

· 综述 ·

程序性死亡蛋白-1及配体在心肌炎发病中的作用

胡舜英*, 杨芊, 陈韵岱

(解放军总医院第一医学中心心血管内科, 北京 100853)

【摘要】 心肌炎是目前临床仍面临挑战的一类心血管疾病, 发病机制复杂, 临床预后差。程序性死亡蛋白-1(PD-1)是重要的免疫检查点, 与程序性死亡配体-1(PD-L1)结合可负向调节机体免疫反应, 在心肌炎的发生发展中起重要作用。本文从PD-1/PD-L1调控T淋巴细胞活化、抑制肌钙蛋白抗体和心肌炎症反应等方面综述了PD-1/PD-L1在心肌炎发生中的作用, 以期有效诊治心肌炎寻求新靶点。

【关键词】 心肌炎; 程序性死亡蛋白-1; 程序性死亡配体-1

【中图分类号】 R542 **【文献标志码】** A **【DOI】** 10.11915/j.issn.1671-5403.2019.10.170

Roles of programmed cell death protein-1 and its ligand in pathogenesis of myocarditis

HU Shun-Ying*, YANG Qian, CHEN Yun-Dai

(Department of Cardiology, the First Medical Center, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

【Abstract】 Myocarditis is still facing challenges clinically because of its complex pathogenesis and poor prognosis. Evidence shows that programmed cell death protein-1 (PD-1) is an important immunological checkpoint, and its binding to programmed cell death ligand-1 (PD-L1) can negatively regulate the immune response of the body and play an important role in the occurrence and development of myocarditis. This article reviews the roles of PD-1/PD-L1 in the pathogenesis of myocarditis in aspects of their regulation of T lymphocyte activation and inhibition of troponin antibody and myocardial inflammation in order to find a new target for the effective diagnosis and treatment of myocarditis.

【Key words】 myocarditis; programmed cell death protein-1; programmed cell death ligand-1

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (81770237).

Corresponding author: HU Shun-Ying, E-mail: hsyily@163.com

心肌炎是临床常见的心血管疾病, 约50%患者发病2~4周内痊愈, 约25%患者发展为慢性心功能不全, 约12%~25%患者急性死亡或进展为终末期扩张型心肌病, 目前其发病机制仍不明确, 预测、诊断和治疗心肌炎仍面临巨大挑战^[1,2]。程序性死亡蛋白-1(programmed cell death protein-1, PD-1)属免疫球蛋白超家族, 其通过与程序性死亡配体-1(programmed cell death ligand-1, PD-L1)结合抑制抗原和T淋巴细胞受体结合, 对维持免疫耐受稳定起重要作用, 是重要的免疫检查点^[3]。近年以PD-1/PD-L1抑制剂为代表的免疫检查点抑制剂在肿瘤治疗中取得了突破性进展, 但副作用却备受关注^[4-6], 免疫检查点抑制剂相关的心肌炎被认为是最严重的副作用,

较一般心肌炎预后更差^[2,5,7]。明确PD-1/PD-L1在心肌炎发病中的作用有助于为诊治心肌炎提供新策略, 为此本文综述了PD-1/PD-L1在心肌炎发病中的研究进展。

1 PD-1和PD-L1

PD-1是一种跨膜蛋白, 免疫球蛋白可变区样结构域在细胞外, 免疫受体酪氨酸抑制基序在胞浆内, 对维持自身免疫耐受稳定很重要^[3,8,9]。研究表明PD-1基因缺失小鼠会发生自身免疫性疾病^[10], 狼疮性肾小球肾炎、关节炎和扩张型心肌病小鼠PD-1基因缺失后病情会加重^[11]。正常情况下, PD-1在T淋巴细胞、自然杀伤细胞、B淋巴细胞、单核细胞、

收稿日期: 2019-05-05; 接受日期: 2019-05-29

基金项目: 国家自然科学基金(81770237)

通信作者: 胡舜英, E-mail: hsyily@163.com

未成熟的朗格汉斯细胞和心肌细胞中低水平表达^[4,12,13]。T淋巴细胞活化后,PD-1可移位到T淋巴细胞受体,抑制T淋巴细胞受体近端激酶的活化,阻止T淋巴细胞和抗原提呈细胞结合,从而导致T淋巴细胞无法发挥免疫效应^[14]。PD-1也可抑制氧耗,降低活化T淋巴细胞糖酵解的能力,促进脂肪酸的利用^[15]。

PD-1有PD-L1和PD-L2两种配体,它们在不同的细胞表达。PD-L1在专职抗原提呈细胞(表达主要组织相容性复合体I类和II类分子以及共刺激分子的细胞,激活的CD4⁺T淋巴细胞)、非专职抗原提呈细胞以及非造血细胞(内皮细胞、心肌细胞、胰岛细胞、胎盘和眼睛)中表达^[16-18]。PD-L2在活化的树突状细胞和巨噬细胞中表达。干扰素- α (interferon, IFN- α)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等可诱导PD-L1和PD-L2过表达,如IFN- α 可诱导PD-L1和PD-L2在肿瘤细胞、巨噬细胞、树突状细胞和基质细胞中过表达^[19]。PD-L1可抑制T淋巴细胞对肿瘤细胞的杀伤^[20-22]。研究显示多种肿瘤细胞PD-L1基因在转录和转录后修饰过程中表达上调,表达增多的PD-L1与CD8⁺T淋巴细胞上的PD-1结合后可抑制T淋巴细胞对肿瘤细胞的杀伤作用,从而使肿瘤细胞逃脱免疫监视^[11]。

2 PD-1/PD-L1在心肌炎发病中的作用

2.1 PD-1/PD-L1和T淋巴细胞

心肌炎的主要特征是心肌组织炎性浸润,药物、细菌及病毒等都可触发心肌炎,自身免疫反应可促进心肌炎病情进展^[23]。T淋巴细胞是心肌炎发病的关键因素,PD-1/PD-L1通过调控T淋巴细胞活性抑制心肌炎进展。PD-1和活化T淋巴细胞的PD-L1结合可限制T淋巴细胞识别心肌特异性抗原,从而减轻活化T淋巴细胞造成的心肌病理改变^[24, 25]。Tarrío等^[26]的研究表明CD8⁺T淋巴细胞介导的心肌炎模型中,相比PD-1表达阳性T淋巴细胞,PD-1表达阴性T淋巴细胞导致的心肌炎性浸润和改变更严重,T淋巴细胞增生也多。CD4⁺T淋巴细胞介导的小鼠心肌炎模型中,T淋巴细胞PD-1表达阴性小鼠的心肌炎症反应、炎症细胞(包括CD8⁺T淋巴细胞)浸润程度以及心肌损伤标志物水平都比野生型小鼠高。系统性红斑狼疮小鼠PD-1基因缺失则可导致致命性心肌炎,心肌中T淋巴细胞及巨噬细胞大量浸润,伴有心肌特异性抗体生成^[27-29]。

2.2 PD-1/PD-L1和肌钙蛋白

心肌肌钙蛋白(cardiac troponin, cTn)是临床评估心肌损伤的特异性指标,PD-1调控心肌炎的作用与抑制肌钙蛋白抗体有关,肌钙蛋白抗体在心肌炎和心功能不全的发病机制中起重要作用^[29,30]。研究表明PD-1表达阴性BALB/c小鼠在5周时开始死亡,30周时约2/3小鼠死亡,但PD-1表达阳性小鼠则健康存活。组织病理检测结果显示PD-1表达阴性小鼠心脏明显扩大,心室壁心肌细胞弥漫变性,肌纤维断裂和有序排列。心肌细胞表面有弥漫的IgG沉积,血清中也检测到高滴度的自身抗体IgG,可与心肌细胞表面特异性表达的心肌肌钙蛋白I(cardiac troponin I, cTnI)相结合^[15]。进一步将cTnI特异性抗体注入野生型BALB/c小鼠体内,它可与心肌表面的cTnI结合,促进心肌细胞钙离子内流。12周后和对照组相比,cTnI特异性抗体处理组小鼠的心脏明显扩大,心功能下降^[29]。同时心肌炎和扩张型心肌病患者中也可检测到抗心肌细胞的自身抗体,抗体主要存在于肌纤维、肌纤维膜和胞浆内^[31]。

2.3 PD-1/PD-L1和炎症反应

PD-1/PD-L1抑制心肌炎症反应^[32]。正常状态下PD-1和PD-L1在心肌细胞低水平表达^[17]。柯萨奇病毒诱导的急性病毒性心肌炎模型鼠中,PD-L1表达明显增多。PD-1、PD-L1的抑制性抗体可促进柯萨奇病毒诱导的心肌炎症反应,抗PD-1单克隆抗体则使心肌组织中IFN- γ 、凋亡相关因子配体(factor-related apoptosis ligand, FasL)、CD40L、穿孔蛋白及柯萨奇病毒基因表达显著增加。抗PD-L2抗体未显示出类似作用。小剂量已被抗原激活的细胞毒性T淋巴细胞注射到小鼠体内后,可造成持续10~12d的可完全恢复的心肌炎症反应^[18]。炎症期间来源于T淋巴细胞的IFN- γ 促进心脏血管内皮细胞的PD-L1表达增多,IFN- γ 被抑制后心肌炎症反应加重。抗原激活的细胞毒性T淋巴细胞注射到PD-L1和PD-L2基因缺失小鼠和PD-L1抗体处理的小鼠体内后,可恢复的心肌炎发展为致命心肌炎,同时出现广泛分布的富含中性粒细胞的微脓肿,去除中性粒细胞则使PD-L1缺失小鼠发生致命性心肌炎的易感性降低^[18]。上述研究显示促进PD-1/PD-L1通路活性可成为抑制心肌炎发展的一种免疫治疗措施^[18,32]。

PD-1基因缺失导致的心肌炎易感性与遗传基因有关,不同种属和不同品系动物的心肌炎易感性不同,提示心肌炎的发生可能受不同遗传因素控制。研究显示PD-1基因缺失的BALB/c小鼠可发生致

命的扩张型心肌病,而PD-1基因和重组激活基因2(recombination activating gene, RAG2)缺失的BALB/c小鼠则未过早死亡^[15]。研究表明糖尿病、红斑狼疮、甲状腺炎和心肌炎存在相同或重叠的基因易感位点。识别和鉴定致心肌炎易感基因的突变,不仅有助于识别心肌炎高危人群,同时可以此为靶点设计心肌炎新的治疗策略^[33]。

3 PD-1/PD-L1 抑制剂相关心肌炎的发生机制

研究结果显示PD-1抑制剂纳武单抗(nivolumab)单用或联合其他免疫检查点抑制剂相关心肌炎的发病率为0.09%^[34],但免疫检查点抑制剂导致的心肌炎具有早期发病、非特异性和暴发性进展特性,因此严重威胁患者生命^[2,5,7]。研究表明单用纳武单抗心肌炎患者死亡率为10%,而纳武单抗联合其他免疫检查点抑制剂诱发心肌炎患者的死亡率>60%^[34]。心肌外周免疫耐受崩溃可能是PD-1/PD-L1抑制剂导致心肌炎的机制之一,PD-1抗体可阻止PD-1与PD-L1结合诱导大量T淋巴细胞活化,抗原提呈细胞和心肌细胞上的PD-L1被抗体封闭后也会加强T淋巴细胞活性,因此,PD-1/PD-L1抑制剂可使T淋巴细胞保持活性,对心脏进行攻击^[2]。另一个可能机制是肿瘤细胞和心肌细胞具有相同抗原,在免疫检查点抑制剂作用下,抗原特异性T淋巴细胞被高度激活,同时攻击肿瘤和心肌细胞,进而发生致命性心肌炎^[2,34]。

免疫检查点抑制剂相关心肌炎症状和体征多样,缺乏特异性。从不典型胸痛到心源性休克都可能出现,有些患者则无明显症状。心肌炎发生的时间也不一致,有研究结果显示纳武单抗第一次单用或联合其他免疫检查点抑制剂之后即可出现爆发性心肌炎^[2,34]。临床常用的诊断和评估方法包括检测心肌损伤标志物、心电图、心脏超声、心脏核磁共振和心内膜活检等。心内膜活检显示心肌内T淋巴细胞(以CD8⁺T淋巴细胞为主)和巨噬细胞浸润^[2,35]。免疫检查点抑制剂相关心肌炎较其他心肌炎患者预后也差,因此这类患者应及早快速准确诊断和治疗。

目前免疫检查点抑制剂相关心肌炎主要采用大剂量激素治疗,对激素无反应患者可考虑使用其他免疫抑制剂、大剂量免疫球蛋白和免疫吸附等措施。限制活动、根据指南完善心功能不全和心律失常治疗是基础治疗。存活的心肌炎患者中,部分患者出院时心功能可部分或完全恢复,但一些患者在未来

会发展为扩张型心肌病,预后差。鉴于可能存在未诊断的无症状亚临床心肌炎,因此使用免疫检查点抑制剂的患者都应考虑有可能发生心功能不全^[2]。

总之,心肌炎是临床仍面临挑战的一类心血管疾病,发病机制复杂,临床预后差。PD-1/PD-L1可能通过调控心肌抗原特异性T淋巴细胞活性、抑制心肌肌钙蛋白抗体和炎症反应等机制抑制心肌炎的发生,其调控作用的发挥与机体遗传易感性有关。PD-1/PD-L1等免疫检查点抑制剂相关心肌炎较一般心肌炎预后更差,使用免疫检查点抑制剂患者需注意发生心肌炎及心功能不全风险,应尽早诊断和尽早治疗。明确PD-1/PD-L1调控心肌炎发病的机制,将可能为治疗心肌炎提供新靶点。

【参考文献】

- [1] Caforio AL, Pankuweit S, Arbustini E, *et al.* Current state of knowledge on aetiology, diagnosis, management, and therapy of myocarditis: a position statement of the European Society of Cardiology Working Group on myocardial and pericardial diseases[J]. *Eur Heart J*, 2013, 34(33): 2636-2648. DOI: 10.1093/eurheartj/ehj210.
- [2] Tajiri K, Aonuma K, Sekine I. Immune checkpoint inhibitor-related myocarditis[J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2018, 48(1): 7-12. DOI: 10.1093/jcco/hyx154.
- [3] Iwai Y, Ishida M, Tanaka Y, *et al.* Involvement of PD-L1 on tumor cells in the escape from host immune system and tumor immunotherapy by PD-L1 blockade[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(19): 12293-12297. DOI: 10.1073/pnas.192461099.
- [4] Varricchi G, Marone G, Mercurio V, *et al.* Immune checkpoint inhibitors and cardiac toxicity: an emerging issue[J]. *Curr Med Chem*, 2018, 25(11): 1327-1339. DOI: 10.2174/092986732-4666-170407125017.
- [5] Wang DY, Okoye GD, Neilan TG, *et al.* Cardiovascular toxicities associated with cancer immunotherapies[J]. *Curr Cardiol Rep*, 2017, 19(3): 21. DOI: 10.1007/s11886-017-0835-0.
- [6] Hu JR, Florido R, Lipson EJ, *et al.* Cardiovascular toxicities associated with immune checkpoint inhibitors[J]. *Cardiovasc Res*, 2019, 115(5): 854-868. DOI: 10.1093/cvr/cvz026.
- [7] Heinzerling L, Ott PA, Hodi FS, *et al.* Cardiotoxicity associated with CTLA4 and PD1 blocking immunotherapy[J]. *J Immunother Cancer*, 2016, 4: 50. DOI: 10.1186/s40425-016-015 2-y.
- [8] Nishimura H, Honjo T. PD-1: an inhibitory immunoreceptor involved in peripheral tolerance[J]. *Trends Immunol*, 2001, 22(5): 265-268.
- [9] Freeman GJ, Long AJ, Iwai Y, *et al.* Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation[J]. *J Exp Med*, 2000, 192(7): 1027-1034. DOI: 10.1084/jem.192.7.1027.
- [10] Nishimura H, Nose M, Hiai H, *et al.* Development of lupus-like autoimmune diseases by disruption of the PD-1 gene encoding an ITIM motif-carrying immunoreceptor[J]. *Immunity*, 1999, 11(2): 141-151.

- [11] Nishimura H, Okazaki T, Tanaka Y, *et al.* Autoimmune dilated cardiomyopathy in PD-1 receptor-deficient mice [J]. *Science*, 2001, 291 (5502): 319–322. DOI: 10.1126/science.291.5502.319.
- [12] Okazaki T, Honjo T. PD-1 and PD-1 ligands: from discovery to clinical application[J]. *Int Immunol*, 2007, 19(7): 813–824. DOI: 10.1093/intimm/dxm057.
- [13] Chen J, Jiang CC, Jin L, *et al.* Regulation of PD-L1: a novel role of pro-survival signalling in cancer [J]. *Ann Oncol*, 2016, 27(3): 409–416. DOI: 10.1093/annonc/mdv615.
- [14] Yokosuka T, Takamatsu M, Kobayashi-Imanishi W, *et al.* Programmed cell death 1 forms negative costimulatory microclusters that directly inhibit T cell receptor signaling by recruiting phosphatase SHP2[J]. *J Exp Med*, 2012, 209(6): 1201–1217. DOI: 10.1084/jem.20112741.
- [15] Patsoukis N, Bardhan K, Chatterjee P, *et al.* PD-1 alters T-cell metabolic reprogramming by inhibiting glycolysis and promoting lipolysis and fatty acid oxidation[J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 6692. DOI: 10.1038/ncomms7692.
- [16] Dong H, Strome SE, Salomao DR, *et al.* Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion[J]. *Nat Med*, 2002, 8(8): 793–800. DOI: 10.1038/nm730.
- [17] Baban B, Liu JY, Qin X, *et al.* Upregulation of programmed death-1 and its ligand in cardiac injury models: interaction with GADD153[J]. *PLoS One*, 2015, 10(4): e0124059. DOI: 10.1371/journal.pone.0124059.
- [18] Grabie N, Gotsman I, DaCosta R, *et al.* Endothelial programmed death-1 ligand 1 (PD-L1) regulates CD8⁺ T-cell mediated injury in the heart [J]. *Circulation*, 2007, 116(18): 2062–2071. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.709360.
- [19] Zou W, Chen L. Inhibitory B7-family molecules in the tumour microenvironment[J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(6): 467–477. DOI: 10.1038/nri2326.
- [20] Herbst RS, Soria JC, Kowanetz M, *et al.* Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients[J]. *Nature*, 2014, 515(7528): 563–567. DOI: 10.1038/nature14011.
- [20] Latchman Y, Wood CR, Chernova T, *et al.* PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation[J]. *Nat Immunol*, 2001, 2(3): 261–268. DOI: 10.1038/85330.
- [22] Azuma T, Yao S, Zhu G, *et al.* B7-H1 is a ubiquitous antiapoptotic receptor on cancer cells[J]. *Blood*, 2008, 111(7): 3635–3643. DOI: 10.1182/blood-2007-11-123141.
- [23] Leuschner F, Katus HA, Kaya Z. Autoimmune myocarditis: past, present and future[J]. *J Autoimmun*, 2009, 33(3–4): 282–289. DOI: 10.1016/j.jaut.2009.07.009.
- [24] Mueller DL. Mechanisms maintaining peripheral tolerance [J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(1): 21–27. DOI: 10.1038/ni.1817.
- [25] Lichtman AH. The heart of the matter: protection of the myocardium from T cells [J]. *J Autoimmun*, 2013, 45: 90–96. DOI: 10.1016/j.jaut.2013.05.004.
- [26] Tarrio ML, Grabie N, Bu DX, *et al.* PD-1 protects against inflammation and myocyte damage in T cell-mediated myocarditis[J]. *J Immunol*, 2012, 188(10): 4876–4884. DOI: 10.4049/jimmunol.1200389.
- [27] Lucas JA, Menke J, Rabacal WA, *et al.* Programmed death ligand 1 regulates a critical checkpoint for autoimmune myocarditis and pneumonitis in MRL mice[J]. *J Immunol*, 2008, 181(4): 2513–2521. DOI: 10.4049/jimmunol.181.4.2513.
- [28] Wang J, Okazaki IM, Yoshida T, *et al.* PD-1 deficiency results in the development of fatal myocarditis in MRL mice[J]. *Int Immunol*, 2010, 22(6): 443–452. DOI: 10.1093/intimm/dxq026.
- [29] Okazaki T, Tanaka Y, Nishio R, *et al.* Autoantibodies against cardiac troponin I are responsible for dilated cardiomyopathy in PD-1-deficient mice[J]. *Nat Med*, 2003, 9(12): 1477–1483. DOI: 10.1038/nm955.
- [30] Kaya Z, Katus HA, Rose NR. Cardiac troponins and autoimmunity: their role in the pathogenesis of myocarditis and of heart failure[J]. *Clin Immunol*, 2010, 134(1): 80–88. DOI: 10.1016/j.clim.2009.04.008.
- [31] Matsumori A. Lessons learned from experimental myocarditis [J]. *Herz*, 2012, 37(8): 817–821. DOI: 10.1007/s00059-012-3692-z.
- [32] Seko Y, Yagita H, Okumura K, *et al.* Roles of programmed death-1 (PD-1)/PD-1 ligands pathway in the development of murine acute myocarditis caused by coxsackievirus B3[J]. *Cardiovasc Res*, 2007, 75(1): 158–167. DOI: 10.1016/j.cardiores.2007.03.012.
- [33] Li HS, Ligons DL, Rose NR. Genetic complexity of autoimmune myocarditis [J]. *Autoimmun Rev*, 2008, 7(3): 168–173. DOI: 10.1016/j.autrev.2007.11.010.
- [34] Johnson DB, Balko JM, Compton ML, *et al.* Fulminant myocarditis with combination immune checkpoint blockade [J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(18): 1749–1755. DOI: 10.1056/NEJMoa1609214.
- [35] Tajiri K, Ieda M. Cardiac complications in immune checkpoint inhibition therapy [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2019, 6: 3. DOI: 10.3389/fcvm.2019.00003.

(编辑: 王彩霞)