induzida por antígeno

in vitro (78, 100, 171, 172). Bloqueio PD-L1 fortemente reforçada

proliferação e produção de citocinas de memória ou recentemente

células T activadas do sangue periférico de dadores saudáveis ​​ex

vivo, mas apenas ativação de células T ingênuas levemente

uma resposta primária (173). Em contraste, um estudo mostrou que

anti-PD-1 / PD-L1 mAbs in vivo aumentou a produção de IFN-γ, mas

proliferação de células T CD4 + naïve inibida, mediada por IFN-γ

de células T CD4 + e óxido nítrico de macrófagos (174). Em

um modelo murino de colite crônica induzida por transferência adotiva

de células T CD4 + CD45RBhi, tratamento com bloqueio PD-L1 antes (mas

não após) o início da colite severa suprimiu a expansão das células T

e Th1 produção de citocina e impediu o desenvolvimento de

colite (141).

Entretanto, os efeitos do bloqueio de PD-1 / PD-L1 foram contextuais

em modelos de infecção viral. Bloqueio PD-L1 e bloqueio PD-1

foram eficazes apenas para células T exauridas durante LCMV crônico

infecção, e não aumentaram o CD8 + específico para vírus

Células T durante a infecção aguda (25, 26). Além disso, em uma crônica

Modelo de infecção pelo LCMV, o bloqueio PD-L1 resgatou apenas

subconjunto de células T CD8 + exauridas e não mais

Subconjunto terminalmente diferenciado (PD-1hiCD44int) de células T CD8 +

(119). Da mesma forma, a transferência adotiva de CXCR5 + CD44hi, mas não

Células CXCR5-CD44loCD8 + (o primeiro possuía PD-1loTIM-3lo

expressão e função efectora mais elevada) reduziu a carga viral

em camundongos cronicamente infectados com LCMV; o efeito terapêutico

foi reforçada com a combinação anti-PD-L1 (175). Célula T

diferenciação terminal durante infecção viral crônica também foi

mostrado para ser associado com o EomeshiPD-1hiBLIMP-1 + T-betlo

fenótipo (convertido de células T-bethiPD-1int) e aumentou

citotoxicidade mas diminuiu a co-produção de IFN-γ e TNF-α

(176); a reversibilidade terapêutica de células EomeshiPD-1hiT-betlo

em comparação com células T-bethiPD-1int não foi examinado

estudo (176). Outro estudo demonstrou resultados opostos,

que a terapia anti-PD-L1 ou anti-PD-1 durante a infecção viral crônica

infecção in vivo expandiu apenas o CD8 + tipo memória TCF1 +

Células T com PD-1hiT-betloEomes + expressão mas não terminalmente

células T TCF1-CD8 + diferenciadas (177). No entanto, se o

funções efetoras de células T expandidas TCF1 + CD8 + foram restauradas

não foi mostrado.

O bloqueio de PD-1 / PD-L1 também não teve efeito nas células T estabelecidas

anergia em modelos auto-imunes (92) nem em “não reversíveis”

disfunção de células T em modelos tumorais. Em um camundongo com câncer de mama

modelo, a população de células T CD8 + expressando PD-1hi não

ser resgatado pela terapia anti-PD-1, demonstrando aumentos no

Relação CD8 + T, em contraste com as células T CD8 + com superfície PD-1lo

expressão, que eram sensíveis ao mAb anti-PD-1 no cólon

modelo de rato com cancro (24). Vários estudos demonstraram que o

reversibilidade terapêutica correlacionada com a duração da disfunção

ção. Em um modelo de câncer de fígado autóctone indutível por tamoxifeno,

células T CD8 + disfuncionais específicas do tumor poderiam ser resgatadas

Bloqueio PD-1 / PD-L1 na fase inicial, mas após 30 ou mais

dias a disfunção era irreversível (17). Notavelmente, esse momento

O efeito é oposto ao do bloqueio PD-L1 durante o tratamento sistêmico.

Infecção por LCMV [fatal durante a fase inicial (156) mas eficaz

nos dias 23-40 (25)]. Além disso, o bloqueio PD-1 nos primeiros momentos

após imunoterapia viral não melhorou

trol da doença metastática in vivo apesar da alta freqüência de

Células T PD-1 + TIM-3 + CD8 + (86).

Fatores transcricionais (17) e programas epigenéticos podem

definir a função de células T tumor-específicas em TILs e terapia

reprogramação peutal (178). TILs disfuncionais foram encontrados

perder o acesso a algumas regiões intergênicas / intragênicas (provavelmente

potenciadores), incluindo os de Ifng, Cd5 e Tcf7, mas ganham acesso

para alguns locais de ligação a NFATC1, incluindo aqueles em Pdcd1, Ctla4,

Cd38 e Egr1 / 2. A reprogramabilidade da disfunção, como

avaliada pela capacidade de produzir IFN-γ e TNF-α

foi recuperada após a terapia anti-PD-1 / PD-L1, está associada a

o estado discreto da cromatina das células T - ou seja, a “disfunção plástica”

estado clínico ”na tumorigênese precoce e“ disfunção fixa

estado ”após o dia 14–35 — e a expressão diferencial do TCF

e fatores de transcrição da família NFAT. A cromatina muda

associado ao estado de disfunção fixa incluiu TCF /

Motivos FOS e motivos E2F / ETS / KLF abertos. Exposição ao antígeno

em tumores tem um papel fundamental na determinação do estado da cromatina em

Células T, enquanto as células T CD8 + expressando PD-1hi podem estar em

estado disfuncional de plástico ou fixo (178).

No entanto, a expressão de PD-L1 e B7 / CD28 nestes

modelos de infecção e modelos tumorais, que podem ser relevantes para

a eficácia terapêutica, não eram claras. Por exemplo, terminal

TILs ferentiated com produção reduzida de IFN-γ podem induzir muito

baixa expressão de PD-L1, contribuindo para a hiporresponsi-

terapia anti-PD-1 / L1, se a interação pré-existente de PD-1 – PD-L1 for

necessário para que a terapia anti-PD-1 / L1 tenha um efeito positivo. isto

foi demonstrado in vitro que o envolvimento de PD-1 com anti-PD-1

mAbs inibiram em vez de aumentar a expansão de células T CD4 +

e produção de citocinas com ICOS ótimo ou sub-ótimo

Co-estimulação CD28 (20, 21, 101) e inibiu a glicólise e

catabolismo da glutamina em células T (106, 108). No entanto, não está claro

porque os mAbs anti-PD-1 não ativam sinalização inibitória similar

em células T após o bloqueio da interação PD-1 – PD-L1 em ​​PD-L1 +

tumores. Também não se sabe se após a ocupação dos mAbs anti-PD-1

PD-1, bloqueado PD-L1 se ligará ao receptor alternativo CD80

e se a interação PD-L1-CD80 em tumores é inibitória

ou estimulante.

Em contraste, os mAbs anti-PD-L1, que não se ligam à PD-1,

não deve induzir sinalização inibitória de novo nas células T

Tumores PD-L1−. Além disso, os mAbs anti-PD-L1 bloqueiam a PD-1

e interação CD80 com PD-L1, sugerindo que anti-PD-L1

Os mAbs podem ter maior eficácia do que os anticorpos anti-PD-1 em

Tumores PD-L1 +. No entanto, o tratamento com mAbs anti-PD-L1

não bloqueie a interação PD-1 – PD-L2 ou diminua a expressão de PD-1

e PD-L1 é amplamente expresso em tecidos normais, o que

pode sugerir que os mAbs anti-PD-L1 são menos eficazes em PD-1 +

Cenários PD-L2 +, mas têm mais toxicidades relacionadas ao sistema imunológico do que

mAbs anti-PD-1.

Em modelos pré-clínicos, comparação entre o bloqueio de PD-1

e o bloqueio PD-L1 mostrou inconsistência ou contraditória

resultados. Vários estudos demonstraram que PD-1 e PD-L1

bloqueio teve eficácia semelhante nos modelos pré-clínicos com PD-L1 +

tumores (19, 77). Em modelos de ratos com formação de tumor, o PD-1

bloqueio mostrou eficácia marcante na inibição da hematogênese

disseminação de células tumorais com baixa imunogenicidade, mas

O bloqueio de PD-L1 não teve efeito (10). No entanto, o bloqueio PD-L1

foi mais eficaz do que o bloqueio PD-1 na restauração da função

de células T exauridas em camundongos com expressão viral PD-L1

infecção (25). Além disso, um anticorpo contra PD-L1 no mieloide

As células dendríticas melhoraram a imunidade antitumoral das células T, embora

não bloqueou a interação PD-1 – PD-L1 (179). Bloqueio PD-L1

teve um efeito mais forte do que o bloqueio PD-1 na quebra de células T

anergia in vivo em um modelo de anergia de células T OT-1. Prevenção de anergia

necessário tratamento precoce com anticorpos PD-1 ou PD-L1

após a exposição ao tolerogénio, enquanto que o tratamento tardio não teve efeito

na prevenção da anergia das células T (127). A ineficácia do PD-1 /

Anticorpos PD-L1 em ​​quebrar a tolerância de células T estabelecida, em

forte contraste com a eficácia na prevenção da tolerância induzida

também foi observada em outros modelos de ratos (92, 97, 159). Em

Em contraste, um anti-PD-L1 mAb, que especificamente bloqueia PD-L1 /

O CD80, mas não a interação PD-L1 / PD-1 (131), foi capaz de quebrar

a anergia de células T pré-estabelecida. No entanto, outro estudo mostrou

que nos camundongos NOD, tanto o bloqueio PD-L1 quanto o PD-1 aumentaram a

interações de células T toleradas com células dendríticas

células, anulou a tolerância e induziu rápido desenvolvimento de

diabetes autoimune, enquanto o bloqueio CTLA-4 ou anti-CD80

não teve tais efeitos (78).

Além dos anticorpos anti-PD-1, os componentes de pequenas moléculas

libras e antagonistas peptídicos foram relatados para inibir

interacção entre PD-1 e PD-L1 (180-183), mas a sua

eficácia clínica e dependência da expressão de PD-1 / PD-L1 são

atualmente desconhecido.

BLOCKADE DE PD-1 CLÍNICA E PD-L1

BLOCKADE EM PACIENTES DE CÂNCER:

SUCESSOS E FALHAS

Bloqueio do ponto de checagem imune com anti-CTLA-4, anti-PD-1,

e anticorpos anti-PD-L1 mudou o paradigma do câncer

tratamento. Em comparação com os anticorpos CTLA-4, anti-PD-1 /

Os anticorpos L1 têm a vantagem de menor toxicidade (184-186).

Atualmente, a Food and Drug Administration (FDA) dos EUA

aprovou dois mAbs anti-PD-1 (bloqueio PD-1), nivolumab

(Opdivo; Bristol-Myers Squibb Co.) e pembrolizumab

(KEYTRUDA; Merck and Co., Inc.) e tr mAbs anti-PD-L1

(Bloqueio PD-L1), atezolizumab (TECENTRIQ; Genentech

Oncologia), avelumab (BAVENCIO; EMD Serono, Inc.), e durante a

valumab (IMFINZI; AstraZeneca UK Limited), para o tratamento

de câncer. As aprovações foram baseadas em uma alta resposta objetiva

taxa de sobrevivência (ORR), durabilidade da resposta ou melhor

demonstrada em ensaios clínicos bem sucedidos (Tabelas 1 e 2).

MAbs anti-PD-1 como agentes únicos ou combinados com

quimioterapia ou ipilimumab (anti-CTLA-4 mAb) foram

aprovado para o tratamento dos seguintes cancros como primeira linha,

terapias de segunda linha, terceira linha ou linha posterior: melanoma (6, 184,

187-195), câncer de pulmão de células não pequenas (NSCLC) (5, 196-200,

219), linfoma de Hodgkin clássico (202, 203, 220), células renais

carcinoma (201), carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço

(HNSCC) (204), carcinoma urotelial (205‐207), microssatélite

cânceres de instabilidade alta (MSI-H) (incluindo câncer colorretal

e outros cancros sólidos) (208-210), carcinoma hepatocelular

(211) e adenocarcinoma da junção gástrica ou gastroesofágica

[aprovação para pembrolizumab (Tabela 1); no entanto, apenas nivolumab

os resultados da fase 3 estão disponíveis (221)]. Mabs anti-PD-L1 como únicos

agentes de primeira linha, segunda linha ou terapias de resgate foram

aprovado em carcinomas uroteliais (212-215, 222), NSCLC

(216, 217) e carcinoma de culas de Merkel (218). Muitos ensaios clínicos

em diferentes tipos de câncer ou configurações ainda estão em curso e alguns

mostraram bons resultados, como a fase 3 do PACIFIC

julgamento do durvalumabe como terapia de consolidação em

NSCLC de fase III (223). ORRs com bloqueio PD-1 / PD-L1

como monoterapia em recaída / configurações de recorrência variam

entidades de doença; o ORR está perto de 70% em Hodgkin clássico

linfoma que frequentemente tem alterações no número de cópias 9p24

(202), ~ 40% em câncer de pele, ~ 20% em câncer de pulmão, ~ 25% em câncer renal

câncer, 13–23% no câncer de bexiga e 13–16% no CECP. PD-1

bloqueio e bloqueio de PD-L1 mostraram em grande parte eficácia semelhante,

embora os ORRs tenham sido ~ 5% maiores com o bloqueio de PD-1 do que

com bloqueio de PD-L1 em ​​NSCLC e resultados do bloqueio de PD-L1

precisam ser validados em estudos de fase 3.

No entanto, as terapias anti-PD-1 / PD-L1 não funcionaram

cancros [por exemplo, leucemia linfocica crica (224)]. Apesar

a maioria das respostas foi mais duradoura do que as terapias tradicionais,

alguns pacientes que inicialmente responderam ao bloqueio do ponto de checagem

recaída experiente [resistência adquirida; no entanto, um pequeno subconjunto

de pacientes recidivados ainda podem responder ao bloqueio contínuo

terapia; a taxa foi de 3,6% em pacientes com carcinoma urotelial tratados

com atezolizumab (225)]. Além disso, recentemente cinco estudos de fase 3

falharam em atingir os endpoints [nivolumab de primeira linha sozinho ou

durvalumab mais tremelimumab em comparação com quimioterapia;

nivolumab, pembrolizumab ou atezolizumab como linha tardia

terapia comparada com quimioterapia ou tratamento padrão

(226, 227), Tabela 3], embora o bloqueio tenha mostrado

atividade em estudos de fase 1/2 (212, 228-231). Clínica de duas fases 2

ensaios de pembrolizumab em mieloma múltiplo foram colocados

em plena espera clínica devido ao aumento do risco de morte.

Além disso, a hiperprogressão, um novo padrão de pro-

gressão após a monoterapia anti-PD-1 / PD-L1, que está associada

com idade avançada e pior sobrevida global, mas não tumor específico

tipos, foi identificado em ~ 9% dos pacientes com câncer (232, 233). UMA

maior taxa de hiperprogressão (recorrência regional na maioria dos casos

sem nenhum caso de pseudoprogressão), 29%, foi retrospectivamente

identificado em pacientes com CECP (234). As diferentes taxas podem

resultam de diferenças na definição de hiperprogressão e no tamanho

coortes, uma vez que na coorte de HNSCC, a hiperprogressão era

significativamente associado com menor sobrevida livre de progressão, mas

não com a sobrevida global. Estas observações clínicas inesperadas

pode refletir nossa compreensão incompleta do PD-1 / PD-L1

mecanismos de regulação do caminho e imune.

DETERMINANTES MOLECULARES E

BIOMARCADORES PREDITIVOS PARA PD-1 /

IMUNOTERAPIA DE BLOCKADE PD-L1:

PD-L1 +, LOAD mutacional TUMOR,

ESTADO FUNCIONAL DA CÉLULA T,

OU OUTROS FATORES DE HOSPEDAGEM

Dado o alto custo e potenciais toxicidades do tratamento,

esforços têm sido feitos para identificar biomarcadores preditivos para

selecionando pacientes que são mais propensos a se beneficiar de anti-PD-1

Imunoterapia. O PD-L1 é o primeiro e mais estudado biomarcador

para bloqueio de PD-1 (188, 235). Teoricamente, o bloqueio de PD-1 deveria

trabalhar apenas em pacientes com PD-1 + PD-L + e não em pacientes com PD-1

(4) ou pacientes com PD-L (a maioria dos casos de PD-L1− é PD-L-) (Figura 1),

porque a ligação PD-1 é indispensável para o suporte mediado pela PD-1

pressão, e na ausência de ligante natural PD-1, anti-PD-1

Os mAbs podem atuar como agonistas de PD-1 para inibir ao invés de melhorar

Função das células T CD-1 + CD4 + (20, 21, 101). No entanto, em múltiplos

ensaios clínicos, a negatividade da PD-L1 não foi encontrada como

fator para seleção de pacientes (Tabela 1). Resposta clínica duradoura a

O bloqueio de PD-1 também foi observado em alguns pacientes com PD-L1-

desconhecido PD-L2 (embora com uma menor taxa de resposta em

maioria dos estudos). Além disso, em alguns estudos de NSCLC escamoso

e carcinoma de células renais, a eficácia do bloqueio PD-1 (resposta

taxa de mortalidade ou sobrevida) em pacientes com PD-L1− foi semelhante ou

ainda melhor do que em pacientes com PD-L1 + (5, 201). A previsão

com status de ativação imunológica, ao invés da correlação com

a força de supressão imunológica, pode estar subjacente ao valor preditivo

da expressão de PD-L1 para terapia anti-PD-L1. Curiosamente, em

NSCLC, terapia anti-PD-1 (pembrolizumab) demonstrou

superioridade sobre a quimioterapia em pacientes com ≥ 50% ou <1%

escores tumorais PD-L1, mas esse benefício foi ausente em pacientes com

1 a 49% dos escores de PD-L1 no tumor (200). Esta correlação não linear

reapareceu em um estudo anti-PD-L1 em ​​NSCLC, no qual atezoli-

O zumab, em comparação com o docetaxel, foi associado a

ORR no grupo ≥ 50% PD-L1 +, mas diminuiu ORR no

Grupo 1-49% (217). A previsão de 50% de corte de PD-L1 expres-

foi incluída na indicação do FDA para pembrolizumab

em tumores NSCLC metastáticos como terapia de linha de frente (199).

Um estudo recente de biomarcadores usando amostras longitudinais de tumores

de pacientes com melanoma metastático mostrou que a expressão

PD-1, LAG-3 e PD-L1 no início do tratamento (mediana:

1,4 meses após o início do tratamento), mas não no pré-tratamento

(mediana: 3 meses antes do tratamento), as biópsias eram altamente

ditador de resposta ao bloqueio da PD-1, sugerindo a incapacidade

prever com precisão a resposta clínica antes da terapia anti-PD-1

(237). Neste estudo, alguns respondedores não tinham expressão de PD-1 / PD-L1

em amostras de pré-tratamento, mas tinha um elevado marcador imunológico

expressão em amostras em tratamento; inversamente, muitos

respondedores tiveram alta expressão de PD-L1 em ​​amostras de pré-tratamento

mas teve baixa expressão de PD-L1 em ​​amostras em tratamento. o

observação de que os pacientes com PD-L1− se transformaram em pacientes com PD-L1 +

pareceu sugerir que a expressão imunogênica de PD-L1 era

induzida após terapia anti-PD-1. No entanto, os resultados de in vitro

experimentos (20, 21, 101) sugerem que em pacientes com PD-L1-,

A adição de mAbs anti-PD-1 à PD-1 inibirá a produção de IFN-γ,

e, portanto, o status da linha de base PD-L1− não deve ser alterado

após a terapia anti-PD-1. Em contraste com essas discrepâncias, os

progressão após a terapia anti-PD-1 / L1 tendeu a estar associada

com negatividade PD-L1 (232, 233).

Porque a expressão de PD-L1 em ​​tumores em tratamento previu

resposta ao tratamento anti-PD-1 (237), seria postulado que

indutibilidade da expressão de PD-L1 pode prever a eficácia da PD-1

bloqueio. Consistentemente, a sinalização JAK2 / STAT1 é aumentada

linfoma de Hodgkin (238) que mostrou ORRs elevados [(220)

e Tabela 1] ao bloqueio de PD-1. Por outro lado, JAK1 / 2 e APLNR

mutações de perda de função, que resultam na não indutibilidade de

expressão de PD-L1 tumoral por IFN-γ, foram associados com

resistência primária ou adquirida ao bloqueio de PD-1 em tumores sólidos;

O bloqueio da PD-1 foi ineficaz para esses pacientes, mesmo se

carga de mutação foi alta (239-241). No entanto, PD-L1 deve

ainda ser indutível em células imunes não malignas, o que não

portar as mutações JAK1 / 2 e APLNR como os tumores, sugerindo

que outros mecanismos de escape imunológico / supressor também

contribuir para a resistência ao tratamento nesses pacientes. De fato,

Mutações no gene da via JAK1 / 2 ou IFN-γ nem sempre foram encontradas

estar associado à resposta clínica (242, 243).

Instabilidade de microssatélite decorrente de defeito de reparo

é o segundo biomarcador preditivo (208, 244) aprovado pela

FDA (245). Os tumores MSI-H têm altos níveis de neoantígenos associados

com forte resposta imunológica local e sistêmica (246). Em

Além disso, os tumores MSI-H foram mostrados para exibir a regulação positiva de

checkpoints imunes múltiplos, incluindo o PD-1, que pode limitar

o vigoroso microambiente imune (247), tornando a PD-1

bloquear uma abordagem de tratamento racional. Em colorretal metastático

câncer, a RRO com pembrolizumabe foi de 40% nos pacientes com IAM

em comparação com 0% em pacientes proficientes no reparo incompatível (208).

Em um estudo expandido de deficiência avançada de reparo por incompatibilidade

cancros através de 12 tipos diferentes de tumores, a

taxa de resposta gráfica foi de 53% e a taxa de resposta completa

foi de 21% (209).

Alta carga mutacional tumoral e carga neoantígena, que

são bastante comuns em todos os tipos de câncer em comparação com o

MSI-H incomum (248), também foram correlacionados com sensibilidade

ao bloqueio de PD-1 (maior ORR e / ou sobrevida prolongada)

em melanoma, NSCLC, glioma (243, 249-252) e provavelmente

tipos de cânceres sólidos (252). Além disso, altos números de indel

mutações foram encontradas em carcinomas de células renais, e frameshift

contagem de indel foi associada com a resposta ao bloqueio PD-1 em

pacientes com melanoma (253). Por outro lado, perda de alto número de cópias

carga foi associada à resistência ao bloqueio do ponto de verificação

(242). No entanto, o linfoma de Hodgkin clássico tem uma ORR alta, mas

não é um grande fardo de mutação. Algumas mutações genéticas podem se correlacionar

com resistência ao tratamento (como JAK2 e B2M). Embora um

estudo mostrou que a carga neoantígena correlacionada com a infiltração de células T

em cânceres colorretais (254), outro estudo mostrou que a

densidade de antígenos imunogênicos não se correlacionou com os

infiltração e imunidade local no melanoma (255). Reduzir

sequenciamento total do exoma e aumentar a aplicabilidade clínica

de carga mutacional tumoral, genômica abrangente direcionada

perfilamento (248) e painéis de sequenciamento de próxima geração pequenos (256)

foi desenvolvido. Progresso foi feito na compreensão

a associação de resposta com um determinado gene (como o DNA

genes de reparo BRCA2 e POLE; potencialmente também PMS2, MSH2 / 6,

e MLH1) mutações e neoantígenos clonais, bem como as células T

clones que respondem ao bloqueio PD-1 / L1 (243, 248, 250, 256-259).

As mutações POLE demonstraram estar associadas não apenas a

maior carga de mutação (248), mas também assinaturas imunes e

infiltração linfocitária independente do status MSI-H em endo-

câncer metrial (260). No entanto, mutações genéticas particulares e

alterações (tais como perda de PTEN e CDKN2A) e mutações

carga mostrou significância inconsistente nos estudos (60, 242,

243, 258). Carga de mutação tumoral e carga de mutação clonal (menos

heterogeneidade) foram associados com sobrevida global e resposta

a nivolumab em doentes sem tratamento prévio com ipilimumab mas não em

que já havia progredido com ipilimumabe (243). No ultimo

grupo de pacientes, a resposta ao bloqueio de PD-1 foi inconsistente

associado à clonalidade de células T (242, 243).

Alguns biomarcadores derivados de células T também foram encontrados

preditivo de resposta ao bloqueio da PD-1 em pacientes com

melanoma; esses biomarcadores incluem CD8 + de linha de base alta e

PD-1 + densidade na margem tumoral invasiva e dentro do tumor,

proximidade entre as células PD-1 + e PD-L1 +, o repertório clonal de

toire (43, 242), expressão BIM em PD-1 + CD8 + tumor-reativo

Células T (261, 262) e maior proporção de células PD-1hiCTLA-4hi

com um fenótipo de célula T parcialmente exaurido (capaz de produzir

o IFN-γ, mas perdeu a capacidade de produzir TNF-α e IL-2)

Tilos CD8 + (263). A expressão do mRNA da linha de base PDCD1 foi também

associado à sobrevida livre de progressão após terapia anti-PD-1

em uma coorte agrupada de pacientes com câncer (264). Contudo, a descoberta

que os PDILs PD-1hiCTLA-4hi que foram preferencialmente

após a terapia anti-PD-1 em pacientes com melanoma (263),

descobertas em modelos pré-clínicos [as células T PD-1hi eram irreversíveis

(178) e a terapia anti-PD-1 foi eficaz apenas em tumores com

baixas frequências de células T PD-1 + (24)].

Além disso, nos modelos pré-clínicos, os baixos níveis de CD38, CD101,

e CD30L, enquanto altos níveis de expressão de superfície CD5 (178),

níveis baixos a intermediários de expressão de PD-1 em células T CD8 +

(24), bem como alta expressão nuclear de TCF1 (177) e IRF4

foram associados com estado disfuncional de plástico de células T enquanto

alta expressão de BCL2 em células T CD8 + foi associada a

estado disfuncional (178). O potencial desses biomarcadores pode

ser esclarecido em futuros ensaios clínicos anti-PD-1 / L1.

Além disso, vários fatores do hospedeiro não-T, incluindo

contagem de fócitos, contagem relativa de eosinófilos, elevação de 2,5 vezes

desidrogenase láctica sérica ea ausência de outras metástases

do que as metástases nos tecidos moles / pulmão, também foram associadas

melhor sobrevida global em pacientes com melanoma tratados com pem-

brolizumab (265). No entanto, a comparação de eficácia com

braços (terapia anti-PD-1 em comparação com a terapia tradicional)

ser mais informativo (266). Também notavelmente, uma análise retrospectiva

encontraram uma elevação de lactato desidrogenase sérica de cinco fatores,

<65 anos, sexo feminino, tratamento anterior com ipilimumab [entretanto,

este fator não foi significativo no primeiro ensaio com pembrolizumab

(184)] e escala de predição de metástase hepática} foi associada

ORRs menores para terapia anti-PD-1 (267). Embora os estudos tenham

mostraram que a resposta à terapia anti-PD-L1 foi associada a

Assinatura do gene Th1 em amostras em tratamento (236), um estudo recente

descobriram que a diminuição precoce de IL-8 (uma citocina associada a Th1)

níveis séricos no soro, 2-3 semanas após o início da terapia anti-PD-1

de resposta em melanoma e pacientes com NSCLC, incluindo

casos raros [0,6 a 4% (268, 269)] com pseudoprogressão (270).

Um estudo prospectivo em pacientes com melanoma encontrou

contração genômica induzida pela terapia anti-PD-1, que foi

associado a assinaturas imunes pré-existentes pronunciadas em

amostras de pré-tratamento, incluindo TCR / PD-1 / IFN-γ / IL-2 / PI3K

assinaturas de sinalização, bem como MHC classe II e outros genes

assemelhando-se a uma assinatura de macrófagos (243).

O microbioma intestinal em pacientes com câncer mostrou

influência da eficácia do bloqueio PD-1. Respostas clínicas ao anti-PD-1

imunoterapia foram associados com alta diversidade e relativa

abundância de bactérias Ruminococcaceae em coletas

amostras de microbioma infectadas de pacientes com melano-

noma (271) e abundância relativa de A. muciniphila em pacientes

com NSCLC, carcinoma de células renais ou carcinoma urotelial

(272). Além disso, o Bifidobacterium comensal mostrou

conferem eficácia anti-PD-L1 melhorada in vivo (273). Mecanismos

A contabilização do prognóstico favorável pode incluir aumento

infiltração tumoral de células T CD8 +, mais células T efetoras que Tregs

em circulação sistêmica, função de células dendríticas, secreção de IL-12,

metabolismo anabólico e inflamação sistêmica (271-273),

mas as ligações mecanicistas para estes efeitos imunomoduladores

permanecem desconhecidos. PD-1 também regula a microbiota intestinal e

a função e sobrevivência das células B plasmáticas produtoras de IgA, mas

este efeito pode ser anulado pelo bloqueio PD-1, como foi mostrado

in vivo (274).

SUPERANDO A RESISTÊNCIA AO PD-1 /

PD-L1 BLOCKADE: VÁRIOS

ESTRATÉGIAS DE COMBINAÇÃO

Como um cabo-de-guerra, as ações de resposta imune e tumor

desenvolvimento resistir um ao outro. O bloqueio da PD-1 pode ter

efeitos tumorais em pacientes com câncer (275), mas nem sempre

suficiente para uma resposta clínica. Mecanismos de resistência podem

vêm do sistema imunológico ou do tumor. O rácio

de revigoração imunológica à carga tumoral, mas não a

magnitude de revigoramento por si só, foi considerado preditivo

de resposta ao pembrolizumab e sobrevida global em pacientes

com melanoma avançado (276). Maximizada inata e adaptativa

respostas, obtidas através de terapias combinadas, foram capazes de

para eliminar tumores grandes, avançados e pouco imunogênicos

ratos (277).

Múltiplos mecanismos de resistência ao tumor ou ao sistema imunológico

foram identificados e direcionados em combinação com PD-1

bloqueio. Em primeiro lugar, a ausência de “sinal 1” e a ativação das células T

ineficácia da monoterapia anti-PD-1 / L1 (278). Estudos têm

mostrou que mutações, deleções ou perda de heterozigosidade da B2M,

que leva à perda de expressão MHC classe I e falha de

o reconhecimento de antígenos, é um mecanismo potencial para o escape imune

resistência ao bloqueio de PD-1 em pacientes com melanoma (239,

279). O resultado clínico da terapia anti-PD-1 / PD-L1 foi demonstrado

para correlacionar com a positividade do MHC de classe II em um subconjunto único de

células de melanoma (tipicamente MHC de classe II é expresso apenas

células imunes em tumores sólidos), bem como aumento de CD4 + e

CD8 + TILs em pacientes com melanoma (280).

No entanto, uma frequência surpreendentemente alta de

expressão ausente de β2M / MHC classe I (79% no total; 92% em

Casos amplificados PD-L1 / L2) e classe II do MHC (67%) foram encontrados

108 pacientes recém-diagnosticados com linfoma de Hodgkin clássico

(88% dos pacientes tinham linfoma de Hodgkin com esclerose nodular; 82,5%

foram negativos para o vírus Epstein-Barr) (281). Altas frequências de

expressão anormal de MHC também foram observadas em outros 233

pacientes com linfoma de Hodgkin clássico negativo para o vírus Epstein-Barr

phoma (83,2% para o MHC de classe I e 46,8% para o MHC de classe II) (282).

Porque o linfoma de Hodgkin clássico tem um ORR alto para PD-1

bloqueio, esses dados podem sugerir que as respostas não T também

papéis importantes no efeito do bloqueio PD-1, que é apoiado

por um estudo mostrando que após o bloqueio da PD-1, genes implicados

na citólise e função de células assassinas naturais foram reguladas em

pacientes (283). Além de células assassinas naturais cujo antitumor

função é células T assassinas naturais invariantes independentes do MHC

pode ser ativado por sinais de um complexo lipídico-CD1d (284),

e células T CD8 alorreativas demonstraram eficácia na citotoxicidade

funcionam contra células alogênicas deficientes em MHC classe I em

Maneira independente do TCR (285). Para aumentar o reconhecimento de antígenos

e resposta de células T, terapias de células T de receptor de antígeno quimérico,

englobadores biespecíficos de células T, vírus oncolíticos, vacinação e

a eletroporação plasmática de IL-12 intratumoral foi combinada

com o bloqueio PD-1 / PD-L1 (86, 286-290), mas os resultados clínicos

estão indisponíveis no momento.

Segundo, porque a ausência de coestimulação (“sinal 2”) pode

resultar na anergia das células T (278), a co-estimulação prejudicada

à ineficácia do bloqueio de PD-1 / PD-L1. Isso é suportado

por estudos recentes mostrando que o resgate de células T CD8 + exauridas

com bloqueio de PD-1 requer coestimulação de CD28 / B7 em ratos

modelo com infecção viral crônica (291) e que a resposta

O bloqueio de PD-1 requer a presença de CD4 + e CD8 +

Células T, bem como co-estimulação CD28 e CD80 / CD86 em um

modelo de tumor de melanoma murino com baixa carga de mutação (165).

No entanto, um estudo anterior mostrou que o bloqueio PD-1 in vivo leva

a rejeição acelerada de aloenxertos cardíacos apenas na ausência de

Co-estimulação CD28, acompanhada de expansão de alorreactivo

Células T e geração aprimorada de células T efetoras (292).

Embora a PD-1 seja expressa apenas após a ativação das células T,

que requer coestimulação (9), foi demonstrado que PD-1

pode ser induzido sem co-estimulao de CD28 (11); na verdade, a falta de

A co-estimulação leva à regulação positiva de PD-1 (16). Em um estudo de

pacientes com câncer de pulmão em estágio inicial, 10 a 80% dos tumores

Células T CD8 + foram CD28- (291). CD28 pode ser perdido durante

envelhecimento, com estimulação antigênica repetida, e após exposição

algumas citocinas (293). Portanto, insuficiente coestimulação de CD28

poderia ser um importante mecanismo de resistência para o bloqueio da PD-1.

Consistente com a alta eficácia do bloqueio da PD-1 em Hodgkin

linfoma, o CD28 é forte ou moderadamente expresso nas células T

em torno de células de Reed-Sternberg que expressam CD80 / CD86hi

(294-296). Em contraste, a leucemia linfocítica crônica não tem ou

baixos níveis de expressão de CD80 / CD86 em células de leucemia (297-299)

com defeitos imunológicos de formação de sinapses (300) e é resistente

formiga a pembrolizumab em um ensaio clínico (224).

Além da via CD28, o CD40 – CD40L

via latory demonstrou ser necessária para o melhoramento

efeitos da terapia anti-PD-L1 e desempenha um papel crítico no resgate de

células T CD8 esgotadas (301). Agonistas anti-CD40, que sozinhos

poderia efetivamente reverter o esgotamento das células T citotóxicas ativando

via mTORC1 in vivo, aumentou significativamente a ação de

Antagonistas de PD-1 em infeco crica in vivo (302). Além do que, além do mais,

combinando o bloqueio de PD-1 / PD-L1 com agonista coestimulatório

anticorpos para CD27 (164), CD137 (4-1BB) (303, 304), TLR3 / 7/9

(305–307) [O TLR3 também é um adjuvante de vacina seguro (308)], GITR

(309), STING (310), ou OX40 [a sinergia para restaurar a função

de células T CD8 + exauridas só foi observada em desamparo (não

Condição das células T CD4 + (311)] demonstraram

efeitos tumorais em modelos pré-clínicos. No entanto, sequencial (atrasado

anti-PD-1), mas não o tratamento concorrente anti-OX40 e anti-PD-1

(combinação) in vivo resultou em aumento da eficácia que

necessitavam de células T CD4 + e CD8 + (312).

Terceiro, embora os anticorpos anti-PD-1 / PD-L1 bloqueiem a PD-1–

Interação PD-L1, eles não afetam a expressão de PD-1 / L1. Estudos

demonstraram que as células T expandidas CD8 +

a terapia anti-PD-1 / PD-L1 in vivo retêm expressão elevada de PD-1

(25); O bloqueio de PD-1 / PD-L1 mostrou aumentar o IFN-γ e

Expressão de PD-L1 (42, 72) e aumentar PD-1 + infiltrante de tumor

Freqüências de células T (14). Um estudo pré-clínico mostrou que o

O efeito antitumoral da terapia anti-PD-1 exigiu a presença de

Células T PD-1loCD8 + antes do tratamento e diminuição de frequências

de células T PD-1 + CD8 + infiltrantes de tumor abaixo de um limiar após

a terapia anti-PD-1 (24). No entanto, estudos clínicos mostraram que

Expressão de PD-1hi antes do tratamento (263) ou no tratamento

com resposta ao bloqueio da PD-1 em pacientes com melanoma (237).

A alta expressão de PD-1 como mecanismo de resistência é provavelmente

mais relevante para a terapia anti-PD-L1, que apenas bloqueia a PD-1–

Interação PD-L1 através da modulação de vias de sinalização citosólicas

e não reduz a expressão de PD-1. Em uma infecção crónica por LCMV

modelo de tumor e um modelo de tumor de melanoma, terapia anti-PD-L1

não diminuiu o gene PDCD1 nas células T tratadas nem

reprogramou a paisagem epigenética, incluindo a cromatina

acessibilidade aos fatores de transcrição Nr4a e NFAT (14, 90).

Estratégias para modular a transcrição (incluindo epi-

genética) e regulação pós-transcricional de PD-1 / PD-L1

a expressão pode levar a uma resposta mais duradoura nos pacientes. o

fatores de transcrição e vias regulando positivamente a PD-1

expressão incluem o BLIMP-1 (embora os resultados conflitantes tenham sido

também relatado) (313, 314), IFN-α-IRF9 (315), TGFβ – SMAD3

(316), NFATc1 (317), STAT3 / 4 / NFATc1 / CTCF (318), o entalhe

via de sinalização (319), FOXP1 (320), c-FOS (321), STAT1 / 2

(322) e NF-kB (323). Em contraste, T-bet (324), trimetilação

(37, 325, 326), e um organizador de cromatina SATB1 (327) negativamente

regular a expressão de PDCD1. Acessibilidade da cromatina ao PDCD1

potenciadores (incluindo o potenciador de −23.8 kb) é importante para

Expressão de PD-1 em células T exauridas (328).

Em quarto lugar, a atividade antitumoral insuficiente pode resultar de

subtipos e subclones múltiplos de células T (incluindo aqueles com

Disfunção de células T “fixas”) que não respondem à PD-1 / L1

bloqueio. A disfunção destes subclones de células T pode levar a

evolução tumoral dos neoantígenos subclonais, os quais foram associados

com resistência primária e adquirida ao bloqueio do ponto de checagem em

pacientes (250, 258). Em um modelo de câncer, disfunção “fixa” de

As células T específicas de antigénio-condutor foram associadas a PD-1, TIM-3,

Expressão de LAG-3 e 2B4 (17). Embora o PD-1 tenha uma exclusividade

papel crítico na imunossupressão, co-expressão de múltiplos

receptores de checkpoint imunológico nas células T resultaram em maior

exaustão (329).

Combinações de múltiplos bloqueios têm mostrado sinergia

efeitos na liberação de resistência imune adaptativa em estudos pré-clínicos

modelos (330), bem como estratégias combinadas visando o

programa de transcrição (17). Os inibidores da histona desacetilase

foi mostrado para aumentar a expressão de quimiocinas múltiplas células T

(paradoxalmente também a expressão PD-L1) e melhorar a resposta

ao bloqueio de PD-1 in vivo (57, 331). Inibição de EZH2 e DNMT1

maiores quimiocinas do tipo Th1 e infiltração de células T, e

aumentou a eficácia da terapia de bloqueio PD-L1 in vivo (332).

Bloqueio simultâneo de PD-1 e LAG-3 sinergicamente

melhor controle viral e erradicação do tumor (329, 333, 334).

Combinada TIGIT e PD-1 bloqueio (335), ou combinado PD-1,

O bloqueio do TIM-3 (336) e do BLTA (337) aumentou a expan-

e função efectora de células T CD8 + antígeno-específicas de

pacientes com melanoma ex vivo.

A combinação de bloqueio de PD-1 e bloqueio de CTLA-4,

que tem efeito imunológico distinto e ativa diferentes

Populações de células T in vivo (283, 338), demonstraram

efeitos antitumorais do que o uso de qualquer anticorpo sozinho (339,

340). Além disso, ensaios clínicos demonstraram notável

eficácia da terapêutica combinada de nivolumab e ipilimumab em

noma (ORR: ~ 60%) (194, 341), embora combinado durvalumab

(anti-PD-L1) e tremelimumab (anti-CTLA-4) em NSCLC foi

não obteve sucesso em um recente estudo de fase 3 (Tabela 3). Uso sequencial

nivolumab seguido de ipilimumab ou em sequência reversa

reduzir as toxicidades resultantes de efeitos concorrenciais

terapia) com nivolumabe e ipilimumabe, como encontrado em

estudo de fase 2; nivolumab seguido de ipilimumab mostrou maior

taxas de resposta e sobrevivência, mas também maiores toxicidades

com uso seqüencial de ipilimumabe seguido de nivolumabe, em

qual o efeito sinérgico foi perdido (342).

Quinto, o microambiente tumoral imunossupressor pode

contribuir para a eficácia do tratamento anti-PD-1 / L1.

Tregs, MDSCs, macrófagos M2 e suas citocinas associadas,

quimiocinas e outros fatores solúveis são inibidores bem

mecanismos orquestrados para suprimir a imunidade antitumoral

(72). A depleção de Tregs infiltrantes de tumor mostrou

com bloqueio de PD-1 para erradicar tumores estabelecidos in vivo

(343). No entanto, o significado clínico de Tregs foi inconsistente

em diferentes estudos, provavelmente devido à função diferencial de

Subconjuntos Treg (344). Além disso, como mostrado in vivo, o supressivo

função de NRP1 + / + Tregs poderia ser perdida e convertida em antí-

imunidade do mor na presença de IFN-γ produzido pelo HIF-1αhi

NRP1 - / - Tregs. Essa fragilidade funcional sinalizada através do

O receptor de IFN-γ foi necessário para a eficácia do bloqueio de PD-1.

ade in vivo (345).

Demonstrou-se que as MDSCs aumentadas estão associadas

prognóstico desfavorável (346), enquanto a diminuição nos macrófagos

terapia anti-PD-1 foi associada com resposta clínica em

pacientes com melanoma (243). Combinação de bloqueio PD-1 / PD-L1

com vacinas contra tumores restaurou apenas parcialmente a função efetora

TILs estimulados pela imunização e diminuição da taxa de

mas teve pouco efeito sobre as freqüências de MDSCs no

lesões tumorais in vivo (19). Anti-PD-L1 bloqueando o mAb aumentado

Produção de óxido nítrico mediada por IFN-γ por macrófagos que

inibição da proliferação de células T CD4 +; inibidor da sintase do óxido nítrico

L-NMMA anulou a inibição e aumentou a produção de citocinas

produção (174). Indoleamina 2,3-dioxigenase (IDO) expressão

em macrófagos associados a tumores e MDSCs induzidas por IFN-γ

durante a resposta de células T CD8 +, pode causar deficiência de triptofano

e “ponto de controle metabólico” nas células T (347, 348). Combinando IDO

inibidores com terapia anti-PD-1 foi mostrado para aumentar effector

Infiltração de células T in vivo (349), e essa combinação mostrou

resultados promissores em ensaios clínicos em andamento (350). Além do que, além do mais,

regulação positiva de IL10 e quimiotaxia de macrófagos / monócitos

genes foi associado à resistência à terapia anti-PD-1 (259).

Combinação de bloqueio de PD-1 com neutralização de IL-10 in vivo

resultou em redução da carga tumoral e melhora na sobrevida murina,

acompanhada de função antitumoral aumentada de células T e

diminuição da infiltração de MDSCs (351). No entanto,

ensaios clínicos demonstraram que a IL-10 recombinante peguilada combinada

com a terapia de bloqueio PD-1 aumentou o efeito antitumoral (352).

Além disso, um estudo mostrou que in vivo PD-1 - associado a tumores

macrófagos removeram os mAbs anti-PD-1 da superfície

Células T PD-1 + CD8 +, mediadas pela interação entre FcγII / III

receptores e o glicano do domínio anti-PD-1 Fc (353). Terapêutico

inibição da interação FcγR aumentou a eficácia anti-PD-1 in vivo.

Além disso, o nivolumab foi transferido de células T CD8 + humanas para

macrófagos em um sistema de cocultivo in vitro (353), embora

As sequências da região constante de IgG4 do nivolumab são desenhadas para

contêm uma mutação S228P para prevenir a dependência celular

citotoxicidade mediada e citotoxicidade dependente de complemento

(4). Não se sabe se o pembrolizumab, que se liga ao PD-1

em uma região completamente diferente do que o nivolumab (354), pode

também ser transferido por este mecanismo mediado por FcγR. Ao contrário

mAbs anti-PD-1, depleção seletiva de Tregs, dependente de

ativar os receptores Fc expressos pelos macrófagos, é essencial

para a actividade de terapia anti-CTLA-4 in vivo (355, 356).

Em sexto lugar, a imunidade sistêmica é crítica para a erradicação e

proteção contra novos tumores; na rede imune, dendrítica

função celular e infiltração de células T desempenham um papel importante (357).

Disbiose intestinal (perda de diversidade microbiana) e tratamento antibiótico

foram associados com menor tempo livre de progressão e / ou

sobrevivência em pacientes com câncer recebendo imunoterapia anti-PD-1

(271, 272). Por outro lado, melhorar o microbioma intestinal pode

diminuir o ponto de ajuste imune ao câncer e contornar a resistência a

Bloqueio de PD-1 (272). Injeção peritumoral de LCMV sozinho ou

combinado com bloqueio PD-1 também foi mostrado para induzir

vigilância imunológica e regressão tumoral in vivo (358).

OBSERVAÇÕES FINAIS

Embora a complexidade da via PD-1 / PD-L1 tenha sido

revelou, nossa compreensão atual do potencial de rejuvenescimento

de células T é apenas a ponta do iceberg. Evidências acumuladas

demonstrou que a ligação PD-1 suprime a função efetor

de células T ativadas; PD-L1 pode causar diretamente imune ao tumor

evasão; e mAbs anti-PD-1 / PD-L1 que previnem PD-1-PD-L1

interação pode restaurar a função efectora das células T. No entanto, tumor

A expressão de PD-L1 através de mecanismos intrínsecos à célula pode não

ter um papel significativo na condução da supressão imunológica; PD-L1 e

PD-L2 também pode ter funções costimulatórias; e PD-1 / PD-L1

bloqueio nem sempre provocou uma resposta antitumoral eficaz

estudos pré-clínicos. Além disso, embora muitos anti-PD-1 / PD-L1

ensaios clínicos foram notavelmente bem sucedidos que revolucionaram

o tratamento do câncer, alguns não conseguiram chegar ao ponto

resultou num aumento do risco de morte. No cenário de avançado

cancros excepto linfoma de Hodgkin (provavelmente também tumores MSI-H),

apenas a minoria de pacientes com câncer teve resposta duradoura

Monoterapia de bloqueio PD-1 / PD-L1, e alguns pacientes

teve hiperprogressão da doença. Linfoma de Hodgkin clássico,

que não tem uma alta carga de mutação ou MHC classe I

expressão, demonstrou alta taxa de resposta ao bloqueio de PD-1

terapia.

Além de resumir esses resultados paradoxais em estudos

do bloqueio de PD-1 / PD-L1 e PD-1 / PD-L1, esta revisão discutiu

algumas questões abertas de perspectivas mecanicistas e clínicas.

Como discutido, tanto o PD-1 quanto o PD-L1 são frequentemente (mas nem sempre)

associado à disfunção das células T; Expressão de PD-1 + e PD-L1 +

também pode indicar a ativação de células T, embora PD-L1 e PD-1 possam

ser expresso em diferentes estágios da resposta imune; marcadores

para distinguir células T PD-1 + com alta avidez funcional de

células T PD-1 + esgotadas não são claras. Tanto o PD-1 quanto o PD-L1

de forma dependente ou independente, dirige a imunossupressão.

Se o tumor ou os fatores do hospedeiro ditam a imunidade, ainda

determinado. Mecanismos que não são completamente compreendidos

também incluem aqueles que governam a expressão de PD-1, molecular

vias subjacentes ao bloqueio PD-1 / PD-L1, a diferença na

Sinalização de PD-1 na ligação de PD-L1 e no mAb anti-PD-1

ligação, crosstalk metabólico entre células tumorais e células T, e

relação funcional (causal, consequencial ou independente)

entre a expressão de PD-1 / PD-L1 e o metabolismo celular. Molecular

delineação e identificação de nós críticos também podem ajudar a esclarecer

os resultados pré-clínicos inconsistentes do bloqueio da PD-1

com o bloqueio de PD-L1.

Não está claro se o bloqueio da PD-1 tem ação diferente

(antagonista ou agonista) em pacientes com PD-L1 + e PD-L1−. Além disso

incerto é se esta e outras diferenças entre PD-L1

e PD-1 (por exemplo, a associação da expressão PD-L1

com estágio mais precoce de ativação imune, os mais dinâmicos

Expressão de PD-1, ou outros fatores que são críticos para

resposta, mas diferencialmente associada com PD-1 e PD-L1

expressão) fundamentam o melhor valor preditivo de PD-L1

Expressão de PD-1 como biomarcador para resposta clínica. Tumor

o fardo mutacional também emergiu como um biomarcador promissor;

no entanto, nossa compreensão de mutações clonais, clonalidade de células T,

e clones TIL reativos a neoantígenos responsivos a PD-1 / PD-L1

bloqueio pode ainda estar em sua infância. Além disso, a infiltração de

células imunes, imunogenicidade do tumor, força de sinalização de TCR

coestimulação / co-inibição, estágio de diferenciação de células T e

flexibilidade da cromatina, células imunes e fatores solúveis no

microambiente tumoral, cinética farmacológica dos anticorpos,

imunidade sistêmica podem afetar a eficácia do bloqueio de PD-1

ade. Estudos futuros no campo de rápido avanço da imunoterapia

pode lançar luz sobre essas questões intrigantes, desenvolver algoritmos

prever com precisão a eficácia do bloqueio e preparar o caminho para uma

nova era de imunoterapia combinada.

CONTRIBUIÇÕES DO AUTOR

ZX-M conceituou e escreveu o manuscrito e criou

a figura. KY contribuiu para a concepção e escrita. MZ

e JL revisou o manuscrito. Todos os autores leram e aprovaram

o manuscrito final. Os autores agradecem a Erica A. Goodoff

o Departamento de Publicações Científicas, MD Anderson Cancer

Centre, por sua edição do manuscrito.

FINANCIAMENTO

Este trabalho foi financiado pelo National Cancer Institute / National

Institutos de Subsídios de Saúde R01CA138688, R01CA187415 e

1RC1CA146299 para KY, e também foi parcialmente suportado por

Instituto Nacional do Câncer e Institutos Nacionais de Saúde

subvenções P50CA136411 e P50CA142509. A Universidade de

Texas MD Anderson Cancer Center é apoiado em parte pelo

Institutos Nacionais de Saúde através do Apoio ao Centro de Câncer

Conceder P30CA016672. KY também é apoiado pela Universidade

da pesquisa institucional do Texas MD Anderson Cancer Center

e Fundo de Desenvolvimento, um prêmio de concessão de pesquisa institucional,

e MD Anderson Cancer Center Linfoma e Mieloma

Programas Especializados em Pesquisa de Excelência em Pesquisa (SPORE)

Prêmio Programa de Desenvolvimento, Linfoma Hagemeister

Prêmio Fundação, Fundação Médica Luterana Gundersen

Award, ea University Cancer Foundation, através da instituição da Irmã

fundo de rede de tuição na Universidade do Texas MD Anderson

Centro de Câncer.