

免疫检查点蛋白质PD-1的信号转导 通路与肿瘤免疫治疗

陈洁¹ 丁倩¹ 陈枢青² 詹金彪^{1*}

(¹浙江大学医学院生物化学系, 杭州 310058; ²浙江大学药学院, 杭州 310058)

摘要 程序性死亡受体-1(programmed death-1, PD-1)是B7-CD28(B7 family-cluster of differentiation 28)家族最新发现的成员, 其在肿瘤免疫逃逸和免疫耐受中发挥着重要的作用。PD-1作为抑制性受体, 在T细胞的信号转导中发挥着关键性作用, 能够通过阻断与PD-1/程序性死亡受体-1配体-1(programmed death-1 ligand-1, PD-L1)信号通路, 能够促进T淋巴细胞的增殖和分化, 从而激活抗肿瘤免疫反应。而作为PD-1配体的PD-L2, 除了在肿瘤免疫中发挥作用外, 还在哮喘、过敏反应等方面起着重要作用。该文就PD-1、PD-Ls与PD-1/PD-Ls信号通路以及PD-1抗体在肿瘤免疫治疗中的应用作一综述。

关键词 PD-1; PD-L1; 信号转导通路; 抗体药物; 肿瘤免疫治疗

Signaling Pathways of Immune Checkpoint Protein PD-1 and Cancer Immunotherapy

Chen Jie¹, Ding Qian¹, Chen Shuqing², Zhan Jinbiao^{1*}

(¹Department of Biochemistry, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China;

²College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract PD-1 (programmed death-1) belongs to B7-CD28 (B7 family-cluster of differentiation 28) dependent Ig-like family. As a suppressive receptor, PD-1 plays pivotal roles in signal transduction of T cells. The blockage of the signaling between PD-1 and its ligand PD-L1(programmed death-1 ligand-1) will promote the T cells proliferation and differentiation and consequently activate immune responses against tumor cells. Binding to its another ligand PD-L2, PD-1 not only plays a key role in tumor immunity, but also plays important roles in asthma, allergic reaction and so on. This review focused on the signaling pathways of PD-1 and its ligands, as well as antibody inhibitors and the clinical application in cancer immunotherapy.

Keywords PD-1; PD-L1; signaling pathway; antibody drugs; tumor immunotherapy

T淋巴细胞在人体免疫系统中发挥着重要的作用。T淋巴细胞的激活需要两种信号, 第一种也是最主要的信号, 即T淋巴细胞上的T细胞抗原受体(T cell receptor, TCR)识别主要组织相容性复

合体(major histocompatibility complex, MHC)-抗原肽复合物。第二种信号即为辅助信号, 则需要抗原呈递细胞(antigen presenting cell, APC)上的共刺激分子的帮助。若没有辅助信号, 则会导致T

收稿日期: 2016-05-17 接受日期: 2016-08-17

国家自然科学基金(批准号: 81430081)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0571-88208273, E-mail: jzhan2k@zju.edu.cn

Received: May 17, 2016 Accepted: August 17, 2016

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81430081)

*Corresponding author. Tel: +86-571-88208273, E-mail: jzhan2k@zju.edu.cn

网络出版时间: 2016-11-15 14:57:31

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20161115.1457.014.html>

淋巴细胞无反应或特异性反应耐受^[1]。这些正性共刺激分子和负性共刺激分子之间的动态平衡对于机体抵抗外来抗原的入侵具有重要的作用。共刺激分子分为两个超家族,分别为免疫球蛋白超家族和肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)超家族。B7家族(B7 family)属于免疫球蛋白超家族,是最先被发现在T细胞的活化过程中起着重要作用的一类共刺激分子。B7家族既有B7-CD28(cluster of differentiation 28)等的正向调控,又有B7-CTLA4(cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4)和PD-1/PD-Ls的负向调控。而PD-1信号通路是B7-CD28家族最新发现的,能保持机体的自体耐受性和T细胞的动态平衡^[2]。

1 PD-1结构

PD-1最初是通过削减杂交技术从凋亡小鼠杂交瘤中分离获得的,因此命名为PD-1(programmed death-1)^[3]。PD-1又称CD279,是CD28和CTLA4免疫球蛋白超家族中的一员,能与PD-L1(programmed death-1 ligand-1)和PD-L2相互作用,从而发挥免疫抑制作用^[4]。PD-1蛋白质主要表达在T/B淋巴细胞、自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)、单核细胞、树突状细胞(dendritic cell, DC)等,但其不在静止T细胞中表达^[5]。PD-1蛋白质是编码288个氨基酸的I型跨膜蛋白,而人PD-1基因定位于染色体2q37.3,其与CTLA4、CD28具有21%~33%的同源性,且与鼠PD-1基因具有60%的同源性。PD-1分子胞外区具有一个IgV样结构域,还有四个糖基化位点,并可被高度糖基化,在PD-1发挥抑制作用的过程中起着关键作用^[6]。PD-1的胞质区尾部具有两个酪氨酸残基,靠近N-端的酪氨酸残基与周围氨基酸共同组成了免疫受体酪氨酸抑制模体(immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif, ITIM),靠近C-端酪氨酸残基与周围其他序列共同组成了免疫受体酪氨酸转换模体(immunoreceptor tyrosine-based switch motif, ITSM)。ITSM的磷酸化对PD-1发挥免疫抑制作用起着关键作用。PD-1分子与其他B7家族的成员不同,它没有MYPPPY或FDPPPF序列,在胞外区也缺乏半胱氨酸残基,因此可以单体形式存在^[7]。

2 PD-L1和PD-L2的结构

PD-L1(又被称为B7-H1, CD274)和PD-L2(又被称

为B7-DC, CD273)是PD-1的两个配体,它们位于染色体9p24.2,起始于同一方向,两者只相隔42 kDa,同属于B7超家族^[6]。PD-L1是一个编码290个氨基酸的I型跨膜蛋白,PD-L2分子是一个编码247个氨基酸的跨膜蛋白,两者都具有IgV样结构域、IgC样结构域、胞外区和胞质区尾部。而人的PD-L1基因与鼠的PD-L1基因具有69%的同源性,人PD-L2基因与鼠PD-L2基因也具有69%的同源性。且PD-L1和PD-L2在核苷酸水平有37.4%的同源性,在氨基酸水平上具有34%的一致性和48%的同源性,且PD-L1和PD-L2与其他B7超家族成员B7-1、B7-2和ICOS-L(inducible costimulatory molecule ligand)也有20%~27%的一致性^[8-10]。

3 PD-L1和PD-L2的表达模式

PD-L1的表达谱较广,其不仅能够表达在T细胞、B细胞、树突状细胞和单核细胞中表达,也能在胸腺组织中高表达,而在脾和淋巴结中表达量较少^[11-12]。此外,PD-L1也能在胎盘、心、肝、肺等组织中表达。而PD-L2蛋白质的表达谱相对较窄,其能在成熟或不成熟的树突状细胞、脾和淋巴结中表达。但在体内微环境中,PD-L2可被诱导表达,如白介素-4(interleukin-4, IL-4)、干扰素(interferon, IFN)等可诱导增加PD-L2的表达。在人脐静脉内皮细胞中发现,IFN γ 和TNF α 也可提高PD-L2的表达^[13]。在肝癌细胞中,通过TRIF/NF- κ B(TIR-domain-containing adaptor inducing interferon- β /nuclear transcription factor- κ B)和JAK/STAT3(Janus kinase/signal transducer and activator of transcription 3)信号通路可以增加PD-L2的表达,从而抑制TNF α (tumor necrosis factor α)和IFN γ 的生成^[14]。此外,NF- κ B和STAT6信号通路能够调控PD-L2的表达^[13]。研究发现,STAT6敲除小鼠中,PD-L2不能表达,而NF- κ B敲除小鼠中,并不能完全抑制PD-L2的表达^[15-16]。由此可推测,STAT6在调控PD-L2表达方面发挥至关重要的作用。而STAT6在调控Th2细胞免疫反应方面也发挥着重要的作用,并且其可被IL-2和IL-13激活。最近还发现,TSLP(thymic stromal lymphopoietin)和IL-27也可激活STAT6。而Th1的细胞因子、TLR(toll like receptor)配体等都会激活NF- κ B信号,从而促进PD-L2表达。研究发现,PD-L2比PD-L1更易于与PD-1结合,其亲和力和力是PD-L1的2~6倍。在Th2细胞中PD-L2是高表达的,而在其他细胞中,PD-L2通常处于低表达水平,

便于PD-L1与PD-1结合^[13]。

4 PD-1/PD-L1信号通路

PD-1/PD-L1信号通路的转导, 不仅需要PD-1与其配体PD-L1的结合, 还需要MHC-抗原肽复合物与T细胞表面的TCR相互作用。当两者都达到最佳状态时, 就会导致PD-1胞质区的酪氨酸磷酸化, 从而募集被SHP-2(SH2 domain-containing protein-tyrosine phosphatase-2)激酶活化的SHP-2到PD-1 C-端的ITSM模体的酪氨酸上, 然后SHP-2使TCR相关的CD-3 ζ 和ZAP70(zeta-chain-associated protein kinase 70)去磷酸化从而抑制下游信号通路, 使细胞阻滞在G₀/G₁期, T细胞生长被抑制, 阻滞其分化为浆细胞, 不能发挥免疫调控作用^[12,17]。PD-1信号通路使T细胞被阻滞在G₀/G₁期, 但其并不直接抑制G₁细胞周期蛋白和细胞周期蛋白依赖的蛋白激酶(cyclin-dependent kinase, Cdk)的表达, 而是通过增加Cdk抑制剂p27^{kip1}和p15^{INK4B}来发挥抑制作用^[2]。此外, PD-1信号通路也会抑制PI3K信号通路, 导致糖代谢被抑制, IL-2的分泌被抑制, 而下调IL-2的分泌将会导致CD4⁺-T细胞和CD8⁺-T细胞无反应性^[17-18]。PD-1信号通路也能影响Ras/MEK/ERK(rat sarcoma/kinase of ERK/extracellular regulated protein kinases)信号通路。PD-1对于MER/ERK/MAPK(kinase of ERK/extracellular regulated protein kinases/mitogen-activated protein kinase)激酶的作用时具有选择性的, 因为PD-1配体不能抑制JNK和p38激酶^[19]。通过抑制AKT(protein kinase B)的激活, PD-1能够促进Foxp3(forkhead box protein P3)的表达, 通过抑制Cdk2, PD-1能够提高TGF- β 调控的Smad3(mother against decapentapeptide homolog 3)的转录激活, 从而促进Foxp3的转录激活。此外, 通过抑制FAO(fatty acid β -oxidation), PD-1能够特异性激活某种代谢, 从而促进调节性T细胞(regulatory T cells, Treg)的生成, 同时也会抑制Th1和Th17细胞的生成^[19]。PD-1信号通路在肿瘤和宿主免疫反应之间发挥着重要的作用, 并且肿瘤细胞上表达的PD-L1与T淋巴细胞上表达的PD-1结合后, 可起到免疫抑制作用, 可作为宿主适应性免疫反应的一种机制^[20]。因此当阻断PD-1/PD-L1信号通路后, 解除了T淋巴细胞的免疫抑制作用, 从而发挥对肿瘤细胞的杀伤作用^[20-21]。临床研究发现, 阻断PD-1/PD-L1信号通路或阻断CTLA-4后,

能提高宿主的免疫反应, 这对于临床用药具有重要的指导意义^[22]。PD-1/PD-L1信号转导通路见图1。

5 PD-L2信号通路

PD-L2与PD-1结合后, 将会导致下游信号PI3K(phosphatidylinositol 3-kinase)/AKT的下调, 同时也会使Bcl-xL(B-cell lymphoma-extra large)下调, 与表达和转录相关的因子如GATA-3(GATA binding protein-3)、Eomes(eomesodermin)也会随之下调。这些下游信号的传递与PD-L1与PD-1结合引起的信号转导过程相似, 但值得注意的是, PD-1可能并不是PD-L2的唯一受体。已有报导, 在正常和PD-1缺失的小鼠模型中, PD-L2突变体在T细胞中仍能发挥其功能, 因此从中可推测PD-L2可能还与其他受体结合, 参与另外的信号通路^[13]。此外, 研究发现, PD-L1和PD-L2在调控T细胞在呼吸道高敏感性方面发挥着重要的作用, 但两者的作用相反。PD-L2高表达会导致呼吸道高反应性(airway hyper reactivity, AHR)和肺部炎症增加。在PD-L1缺失的小鼠中哮喘程度降低, 而PD-L2缺失的小鼠中, 则与之相反^[23]。PD-L2在非T细胞中表达, 其与呼吸道耐受密切相关, 阻断RGMb(repulsive guidance molecule b)-PD-L2信号通路, 能显著降低呼吸道耐受性^[24]。而RGMb是RGM家族成员之一, 它包含RGMa、RGMb、RGMc/hemojuvelin。RGMb主要在神经系统中表达和发挥作用^[25]。PD-L2与RGMb和PD-1的亲合力相似, 其解离速率常数分别为48.5 nmol/L和58.8 nmol/L。当RGMb与BMP2/4(bone morphogenetic protein2/4)作用后, 会与I型BMP受体作用, 然后募集II型BMP受体, II型BMP受体不仅使I型BMP受体磷酸化, 其也会使Smad1/5/9和MAKP和ERK磷酸化。此外, RGMb也会与再生蛋白(neogenin)相互作用, 从而下调下游信号, 如Rho。而在其中PD-L2作为复合物的一部分, 也调控该信号通路。PD-1不能直接与BMP2/4作用, 但其能与GRMb相互作用。PD-L2在肺免疫调节中发挥着重要的作用, 而RGMb也主要表达在肺中, 当使用PD-1抗体阻断后, PD-L2能与RGMb相互作用, 所以使用PD-1抗体后, 可以出现肺炎的不良反^[24]。RGMb/PD-L2信号转导通路见图2。

6 PD-1的肿瘤抗体

PD-1/PD-L1信号通路 with 肿瘤免疫逃逸机制密

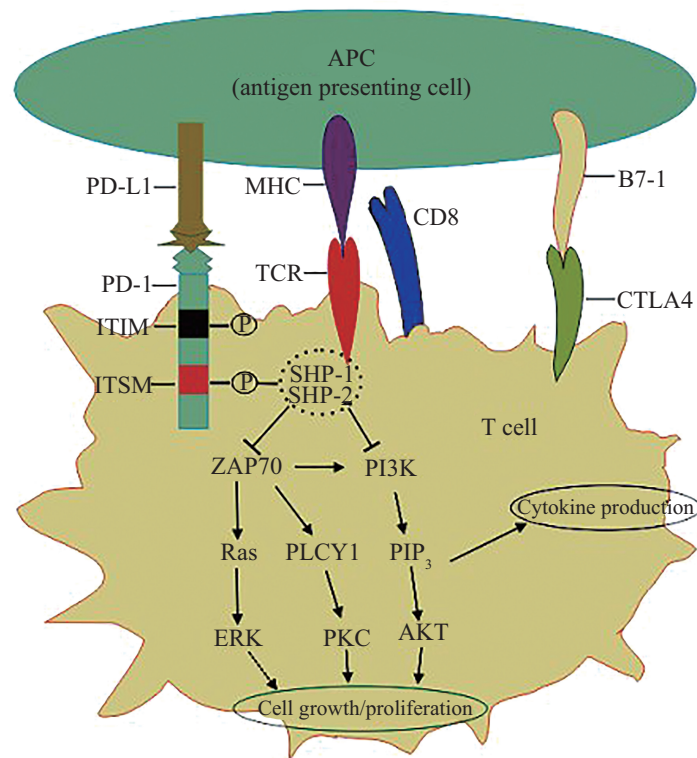


图1 PD-1/PD-L1信号通路

Fig.1 PD-1/PD-L1 signaling pathway

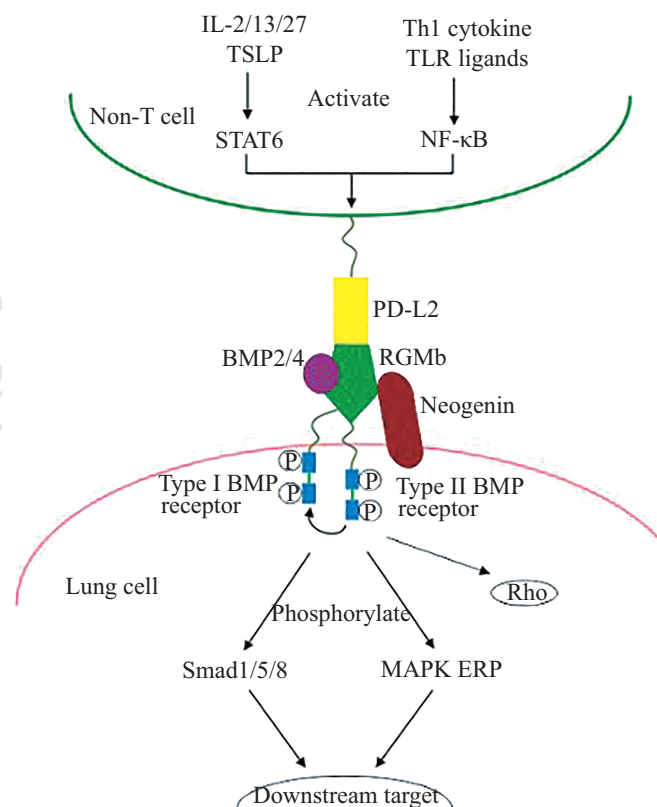


图2 RGMb/PD-L2信号通路

Fig.2 RGMb/PD-L2 signaling pathway

表1 FDA批准或进入临床的PD-1抗体

Table 1 The PD-1 antibody approved by FDA or in the clincial trials

名称 Name	靶点 Target	抗体类型 Type	临床试验阶段适应症 Indications	临床试验阶段 The phase of clincial trials	研发机构 Enterprises
Opdivo (nivolumab)	PD-1	Fully human IgG4	Melanoma	Approved by FDA	BMS
Keytruda (pembrolizumab)	PD-1	Humanized IgG4	Melanoma, non-small cell lung cancer	Approved by FDA	Merck
Pidilizumab	PD-1	Humanized IgG1	Follicular lymphom, diffuse large B-cell lymphoma	Phase II	CureTech
JS001	PD-1	Recombinant humanized antibody	Melanoma	Phase I	Shanghai Junshi biosciences Co. Ltd
SHR-1210	PD-1	Recombinant humanized antibody	Solid tumors	Phase I	Jiangsu Hengrui medicine Co. Ltd
BGB-A317	PD-1	Fully human	Solid tumors	Phase I	BeiGene

BMS: 百时美施贵宝。
BMS: Bristol-Myers Squibb.

切相关。肿瘤细胞通过表达PD-L1与T细胞上的PD-1蛋白质相互作用, 抑制T细胞的功能, 从而逃脱人体免疫, 因而PD-1已成为研究肿瘤免疫治疗的新靶点^[26]。通过设计针对PD-1的单克隆抗体, 阻断肿瘤细胞分泌的PD-L1与T细胞PD-1结合, 从而解除T细胞被抑制的作用, 促进T细胞分化为浆细胞, 发挥其免疫调控作用。这类免疫检查点抗体药物的研发, 已经成为全球生物制药领域的热点^[27]。目前, 已有两个PD-1抗体获得FDA(Food and Drug Administration)的批准上市, 有多个抗PD-1抗体获准进入临床试验, 包括中国厂家的三种, 具体见表1。相较于其他的治疗方法, 抗体药物通常特异性好副作用小, 具有明显的优势, 其治疗有效率在17%~28%之间^[28]。而之前干扰素和IL-2也被用于治疗肿瘤, 但由于其高毒性和低反应率而限制了它的应用^[29-30]。

6.1 Opdivo(Nivolumab)

Nivolumab是人源化的抗PD-1 IgG4单克隆抗体, 对PD-1具有高亲和力和特异性^[31]。相关研究发现, 在0.3~3 mg/kg的剂量下, Nivolumab的血浆半衰期为12 d; 而在10 mg/kg的剂量下, 其血浆半衰期为20 d^[32], 并且病人的年龄、性别、种族等不影响其半衰期^[30]。在体内T细胞中, 假设有2.6 nmol/L的PD-1, 则加入0.04 μg/L的Nivolumab后, 约有70%的Nivolimab能与PD-1结合; 若每2周静脉注射Nivolimab, 持续4周, 结果发现, PD-1与Nivolumab的结合率为64%~70%, 并且在3个月内, Nivolumab能够持续与PD-1结合; 此外, 血液中多余的Nivolumab可通过网状内皮系统被酶

非特异性分解^[32]。

临床I期研究发现, 在107位受试者中, 其对Nivolumab的响应率为33%, 出现不良反应为84.1%, 主要为疲劳(31.8%)、皮疹(23.4%)、腹泻(17.8%)、瘙痒(13.1%)和呕吐(8.4%), 而仅有5人出现严重不良反应, 而这5位病人都具有潜在的免疫学病因, 其中有3人死于治疗相关性的免疫学肺炎^[30]。此外, 其他研究也发现, Nivolumab在黑色素瘤、肾癌和非小细胞肺癌中具有相似的客观缓解率^[29]。在已经报导的临床III期试验中, 对于那些不可切除肿瘤(如黑色素瘤), 并且没有*BRAF*(B-Raf proto-oncogene)基因突变的210位受试者, 其对Nivolumab的响应率为84%。此外, 该研究还发现, 在268位受试者中使用Nivolumab治疗(3 mg/kg, 2周)其响应率为32%, 而102位患者采用化疗方法来治疗, 其响应率仅为11%, 并且Nivolumab其不良反应仅为9%, 而化疗为31%^[30]。由此可见, 抗PD-1抗体与传统治疗相比具有较大的优势, 它具有更强的特异性, 对肿瘤治疗效果更好。在2012年的美国临床肿瘤学年会(American society of clinical oncology, ASCO)中, 有报告指出, Nivolumab的客观缓解率在30%~50%, 并且在大部分患者中具有长期的效应^[33]。Nivolumab已于2014年12月22日由FDA批准上市, 主要适应症为黑色素瘤。

6.2 Keytruda(Pembrolizumab)

Keytruda(Pembrolizumab)又被称为MK3475, 是一种具有高选择性、高亲和力的人源化的IgG4

抗PD-1单克隆抗体。其在C228P处具有突变, 这是为了防止Fc介导的抗体依赖的细胞毒性(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)^[34-35]。不管受试者之前有没有使用过Ipilimumab治疗, 其使用Pembrolizumab治疗的效果相似, 分别为38%和37%, 且其反应具有一定的可持续性。临床I期研究发现, 10 mg/kg的剂量, 时间间隔为2周, 其治疗效果最佳, 患者响应率为52%。但有意思的是, 其产生的不良反应的比例更高, 91%的病人具有不良反应, 其中23%出现严重不良反应。即其不良反应与使用Pembrolizumab的剂量和间隔时间有关, 剂量越大, 使用越频繁, 其发生不良反应的比例越高^[30,35]。临床III期试验发现, 使用10 mg/kg的剂量治疗无Ipilimumab治疗史的患者, 结果发现, 其死亡或癌症复发的风险相较于用Ipilimumab治疗减少41%, 且其无进展生存期(progression-free-survival, PFS)是Ipilimumab治疗的两倍^[36]。此外, 研究还发现, 用Pembrolizumab治疗后, 其肿瘤缩小72%^[37]。在2014年美国肿瘤学会年度会议上, 曾有报告指出, Pembrolizumab的总体响应率为41%, 完全反应率为9%^[29]。Pembrolizumab已于2014年9月4日在美国批准上市, 主要用于治疗黑色素瘤。

6.3 Pidilizumab

Pidilizumab又称CT-011, 是人源化的IgG1单克隆抗体。Pidilizumab能够阻断PD-1/PD-Ls信号通路, 增加记忆T淋巴细胞数量, 发挥免疫反应^[38]。在临床I期的血液肿瘤(包括多发性骨髓瘤)患者中发现Pidilizumab具有较高的安全性和耐受性, 其客观缓解率为33%, 并且Pidilizumab能够增加NK细胞通过CXCR4/SDF-1 α 途径向多发性骨髓瘤转移, 从而发挥NK细胞的杀伤作用^[39]。在研究中还发现, 其不良反应为67%, 主要是腹泻, 且与CT-011的毒性作用无关^[40]。

6.4 Ipilimumab和Nivolumab的联合治疗

Ipilimumab是一种单克隆抗体, 能有效阻断CTLA-4。CTLA-4分子能够影响免疫系统, 削弱其杀伤肿瘤细胞的能力。Ipilimumab与Nivolumab联合治疗肿瘤是一种新的尝试, 取得了较好的效果。相关研究发现, Nivolumab使用剂量为1 mg/kg, Ipilimumab使用剂量为3 mg/kg的联合治疗组中, 其客观缓解率为53%, 其中有3人对药物具有完全反应, 且其肿瘤减小了80%甚至更多。但是联合治疗

的不良反应也比Nivolumab单独治疗要大, 联合治疗的不良反应率53%, 而Ipilimumab单独治疗则为20%, Nivolumab单独治疗则为15%。由此看出联合治疗虽治疗效果好, 但副作用大^[41]。此外, 在PD-L1阳性的肿瘤患者中, 联合治疗和Nivolumab单独治疗的无进展生存期均为14个月, 联合治疗的客观缓解率为72.2%, Nivolumab则为57.5%; 而在PD-L1阴性肿瘤患者中联合治疗的无进展生存期分别为5.3个月, 客观缓解率为54.6%, 而Nivolumab单独治疗的无进展期则为11.2个月, 客观缓解率为41.3%^[42]。由此可见, 联合治疗的效果要比Nivolumab单独治疗要好。

以上数据表明, 抗PD-1抗体具有较好的临床应用价值, 其能够特异性地阻断PD-1/PD-Ls信号通路, 从而使得T淋巴细胞能够分化为浆细胞, 发挥免疫效应, 特异性杀伤肿瘤细胞。虽说抗PD-1抗体也会产生药物不良反应, 但多数情况下都比较轻微, 如腹泻、恶心、呕吐等, 很少会出现严重的或者危及生命的不良反应。所以, 抗PD-1抗体具有良好的临床应用前景。

7 结语与展望

PD-1相关信号通路作为调节T淋巴细胞增殖分化的重要抑制性的信号通路, 不仅在维持自身免疫耐受中发挥着重要的作用, 而且在肿瘤的免疫逃逸机制中也起着关键作用。针对抗PD-1抗体药物具有特异性好和毒副作用小的特性, 在临床肿瘤治疗中取得显著效果, 已成为肿瘤治疗的一大利器。目前针对癌症的治疗方法主要是手术和化疗两种方法, 但这两种方法都存在着术后复发、高副反应性等问题。而抗体免疫疗法具有特异性好和毒副作用小等特点, 成为继手术切除和化疗后又一新的肿瘤疗法, 取得了显著的临床效果。抗体药物的研发已经成为全球生物制药领域的热点。我们期待, 针对PD-1/PD-Ls信号通路的免疫治疗药物及细胞治疗方法的研究可以取得更多突破性的进展, 为肿瘤病人带来更大的福音。

参考文献 (References)

- 1 Schwartz RH. A cell culture model for T lymphocyte clonal anergy. *Science* 1990; 248(4961): 1349-56.
- 2 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): 4305-9.
- 3 Ishida Y, Agata Y, Shibahara K, Honjo T. Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. *EMBO J* 1992; 11(11): 3887-95.
- 4 Fife BT, Pauken KE, Eagar TN, Obu T, Wu J, Tang Q, *et al.* Interactions between PD-1 and PD-L1 promote tolerance by blocking the TCR-induced stop signal. *Nat Immunol* 2009; 10(11): 1185-92.
- 5 Duraiswamy J, Freeman GJ, Coukos G. Therapeutic PD-1 pathway blockade augments with other modalities of immunotherapy T-cell function to prevent immune decline in ovarian cancer. *Cancer Res* 2013; 73(23): 6900-12.
- 6 Shinohara T, Taniwaki M, Ishida Y, Kawaichi M, Honio T. Structure and chromosomal localization of the human PD-1 gene (PDCD1). *Genomics* 1994; 23(3): 704-6.
- 7 郭国宁, 谢淳怡, 陈永文. 共抑制分子PD-1的研究进展. 免疫学杂志 (Guo Guoning, Xie Zhunyi, Chen Yongyi. Research development of co-suppression molecular of PD-1. *Journal of Immunology*) 2010; 7: 639-42.
- 8 Tseng SY, Otsuji M, Gorsaki K, Huang X, Slansky JE, Pai Si, *et al.* B7-DC, a new dendritic cell molecule with potent costimulatory properties for T cells. *J Exp Med* 2001; 193(7): 839-45.
- 9 Latchman Y, Wood CR, Chernova T, Chaudhary D, Borde M, Chernova I, *et al.* PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation. *Nat Immunol* 2001; 2(3): 261-8.
- 10 Bennett F, Luxenberg D, Ling V, Wang IM, Marquette K, Lowe D, *et al.* Program death-1 engagement upon TCR activation has distinct effects on costimulation and cytokine-driven proliferation: Attenuation of ICOS, IL-4, and IL-21, but not CD28, IL-7, and IL-15 responses. *J Immunol* 2003; 170(2): 711-8.
- 11 Zou W, Wolchok JD, Chen L. PD-L1 (B7-H1) and PD-1 pathway blockade for cancer therapy: Mechanisms, response biomarkers, and combinations. *Sci Transl Med* 2016; 8(328): 328rv4.
- 12 Maine CJ, Aziz NH, Chatterjee J, Hayford C, Brewiq L, Whilding L, *et al.* Programmed death ligand-1 over-expression correlates with malignancy and contributes to immune regulation in ovarian cancer. *Cancer Immunol Immunother* 2014; 63(3): 215-24.
- 13 Rozali EN, Hato SV, Robinson BW, Lake RA, Lesterhuis WJ. Programmed death ligand 2 in cancer-induced immune suppression. *Clin Dev Immunol* 2012; 2012: 656340.
- 14 Xu P, Sun Z, Wang Y, Miao C. Long-term use of indomethacin leads to poor prognoses through promoting the expression of PD-1 and PD-L2 via TRIF/NF- κ B pathway and JAK/STAT3 pathway to inhibit TNF- α and IFN- γ in hepatocellular carcinoma. *Exp Cell Res* 2015; 337(1): 53-60.
- 15 Loke P, Allison J P. PD-L1 and PD-L2 are differentially regulated by Th1 and Th2 cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100(9): 5336-41.
- 16 Liang SC, Latchman YE, Buhlmann JE, Tomczak MF, Horwitz BH, Freeman GJ, *et al.* Regulation of PD-1, PD-L1, and PD-L2 expression during normal and autoimmune responses. *Eur J Immunol* 2003; 33(10): 2706-16.
- 17 Dai S, Jia R, Zhang X, Fang Q, Huang L. The PD-1/PD-Ls pathway and autoimmune diseases. *Cell Immunol* 2014; 290(1): 72-9.
- 18 Noh H, Hu J, Wang X, Xia X, Satelli A, Li S. Immune checkpoint regulator PD-L1 expression on tumor cells by contacting CD11b positive bone marrow derived stromal cells. *Cell Commun Signal* 2014; 13(1): 1-12.
- 19 Boussiotis VA, Chatterjee P, Li L. Biochemical signaling of PD-1 on T cells and its functional implications. *Cancer J* 2014; 20(4): 265.
- 20 McDermott DF, Atkins MB. PD-1 as a potential target in cancer therapy. *Cancer Med* 2013; 2(5): 662-73.
- 21 Ahmadzadeh M. Tumor antigen-specific CD8 T cells infiltrating the tumor express high levels of PD-1 and are functionally impaired. *Blood* 2009; 114(1): 1537-44.
- 22 Curran MA, Montalvo W, Yagita H, Allison JP. PD-1 and CTLA-4 combination blockade expands infiltrating T cells and reduces regulatory T and myeloid cells within B16 melanoma tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(9): 4275-80.
- 23 Singh AK, Stock P, Akbari O. Role of PD-L1 and PD-L2 in allergic diseases and asthma. *Allergy* 2011; 66(2): 155-62.
- 24 Xiao Y, Yu S, Zhu B, Bedoret D, Bu X, Francisco LM, *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): 943-59.
- 25 Severyn CJ, Shinde U, Rotwein P. Molecular biology, genetics and biochemistry of the repulsive guidance molecule family. *Biochem J* 2009; 422(3): 393-403.
- 26 Liu W, Tong Z. Evaluation of immune restoration potential of PD-1 blockers. *J Immunoassay Immunochem* 2015; 36(6): 1-6.
- 27 Ott PA, Hodi FS, Robert C. CTLA-4 and PD-1/PD-L1 blockade: New immunotherapeutic modalities with durable clinical benefit in melanoma patients. *Clin Cancer Res* 2013; 19(19): 5300-9.
- 28 Ostrand-Rosenberg S, Horn LA, Haile ST. The programmed death-1 immune-suppressive pathway: Barrier to antitumor immunity. *J Immunol* 2014; 193(8): 3835-41.
- 29 Mahoney KM, Freeman GJ, McDermott DF. The next immune-checkpoint inhibitors: PD-1/PD-L1 blockade in melanoma. *Clin Ther* 2015; 37(4): 764-82.
- 30 Ivashko IN, Kolesar JM. Pembrolizumab and nivolumab: PD-1 inhibitors for advanced melanoma. *Am J Health-Syst Pharm* 2016; 73(4): 193-201.
- 31 Gettinger SN, Horn L, Gandhi L, Spigel DR, Antonia SJ, Rizvi NA, *et al.* Overall survival and long-term safety of nivolumab (anti-programmed death 1 antibody, BMS-936558, ONO-4538) in patients with previously treated advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2015; 33(18): 2004-12.
- 32 Keating GM. Nivolumab: A review in advanced squamous non-small cell lung cancer. *Drugs* 2015; 75(16): 1925-34.
- 33 Robert C, Soria JC, Eggermont AM. Drug of the year: Programmed death-1 receptor/programmed death-1 ligand-1 receptor monoclonal antibodies. *Eur J cancer* 2013; 49(14): 2968-71.
- 34 Lu J, Lee-Gabel L, Nadeau MC, Ferencz TM, Soefie SA. Clinical evaluation of compounds targeting PD-1/PD-L1 pathway for cancer immunotherapy. *J Oncol Pharm Pract* 2015; 21(6): 451-67.
- 35 Hamid O, Robert C, Daud A, Hodi FS, Hwu WJ, Kefford R, *et al.* Safety and tumor responses with lambrolizumab (anti-PD-1) in melanoma. *N Engl J Med* 2013; 369(2): 134-44.
- 36 Deeks ED. Pembrolizumab: A review in advanced melanoma. *Drugs* 2016; 76(3): 1-12.

- 37 Gangadhar TC, Salama AK. Clinical applications of PD-1-based therapy: A focus on pembrolizumab (MK-3475) in the management of melanoma and other tumor types. *Onco Targets Ther* 2015; 8: 929-37.
- 38 Rosenblatt J, Glotzbecker B, Mills H, Vasir B, Tzachanis D, Levine JD, *et al.* PD-1 blockade by CT-011, anti PD-1 antibody, enhances *ex-vivo* T cell responses to autologous dendritic/myeloma fusion vaccine. *J Immunother* 2011; 34(5): 409-18.
- 39 Benson DM Jr, Bakan CE, Mishra A, Hofmeister CC, Efebera Y, Becknell B, *et al.* The PD-1/PD-L1 axis modulates the natural killer cell versus multiple myeloma effect: A therapeutic target for CT-011, a novel monoclonal anti-PD-1 antibody. *Blood* 2010; 116(13): 2286-94.
- 40 Berger R, Rotem-Yehudar R, Slama G, Landes S, Kneller A, Leiba M, *et al.* Phase I safety and pharmacokinetic study of CT-011, a humanized antibody interacting with PD-1, in patients with advanced hematologic malignancies. *Clin Cancer Res* 2008; 14(10): 3044-51.
- 41 Wolchok JD, Harriet K, Callahan MK, Postow MA, Rizvi NA, Lesokhin AM, *et al.* Nivolumab plus ipilimumab in advanced melanoma. *N Engl J Med* 2013; 369(2): 122-33.
- 42 Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Grob JJ, Cowey CL, Lao CD, *et al.* Combined nivolumab and ipilimumab or monotherapy in untreated melanoma. *N Engl J Med* 2015; 2015(373): 23-34.