

免疫检查点抑制剂相关性心肌炎的发生机制及表现研究进展

薛楠, 李晓江

(国家癌症中心/国家肿瘤临床医学研究中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院, 北京 100021)

摘要:免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors, ICI)是一种抗体,包括细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白-4(CTLA-4)、程序性细胞死亡蛋白-1(PD-1)和PD-1配体(PD-L1)。ICI可以改善各种晚期癌症的临床预后,但随着临床运用的增加也会出现免疫相关不良反应,例如在心脏不良反应中,心肌炎的发病率虽低,但致死性较高,应该引起临床医生的注意。该文结合ICI的近期研究结果对ICI相关性心肌炎的发生机制及临床表现等方面进行综述。

关键词:免疫检查点抑制剂;心肌炎;心脏不良反应

中图分类号:R256.2 文献标识码:A 文章编号:1004-0242(2021)07-0545-07

doi:10.11735/j.issn.1004-0242.2021.07.A011

Mechanism of Immune Checkpoint Inhibitor-associated Myocarditis and Its Clinical Manifestation

XUE Nan, LI Xiao-jiang

(National Cancer Center / National Clinical Research Center for Cancer / Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100021, China)

Abstract: Immune checkpoint inhibitors(ICI), including antibodies to cytotoxic T lymphocyte associated protein-4(CTLA 4), programmed cell death protein 1(PD-1) and PD-1 ligand(PD-L1), have improved the clinical outcomes of some advanced cancers. With the increased clinical use of ICIs, the incidence of cardiac adverse reactions have been reported, among which, special attention should be given to ICI-related myocarditis. The incidence of myocarditis during the ICI therapy is low, but the fatality is high. Based on the latest literatures, in this article, the mechanism and clinical manifestation of ICI-related myocarditis are reviewed.

Key words: immune checkpoint inhibitor; myocarditis; adverse cardiac reaction

近年来,肿瘤免疫疗法的出现对癌症患者的临床预后有了极大的改善,包括免疫细胞靶向单克隆抗体治疗、非特异性细胞因子和免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors, ICI)等^[1]。其中ICI可以阻断检查点分子以增强宿主免疫系统的抗肿瘤活性。临床研究结果显示,ICI治疗黑色素瘤和晚期非小细胞肺癌均有明确的效果,同时可以应用于乳腺癌、头颈癌、胃癌、尿路上皮癌、淋巴瘤等恶性肿瘤的治疗^[2-4]。随着临床运用的增加,ICI出现了免疫相关不良反应(irAEs)^[5-6],主要发生在皮肤、消化道、内分泌腺体、肝脏和肺等重要脏器,同时也对其他器官

和组织具有潜在的影响。

1 免疫检查点及其抑制剂在抗肿瘤中的作用

ICI是T细胞激活的抑制性调节因子,介导T细胞效应功能,保护自身免疫反应。在T细胞介导的免疫反应中,死亡癌细胞释放的新抗原被抗原提呈细胞(APCs),如树突细胞捕获,由主要组织相容性复合体(MHC)分子识别结合,CD8⁺T细胞和CD4⁺T细胞识别新抗原-MHC I和新抗原-MHC II复合物,分别被激活并迁移,通过相互作用识别癌细胞,最终新抗原-MHC复合物和T细胞受体(TCR)结

收稿日期:2020-12-09;修回日期:2021-01-18

基金项目:中国癌症基金会北京希望马拉松专项基金(LC2019A07)

通信作者:李晓江, E-mail: gnjck06@sina.com

合。T细胞的激活需要两种信号：①TCR通过识别MHC复合物的特定蛋白激活T细胞,并启动细胞内信号通路,通过细胞表面分子调控信号通路,激活或抑制T细胞;②CD28是另一种T细胞激活分子,而CTLA-4和PD-1是T细胞抑制分子^[7]。

1.1 CTLA-4及其抑制剂

CTLA-4是一种表达于常规和调节性T细胞的共抑制分子,MHC与TCR识别、结合、激活初始T淋巴细胞,将抗原由树突状细胞(DCs)向T细胞递呈后激活,协同刺激作用可加强T细胞活化^[8],免疫检查点即传递共同抑制信号的受体(如CTLA-4,PD-1)在自身免疫和预防方面发挥重要作用^[9-10]。CD80或CD86通道,以及CD28或CTLA-4通道在T细胞激活中均起关键作用^[11]。CTLA-4只在T细胞上表达,可调节早期T细胞激活的幅度^[12],CD28和CTLA-4具有相同的配体,即CD80/CD86^[13-15],CTLA-4与CD28竞争与CD80/CD86的结合^[16],在活化T细胞中高表达的CTLA-4抑制CD28与CD80/CD86的结合,有关动物实验中,CTLA-4缺失的转基因小鼠中可见到过度免疫激活^[9,17-18],CD4⁺T细胞介导CTLA-4的免疫抑制活性,并且增强了T细胞活性的调节作用^[18-19]。

CTLA-4的免疫调节功能作为一种负调节免疫反应,是癌症免疫治疗的根本;CTLA-4直接阻断抗肿瘤T细胞反应的抑制信号,而不是直接激活免疫系统^[20]。相关动物实验表明,肿瘤免疫原性的小鼠接受抗CTLA-4抗体治疗,产生明显且有效的抗肿瘤作用^[21]。目前,美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)已批准,CTLA-4抑制剂如伊匹单抗(ipilimumab)和纳武利尤单抗(nivolumab),在不可切除或转移性黑色素瘤、晚期肾细胞癌、微卫星不稳定性或错配修复缺陷转移结直肠癌中的单独或联合临床用药试验。

1.2 PD-1/PD-L1及其抑制剂

PD-1是一种表达于T细胞上的共抑制分子,可激活杀伤细胞、B细胞、单核细胞和不成熟的朗格汉斯细胞(LC)等^[22]。PD-1与其配体PD-L1和PD-L2相结合,而PD-L2在APCs如巨噬细胞和树突状细胞等表达受限,PD-L1在淋巴细胞、包括心肌在内的非淋巴细胞及内皮细胞均有表达^[23-25]。在肿瘤免疫治疗中,PD-L2激活PD-1-PD-L1通路,PD-L1向癌

细胞传递抗凋亡信号,阻止免疫介导的癌细胞杀伤。干扰素、肿瘤坏死因子和血管内皮生长因子(VEGF)等细胞因子可调控PD-L1和PD-L2。当PD-1与PD-L1或PD-L2结合时,PD-1的胞质结构域被磷酸化,引起大量SHP1和SHP2聚集包围,ZAP70和PI3K去磷酸化并失活,从而抑制T细胞活化及增殖。相关动物实验表明,免疫检查点结合调控T细胞的自身免疫应答^[26-27],从而发挥抗肿瘤作用。癌细胞可以通过调控PD-L1的表达来解除T细胞的免疫应答,T细胞通过感知微环境下干扰素(IFN- γ)的浓度识别肿瘤细胞,IFN- γ 与IFN- γ 受体结合并调控信号通路引起JAK激酶^[28]磷酸化并激活STAT(信号转录激活物)蛋白,启动干扰素与PD-L1启动子结合的调节因子-1(IRF-1),最终导致癌细胞表面PD-L1表达增加,因此肿瘤细胞可反应性上调PD-L1的表达^[29],上调的PD-L1与PD-1结合可抑制T细胞免疫应答,从而使肿瘤细胞逃避相关免疫应答^[30]。ICI可阻断免疫检查点配体和受体结合,从而调控T细胞在抗肿瘤作用中的免疫反应^[31]。

2 免疫相关不良反应及其机制

免疫检查点在限制过量T细胞激活和免疫反应中发挥关键作用,因此,ICI可以打破免疫与耐受之间的平衡,在部分患者中产生多种免疫相关不良反应,包括结肠炎、皮炎、肾炎、内分泌疾病、肝炎、肺炎和心肌炎^[32-35]。临床症状主要包括乏力、食欲减退、皮肤瘙痒、皮疹、腹泻及恶心等,除皮肤毒性外,还包括内分泌相关不良反应,如甲减、甲亢、垂体炎及肾上腺功能紊乱等,而肺炎、肾炎、肝炎和肠炎均不常见。此外,ICI还可引起非常罕见的不良反应,包括肌炎、肌无力、横纹肌溶解、多发性硬化、银屑病、苔藓样皮炎、自身免疫性心肌炎、结节病、胰腺炎等^[36]。有研究表明,在接受ipilimumab治疗的患者中,64%~80%出现了免疫相关不良反应,其中23%为3/4级。接受派姆单抗(pembrolizumab)治疗的患者中高达79%出现免疫相关不良反应,其中13%为3/4级。当ipilimumab和nivolumab联合使用时,免疫相关不良反应的发生率达到了96%,其中55%为3/4级^[37-40]。

目前,ICI的免疫相关毒性主要机制为:ICI通过结合组织中表达的CTLA-4或PD-1/PD-L1而造

成终末器官和组织损伤,T细胞免疫应答也可识别与肿瘤细胞高同源性的其他组织抗原,而对正常组织不产生损伤,使其他组织中循环细胞因子增加,促进其他组织中自身抗体的形成。这一机制在心血管系统中未被证实^[41],但是有相关动物模型研究的数据为ICI相关心脏毒性的发病机制提供依据。转基因小鼠的模型表明:免疫检查点CTLA-4和PD-1/PD-L1信号通路对心肌有重要作用^[20],PD-1/PD-L1和CTLA-4信号通路可下调心肌细胞中的过度免疫反应。PD-1和PD-L1在啮齿动物和人类心肌细胞中均表达。早期的动物研究已经证明,CTLA-4和PD-1缺失可导致自身免疫性心肌炎,在PD-1缺失的转基因小鼠模型中,由于高滴度的心肌钙蛋白I的自身抗体IgG增加了正常心肌细胞电压依赖性I型钙电流,导致进展为扩张型心肌病及过早死亡^[42]。给予PD-1/PD-L1抑制剂的小鼠对柯萨奇B3病毒引起的心肌损伤更大,而给予PD-1/PD-L1诱导剂的小鼠受柯萨奇B3病毒的心肌损伤较小^[43],PD-1缺失的转基因小鼠出现心肌肌球蛋白高滴度自身抗体,并死于以CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞在心肌和骨髓大量渗透为特征的淋巴细胞性病毒性心肌炎^[17],CTLA-4缺失的转基因小鼠在系统性炎症和多器官功能衰竭的情况下出现淋巴增生性心肌炎^[9]。到目前为止,在ICI相关性心肌炎的患者中未检测到自身抗体^[44]。

Johnson等^[45]在2例致死性暴发性心肌炎的患者体内发现,损伤的心肌细胞表面有PD-L1表达,而在骨骼肌细胞或肿瘤细胞中并未检测到,在心脏应激和疾病状态下,细胞因子诱导的心肌保护机制通过上调PD-L1抑制T细胞介导的炎症反应^[24],在心肌损伤时,死亡的心肌细胞可使心肌抗原暴露于T淋巴细胞,而导致免疫检查点(如PD-1/PD-L1)上调,因此PD-L1可作为T细胞侵袭信号。虽然ICI可阻止该通道,降低ICI相关性心肌炎的发病率,但近年来相关报道其发病率逐渐增加,其高致死率也应该引起我们的重视。

3 ICI相关性心肌病变

3.1 ICI相关性心肌炎的发生机制

在CTLA-4缺失的小鼠模型中,CTLA-4的表达

受阻主要发生在淋巴结和脾脏中,而且在心脏、肝脏、肺、骨髓和胰腺中均可见活化的T淋巴细胞大量蓄积。小鼠的心肌细胞在电子显微镜下显示成纤维细胞增殖,嗜中性粒细胞、巨噬细胞和少量淋巴细胞水肿,最终导致心肌梗死,一般发生在第3~4周^[10],这是引起早期死亡的主要原因。同样,PD-1缺失的转基因小鼠在第5周开始死亡^[42]。研究表明PD-1缺失导致扩张型心肌病,充血性心力衰竭后猝死。PD-1基因敲除小鼠的心脏显示,心肌细胞表面扩散的免疫球蛋白G(IgG)沉积,并且所有PD-1敲除小鼠都有针对心肌细胞表面表达的一种自身抗原的高滴度IgG自身抗体,但是在PD-1和重组激活基因-2(*rag2*)双敲除小鼠中并没有观察到这种缺陷,在双敲除小鼠中,由于缺乏*rag2*介导的TCR和B细胞受体基因重排,只有少量T细胞和B细胞存在,这一发现表明了T细胞介导的B细胞自身抗体的产生。有研究认为,PD-1-CD4⁺T细胞和PD-1-CD8⁺T细胞均可引起心肌损伤,两种T细胞亚群都需要PD-1来维持其对心肌自身成分的耐受^[46],PD-1的配体PD-L1在人类和小鼠的心肌中均表达。研究发现,PD-L1和PD-L2的基因缺失以及ICI的作用,均可引起短暂性心肌炎,最终进展为致命的疾病,这就证实了PD-1信号在保护心肌免受T淋巴细胞免疫反应的损伤中起到了关键作用^[47]。研究发现PD-L1通过增加IFN、FasL、CD40L的表达在感染过程中抑制心肌炎症从而发挥作用^[43],PD-L1缺失的大鼠可引起致命的自身免疫性心肌炎,并伴有全身巨噬细胞和T细胞浸润^[48]。

我们对心肌炎的病理生理学的理解来自动物研究^[49],早年已经证明CTLA-4和PD-1缺失可引起自身免疫性心肌炎^[42,50]。心肌炎是一种隐匿性疾病,具有广泛的临床表现,具有不同的病因和局部或弥漫性受累的变异性,另外,合并系统性自身免疫性疾病(如类风湿关节炎、红斑狼疮、银屑病关节炎、系统性硬化症、血管炎、多发性肌炎)的患者易发生亚临床心肌炎。大量免疫相关心血管不良事件的研究表明,接受ICI治疗患者的心肌炎发病率是未接受ICI治疗患者的11倍^[51]。ICI治疗与其他炎症性心血管不良反应有关,由于发病率低而被低估,尤其是心包疾病和血管炎等,研究表明,ICI相关性三度房室传导阻滞继发于心肌炎^[45,52]。而ICI相关性心肌炎在随机

对照中没有前瞻性评估试验,现有的回顾性文献评估 ICI 相关性心肌炎的发生率为 0.27%~1.14%^[42]。大多数病例发病较早,发生毒性反应的中位时间是 30d,大约在第 1 次或第 2 次用药后。

3.2 ICI 相关性心肌炎的高危因素

联合免疫疗法是引起 ICI 相关心肌病的主要高危因素,相关研究表明 nivolumab 和 ipilimumab 联合用药引起心肌炎的风险是 nivolumab 单药治疗的 4.74 倍。心肌炎与其他心脏基础病合并时发病率是否增高目前还不清楚。有研究表明,55 例患者接受了巴文西亚(avelumab)和阿西替尼(VEGF 抑制剂)治疗,其中 1 例(2%)发展为致命性心肌炎^[31]。一项动物研究表明,PD-1 抑制后联合心脏照射导致心肌炎的风险远远超过了单纯心脏照射,并且死亡率也增加^[45]。ICI 联合治疗的病死率(65.6%)高于 ICI 单药治疗(44.4%)^[45],除 ICI 联合治疗外,其他危险因素相对较少,潜在的危险因素如既往心血管病史及相关心脏毒性治疗等,自身免疫性疾病、肿瘤相关因素以及同时发生的免疫相关毒性作用和遗传因素等,均是引起相关性心肌炎的潜在危险因素^[53]。

3.3 ICI 相关性心肌炎的辅助检查及临床表现

心肌炎会引起急性心力衰竭,表现为胸痛、气短、肺水肿,甚至心源性休克等^[54],也可引起心律失常、急性心肌炎等从而导致晕厥和猝死。早期数据显示,心肌炎发生心律失常的风险较高,包括传导阻滞和室性心律失常。一名 65 岁女性接受 nivolumab 与 ipilimumab 联合治疗后,患者心电图最初表现为窦性心动过缓并一度房室传导阻滞,随后出现窦性心动过缓伴完全性房室传导阻滞和左束支传导阻滞,最终出现室性心动过速直至死亡^[55]。ICI 相关性心肌炎的心肌肌钙蛋白和肌酸激酶(CK-MB)升高,心脏磁共振成像(cMRI)、心脏 PET/CT 或者心肌内膜活检可明确心肌炎的情况。心肌(尤其是室间隔)病理切片可见高密度的单核细胞浸润,广泛的心肌细胞损伤和坏死,符合淋巴细胞性心肌炎。组织病理学检查显示,CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞和 CD68 巨噬细胞在心肌、心脏传导系统和骨骼肌大量浸润^[45]。心室射血分数正常并不能排除 ICI 相关性心肌炎,超声心动图显示左心室弥漫性收缩功能、心腔改变、局部室壁运动异常(WMA)才可排除诊断。正常的心脏大小可能提示急性病程,而心室重建和扩张表明慢性

进展。在病例对照研究中,虽然左心室收缩功能不全较常见,但是严重收缩功能不全(左心室)射血分数小于 35%的患者相对较少,因此 ICI 相关性心脏毒性引起左心室收缩功能障碍患者(35%~55%)一般是轻度或正常。相比超声心动图,cMRI 能提供较好的组织特征,心肌炎在 cMRI 上表现为心肌的水肿、坏死、瘢痕形成。在病例对照研究中,三分之一的患者 cMRI 提示心肌水肿,因此 cMRI 检测心肌炎缺乏一定的敏感性。心脏 FDG-PET-CT 可以用来评估心肌炎症,心肌炎常伴有血清生物标志物升高、心肌损伤和应激反应。在病例对照研究中,94%的 ICI 相关性心肌炎的患者肌钙蛋白升高,66%的患者 NT-proBNP 升高。目前,肌钙蛋白被认为对心肌炎检测的特异性更高,而 B 型尿钠肽(BNP)是评估左室功能障碍等急性心肌损伤的指标,在许多癌症患者中,BNP 也可能长期升高,但特异性较差^[56]。

病例资料提示,ICI 相关性心肌炎的心电图可出现多种心律失常,包括心房颤动、室性心律失常和传导阻滞等。在 ICI 心肌炎患者中,10%~11%的患者伴有重症肌无力。有资料表明,ICI 相关性心肌炎的预后较差,在相关回顾性药物研究中,ICI 相关性心肌炎的死亡率为 50%^[51]。

3.4 ICI 相关性心肌炎的诊断及鉴别诊断

ICI 相关性心肌炎的鉴别诊断较难,一般心肌炎诊断的金标准为心肌内膜活检或组织病理学结果,如果病理活检不能确定,可结合心肌酶、心脏核磁和临床症状等进行确诊。专家共识表明,ICI 相关性心肌炎可根据不同诊断标准分为确诊心肌炎、极有可能诊断心肌炎和可能诊断心肌炎^[57]。通过组织病理学活检、cMRI、超声心动图 WMA 和心肌生物标志物可进行诊断。在每种检查结果中,阳性结果必须结合体格检查和相关病史来诊断。如果病理组织结果阳性或者 cMRI 阳性并伴有生物标志物升高和心电图阳性,又或者超声心动图提示室壁运动异常且伴随临床症状、心肌酶升高、心电图阳性、血管造影(可排除冠状动脉疾病)阴性则均认为是确诊心肌炎。如果 cMRI 阳性不伴随其他检查和病史、生物标志物升高、心电图检查结果阳性,或者超声心动提示室壁运动异常且伴临床症状和心肌酶升高或心电图结果阳性,均认为是极有可能诊断心肌炎。如果 cMRI 提示心肌炎不能被诊断,但伴有临床症状、生物标志物升

高或心电图阳性结果,仍诊断为极有可能心肌炎。另一方面,如果cMRI不能诊断心肌炎且不伴有以上任何一个检查结果,又或者超声心动图示室壁运动异常且伴有临床症状或者心电图阳性,均认为是可能诊断心肌炎。如果心肌酶升高伴有临床症状及相关病史或者心电图检查阳性,仍认为是可能诊断心肌炎^[51]。

ICI相关性心肌炎在临床上还可分为临床表现显著的暴发性心肌炎和亚临床心肌炎,暴发性心肌炎伴有血流动力学和心脏电活动不稳定,而亚临床心肌炎是指无明显临床症状且未被确诊和治疗的心肌炎。心肌炎是否与ICI治疗有关应予以重视。

4 展 望

目前有大量患者在进行ICI治疗,ICI在未来的使用预计将会明显增加,因此需要更多的研究来更好地了解ICI的毒性及其相关危险因素,从而评估新的治疗前景^[53]。未来的研究需要明确诱发的风险以及心脏副作用发生的因素等,虽然ICI相关性心肌炎发病率低,但其致死性高,需要临床高度警惕。相关研究表明^[58],PD-1/PD-L1、CTLA-4及其他免疫检查点在动脉粥样硬化的发病机制中起重要作用,对于合并自身免疫性疾病的患者,是否会增加心肌炎的风险以及联合免疫治疗的具体毒性机制等尚不明确,有可能是非免疫心肌细胞损伤导致心肌抗原的暴露和ICI给药后的T细胞免疫应答反应。

目前,心电图和超声等辅助检查应用于ICI相关性心肌炎的早期识别和全程管理,这对于降低患者的相关治疗风险至关重要,但研究数量还较少^[59]。同时,有些问题也需要验证说明,例如ICI相关性心脏毒性不同临床表现和临床分型、不同的严重程度、不同亚型的病理生理学基础、适当的临床监测策略,以发现早期毒性作用及有无特异性生物标志物等可能性^[60]。未来有关免疫检查点心血管毒性的机制仍需进一步研究。

参考文献:

[1] Farkona S,Diamandis EP,Blasutig IM. Cancer immunotherapy:the beginning of the end of cancer?[J]. BMC Med,2016,14:73.

[2] Robert C,Long GV,Brady B,et al. Nivolumab in previously untreated melanoma without BRAF mutation [J]. N Engl J Med,2015,372(4):320-330.

[3] Borghaei H,Paz-Ares L,Horn L,et al. Nivolumab versus docetaxel in advanced nonsquamous non-small-cell lung cancer[J]. N Engl J Med,2015,373(17):1627-1639.

[4] Motzer RJ,Rini BI,McDermott DF,et al. Nivolumab for metastatic renal cell carcinoma:results of a randomized phase II trial[J]. J Clin Oncol,2015,33(13):1430-1437.

[5] Hawkes EA,Grigg A,Chong G. Programmed cell death-1 inhibition in lymphoma [J]. Lancet Oncol,2015,16(5):e234-e245.

[6] Weber JS,Postow M,Lao CD,et al. Management of adverse events following treatment with anti-programmed death-1 agents[J]. Oncologist,2016,21(10):1230-1240.

[7] Hu JR,Florida R,Lipson EJ,et al. Cardiovascular toxicities associated with immune checkpoint inhibitors[J]. Cardiovasc Res,2019,115(5):854-868.

[8] Bretscher PA. A two-step,two-signal model for the primary activation of precursor helper T cells [J]. Proc Natl Acad Sci U S A,1999,96(1):185-190.

[9] Tivol EA,Borriello F,Schweitzer AN,et al. Loss of CTLA-4 leads to massive lymphoproliferation and fatal multiorgan tissue destruction,revealing a critical negative regulatory role of CTLA-4[J]. Immunity,1995,3(5):541-547.

[10] Waterhouse P,Penninger JM,Timms E,et al. Lymphoproliferative disorders with early lethality in mice deficient in Ctl4-4[J]. Science,1995,270(5238):985-988.

[11] Friese C,Harbst K,Borch TH,et al. CTLA-4 blockade boosts the expansion of tumor-reactive CD8(+) tumor-infiltrating lymphocytes in ovarian cancer [J]. Sci Rep,2020,10(1):3914.

[12] Brunet JF,Denizot F,Luciani MF,et al. A new member of the immunoglobulin superfamily- CTLA-4[J]. Nature,1987,328(6127):267-270.

[13] Hathcock KS,Laszlo G,Dickler HB,et al. Identification of an alternative CTLA-4 ligand costimulatory for T cell activation[J]. Science,1993,262(5135):905-907.

[14] Terzo EA,de Villarreal MP,Mick V,et al. Molecular cloning of multiple forms of the ovine B7-2 (CD86) costimulatory molecule [J]. Vet Immunol Immunopathol,2006,114(1-2):149-158.

[15] Linsley PS,Clark EA,Ledbetter JA. Pillars article:T-cell antigen CD28 mediates adhesion with B cells by interacting with activation antigen B7/BB-1. 1990. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:5031-5035 [J]. J Immunol,2009,182

- (5):2559–2563.
- [16] Martin PJ, Ledbetter JA, Morishita Y, et al. A 44 kilodalton cell surface homodimer regulates interleukin 2 production by activated human T lymphocytes[J]. *J Immunol*, 1986, 136(9):3282–3287.
- [17] 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.
- [18] Wing K, Onishi Y, Prieto-Martin P, et al. CTLA-4 control over Foxp3 + regulatory T cell function [J]. *Science*, 2008, 322(5899):271–275.
- [19] Peggs KS, Quezada SA, Chambers CA, et al. Blockade of CTLA-4 on both effector and regulatory T cell compartments contributes to the antitumor activity of anti-CTLA-4 antibodies[J]. *J Exp Med*, 2009, 206(8):1717–1725.
- [20] Ertl G, Frantz S. Healing after myocardial infarction [J]. *Cardiovasc Res*, 2005, 66(1):22–32.
- [21] Leach DR, Krummel MF, Allison JP. Enhancement of anti-tumor immunity by CTLA-4 blockade [J]. *Science*, 1996, 271(5256):1734–1736.
- [22] Eppihimer MJ, Gunn J, Freeman GJ, et al. Expression and regulation of the PD-L1 immunoinhibitory molecule on microvascular endothelial cells [J]. *Microcirculation*, 2002, 9(2):133–145.
- [23] Heinzerling L, Ott PA, Hodi FS, et al. Cardiotoxicity associated with CTLA4 and PD1 blocking immunotherapy[J]. *J Immunother Cancer*, 2016, 4:50.
- [24] 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.
- [25] 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.
- [26] Klocke K, Sakaguchi S, Holmdahl R, et al. Induction of autoimmune disease by deletion of CTLA-4 in mice in adulthood [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(17):E2383–E2392.
- [27] 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.
- [28] Mehta NN. Potential cardiovascular implications of Janus kinase inhibitors in immune mediated diseases[J]. *Cardiovasc Res*, 2018, 114(11):e81–e83.
- [29] Taube JM, Anders RA, Young GD, et al. Colocalization of inflammatory response with B7-h1 expression in human melanocytic lesions supports an adaptive resistance mechanism of immune escape[J]. *Sci Transl Med*, 2012, 4(127):127ra37.
- [30] Shin DS, Zaretsky JM, Escuin-Ordinas H, et al. Primary resistance to PD-1 blockade mediated by JAK1/2 mutations [J]. *Cancer Discov*, 2017, 7(2):188–201.
- [31] 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.
- [32] Buchbinder E, Hodi FS. Cytotoxic T lymphocyte antigen-4 and immune checkpoint blockade [J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(9):3377–3383.
- [33] Zarifa A, Lopez-Mattei J, Palaskas N, et al. Immune checkpoint inhibitors (ICIs)-related cardiotoxicity [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1244:277–285.
- [34] Yshii LM, Hohlfeld R, Liblau RS. Inflammatory CNS disease caused by immune checkpoint inhibitors: status and perspectives[J]. *Nat Rev Neurol*, 2017, 13(12):755–763.
- [35] Postow MA, Sidlow R, Hellmann MD. Immune-related adverse events associated with immune checkpoint blockade [J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(2):158–168.
- [36] Nishino M, Ramaiya NH, Hatabu H, et al. Monitoring immune-checkpoint blockade: response evaluation and biomarker development [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2017, 14(11):655–668.
- [37] Hodi FS, O’Day SJ, McDermott DF, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma[J]. *N Engl J Med*, 2010, 363(8):711–723.
- [38] Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, et al. Combined nivolumab and ipilimumab or monotherapy in untreated melanoma[J]. *N Engl J Med*, 2015, 373(1):23–34.
- [39] Hamid O, Robert C, Daud A, et al. Safety and tumor responses with lambrolizumab(anti-PD-1) in melanoma[J]. *N Engl J Med*, 2013, 369(2):134–144.
- [40] Graziani G, Tentori L, Navarra P. Ipilimumab: a novel immunostimulatory monoclonal antibody for the treatment of cancer[J]. *Pharmacol Res*, 2012, 65(1):9–22.
- [41] Dubin K, Callahan MK, Ren B, et al. Intestinal microbiome analyses identify melanoma patients at risk for checkpoint-blockade-induced colitis [J]. *Nat Commun*, 2016, 7:10391.
- [42] Nishimura H, Okazaki T, Tanaka Y, et al. Autoimmune dilated cardiomyopathy in PD-1 receptor-deficient mice [J]. *Science*, 2001, 291(5502):319–322.

- [43] 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.
- [44] Grabie N, Lichtman AH, Padera R. T cell checkpoint regulators in the heart [J]. *Cardiovasc Res*, 2019, 115(5):869–877.
- [45] 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.
- [46] Tarrío 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.
- [47] 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.
- [48] 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.
- [49] T Cooper L. The heat is off: immunosuppression for myocarditis revisited [J]. *Eur Heart J*, 2009, 30(16):1936–1939.
- [50] 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.
- [51] Salem JE, Manouchehri A, Moey M, et al. Cardiovascular toxicities associated with immune checkpoint inhibitors: an observational, retrospective, pharmacovigilance study [J]. *Lancet Oncol*, 2018, 19(12):1579–1589.
- [52] Hofmann L, Forschner A, Loquai C, et al. Cutaneous, gastrointestinal, hepatic, endocrine, and renal side-effects of anti-PD-1 therapy [J]. *Eur J Cancer*, 2016, 60:190–209.
- [53] Pirozzi F, Poto R, Aran L, et al. Cardiovascular toxicity of immune checkpoint inhibitors: clinical risk factors [J]. *Curr Oncol Rep*, 2021, 23(2):13.
- [54] LP Caforio A, 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, 2648a–2648d.
- [55] Mahmood SS, Fradley MG, Cohen JV, et al. Myocarditis in patients treated with immune checkpoint inhibitors [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2018, 71(16):1755–1764.
- [56] Bando S, Soeki T, Matsuura T, et al. Plasma brain natriuretic peptide levels are elevated in patients with cancer [J]. *PLoS One*, 2017, 12(6):e0178607.
- [57] Kindermann I, Barth C, Mahfoud F, et al. Update on myocarditis [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2012, 59(9):779–792.
- [58] Chen DY, Huang WK, Chien-Chia Wu V, et al. Cardiovascular toxicity of immune checkpoint inhibitors in cancer patients: a review when cardiology meets immuno-oncology [J]. *J Formos Med Assoc*, 2020, 119(10):1461–1475.
- [59] Puzanov I, Diab A, Abdallah K, et al. Managing toxicities associated with immune checkpoint inhibitors: consensus recommendations from the Society for Immunotherapy of Cancer (SITC) Toxicity Management Working Group [J]. *J Immunother Cancer*, 2017, 5(1):95.
- [60] Lyon AR, Yousaf N, Battisti NML, et al. Immune checkpoint inhibitors and cardiovascular toxicity [J]. *Lancet Oncol*, 2018, 19(9):e447–e458.