

肿瘤细胞内 PD-L1 作用相关研究进展

徐 轲¹, 吴华鑫², 林超男¹, 张晓冉¹, 罗文龙¹, 龚立豪¹, 李金龙¹

(1. 南方医科大学检验与生物技术学院, 广东 广州 510515; 2. 南方医科大学基础医学院, 广东 广州 510515)

摘要: 程序性细胞死亡蛋白 1(PD-1)及其配体 PD-L1 是重要的免疫检查点蛋白, 肿瘤细胞膜上的 PD-L1 与 T 细胞上的 PD-1 结合以逃避免疫监视。靶向 PD-L1/PD-1 的免疫疗法在多种肿瘤的治疗中显示出了显著的临床效果, 遗憾的是只有一部分患者实现了持久反应。最新研究表明, PD-L1 可定位于肿瘤细胞内, 发挥着非免疫检查点功能, 广泛参与肿瘤细胞的多种恶性表型。全文总结了肿瘤细胞内 PD-L1 作用的相关研究进展, 从 PD-L1 胞内定位的调控, 以及胞内 PD-L1 与 DNA 损伤修复、细胞自噬、细胞凋亡、肿瘤转移的关系, 论述了胞内 PD-L1 与肿瘤细胞恶性表型的关系。最后, 介绍了靶向胞内 PD-L1 的策略方法, 为靶向 PD-L1 的癌症治疗提供思路。

关键词: 胞内 PD-L1; 细胞自噬; DNA 损伤修复; 肿瘤转移

中图分类号: R73 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2023)09-0714-09

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2023.09.A010

Research Progress on Roles of Intracellular PD-L1 in Tumor Cells

XU Ke¹, WU Huaxin², LIN Chaonan¹, ZHANG Xiaoran¹, LUO Wenlong¹, GONG Lihao¹, LI Jinlong¹

(1. School of Laboratory Medicine and Biotechnology, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; 2. School of Basic Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

Abstract: Programmed cell death protein 1 (PD-1) and its ligand PD-L1 are important immune checkpoint proteins. In tumor cells, PD-L1 is mainly located on cell membranes, which binds to PD-1 on T cells to evade immune surveillance. Immunotherapies targeting PD-L1/PD-1 have shown significant results in the treatment of various tumors, but unfortunately, only a subset of patients have achieved a consistent response. Latest studies have shown that PD-L1 can be also localized in tumor cells (intracellular PD-L1), playing a non-immune checkpoint function, and involving in various malignant phenotypes of tumor cells. This paper reviews the research progress on the role of intracellular PD-L1 (intra-PD-L1) in tumor cells; discusses the relationship between intra-PD-L1 and the malignant phenotype of tumor cells, focusing on the regulation of intracellular localization of PD-L1, the relationship of intra-PD-L1 with DNA damage repair, autophagy, apoptosis and tumor metastasis, as well as the strategy of targeting intra-PD-L1 for clinical cancer treatment.

Key words: intracellular PD-L1; autophagy; DNA damage repair; tumor metastasis

PD-L1 通常被认为是一种大小为 40 kDa 的 I 型跨膜蛋白, 可以与 PD-1 相互作用。在癌症中, PD-L1 通常在肿瘤细胞上高度表达, 并与 T 细胞上的 PD-1 结合, 从而可以诱导 T 细胞失活并逃避免疫监视^[1]。在过往研究中也发现, 高 PD-L1 表达使肿瘤细

胞对 PD-1/PD-L1 阻断敏感。然而, PD-1/PD-L1 阻断在临床治疗中只有一部分患者获得了持续有效的效果, 这表明免疫检查点通路的机制尚不完全清楚^[2]。近期有研究表明 PD-L1 可以通过内吞与核质转运途径从质膜转移到细胞核中, 并调控免疫反应基因表达, 参与肿瘤细胞的多种恶性表型^[3]。本文将从胞内 PD-L1 与 DNA 损伤修复、细胞自噬、细胞凋亡、肿瘤转移的关系, 阐述胞内 PD-L1 与肿瘤发生及进

收稿日期: 2023-06-13; 修回日期: 2023-07-09

基金项目: 国家自然科学基金 (81672915); 广东省自然科学基金 (2022A1515010515)

通信作者: 李金龙, E-mail: lijnlong@smu.edu.cn

展的关系,并简要介绍靶向胞内 PD-L1 策略方法的研究进展。

1 PD-L1 胞内定位及其调控

近期研究发现,PD-L1 除定位于肿瘤细胞膜以外,还有 4 个非典型细胞定位,即:胞核 PD-L1(nPD-L1)、胞质 PD-L1(cPD-L1)、可溶性 PD-L1(sPD-L1)和细胞外囊泡 PD-L1(EV PD-L1)^[1](Figure 1),这些不同细胞定位的 PD-L1 发挥着非免疫检查点的其他功能,促进肿瘤恶性进程。比如,nPD-L1 可作为协同转录因子调控基因转录,广泛参与炎症、抗原呈递等过程^[4]。cPD-L1 可以与 mRNA 结合以调控其稳定性,如增强 DNA 损伤相关基因的 RNA 稳定性,从而诱导放化疗抗性。在细胞外,sPD-L1 和 EV PD-L1 可抑制 T 淋巴细胞活化,并介导肿瘤干细胞的化疗抵抗^[5-6]。本文将重点论述胞内 PD-L1(nPD-L1、cPD-L1)的相关研究进展。

胞内 PD-L1(nPD-L1、cPD-L1)可由胞膜 PD-L1 内吞、核质运输而来,该过程由亨廷顿蛋白相互作用蛋白 1 相关蛋白(huntingtin-interacting-protein-1-related protein,HIP1R)介导,并受到 PD-L1 乙酰化的调节^[3]。PD-L1 的乙酰化可调控 PD-L1 与 HIP1R 结合,进而调控其内吞过程。PD-L1 胞质结构域 C 末端的 Lys263 可被 p300 乙酰转移酶乙酰化,乙酰化后的 PD-L1 不能与 HIP1R 结合,而去乙酰化的 Lys263 可与 HIP1R 特异性相互作用^[7]。肿瘤细胞中高表达组蛋白去乙酰化酶 2(HDAC2)使 Lys263 去乙酰化,从而促进 Lys263 与 HIP1R 特异性结合^[8]。进一步研究发现,HIP1R 能与衔接蛋白-β2 (AP2B1) 相互作用,AP2B1 通过双亮氨酸基序 D/E-X-X-L-L/I 识别 HIP1R 介导 PD-L1 内吞^[9]。内吞后的 PD-L1 与 Vimentin 和 Keratins 等细胞骨架蛋白相互作用并进行转运,但具体机

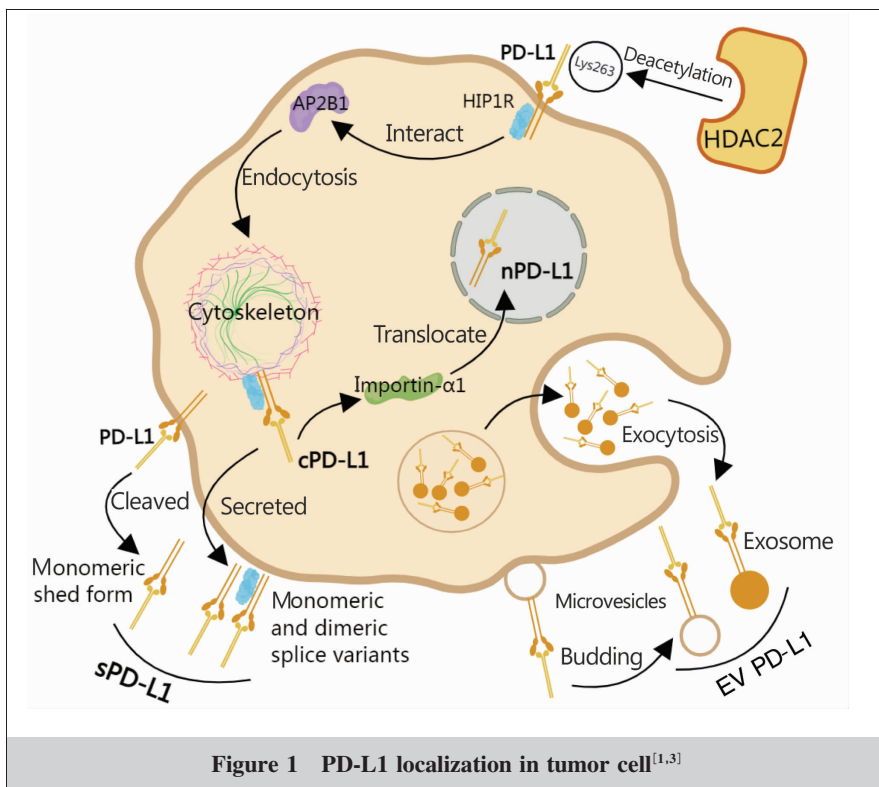
制还有待研究。最终,Importin-α1 与 PD-L1 蛋白 C 末端上未乙酰化的 Lys263 相结合从而将 PD-L1 导入细胞核内^[10]。

总之,通过 HDAC2 在质膜上对 PD-L1 进行去乙酰化,使 PD-L1 能够与 HIP1R 和货物蛋白相互作用,以进行内吞,进而与细胞骨架蛋白相互作用进行胞内运输,最终通过 Importin-α1 转运到细胞核内^[3](Figure 1)。除此之外,是否存在其他的调控途径未见报道。另外,胞内 PD-L1(nPD-L1、cPD-L1)的来源除了来自胞膜内吞之外,是否有其他途径尚属未知。

2 胞内 PD-L1 的作用及其分子机制

2.1 胞内 PD-L1 与 DNA 损伤修复

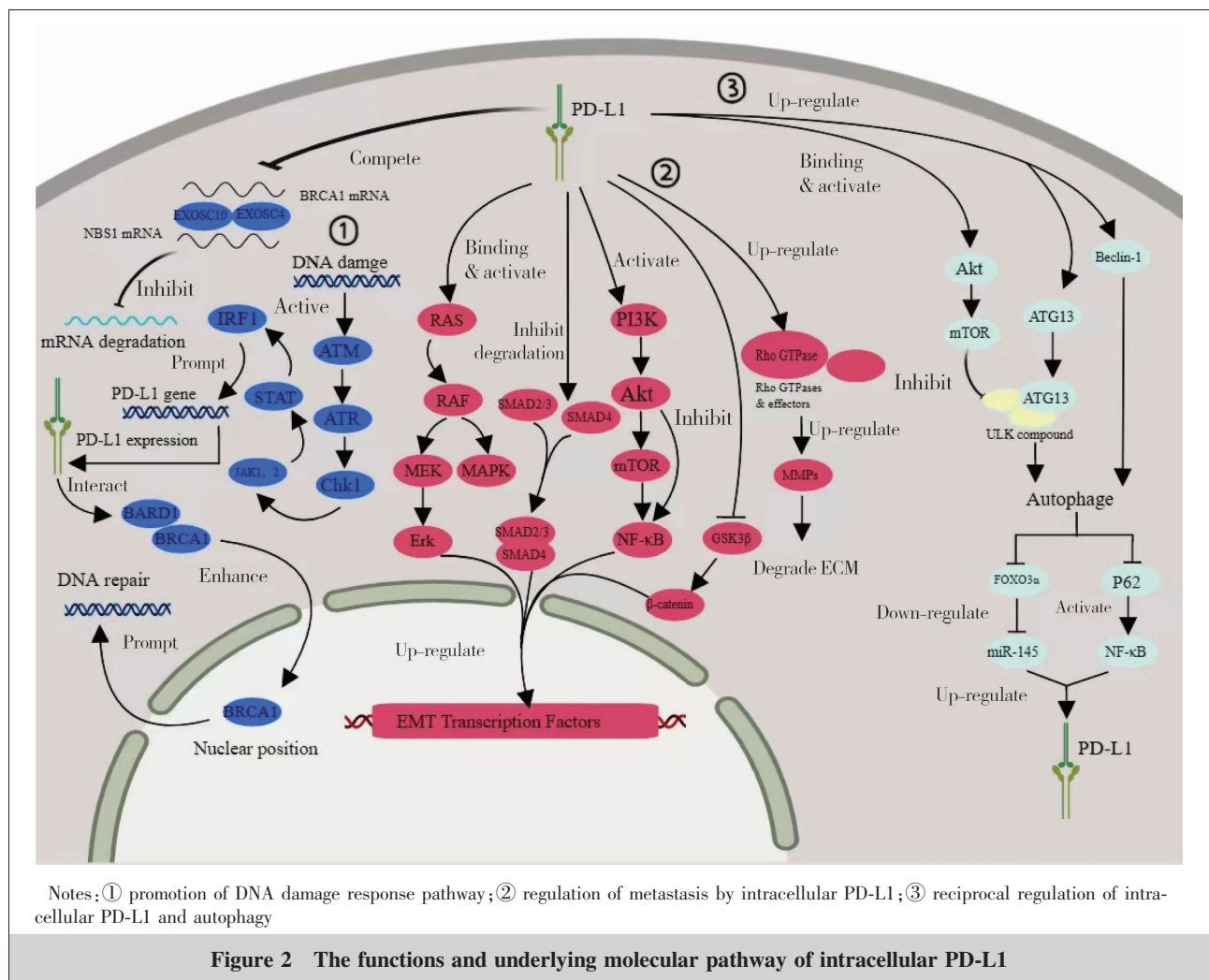
胞内 PD-L1 可以结合并稳定 DNA 损伤反应(DNA damage response,DDR)相关基因的 mRNA,以促进 DNA 损伤修复。近期研究表明胞内 PD-L1 可以与外切酶体成分 4(EXOSC4)和外切酶体成分 10(EXOSC10) 竞争性结合 DNA 修复元件 *BRCA1* 和 *NBS1* 的 mRNA,增强 mRNA 的稳定性,从而提高细胞对于 DDR 的抵抗能力(Figure 2)。这种结合 mRNA 的能力所依靠的是 PD-L1 的胞内结构域,而不依



赖于 PD-L1/PD-1 的结合,是一种独立于免疫调节的功能。同时,该结构域对于 mRNA 的亲合力也与全长 PD-L1 的表现一致。另外,作者还发现在胞内 PD-L1 表达极低的细胞系中,如 HeLa 和 A549 细胞,它们的 PD-L1 水平不足以保护细胞免受 DNA 的损伤,可以间接反映细胞内 PD-L1 在 DNA 的损伤修复中发挥了重要的作用^[11]。值得注意的是,除了 DDR 相关基因外,作者还观察到胞内 PD-L1 与细胞周期、代谢、转录和蛋白质修饰等重要通路分子的 mRNA 稳定性也有一定相关性^[11]。这提示,胞内 PD-L1 还有可能参与这些细胞事件的调控,值得深入研究。

PD-L1 还被证明是一种可以参与同源重组的蛋白^[12]。BARD1 是 BRCA1 核迁移专属相互作用蛋白,而 PD-L1 可以通过与 BARD1 相互作用来增强 BRCA1 的核定位,从而促进 BRCA1 介导的同源重组 DNA 的修复,但 PD-L1 与 BARD1 的相互作用机制尚不

清楚,有可能与 PD-L1 的核定位能够抑制 BRCA1-BARD1 的核输出,或细胞质 PD-L1 能够促进 BRCA1-BARD1 的核输入,又或者核表达 PD-L1 能够促进 BRCA1-BARD1 蛋白质复合物结合,从而在染色质上帮助 BRCA1 在 DNA 断裂位点的保留等^[13](Figure 2)。另外,有研究报道 PD-L1 还可以通过另外两种不同的机制保护癌细胞免受 DNA 损伤诱导的细胞死亡。其一,PD-L1 可以抑制 DNA 损伤诱导的干扰素-1 (IFN-1) 的急性反应,来保护癌细胞免受 DNA 损伤诱导的细胞死亡。其二,IRDS(IFN-related DNA damage resistance signature)是一组在各种类型的癌症中高度上调的基因,与放射或化疗耐药性相关,PD-L1 通过维持 IFN 基因的环 GMPAMP 合成酶刺激因子(cyclic GMPAMP synthase-stimulator of the IFN genes,cGAS-STING)通路的激活使得组成性的 IFN- β 表达,从而诱导 IRDS 的高水平表达,以提高



癌细胞对 DNA 损伤的抵抗力^[14]。

有趣的是,不单是细胞内的 PD-L1 可以调控 DDR,反过来,DNA 损伤水平和 DDR 也可以上调 PD-L1 的表达^[15-16]。例如,卵巢肿瘤的氧化 DNA 病变是一种持久性 DNA 损伤形式,其程度的增加会使肿瘤中 PD-L1 的表达也随之增加^[15],但该现象的机制尚不完全清楚。相类似的,药物所诱导的 DNA 损伤可上调肿瘤细胞 PD-L1 的表达^[17]。在溃疡性结肠炎,免疫细胞诱导的炎症激活 DNA 双链断裂/干扰素调节因子-1 途径可以诱导 PD-L1 的表达上调^[16]。该现象其中的机制可能是 DNA 双链断裂发生后激活 ATM/ATR-Chk1 信号轴,进而影响 JAK1/2-STAT1/3-IRF1 途径,诱导 PD-L1 表达上调,但是 Chk1 如何激活下游因子还尚不清楚^[18-19](Figure 2)。

综上,DNA 的损伤修复会激活 PD-L1 表达,而 PD-L1 又可反过来提高 DNA 修复元件的稳定性并通过多种途径提高 DNA 抗损伤能力。这说明 PD-L1 对于 DNA 的损伤修复存在正向的作用,所以可以在抑制 DDR 的同时联用抗 PD-L1 的药物,以此达到更好的抗肿瘤效果,为临床的肿瘤治疗提供新思路。在使用 FDA 批准的 DNA 修复蛋白 PARP [poly (ADP) ribose polymerase] 抑制剂奥拉帕尼 (olaparib) 或 Chk1 (checkpoint kinase 1) 抑制剂普雷沙替尼 (prexasertib),并联用抗 PD-L1 抗体的 PD-L1 阻断治疗后,小鼠的小细胞肺癌表现为生长延缓,死亡增加的现象^[20]。

2.2 胞内 PD-L1 与细胞凋亡

有研究显示,胞内 PD-L1 具有促进细胞凋亡的作用。如人结肠癌细胞中,癌基因 *BRAFV600E* 可以增强 c-JUN 和 YAP 的活性,然后通过 MAPK 信号通路上调 PD-L1 的表达,进而诱导 BIM、BIK 表达,以增强化疗诱导的细胞凋亡,而 PD-L1 的缺失可以抑制 BIM 和 BIK,减轻多种抗癌药物诱导的细胞凋亡^[21-22]; HNRNPL (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein L) 和 PD-L1 的水平成正相关,干扰 HNRNPL 或抗 PD-L1 的治疗都可抑制结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 的增殖,并促进 CRC 的细胞凋亡,但其中的机制尚未研究清楚^[23];低剂量山药苷-B 可以通过肿瘤固有的 PD-L1-NLRP3 信号通路,下调 PD-L1 的表达,激活顺铂耐药的胃癌细胞中由 NLRP3 介导的细胞焦亡^[24-25]。

除了上述促进凋亡的作用以外,胞内 PD-L1 还有抑制细胞凋亡的作用。有研究报道,敲除人和小鼠 CRC 细胞系中的 PD-L1 可以抵抗各种细胞毒性药物诱导的凋亡,从而促进肿瘤细胞在细胞毒性化疗后存活等^[22]。

不同的 PD-L1 表达水平 (升高或降低) 和不同类型肿瘤细胞,对于凋亡的敏感性变化也不相同,原因可能是 PD-L1 的水平改变作用的通路不相同,或作用于相同通路但产生的效应不同。已证明,在 PD-L1 上调的操作后,乳腺癌、小细胞肺癌和淋巴瘤细胞对化疗诱导的凋亡具有较强的抵抗能力;而在人结肠癌细胞、人 RKO、小鼠 B16F10 黑色素瘤细胞和小鼠 MC38 结肠癌细胞中则需要在 PD-L1 下调的操作下才具有凋亡的抵抗能力^[22]。

2.3 胞内 PD-L1 与细胞自噬

自噬是肿瘤细胞的一种生存策略,在恶劣条件刺激下,如 DNA 损伤、营养缺乏、缺氧、破坏性刺激等情况下,肿瘤细胞的自噬会被激活以应对压力、促进生存^[26]。研究表明,胞内 PD-L1 与肿瘤细胞自噬可相互调控,胞内 PD-L1 可调控细胞自噬过程,反过来,细胞自噬也可影响 PD-L1 的表达。

2.3.1 胞内 PD-L1 调控自噬

多项研究表明,胞内 PD-L1 与肿瘤细胞的自噬相关,值得注意的是,胞内 PD-L1 对不同肿瘤细胞的自噬有着不同的影响。Zhang 等^[27]的研究发现,PD-L1 敲除会抑制膀胱癌细胞在饥饿刺激下的自噬流,说明 PD-L1 会促进膀胱癌细胞的自噬。无独有偶,Gao 等^[28]的研究发现 PD-L1 也可促进卵巢癌细胞的自噬,机制是通过上调参与自噬调节的关键分子 Beclin-1 的表达。PD-L1 还可以通过增加 ATG13 的表达诱导肝癌细胞的自噬^[29]。但是,在 Chen 等^[30]的研究中,发现胞内 PD-L1 可以通过与 AKT 结合并促进其激活来抑制胶质瘤细胞自噬。也有研究者在对小鼠黑色素瘤细胞、卵巢癌细胞的研究中观察到了 PD-L1 介导的自噬抑制,此外作者还发现高水平的 PD-L1 可导致人卵巢癌细胞在体外对自噬抑制剂的敏感性增加^[31]。不难看出,胞内 PD-L1 对于自噬的影响似乎有着肿瘤特异性^[32]。

关于机制方面的研究,大多数报道只是局限于表型的研究,证明了 PD-L1 会影响肿瘤细胞的自噬。少量深入的机制研究发现 PD-L1 对肿瘤细胞自

噬的影响可能与某些通路或分子如 AKT、mTOR、ATG 有关,但对其中更为具体机制的研究与阐述则较少,如 PD-L1 是如何影响这些通路或分子的变化,目前还没有明确的报道。在不同种类的细胞中,PD-L1 可通过不同的机制对自噬产生相同或不同的影响(如抑制或促进自噬)。但是,PD-L1 对自噬多样化的调节机制,究竟是有细胞特异性,还是这些通路其实可以同时存在于一个细胞中,尚不清楚。

2.3.2 自噬调控 PD-L1 表达

细胞自噬也可调控 PD-L1 表达,且不同研究的结论不一甚至相反。在 Tsai 等^[33]的研究中,膀胱癌细胞自噬水平与 PD-L1 表达呈负相关,即低自噬活性的肿瘤细胞表现出更高的 PD-L1 表达。进一步研究发现阻断自噬可通过激活 ERK-JNK-c-Jun 信号,同时抑制 miR-34a (可靶向 PD-L1 mRNA 抑制其翻译)的表达,最终上调膀胱癌细胞中 PD-L1 的表达。Wang 等^[34]在对胃癌的研究中发现,自噬可以通过 p62/SQSTM1-NF- κ B 通路调节胃癌细胞中 PD-L1 的表达(Figure 2),且通过药理学或 RNA 干扰的方法抑制自噬,可以诱导 PD-L1 的表达,而药物激活自噬则降低了 PD-L1 的表达。相似的结果在对一些细胞内受体如 PPAR γ 、抗肿瘤药物如维替泊芬、苏尼替尼、辛可宁的研究^[35-38]中也有提到。这几项研究说明,抑制自噬可以在不同细胞内通过不同的信号通路诱导 PD-L1 的表达,说明自噬抑制 PD-L1 表达。但也有结果相反的报道,Zhu 等^[39]的研究发现自噬也可以提高 PD-L1 水平,这是作者所研究的一整条正反馈回路的一个部分。其机制是,ATG7 可以促进自噬从而降解 FOXO3a 蛋白,进而抑制 miR-145(靶向 PD-L1 mRNA 降低其稳定性)转录,促进 PD-L1 表达(Figure 2)。ERK 信号也可通过自噬途径调节 PD-L1 的表达^[40]。自噬对于 PD-L1 的调节可以通过不同的通路和机制,同时还会受到来自不同上游分子的调节。

肿瘤细胞内的 PD-L1 与自噬有着复杂的相互关系。PD-L1 与自噬活动的相互作用与多种信号通路及分子有关,而且似乎存在着细胞特异性。故难以将 PD-L1 与自噬之间的关联归纳为普适、统一的机制^[32]。这就需要更多的研究来探明 PD-L1 与肿瘤细胞自噬之间相互作用的原因与机制。

自噬是肿瘤细胞生存的重要手段。许多研究表

明,通过影响细胞自噬,可以提高现有治疗方法的有效性,但仍存在着问题^[41-42]。前面提到,自噬与胞内 PD-L1 可以相互调节和影响,因此自噬调节剂的使用可能会产生与所用药物的协同或拮抗的作用,从而影响治疗。同时,PD-L1 与肿瘤细胞自噬的相互关系也提示我们,若将胞内 PD-L1 作为肿瘤免疫治疗的靶点并结合自噬调节剂的使用时,应注意根据实际肿瘤细胞的情况并结合实验来设计策略。

2.4 胞内 PD-L1 与肿瘤转移

研究表明,在众多不同种类肿瘤中,胞内 PD-L1 都可增强肿瘤细胞转移能力。其影响机制大多与上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)以及基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)有关,此外 PD-L1 通过影响自噬也能增强肿瘤细胞的转移。

EMT 对于肿瘤迁移侵袭有着重要意义,常伴有几个关键分子的表达变化,如 E-cadherin 表达下调, N-cadherin 上调, Slug、Snail、Twist 等 EMT 相关转录因子活化^[43]。现今已证明在多种肿瘤细胞中,PD-L1 可通过 EMT 信号通路促进 EMT 进程,进而促进细胞转移,如卵巢瘤、下咽鳞状细胞癌^[44]等(Figure 2)。Fei 等^[45]发现在鼻咽癌中,PD-L1 可以通过激活 PI3K/Akt/mTOR 信号通路,促进 EMT 进程。除了经典通路外,PD-L1 还被发现能通过其他方式影响细胞 EMT 表型,如在肺癌中,PD-L1 除能够激活 PI3K/Akt/mTOR 信号通路之外,还能够促进 β -catenin 与 WIP 启动子上的 LEF/TCF 位点结合,上调 WIP 表达,经由 WIP 与 RhoA 相互作用促进肿瘤细胞 EMT 进程^[46-47];而在三阴乳腺癌^[48]和头颈部癌^[49]中发现,PD-L1 可通过抑制 Snail 降解来促进 EMT 进程,而非常见的上调 Snail 表达的方式。这些证据表明了 PD-L1 可通过多种途径促进 EMT 进程,进而促进肿瘤转移。PD-L1 这一促进 EMT 的作用极大影响了肿瘤治疗的研究,如 Zhang 等^[50]首次发现在 EGFR 突变的非小细胞肺癌中,PD-L1 可以通过促进 TGF β 3/Smad/EMT 路径介导的细胞转移,形成对 EGFR-TKIs 类药物耐药,而 EGFR-TKIs 是针对这一类肿瘤的重要药物。这一发现提出一种可能:对原发性 EGFR-TKIs 耐药的肺非小细胞肺癌患者进行 PD-L1 靶向免疫治疗可通过逆转 EMT 表型来恢复其对 EGFR-TKIs 的敏感性。但值得注意的是,对于部分不

同类型的肿瘤细胞,PD-L1的作用机制也存在不同。肺癌细胞中,PD-L1选择性地激活了PI3K/Akt通路,故当使用PI3K抑制剂处理时,可抑制其对肿瘤转移的促进作用;但使用MEK1/2抑制剂U0126则没有相同作用^[47]。而在胶质瘤细胞中,PD-L1会通过Ras/Raf/Mek/Erk通路激活Erk信号,而非PI3K/Akt通路;故使用PI3K抑制剂LY294002不能消除PD-L1对EMT的促进作用^[51]。因此,在选择治疗药物时需充分考虑不同肿瘤细胞中PD-L1是否存在不同的影响机制。

MMPs与PD-L1的影响机制研究较少,且多与PD-L1的免疫检查点功能相关,但仍有涉及胞内PD-L1对MMPs调控的研究。这些研究指出PD-L1可以正向调控MMPs,通过MMPs降解细胞外基质的作用,促进肿瘤细胞迁移侵袭。研究人员发现,肾癌细胞中PD-L1的表达水平与细胞迁移能力相关,他们认为这可能与PD-L1增强SREBF-1c基因启动子活性,提高其表达有关,但并未探明具体机制^[52]。但联系到SREBF-1蛋白的作用,这应是由于SREBF-1蛋白提高细胞中ROS水平进而激活NF- κ B通路,促进MMP7表达,降解细胞外基质,最终促进肿瘤细胞迁移侵袭^[53]。此外,PD-L1可以调控Rho-GTPases相关基因和编码Rho家族小GTPases效应蛋白的基因,通过Rho和Rac1调节钙黏蛋白的降解和促进MMPs的基因表达,起到促进细胞侵袭的作用^[54-55](Figure 2)。PD-L1可以通过上调MMPs的表达,降解细胞外基质,促进细胞转移。PD-L1可以通过影响细胞自噬,调节肿瘤迁移侵袭能力。PD-L1可以促进LC3-1向LC3-2转化,即促进细胞自噬,进而通过TET1/USP28/CD44/RhoGDI β 通路调节增强细胞侵袭能力^[39,56-57]。而在另一项有关PD-L1介导细胞自噬的研究中发现,胶质瘤细胞中,PD-L1可通过结合Akt,防止细胞自噬导致的细胞骨架坍塌,最终促进胶质瘤在饥饿应激下的侵袭^[30]。

细胞迁移侵袭是恶性肿瘤致病致死的一个重要原因。鉴于对肿瘤细胞转移的促进作用,PD-L1可能作为一个抑制肿瘤侵袭转移的靶点。但目前研究表明,在不同种类肿瘤中,PD-L1影响肿瘤细胞转移能力的机制亦不同,且其背后原因仍待探究,因此在联合策略上应当视具体情况而定。

3 靶向胞内PD-L1的策略

目前获得批准应用临床的PD-L1抗体是通过阻断细胞外PD-1/PD-L1结合来治疗癌症,对比放疗、化疗、手术等传统方法,其不良反应更少,可以诱导晚期和转移性肿瘤消退和提高患者生存率,作用持久,适用于多种癌症类型,尤其是实体瘤^[58]。迄今为止,全球共有10种批准的PD-1/PD-L1抗体,涉及17种不同的癌症类型^[59],然而这一系列抗体都是阻断细胞外PD-1/PD-L1结合,却不影响胞内PD-L1的表达^[11]。鉴于胞内PD-L1参与肿瘤恶性表型的调控,靶向抑制胞内PD-L1也将是一种有效的肿瘤治疗方法。胞内PD-L1可以稳定DDR相关基因mRNA促进肿瘤细胞对化疗和放疗抵抗,因此将有可能成为提高肿瘤放化疗敏感性的靶点。

3.1 PD-L1胞内抗体H1A破坏PD-L1的稳定性并使癌症对放射治疗敏感

临床批准的PD-L1抗体Durvalumab和Atezolizumab在细胞外结合PD-L1,从而消除PD-L1/PD-1检查点,并不影响PD-L1或NBS1的表达,因此要开发新的靶向PD-L1胞内结构域的抗体。研究者在BALB/c小鼠中开发了几种PD-L1胞内抗体,并筛选了它们下调PD-L1和NBS1表达的能力,然后发现其中一个克隆——H1A(靶向胞内表位20-32aa)不仅可以破坏活化T细胞中的PD-L1功能,引起PD-L1的下调,而且还降低了NBS1的mRNA和蛋白质水平^[11]。

已知CMTM6可以保护PD-L1免受溶酶体降解。H1A以溶酶体依赖性方式阻断PD-L1/CMTM6相互作用,促使PD-L1降解,从而抑制了PD-L1稳定NBS1 mRNA作用,导致细胞对DNA损伤更敏感。而FDA批准的PD-L1抗体Durvalumab不影响PD-L1和CMTM6之间的相互作用^[11]。在免疫功能正常的小鼠黑色素瘤模型中,H1A和IR组合治疗比单独使用H1A或IR抑制肿瘤生长作用更显著。在免疫缺陷的NOD-SCID小鼠MDA-MB-231肿瘤模型中,H1A能够显著提高肿瘤对顺铂治疗的敏感性,而敲除PD-L1后,H1A联合顺铂无更显著获益。在免疫缺陷小鼠中,H1A联用放疗与Durvalumab联用放疗相比,H1A联用放疗更显著抑制肿瘤生长^[11]。

综上所述,H1A通过下调PD-L1并抑制其在DDR中的作用使癌症对DNA损伤疗法敏感。而且PD-L1抗体(H1A)的这种独特作用机制不同于目前批准的主要通过阻断PD-1/PD-L1结合来调节抗肿瘤免疫应答的PD-L1抑制剂的作用。

3.2 胞内PD-L1其他可能的靶点

已知IFN具有抗肿瘤作用,包括CASP依赖性凋亡、抑制细胞生长和细胞衰老^[60-62]。IFN在抗癌免疫反应中发挥着关键作用,并有助于常规治疗和免疫治疗的疗效。PD-L1通过其胞质内结构域的信号转导抵抗IFN β 细胞毒性,从而保护癌细胞免受IFN β 毒性^[63]。

为了进一步研究PD-L1胞内结构域的其他可能的靶点,故深入了解胞内PD-L1参与IFN β 介导的细胞毒性作用过程的具体序列,分别是“RMLDVEKC”“DTSSK”和“QFEET”。RMLDVEKC减弱IFN β 介导的细胞毒性作用,DTSSK与精氨酸271和280作为负调节剂,导致肿瘤对IFN β 的敏感性提高^[64]。这些序列构成了非常规信号传导序列,与任何已知的信号转导序列都不相似。只有序列EKCGVEDTSSKNR与DNA介导的RNA聚合酶亚基 β 中的一个结构域高度相似,该结构域包括DTSSK序列。

若在后续研究中,可以进一步确定RMLDVEKC整个序列的晶体结构,再人工合成选择性抑制剂,抑制其减毒作用,这样以后治疗肿瘤时就可以增强IFN β 的细胞毒性,从而杀伤肿瘤细胞。或者进一步研究如何增加DTSSK序列的表达量,增强IFN β 介导的细胞毒性,抑制癌症进一步发生及进展。有些细胞内PD-L1介导的癌细胞内信号通路,不会受到抗PD-L1抗体的影响^[32]。这意味着,设计新的方法来靶向癌细胞内的PD-L1信号可能辅助抗PD-L1抗体,疗效更强,副作用更少,预后更好。

综上所述,胞内PD-L1能够影响胞内信号转导或进入核内调控靶基因转录,通过非免疫检测点功能广泛参与肿瘤细胞的恶性进程,如调控肿瘤细胞的DNA损伤修复、自噬和迁移侵袭能力。根据临床研究,联用PD-L1核转移抑制剂和胞内PD-L1靶向抗体可增强肿瘤治疗的疗效,在未来其或许可用于癌症治疗。研究中发现胞内PD-L1还能触发其他免

疫检查点分子的表达,而这些分子并不是PD-1/PD-L1阻断的靶点,这表明PD-L1还可能调控许多肿瘤细胞恶性表位的表达,但是目前其机制还尚不清楚。在未来的研究中,我们可以研究其表达途径,并将其靶基因作为未来的治疗靶点。

参考文献:

- [1] Ying H,Zhang X,Duan Y,et al. Non-cytomembrane PD-L1: an atypical target for cancer [J]. Pharmacol Res, 2021,170:105741.
- [2] Jaccard A,Ho PC. The hidden side of PD-L1 [J]. Nat Cell Biol,2020,22(9):1031-1032.
- [3] Gao Y,Nihira NT,Bu X,et al. Acetylation-dependent regulation of PD-L1 nuclear translocation dictates the efficacy of anti-PD-1 immunotherapy [J]. Nat Cell Biol,2020,22(9):1064-1075.
- [4] Du W,Zhu J,Zeng Y,et al. KPNB1-mediated nuclear translocation of PD-L1 promotes non-small cell lung cancer cell proliferation via the Gas6/MerTK signaling pathway[J]. Cell Death Differ,2021,28(4):1284-1300.
- [5] Bailly C,Thuru X,Quesnel B. Soluble programmed death ligand-1(sPD-L1): a pool of circulating proteins implicated in health and diseases[J]. Cancers(Basel),2021,13(12):3034.
- [6] Davidson TM,Foster N,Lucien F,et al. Rescuing cancer immunity by plasma exchange in metastatic melanoma (ReCIPE-M1): protocol for a single-institution,open-label safety trial of plasma exchange to clear sPD-L1 for immunotherapy[J]. BMJ Open,2022,12(5):e050112.
- [7] Rezaeian AH,Phan LM,Zhou X,et al. Pharmacological inhibition of the SKP2/p300 signaling axis restricts castration-resistant prostate cancer [J]. Neoplasia,2023,38:100890.
- [8] Hu X,Lin Z,Wang Z,et al. Emerging role of PD-L1 modification in cancer immunotherapy [J]. Am J Cancer Res, 2021,11(8):3832-3840.
- [9] Kell MJ,Ang SF,Pigati L,et al. Novel function for AP-1B during cell migration [J]. Mol Biol Cell,2020,31(22):2475-2493.
- [10] Li Q,Deng MS,Wang RT,et al. PD-L1 upregulation promotes drug-induced pulmonary fibrosis by inhibiting vimentin degradation[J]. Pharmacol Res,2023,187:106636.
- [11] Tu X,Qin B,Zhang Y,et al. PD-L1(B7-H1) competes with the RNA exosome to regulate the DNA damage response and can be targeted to sensitize to radiation or chemotherapy[J]. Mol Cell,2019,74(6):1215-1226.e4.

- [12] Kornepati AVR, Boyd JT, Murray CE, et al. Tumor intrinsic PD-L1 promotes DNA repair in distinct cancers and suppresses PARP inhibitor-induced synthetic lethality [J]. *Cancer Res*, 2022, 82(11):2156–2170.
- [13] Sherker A, Chaudhary N, Adam S, et al. Two redundant ubiquitin-dependent pathways of BRCA1 localization to DNA damage sites [J]. *EMBO Rep*, 2021, 22(12):e53679.
- [14] Cheon H, Holvey-Bates EG, McGrail DJ, et al. PD-L1 sustains chronic, cancer cell-intrinsic responses to type I interferon, enhancing resistance to DNA damage [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2021, 118(47):e2112258118.
- [15] Mann EK, Lee KJ, Chen D, et al. Associations between DNA damage and PD-L1 expression in ovarian cancer, a potential biomarker for clinical response [J]. *Biology (Basel)*, 2021, 10(5):385.
- [16] Ozawa N, Yokobori T, Osone K, et al. PD-L1 upregulation is associated with activation of the DNA double-strand break repair pathway in patients with colitic cancer [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1):13077.
- [17] Murray C, Galvan E, Ontiveros C, et al. Pharmacologic tumor PDL1 depletion with cefepime or ceftazidime promotes DNA damage and sensitivity to DNA-damaging agents [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(9):5129.
- [18] Garcia-Diaz A, Shin DS, Moreno BH, et al. Interferon receptor signaling pathways regulating PD-L1 and PD-L2 expression [J]. *Cell Rep*, 2017, 19(6):1189–1201.
- [19] Williams RM, Zhang X. Roles of ATM and ATR in DNA double strand breaks and replication stress [J]. *Prog Biophys Mol Biol*, 2021, 161:27–38.
- [20] Sen T, Rodriguez BL, Chen L, et al. Targeting DNA damage response promotes antitumor immunity through STING-mediated T-cell activation in small cell lung cancer [J]. *Cancer Discov*, 2019, 9(5):646–661.
- [21] Feng D, Qin B, Pal K, et al. BRAF(V600E)-induced, tumor intrinsic PD-L1 can regulate chemotherapy-induced apoptosis in human colon cancer cells and in tumor xenografts [J]. *Oncogene*, 2019, 38(41):6752–6766.
- [22] Feng D, Chen Z, He X, et al. Loss of tumor intrinsic PD-L1 confers resistance to drug-induced apoptosis in human colon cancer [J]. *Neoplasma*, 2021, 68(1):144–153.
- [23] Zhao Y, Wang Y, Wang Q. HNRNPL affects the proliferation and apoptosis of colorectal cancer cells by regulating PD-L1 [J]. *Pathol Res Pract*, 2021, 218:153320.
- [24] Li C, Qiu J, Xue Y. Low-dose diosbulbin-B (DB) activates tumor-intrinsic PD-L1/nlrp3 signaling pathway mediated pyroptotic cell death to increase cisplatin-sensitivity in gastric cancer (GC) [J]. *Cell Biosci*, 2021, 11(1):38.
- [25] Theivanthiran B, Evans KS, DeVito NC, et al. A tumor-intrinsic PD-L1/nlrp3 inflammasome signaling pathway drives resistance to anti-PD-1 immunotherapy [J]. *J Clin Invest*, 2020, 130(5):2570–2586.
- [26] Li X, He S, Ma B. Autophagy and autophagy-related proteins in cancer [J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1):12.
- [27] Zhang D, Reyes RM, Osta E, et al. Bladder cancer cell-intrinsic PD-L1 signals promote mTOR and autophagy activation that can be inhibited to improve cytotoxic chemotherapy [J]. *Cancer Med*, 2021, 10(6):2137–2152.
- [28] Gao H, Zhang J, Ren X. PD-L1 regulates tumorigenesis and autophagy of ovarian cancer by activating mTORC signaling [J]. *Biosci Rep*, 2019, 39(12):BSR20191041.
- [29] Chen Z, Liu S, Xie P, et al. Tumor-derived PD1 and PD-L1 could promote hepatocellular carcinoma growth through autophagy induction in vitro [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2022, 605:82–89.
- [30] Chen RQ, Xu XH, Liu F, et al. The binding of PD-L1 and Akt facilitates glioma cell invasion upon starvation via Akt/autophagy/f-actin signaling [J]. *Front Oncol*, 2019, 9:1347.
- [31] Clark CA, Gupta HB, Sareddy G, et al. Tumor-intrinsic PD-L1 signals regulate cell growth, pathogenesis, and autophagy in ovarian cancer and melanoma [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(23):6964–6974.
- [32] Kornepati AVR, Vadlamudi RK, Curiel TJ. Programmed death ligand 1 signals in cancer cells [J]. *Nat Rev Cancer*, 2022, 22(3):174–189.
- [33] Tsai TF, Chang AC, Chen PC, et al. Autophagy blockade potentiates cancer-associated immunosuppression through programmed death ligand-1 upregulation in bladder cancer [J]. *J Cell Physiol*, 2022, 237(9):3587–3597.
- [34] Wang X, Wu WKK, Gao J, et al. Autophagy inhibition enhances PD-L1 expression in gastric cancer [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1):140.
- [35] Gou Q, Che S, Chen M, et al. PPAR γ inhibited tumor immune escape by inducing PD-L1 autophagic degradation [J]. *Cancer Sci*, 2023, 12(3):2871–2881.
- [36] Liang J, Wang L, Wang C, et al. Verteporfin inhibits PD-L1 through autophagy and the STAT1-IRF1-TRIM28 signaling axis, exerting antitumor efficacy [J]. *Cancer Immunol Res*, 2020, 8(7):952–965.
- [37] Li H, Kuang X, Liang L, et al. The beneficial role of sunitinib in tumor immune surveillance by regulating tumor PD-L1 [J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2021, 8(2):2001596.
- [38] Wang H, Shi Y, Ma D, et al. Cinchonine exerts anti-tumor and immunotherapy sensitizing effects in lung cancer by impairing autophagic-lysosomal degradation [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 164:114980.

- [39] Zhu J, Li Y, Luo Y, et al. A feedback loop formed by ATG7/autophagy, FOXO3a/miR-145 and PD-L1 regulates stem-like properties and invasion in human bladder cancer[J]. *Cancers(Basel)*, 2019, 11(3):349.
- [40] Gao Z, Chen JF, Li XG, et al. KRAS acting through ERK signaling stabilizes PD-L1 via inhibiting autophagy pathway in intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. *Cancer Cell Int*, 2022, 22(1):128.
- [41] Chmurska A, Matczak K, Marczak A. Two faces of autophagy in the struggle against cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(6):2981.
- [42] Cui Y, Shi J, Cui Y, et al. The relationship between autophagy and PD-L1 and their role in antitumor therapy[J]. *Front Immunol*, 2023, 14:1093558.
- [43] Brabletz S, Schuhwerk H, Brabletz T, et al. Dynamic EMT: a multi-tool for tumor progression[J]. *EMBO J*, 2021, 40(18):e108647.
- [44] Cui P, Jing P, Liu X, et al. Prognostic significance of PD-L1 expression and its tumor-intrinsic functions in hypopharyngeal squamous cell carcinoma [J]. *Cancer Manag Res*, 2020, 12:5893–5902.
- [45] Fei Z, Deng Z, Zhou L, et al. PD-L1 induces epithelial-mesenchymal transition in nasopharyngeal carcinoma cells through activation of the PI3K/Akt pathway[J]. *Oncol Res*, 2019, 27(7):801–807.
- [46] Salvi A, Thanabalu T. WIP promotes in-vitro invasion ability, anchorage independent growth and EMT progression of A549 lung adenocarcinoma cells by regulating RhoA levels [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 482(4):1353–1359.
- [47] Yu W, Hua Y, Qiu H, et al. PD-L1 promotes tumor growth and progression by activating WIP and β -catenin signaling pathways and predicts poor prognosis in lung cancer[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(7):506.
- [48] Chen C, Li S, Xue J, et al. PD-L1 tumor-intrinsic signaling and its therapeutic implication in triple-negative breast cancer[J]. *JCI Insight*, 2021, 6(8):e131458.
- [49] Ahn CH, Oh KY, Jin B, et al. Targeting tumor-intrinsic PD-L1 suppresses the progression and aggressiveness of head and neck cancer by inhibiting GSK3 β -dependent snail degradation[J]. *Cell Oncol(Dordr)*, 2023, 46(2):267–282.
- [50] Zhang Y, Zeng Y, Liu T, et al. The canonical TGF- β /Smad signalling pathway is involved in PD-L1-induced primary resistance to EGFR-TKIs in EGFR-mutant non-small-cell lung cancer[J]. *Respir Res*, 2019, 20(1):164.
- [51] Qiu XY, Hu DX, Chen WQ, et al. PD-L1 confers glioblastoma multiforme malignancy via Ras binding and Ras/Erk/EMT activation [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2018, 1864(5 Pt A):1754–1769.
- [52] Wang Y, Wang H, Zhao Q, et al. PD-L1 induces epithelial-to-mesenchymal transition via activating SREBP-1c in renal cell carcinoma[J]. *Med Oncol*, 2015, 32(8):212.
- [53] Gao Y, Nan X, Shi X, et al. SREBP1 promotes the invasion of colorectal cancer accompanied upregulation of MMP7 expression and NF- κ B pathway activation [J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1):685.
- [54] Eichberger J, Schulz D, Pscheidl K, et al. PD-L1 influences cell spreading, migration and invasion in head and neck cancer cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(21):8089.
- [55] Figiel I, Kruk PK, Zaręba-Kozioł M, et al. MMP-9 signaling pathways that engage Rho GTPases in brain plasticity [J]. *Cells*, 2021, 10(1):166.
- [56] Zhu J, Huang G, Hua X, et al. CD44s is a crucial ATG7 downstream regulator for stem-like property, invasion, and lung metastasis of human bladder cancer cells[J]. *Oncogene*, 2019, 38(17):3301–3315.
- [57] Zhu J, Li Y, Tian Z, et al. ATG7 overexpression is crucial for tumorigenic growth of bladder cancer in vitro and in vivo by targeting the ETS2/miRNA196b/FOXO1/p27 axis [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2017, 7:299–313.
- [58] Hayashi H, Nakagawa K. Combination therapy with PD-1 or PD-L1 inhibitors for cancer[J]. *Int J Clin Oncol*, 2020, 25(5):818–830.
- [59] Upadhyaya S, Neftelino ST, Hodge JP, et al. Combinations take centre stage in PD1/PDL1 inhibitor clinical trials[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2021, 20(3):168–169.
- [60] Simpson DS, Pang J, Weir A, et al. Interferon- γ primes macrophages for pathogen ligand-induced killing via a caspase-8 and mitochondrial cell death pathway[J]. *Immunity*, 2022, 55(3):423–441.e9.
- [61] Han J, Wu M, Liu Z. Dysregulation in IFN- γ signaling and response: the barricade to tumor immunotherapy[J]. *Front Immunol*, 2023, 14:1190333.
- [62] Homann L, Rentschler M, Brenner E, et al. IFN- γ and TNF induce senescence and a distinct senescence-associated secretory phenotype in melanoma [J]. *Cells*, 2022, 11(9):1514.
- [63] Xue Z, Zheng S, Linghu D, et al. PD-L1 deficiency sensitizes tumor cells to DNA-pk inhibition and enhances cGAS-STING activation[J]. *Am J Cancer Res*, 2022, 12(5):2363–2375.
- [64] Gato-Cañas M, Zuazo M, Arasanz H, et al. PD-L1 signals through conserved sequence motifs to overcome interferon-mediated cytotoxicity[J]. *Cell Rep*, 2017, 20(8):1818–1829.