

Úloha PD-1/PD-L1 signalizace v protinádorové imunitní odpovědi

The Role of PD-1/PD-L1 Signaling Pathway in Antitumor Immune Response

Zatloukalová P., Pjehová M., Babčanová S., Hupp T. R., Vojtěšek B.

Regionální centrum aplikované molekulární onkologie, Masarykův onkologický ústav, Brno

Souhrn

Východiska: Pro správnou funkci imunitního systému je důležitá souhra mezi inhibičními a stimulačními mechanismy, které jednak chrání organismus před cizorodými mikroorganismy a látkami z vnějšího prostředí, ale také brání zdravou tkáň před případnými poškozujícími útoky imunitního systému. Inhibiční mechanismy jsou tedy nepostradatelnou složkou imunitního systému podílející se na jeho správné funkci. Nádorové buňky však mohou inhibiční mechanismy zneužít k úniku před imunitní reakcí a tím podpořit vznik a rozvoj nádorového onemocnění. Proto je tedy za jednu z charakteristik nádorových buněk považovaná schopnost vyhnout se imunitnímu dozoru. Imunoterapie je léčebným postupem, v průběhu kterého dochází ke stimulaci imunitního systému. Za efektivní a specifické imunoterapeutické cíle jsou považovány kontrolní body imunitní reakce. V posledních letech je značná pozornost věnována inhibiční dráze PD-1/PD-L1, tj. dráze programované buněčné smrti. Blokádou PD-1/PD-L1 dochází k utlumení inhibičního signálu, k obnově účinnosti imunitních mechanismů a ke zvýšení protinádorové aktivity. Protilátky blokující receptor PD-1 a jeho ligand PD-L1 jsou již poměrně úspěšně klinicky využívány. Přesto je stále velmi důležité vést výzkum se zaměřením na objasnění mechanismu této dráhy, na nalezení faktorů významně ovlivňujících její aktivitu a na popis variability této dráhy vycházející z různorodosti nádorového prostředí. Získané výsledky lze poté využít k dosažení maximálního protinádorového účinku inhibiční osy PD-1/PD-L1. **Cíl:** Cílem tohoto článku je shrnout dosavadní poznatky o PD-1/PD-L1 signální dráze a prodiskutovat její úlohu v protinádorové imunitní odpovědi.

Klíčová slova

dráha programované buněčné smrti – únikové mechanismy nádorů – PD-1 – PD-L1 – CD274

Summary

Background: Correct function of the immune system depends on close cooperation between stimulation and inhibition signals, which protect an organism from outside microorganisms and other agents, but also protects healthy tissues against possible self-destructing attacks of the immune system. However, the inhibitory mechanisms can be abused by cancer cells that evade immune responses and, in fact, they help develop cancer. Therefore, one of the characteristics of cancer cells is the ability to evade immune recognition. Immunotherapy is a treatment method that stimulates the immune system to fight cancer. The checkpoints of the immune system can be considered as effective and specific therapeutic targets. Programmed cell death signaling pathway (PD-1/PD-L1) is one of the most discussed inhibition pathways in recent years. Blockage of PD-1/PD-L1 interaction restores mechanisms of immune response and increases antitumor immune activity. Monoclonal antibodies blocking PD-1 receptor or its ligand PD-L1 have already shown clinical efficacy. However, it is important to carry out research to explore the mechanisms of PD-1/PD-L1 pathway to find new factors, which influence its activity and, of course, to illuminate the variability of this pathway which naturally originates in the diversity of the tumor milieu. Obtained results could be utilized to achieve maximal anticancer effect after inhibition of PD-1/PD-L1 signaling pathway useful in clinical practice. **Aim:** The aim of the article is to summarize current knowledge about PD-1/PD-L1 signaling pathway and to discuss its role in antitumor immune response.

Key words

programmed cell death pathway – tumor escape – PD-1 – PD-L1 – CD274

Práce byla podpořena projektem MŠMT – NPU I – LO1413.

This work was supported by the project MEYS – NPS I – LO1413.

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



Mgr. Pavlína Zatloukalová, Ph.D.
Regionální centrum aplikované
molekulární onkologie
Masarykův onkologický ústav
Žlutý kopec 7
656 53 Brno
e-mail: pavlina.zatloukalova@mou.cz

Obdrženo/Submitted: 13. 6. 2016

Přijato/Accepted: 4. 8. 2016

<http://dx.doi.org/10.14735/amko20164572>

Úvod

Imunitní systém zajišťuje integritu organismu tím, že jej chrání před patogenními organizmy a škodlivými látkami, rozpoznává vlastní tkáň, odstraňuje buňky staré, poškozené a nádorové. Veškeré děje probíhající v organismu, vč. karcinogeneze, jsou pod neustálým imunitním dohledem. Imunitní systém potlačuje růst nádorových buněk především v počátečních fázích nádorové transformace. S rozvojem nádoru se mechanismy imunitní reakce postupně vyčerpávají a nádorové buňky nasazují nástroje, kterými imunitní reakci samy účinně omezují. Imunitní systém je navíc ve vztahu k nádorovým buňkám v nevýhodě, a to z důvodu značné podobnosti nádorových buněk s normálními. Imunitní systém má tendenci nádorové buňky tolerovat jako buňky vlastní a tím snižuje svoji účinnost v boji proti nádorům. Pokud je ovšem abnormalita nádorových buněk rozpoznatelná, jsou do reakce zapojeny všechny mechanismy přirozené (nespecifické) i adaptivní (antigenně specifické) imunity.

Nádorové buňky uplatňují řadu strategií, pomocí nichž se snaží uniknout kontrole imunitního systému. Nádorová buňka se především snaží zamaskovat svůj specifický nádorový antigen rozpoznatelný imunitním systémem. Immunogenicita (schopnost vyvolat imunitní odpověď) nádorových buněk je velmi účinně snižována mutacemi v genech kódujících nádorové antigeny, které mají za následek vznik variant imunitním systémem nerozpoznatelných. U řady nádorových buněk může pro změnu dojít k poklesu, nebo dokonce až ke ztrátě exprese MHC molekul (major histocompatibility complex – hlavní histokompatibilní komplex) nezbytných pro zviditelnění nádorových antigenů pro T lymfocyty a u některých nádorů dochází ke zvýšené produkci glykokalyxových molekul překrývajících nádorové antigeny [1].

Nádorové buňky jsou schopné ve svůj prospěch zneužívat také samotné buňčné složky imunitního systému. T lymfocyty se podílejí na rozpoznání a likvidaci patogenů a nádorových buněk, přičemž jejich aktivita je velmi přísně modulovaná pozitivními (kostimulač-

ními) a negativními (inhibičními) regulačními signály. Aktivace „naivních“ T lymfocytů je zprostředkována přes TCR receptor interagující s antigenem navázaným na molekulu MHC v antigen prezentujících buňkách (APC) (obr. 1). Tento signál zajišťuje specifickou imunitní odpověď, ale sám o sobě není k aktivaci T lymfocytů dostatečný. Druhý, tzv. kostimulační signál, je přenášen prostřednictvím kostimulační molekuly CD28 přítomné na povrchu T lymfocytů, která se váže na receptor B7 přítomný na APC. Kostimulační signál je na antigenu nezávislý, ale k aktivaci T lymfocytů je nezbytný. Nedostatečná síla kostimulačního signálu po setkání T lymfocytu s nádorovou buňkou způsobí „uspání“ neboli funkční inaktivitu, tzv. anergii. Proto jsou také kostimulační molekuly CD80 a CD86 exprimované nádorovými buňkami jen minimálně nebo vůbec [2]. Anergní T lymfocyty nemají schopnost produkovat aktivační cytokiny, což brání jejich dozrávání v buňky efektorové.

Rozsah imunitní reakce je závislý na interakci řady dalších receptorů a ligandů, které zesilují či tlumí procesy aktivace T lymfocytů. Významnou inhibiční dráhou navozující funkční inaktivitu lymfocytů je PD-1/PD-L1, která je považována za jeden z kontrolních bodů imunitního systému (checkpoint). Obecně tato dráha chrání organismus před vznikem autoimunitních onemocnění, ale současně se může podílet na navození nádorové tolerance. Vznik nádorové tolerance je složitý a komplexní proces, který je často provázen dysbalancí mezi inhibičními a kostimulačními signály. Zvýšená aktivita inhibiční PD-1/PD-L1 dráhy může vyvolat funkční postižení efektorových T lymfocytů, a tím způsobit jejich „vyčerpání“ (exhausting). „Vyčerpané“ T lymfocyty nejsou schopné specifické cytotoxické odpovědi a destrukce cílových buněk [3]. K této T lymfocytární dysfunkci může docházet, kromě již zmíněných nádorových onemocnění, také u dlouhodobých infekcí a jejím typickým znakem je zvýšená exprese PD-1.

PD-1 receptor a jeho exprese

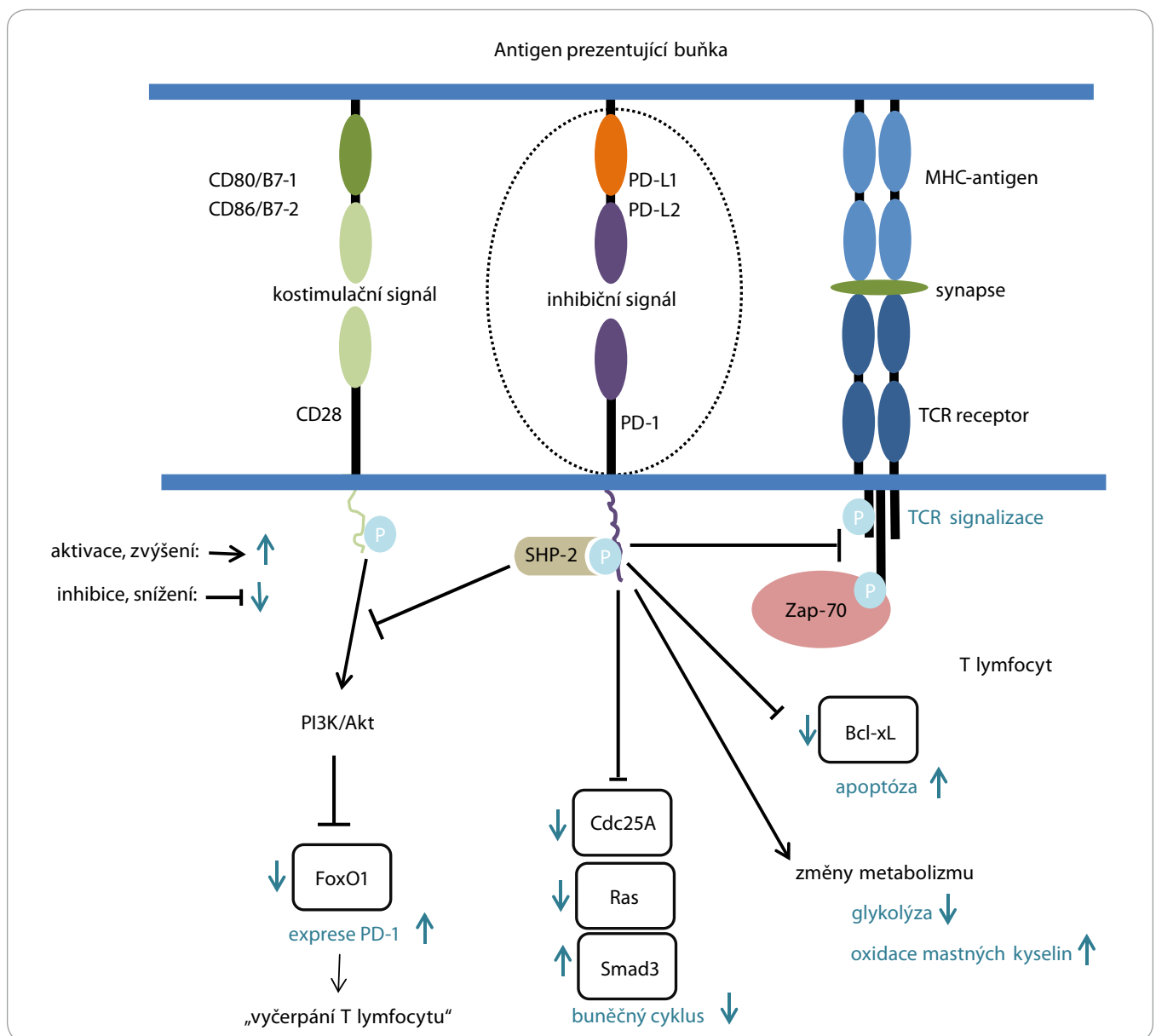
PD-1 je transmembránový glykoprotein typu I patřící do velké imunoglobulinové rodiny proteinů CD28/B7. PD-1 je tvo-

řen transmembránovou hydrofobní doménou, na kterou je přes 20 aminokyselin dlouhý linker navázaná extracelulární IgV doména, která vykazuje 21–22% homologii s ostatními receptory rodiny CD28 [4]. Na vnitřní straně membrány se nachází intracelulární doména receptoru se dvěma konzervovanými tyrozinovými motivy – ITIM (immunoreceptor tyrosin-based inhibitory motif) neboli inhibiční motiv receptoru imunitního systému založený na tyrozinu – a ITSM (immunoreceptor tyrosin-based switch motif) neboli „přepínatelný“ motiv receptoru imunitního systému založený na tyrozinu. Inhibiční funkce PD-1 je vázaná především na ITSM motiv (TxYxxV/I) [5] a jeho významnost byla potvrzena nalezením mutace, která potlačila inhibiční schopnost PD-1. Naopak mutace v sekvenci ITIM funkce PD-1 neovlivnila a předpokládá se, že ITIM je pravděpodobně zapojen do jiných regulačních dějů nesouvisejících s aktivací T lymfocytů [5]. PD-1 se v membráně vyskytuje ve formě monomeru, a to z důvodu nepřítomnosti cysteinových zbytků, které by umožnily homodimerizaci.

PD-1 je kódován genem *PDCD1* lokalizovaným na chromozomu 2 a obsahujícím pět exonů [6]. Je exprimován především na aktivovaných T a B lymfocytech, monocytech, NK buňkách, dendritických buňkách a na tumor infiltrujících lymfocytech [6]. K expresi PD-1 může také docházet na regulačních T lymfocytech (Treg), a to na membráně i v cytoplazmě [7]. V tomto případě není ovšem jasné, zda cytoplazmatický PD-1 uplatňuje své inhibiční vlastnosti [8]. V klidových imunitních buňkách byla pozorována jen minimální exprese PD-1. Po stimulaci T lymfocytů však byla významná hladina PD-1 detekována již po 2 hod a exprese PD-1 plynule stoupala v průběhu dalších 24 hod [9]. K silné expresi PD-1 dochází na „vyčerpaných“ inaktivních T lymfocytech při chronické virové infekci [3]. Přestože je PD-1 exprimován v celé řadě buněk imunitního systému, pravděpodobně nejdůležitější funkci zaujímá jako inhibiční receptor na T lymfocytech.

Ligandy PD-L1 a PD-L2 a jejich exprese

Mezi ligandy specificky se vážící na PD-1 patří PD-L1 (neboli B7-H1, CD274)



Obr. 1. Molekulární mechanismus PD-1/PD-L1 signalizace. Upraveno podle [34].

a PD-L2 (neboli B7-DC, CD273). Jedná se o transmembránové glykoproteiny imunoglobulinové povahy mající ve své struktuře extracelulární domény IgC a IgV typické pro rodinu proteinů B7. Domény obsahují čtyři cysteinové zbytky, které vytvářejí disulfidické můstky stabilizující molekulu. Cytoplazmatická doména je tvořena řetězcem 30 aminokyselin a pravděpodobně není schopná dále přenášet signál po vazbě ligandu na PD-1.

Inhibiční role PD-L1 v imunitním systému byla objasněna u myši deficientních v PD-L1, u kterých se rozvinulo au-

toimunitní onemocnění [10]. Později bylo potvrzeno, že PD-1/PD-L1 interakce hraje významnou roli v potlačení imunitní odpovědi v nádorovém mikroprostředí [11,12]. Dalším interakčním partnerem PD-L1 je kostimulační molekula CD80 exprimovaná na aktivovaných T lymfocytech [13]. Jejich vzájemnou interakcí dochází k omezení funkce T lymfocytů a ke snížení produkce cytokinů [13]. Jakou měrou se na omezení imunitní odpovědi podílí interakce PD-L1 s PD-1 či CD80 není dosud známo [14]. Interakčním partnerem PD-L2 je kromě PD-1 také transmembrá-

nový receptor RGMB (repulsive guidance molecule b neboli Dragon). Funkce RGMB v rámci imunitního systému není doposud zcela objasněna. Bylo zjištěno, že interakce PD-L2/RGMB zvyšuje toleranci k patogenům, které proniknou do dýchacích cest [15].

Expresní profily PD-L1 a PD-L2 se výrazně liší, proto se předpokládá, že se každý účastní jiných procesů regulace imunitní odpovědi. PD-L2 je obvykle detekován ve velmi nízké hladině a jeho exprese je omezena na makrofágy a dendritické buňky. Předpokládá se, že hlavní funkcí PD-L2 je aktivace a polarizace

T lymfocytů [16]. PD-L1 je exprimován zejména na T a B lymfocytech, dendritických buňkách a makrofázích. Exprese PD-L1 však byla zjištěna i v buňkách zdravé tkáně plic, jater, sleziny atd. [6], kde pravděpodobně přispívá k periferní toleranci [6]. Nádorové tkáně často vykazují zvýšenou hladinu PD-L1, který je většinou detekován v lokálně ohraničených oblastech na povrchu buněk [17] a pravděpodobně napomáhá vzniku nádorové tolerance. Zajímavý je příklad Hodgkinova lymfomu, který je charakterizován přítomností buněk Reedové-Sternberga vykazujících specifickou genovou aberaci, a to amplifikaci oblasti chromozomu *9p24.1*, která je zodpovědná za zvýšenou produkci ligandů PD-L1 a PD-L2 [18]. Zvýšená hladina PD-L1 koreluje s nepříznivou prognózou onemocnění a expresí PD-L1 zvyšuje agresivitu a invazivitu nádorů [16].

Molekulární mechanismus PD-1/PD-L1 signalizace

Pro aktivaci T lymfocytů je zásadní interakce TCR receptoru s antigenem navázaným na MHC molekulu APC za vzniku imunologické synapse. Jedná se o supramolekulární strukturu, jejíž součástí jsou kostimulační molekuly jako CD28, CD80/CD86 či CD40, ale i další adhezivní molekuly jako LFA-1 (lymphocyte function-associated antigen-1) či ICAM (intracellular adhesion molecule-1) zajišťující stabilitu komplexu. V případě interakce s inhibiční dráhou PD-1/PD-L1 dochází nejprve k vazbě PD-L1 na PD-1, k připojení k TCR synapsi a k defosforylaci CD3 a ZAP-70 molekuly TCR receptoru podílejících se na TCR signalizaci (obr. 1). Vazbou ligandu na PD-1 dochází současně k fosforylaci tyrozinu na ITSM motivu, čímž se aktivuje tyrozinová fosfatáza SHP-2 (Src homology 2 domain-containing tyrosine phosphatase 2) inhibující PI3K/Akt signální dráhu [6]. Oba výše zmíněné děje aktivují další mechanismy vedoucí k omezení proliferace a k dysfunkci T lymfocytů.

PD-1/PD-L1 dráha stimuluje apoptózu T lymfocytů (obr. 1). Za normálních podmínek kostimulační synapse podporuje expresi antiapoptotického Bcl-xL (B-cell lymphoma-extra large), jehož exprese je ale v nádorovém prostředí potlačena

aktivitou PD-1/PD-L1. Tento proces byl potvrzen již dříve v rámci studií myších a lidských PD-L1⁺ buněk, u kterých byla apoptóza T lymfocytů potlačena protilátkou blokující PD-L1 [17,19].

Proliferace T lymfocytů může být dále omezena blokádou buněčného cyklu (obr. 1), kterou navozuje zvýšená aktivita transkripčního faktoru Smad3 (SMAD family member 3) blokujícího buněčný cyklus a degradace Cdc25A (M-phase inducer phosphatase 1), což je pro změnu aktivátor buněčného cyklu. Oba výše zmíněné faktory inhibují proliferaci T lymfocytů a oba jsou indukované PD-1/PD-L1 dráhou [20]. Ras (p21ras) je naopak faktorem stimulačím buněčný cyklus, jehož exprese je vlivem PD-1/PD-L1 signalizace inhibována [20]. PD-1/PD-L1 dále inhibuje signální dráhu PI3K/Akt, která omezuje degradaci transkripčního faktoru FoxO1, který zpětně přispívá k expresi PD-1 a tím podporuje vznik „vyčerpaných“ T lymfocytů [21].

PD-1/PD-L1 signalizace ovlivňuje také metabolismus T lymfocytů, a to inhibicí glykolýzy a metabolismu aminokyselin a současně aktivací dějů vedoucích k oxidaci mastných kyselin [22].

Velmi důležitý je indukující vliv PD-1/PD-L1 dráhy na vývoj Treg, které se obecně podílejí na potlačení imunity tím, že omezují aktivitu efektorových T lymfocytů [23]. Přestože je role Treg v regulačních procesech imunitní odpovědi velmi komplexní a není dosud zcela objasněna, podařilo se inhibici PD-1/PD-L1 dráhy buněk melanomu obnovit cytotoxické vlastnosti T lymfocytů a naopak potlačit tlumivou aktivitu Treg [24]. Stejný pozitivní účinek na vývoj Treg byl také pozorován u dendritických buněk exprimujících PD-1 [25].

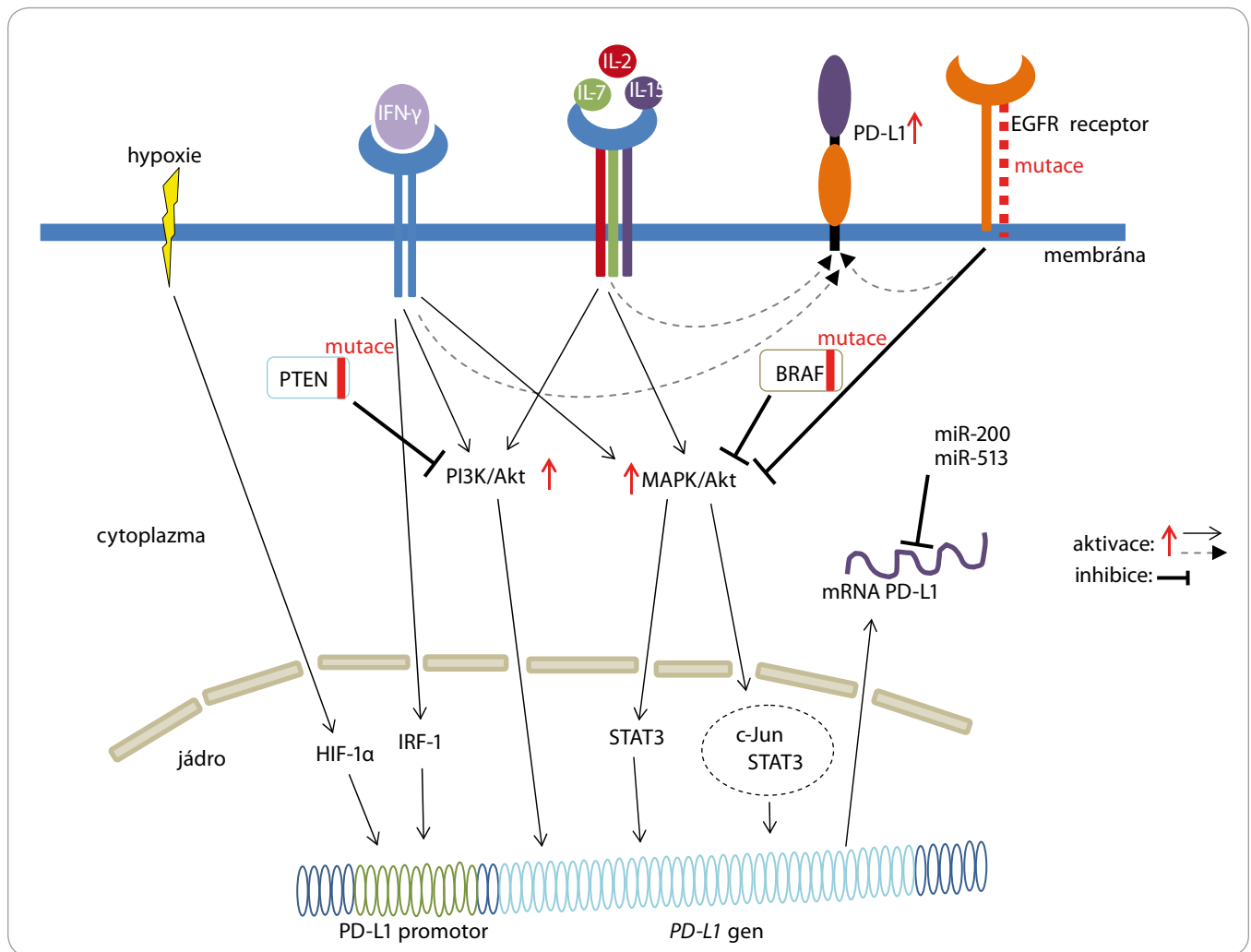
Mechanismy regulující expresi PD-L1 a PD-L2 v nádorových buňkách

Exprese PD-L1 je regulovaná signálními dráhami MAPK (mitogen-activated protein kinase, rodina serin/threonin kináz) a PI3K/Akt (phosphatidylinositol-3-kinase-Akt) (obr. 2), přičemž především abnormality na úrovni jednotlivých regulačních komponent mohou vést ke karcinogenezi. Podíl obou drah v procesu karcinogeneze se u jednotlivých ná-

dorových onemocnění liší. Jednou z mutací vedoucí k aberantní aktivaci MAPK podílející se na zvýšené proliferaci, ale i rezistenci nádorových buněk, je mutace v genu *BRAF* kódujícím serin/threonin kinázu. Mutace v genu *BRAF* ovlivňují aktivitu transkripčních faktorů c-Jun a STAT3. c-Jun přímo zvyšuje *de novo* expresi PD-L1. Naopak transkripční faktor STAT3 je schopen indukovat expresi PD-L1 u melanomu pouze v kooperaci s c-Jun [26]. Ke zvýšené expresi PD-L1 může také docházet po aktivaci MAPK způsobené mutací v receptoru epidermálního růstového faktoru u nemalobuněčného karcinomu plic (non-small cell lung cancer – NSCLC) [27]. Naopak hyperaktivace PI3K/Akt signální dráhy indukující expresi PD-L1 je často spojená se ztrátou funkce nádorového supresoru PTEN (phosphatase and tensin homologue), jak bylo zjištěno u buněk karcinomu střeva [28] a melanomu [26].

Exprese PD-L1 u nádorových buněk byla indukovaná aktivací MAPK po aplikaci paklitaxelu [29] nebo nízké koncentrace cisplatinu [30]. Aktivovaná MAPK a s ní spojená zvýšená exprese PD-L1 může přispívat k omezení imunitní reakce a tím podporovat nádorovou rezistenci [29].

Exprese PD-L1 je také indukovaná hypoxickým prostředím, které je typické pro nádorové tkáně (obr. 2). Toto prostředí indukuje zvýšenou expresi transkripčního faktoru HIF-1 α (hypoxia-inducible factor 1 α), který se přímo váže na promotor genu kódujícího PD-L1 a tím reguluje jeho transkripci [31]. Exprese PD-L1 je také modulovaná prostřednictvím mikroRNA (miRNA). Jedná se o malé regulační RNA o velikosti 22–24 nukleotidů, které se vážou na částečně komplementární oblasti mRNA a tím řídí inhibici translace, nebo degradaci mRNA. Exprese PD-L1 je indukovaná miR-200, která zároveň podporuje metastazování nádoru [32]. Naopak snížení exprese PD-L1 je zprostředkováno miR-513 [33]. Exprese PD-L1 je indukovaná IFN- γ (interferonem γ), který je produkován cytotoxickými T lymfocyty. IFN- γ uvolněný z aktivovaných T lymfocytů mohou využít nádorové buňky k indukci svého „nádorového“ PD-L1, jehož interakce s PD-1 receptorem na T lymfocytech přispívá k in-



Obr. 2. Mechanizmy regulace exprese PD-L1 v nádorových buňkách.

hibici imunitního systému. Na expresi PD-L1 indukované IFN- γ se podílí transkripční faktor IRF-1 (interferon regulatory factor 1), který se přímo váže na promotor PD-L1 (obr. 2) [34]. Expresi PD-L1 zvyšují také interleukiny signalizací prostřednictvím transkripčního faktoru STAT3 [35].

PD-1/PD-L1 a protinádorová terapie

V současné době jsou k dispozici monoklonální protilátky blokující receptor PD-1, ale i ligand PD-L1. První klinické experimenty byly zaměřeny na podání anti-PD-1 protilátek pacientům s metastatickým melanomem. První lék schválený pro klinické využití byl pembrolizumab. Jedná se vysoce selektivní humanizovanou IgG4-k protilátku proti receptoru PD-1 využívanou k léčbě pacientů s pokročilým melanomem. Kli-

nický přínos pembrolizumabu byl však zjištěn pouze u omezeného počtu léčených pacientů, navíc vyvolané autoimunitní nežádoucí účinky mohou být závažné až život ohrožující. Další IgG4 monoklonální protilátkou proti PD-1 je nivolumab. Byl schválený k léčbě pokročilého metastazujícího melanomu, renálního karcinomu a NSCLC, u kterého byl pozorován výrazný efekt monoterapie s překvapivě nízkými vedlejšími účinky [36]. V nejbližší době se očekává jeho rozšíření na další diagnózy.

Na ligand PD-L1 cílí protilátky atezolizumab, durvalumab a avelumab. Atezolizumab je testován k terapii uroteliálního karcinomu močového měchýře (urinary bladder cancer – UBC), kde celková míra léčebné odpovědi (overall response rate – ORR) dosahovala 50 % u pacientů s metastazujícím karcinomem [37]. Další

studie probíhají u pacientů s PD-L1 pozitivním lokálně pokročilým metastazujícím NSCLC. Durvalumab je humanizovaná protilátka procházející klinickými studiemi monoterapie u NSCLC, nádorů hlavy a krku a UBC, kde ORR dosáhly 46 % u PD-L1 pozitivních pacientů [38].

Další možností je kombinovaná léčba blokující současně dva kontrolní body PD-1 a CTLA-4 (cytotoxický T lymfocytární antigen 4). Inhibice CTLA-4 se projevuje převážně v časných stádiích aktivity T lymfocytů, inhibice PD-1 ovlivňuje T lymfocyty zejména v efektorové fázi. Rozdílnost v působení těchto protilátek naznačuje jejich komplementaritu a také výsledky kombinované léčby potvrdily její vyšší účinnost oproti monoterapii anti-CTLA-4 i anti-PD-1. Bohužel vyšší však byla i toxicita kombinované léčby [39].

Závěr

Identifikace kontrolních bodů imunitního systému a zároveň hlubší pochopení vztahu mezi nádorovou progresí a imunitním systémem přináší nové možnosti v léčbě nádorových onemocnění. Léčba založená na využití monoklonálních protilátek ke kontrolním bodům imunitní reakce představuje novou éru moderní imunoterapie. Vyřazení popsaných inhibičních molekul pomocí cílených protilátek napomáhá vyšší aktivitě imunitního systému, neboť blokádu PD-1/PD-L1 je podpořena efektorová složka imunity přímo v nádoru, kde napomáhá přemoci toleranci k nádorové tkáni.

Exprese „nádorového“ PD-L1 je vysoce heterogenní a vychází z různorodosti nádorového mikroprostředí. Inhibiční dráha PD-1/PD-L1 může k prolomení tolerance imunitního systému využít řadu mechanismů, proto se i strategie úniku nádorových buněk před imunitní reakcí liší a proto také dochází k odpovědi na imunoterapii bez ohledu na míru exprese ligandu PD-L1. PD-L1 je dynamický marker, jehož hladina se v čase mění v závislosti na rozvoji imunitní odpovědi a stále není jasné, zda se testování nádorových buněk na přítomnost PD-L1 bude moci přenést do klinické praxe [40]. Jedním z důležitých úkolů blízké budoucnosti je nalezení prediktivních a prognostických markerů, které by napomohly ohodnotit možnosti a sílu imunitního systému a vybrat populaci pacientů vhodných pro tuto léčbu.

Literatura

1. Šťastný M, Říhová B. Únikové strategie nádorů pozornosti imunitního systému. *Klin Onkol* 2015; 28 (Suppl 4): 4S28–4S37. doi: 10.14735/amko20154S28.
2. Melichar B, Nash MA, Lenzi R et al. Expression of costimulatory molecules CD80 and CD86 and their receptors CD28, CTLA-4 on malignant ascites CD3+ tumour-infiltrating lymphocytes (TIL) from patients with ovarian and other types of peritoneal carcinomatosis. *Clin Exp Immunol* 2000; 119(1): 19–27.
3. Barber DL, Wherry EJ, Masopust D et al. Restoring function in exhausted CD8 T cells during chronic viral infection. *Nature* 2006; 439(7077): 682–687.
4. Zhang X, Schwartz JC, Guo X et al. Structural and functional analysis of the costimulatory receptor programmed death-1. *Immunity* 2004; 20(3): 337–347.
5. Riley JL. PD-1 signaling in primary T-cells. *Immunol Rev* 2009; 229(1): 114–125. doi: 10.1111/j.1600065X.2009.00767.x.

6. Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ et al. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *J Annu Rev Immunol* 2008; 26: 677–704. doi: 10.1146/annurev.immunol.26.021607.090331.
7. Francisco LM, Salinas VH, Brown K et al. PD-L1 regulates the development, maintenance, and function of induced regulatory T cells. *J Exp Med* 2009; 206(13): 3015–3029. doi: 10.1084/jem.20090847.
8. Raimondi G, Shufesky WJ, Tokita DM et al. Regulated compartmentalization of programmed cell death-1 discriminates CD4+CD25+ rating regulatory T cells from activated T cells. *J Immunol* 2006; 176(5): 2808–2816.
9. Chemnitz JM, Parry RV, Nichols KE et al. SHP-1 and SHP-2 associate with immunoreceptor tyrosine-based switch motif of programmed death 1 upon primary human T cell stimulation, but only receptor ligation prevents T cell activation. *J Immunol* 2004; 173(2): 945–954.
10. Dong H, Zhu G, Tamada K et al. B7-H1 determines accumulation and deletion of intrahepatic CD8(+) T lymphocytes. *Immunity* 2004; 20(3): 327–336.
11. Chen L. Co-inhibitory molecules of the B7-CD28 family in the control of T-cell immunity. *Nat Rev Immunol* 2004; 4(5): 336–347.
12. Zou W, Chen L. Inhibitory B7-family molecules in the tumour microenvironment. *Nat Rev Immunol* 2008; 8(6): 467–477. doi: 10.1038/nri2326.
13. Butte MJ, Keir ME, Phamduy TB et al. Programmed death-1 ligand 1 interacts specifically with the B7-1 costimulatory molecule to inhibit T cell responses. *Immunity* 2007; 27(1): 111–122.
14. Yang J, Riella LV, Chock S et al. The novel costimulatory programmed death ligand 1/B7.1 pathway is functional in inhibiting alloimmune responses in vivo. *J Immunol* 2011; 187(3): 1113–1119. doi: 10.4049/jimmunol.1100056.
15. Xiao Y, Yu S, Zhu B et al. RGMb is a novel binding partner for PD-L2 and its engagement with PD-L2 promotes respiratory tolerance. *J Exp Med* 2014; 211(5): 943–959. doi: 10.1084/jem.20130790.
16. He J, Hu Y, Hu M et al. Development of PD-1/PD-L1 pathway in tumor immune microenvironment and treatment for non-small cell lung cancer. *Sci Rep* 2015; 5: 13110. doi: 10.1038/srep13110.
17. Dong H, Strome SE, Salomao DR et al. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nat Med* 2002; 8(8): 793–800.
18. Ansell SM, Lesokhin AM, Borrello I et al. PD-1 Blockade with nivolumab in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 2015; 372(4): 311–319. doi: 10.1056/NEJMoa1411087.
19. Curiel TJ, Wei S, Dong H et al. Blockade of B7-H1 improves myeloid dendritic cell-mediated antitumor immunity. *Nat Med* 2003; 9(5): 562–567.
20. Patsoukis N, Sari D, Boussiotis VA. PD-1 inhibits T cell proliferation by upregulating p27 and p15 and suppressing Cdc25A. *Cell Cycle* 2012; 11(23): 4305–4309. doi: 10.4161/cc.22135.
21. Staron MM, Gray SM, Marshall HD et al. The transcription factor FoxO1 sustains expression of the inhibitory receptor PD-1 and survival of antiviral CD8+ T cells during chronic infection. *Immunity* 2014; 41(5): 802–814. doi: 10.1016/j.immuni.2014.10.013.
22. 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. *Nat Commun* 2015; 6: 6692. doi: 10.1038/ncomms7692.
23. Amarnath S, Mangus CV, Wang JC et al. The PDL1-PD1 axis converts human TH1 cells into regulatory T cells. *Sci Transl Med* 2011; 3(111): 111ra120. doi: 10.1126/scitranslmed.3003130.
24. Wang W, Lau R, Yu D et al. PD1 blockade reverses the suppression of melanoma antigen-specific CTL by CD4+

- CD25(Hi) regulatory T cells. *Int Immunol* 2009; 21(9): 1065–1077. doi: 10.1093/intimm/dxp072.
25. Rosenblatt J, Glotzbecker B, Mills H et al. PD-1 blockade by CT-011, anti-PD-1 antibody, enhances ex vivo T-cell responses to autologous dendritic cell/myeloma fusion vaccine. *J Immunother* 2011; 34(5): 409–418. doi: 10.1097/CJI.0b013e31821ca6ce.
26. Jiang X, Zhou J, Giobbie-Hurder A et al. The activation of MAPK in melanoma cells resistant to BRAF inhibition promotes PD-L1 expression that is reversible by MEK and PI3K inhibition. *Clin Cancer Res* 2013; 19(3): 598–609. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-2731.
27. Akbay EA, Koyama S, Carretero J et al. Activation of the PD-1 pathway contributes to immune escape in EGFR-driven lung tumors. *Cancer Discov* 2013; 3(12): 1355–1363. doi: 10.1158/2159-8290.CD-13-0310.
28. Song M, Chen D, Lu B et al. PTEN loss increases PD-L1 protein expression and affects the correlation between PD-L1 expression and clinical parameters in colorectal cancer. *PLoS One* 2013; 8(6): e65821. doi: 10.1371/journal.pone.0065821.
29. Gong W, Song Q, Lu X et al. Paclitaxel induced B7-H1 expression in cancer cells via the MAPK pathway. *J Chemother* 2011; 23(5): 295–299.
30. Qin X, Liu C, Zhou Y et al. Cisplatin induces programmed death-1-ligand 1 (PD-L1) over-expression in hepatoma H22 cells via Erk/MAPK signaling pathway. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2010; 56 (Suppl): OL1366–OL1372.
31. Barsoum IB, Smallwood CA, Siemens DR et al. A mechanism of hypoxia-mediated escape from adaptive immunity in cancer cells. *Cancer Res* 2014; 74(3): 665–674. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-13-0992.
32. Chen L, Gibbons DL, Goswami S et al. Metastasis is regulated via microRNA-200/ZEB1 axis control of tumour cell PD-L1 expression and intratumoral immunosuppression. *Nat Commun* 2014; 5: 5241. doi: 10.1038/ncomms6241.
33. Gong AY, Zhou R, Hu G et al. Cryptosporidium parvum induces B7-H1 expression in cholangiocytes by down-regulating microRNA-513. *J Infect Dis* 2010; 201(1): 160–169. doi: 10.1086/648589.
34. Chinai JM, Janakiram M, Chen F et al. New immunotherapies targeting the PD-1 pathway. *Trends Pharmacol Sci* 2015; 36(9): 587–595. doi: 10.1016/j.tips.2015.06.005.
35. Wang WB, Yen ML, Liu KJ et al. Interleukin-25 mediates transcriptional control of PD-L1 via STAT3 in multipotent human mesenchymal stromal cells (hMSCs) to suppress Th17 responses. *Stem Cell Reports* 2015; 5(3): 392–404. doi: 10.1016/j.stemcr.2015.07.013.
36. Brahmer JR, Horn L, Gandhi L et al. Nivolumab (anti-PD-1, BMS-936558, ONO-4538) in patients (pts) with advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): survival and clinical activity by subgroup analysis. *J Clin Oncol* 2014; 32 (Suppl): abstr. 8112.
37. Powles T, Eder JP, Fine GD et al. MPDL3280A (anti-PD-L1) treatment leads to clinical activity in metastatic bladder cancer. *Nature* 2014; 515(7528): 558–562. doi: 10.1038/nature13904.
38. Massard C, Gordon MS, Sharma S et al. Safety and efficacy of durvalumab (MEDI4736), an anti-programmed cell death ligand-1 immune checkpoint inhibitor, in patients with advanced urothelial bladder cancer. *J Clin Oncol* 2016; 34(26): 3119–3129. doi: 10.1200/JCO.2016.67.9761.
39. Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzales R et al. Combined nivolumab and ipilimumab or monotherapy in untreated melanoma. *N Engl J Med* 2015; 373(1): 23–34. doi: 10.1056/NEJMoa1504030.
40. Teixidó C, Karachaliou N, González-Cao M et al. Assays for predicting and monitoring responses to lung cancer immunotherapy. *Cancer Biol Med* 2015; 12(2): 87–95. doi: 10.7497/j.issn.2095-3941.2015.0019.