

¿Una nueva vía terapéutica para controlar el VIH? La molécula PD1 en la inhibición de la respuesta inmune celular

María Candela Iglesias-Chiesa,* Brenda Crabtree-Ramírez y Gustavo Reyes-Terán

Centro de Investigación en Enfermedades Infecciosas, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, SSA., México D.F., México

Recibido en su versión modificada: 5 de noviembre de 2007

Aceptado: 9 de noviembre de 2007

RESUMEN

Los linfocitos T CD8⁺ protegen contra infecciones virales mediante la secreción de sustancias antivirales y lisis de células infectadas. La pérdida de estas funciones es notoria en algunas infecciones virales crónicas. En la infección crónica por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), los linfocitos T CD8⁺ adquieren este fenotipo "agotado" y su protección disminuye. Recientemente se ha demostrado que la molécula co-inhibitoria PD1 desempeña un papel en este fenotipo "agotado". Dichos hallazgos, abren las puertas a posibilidades de investigación e intervención terapéutica, para lograr restaurar la función de los T CD8⁺ en la infección por VIH.

Palabras clave:

Virus de la inmunodeficiencia humana, molécula co-inhibitoria PD1, linfocitos T CD8⁺, inmunoterapia

SUMMARY

CD8⁺ T cells are crucial in protecting against viral infections by secreting antiviral factors and lysing infected cells. The loss of these functions is a hallmark of various chronic viral infections. In HIV chronic infection, CD8⁺ T cells develop this exhausted phenotype and their protection capacities diminish. Recently, it has been shown that a co-inhibitory molecule called PD-1 plays an important role on this exhausted phenotype. These findings open up the possibility of research targeted to develop therapeutic interventions that may restore CD8⁺ T cell function in chronic HIV infection.

Key words:

Human immunodeficiency virus, co-inhibitory molecule PD1, CD8⁺ T lymphocytes, immunotherapy

La respuesta inmune celular y en particular los linfocitos T CD8⁺ desempeña un papel vital en la protección contra un gran número de infecciones virales. Sin embargo, muchos virus causantes de infecciones crónicas han logrado desarrollar estrategias para evadir esta respuesta. Una de estas estrategias es la inducción de un estado de "agotamiento" en los linfocitos T CD8⁺, caracterizado por la pérdida de funcionalidad de estas células.

La importancia de la respuesta inmune celular y de los linfocitos T CD8⁺ en la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) ha sido claramente establecida. Durante la fase aguda de la infección, la aparición de los linfocitos T CD8⁺ específicos contra el VIH coincide con la disminución temporal de la carga viral posterior al pico de replicación.¹⁻³ En la infección crónica, a pesar de la depleción continua de linfocitos T CD4⁺, se logra mantener una respuesta T CD8⁺ que controla de forma parcial al virus mediante la secreción de sustancias antivirales (citocinas y quimioquinas) y la lisis de células infectadas. Sin embargo, a medida que avanza la infección crónica, la protección conferida por

la respuesta T CD8⁺ disminuye.^{4,5} Los linfocitos T CD8⁺ van perdiendo sus capacidades de secreción de citocinas y de proliferación, es decir, adquieren un fenotipo "agotado", y finalmente pierden la batalla contra el virus.

Artículos recientes han mostrado la importancia de la molécula PD1 (*programmed cell death*, también conocida como CD279) en este fenotipo "agotado" de los linfocitos T en pacientes con infección crónica por VIH.⁶⁻⁸ La molécula PD1 pertenece a la familia de B7/CD28, compuesta por glicoproteínas de superficie que desempeñan un papel en la regulación de la respuesta inmune celular.⁹ Esta molécula puede ser inducida en células T, B y células mieloides *in vitro*.¹⁰ La evidencia experimental acumulada y descrita en la literatura sugiere que PD1 está involucrada en la tolerancia inmune, ya que actúa como regulador negativo de las respuestas de las células T (Figura 1).⁹ La deficiencia de PD1 en ratones favorece la aparición de enfermedades autoinmunes.^{11,12} Por otro lado, PD1 también participa en la inducción de la tolerancia de células T contra antígenos virales en ciertos órganos periféricos, en particular el hígado.^{13,14} Los

*Correspondencia y solicitud de sobretiros: María Candela Iglesias-Chiesa. Calzada de Tlalpan 4502, Col. Sección XVI, Deleg. Tlalpan, 14080 México D.F., México. Tel. y fax: (55) 5666 7985. Correo electrónico: candela.iglesias@cieni.org.mx; candela@iner.gob.mx.

ligandos de PD1 conocidos hasta la fecha son PDL1 (también llamado B7H1 o CD274) y PDL2 (también llamado B7DC o CD273). La expresión de PDL2 se restringe a células dendríticas y algunos macrófagos estimulados,¹⁵⁻¹⁷ mientras que PDL1 tiene una distribución más amplia, expresándose en múltiples células en varios tejidos periféricos^{15,18}. Lo anterior sugiere que PDL1, a través de su interacción con PD1, tendría un papel preponderante en el establecimiento de la tolerancia en los tejidos periféricos.⁹

El interés por estudiar la molécula PD1 en las infecciones virales crónicas, en particular la infección por VIH, vino de un artículo publicado a principios de 2006.¹⁹ En este estudio, los autores utilizan el modelo de infección con el LCMV (virus de la coriomeningitis linfocítica) en ratones, del cual existen cepas que causan una infección aguda y cepas que estable-

cen una infección crónica. Los autores mostraron que la expresión de PD1 en los linfocitos T específicos contra el LCMV, aumentaba y se mantenía elevada durante la infección crónica, a diferencia de su expresión temporal en la infección aguda, la cual mostró ser controlada y resuelta por el sistema inmune del ratón.

El hallazgo más espectacular de este estudio fue la reversión del fenotipo "agotado" de los linfocitos T al inyectar a los ratones un anticuerpo antiPD1 para bloquear la interacción de PD1 con su ligando. Los linfocitos T de los ratones recuperaron sus funciones de secreción de citocinas y proliferación, y lo más importante: se observó drástica disminución de la carga viral en los animales.¹⁹

En seguimiento a este estudio, tres grupos de investigadores diferentes evaluaron si PD1 estaba involucrada en el

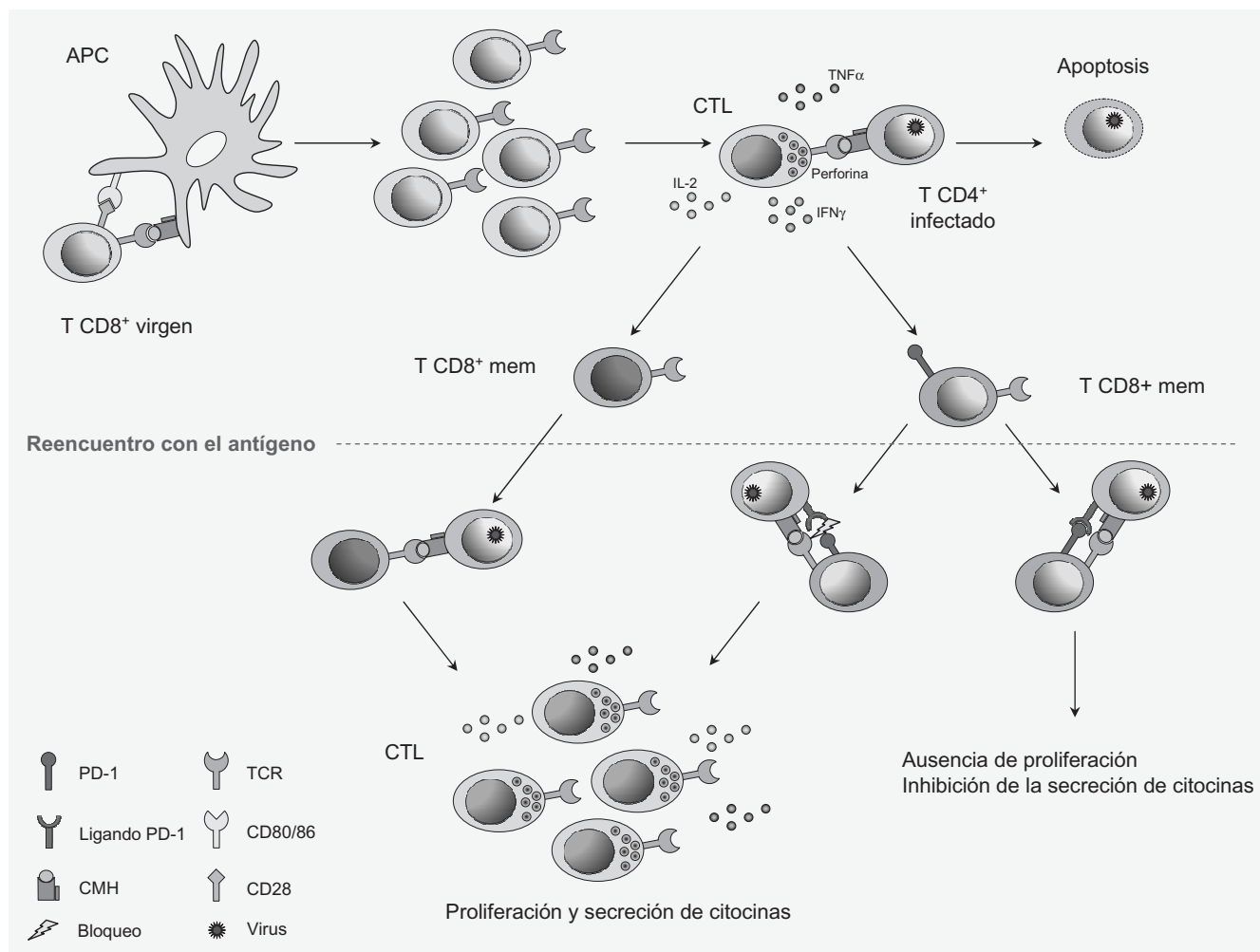


Figura 1. Papel de la molécula PD1 en la pérdida de funcionalidad de los linfocitos T CD8⁺. Un linfocito T CD8⁺ virgen se activa al encontrar por primera vez su antígeno en una célula presentadora de antígenos (APC). El linfocito prolifera y se diferencia en un linfocito T citotóxico (CTL) capaz de secretar citocinas y lisar células blancas (en este caso un linfocito T CD4⁺ infectado por el VIH). Los CTL darán lugar a linfocitos T CD8⁺ de memoria (mem), capaces de responder rápidamente ante un nuevo estímulo por el mismo antígeno. En las infecciones virales crónicas estos T CD8⁺ de memoria expresan PD1 y al reencontrarse al antígeno, su proliferación y capacidad de secreción de citocinas se ve inhibida. Estas funciones parecen recuperarse al bloquear la interacción entre PD1 y su ligando.

fenotipo "agotado" de los linfocitos T en pacientes infectados con VIH.⁶⁻⁸ En estudios *in vitro*, los autores encontraron que la expresión de PD1 estaba aumentada en linfocitos T CD8⁺ antiVIH, así como en linfocitos T CD8⁺ y T CD4⁺ totales en personas en la fase crónica de la infección que no tenían tratamiento antirretroviral. Dos de los grupos de investigación encontraron, además, que la expresión de PD1 se asoció con el fenotipo "agotado" de los linfocitos T CD8⁺ y con los marcadores clásicos de progresión de la enfermedad (asociación positiva con carga viral e inversa con el número de linfocitos T CD4⁺). Por otra parte, los pacientes que iniciaron tratamiento antirretroviral y disminuyeron la carga viral a concentraciones indetectables, también disminuyeron la expresión de PD1.^{6,8}

Al agregar *in vitro* un anticuerpo antiPDL1 para bloquear la interacción de PD1 con su ligando, dos de los estudios mostraron recuperación en la capacidad de proliferación de los linfocitos T CD8⁺ y CD4⁺ y de secreción de citocinas de los T CD8⁺, aunque ésta no fue tan impresionante como en el modelo murino.^{6,8} En el tercer estudio no se encontró que la expresión de PD1 estuviera directamente asociada con una incapacidad de producción de citocinas, sino que la presencia de esta molécula aumentaba la sensibilidad a la apoptosis de los linfocitos T CD8⁺ antiVIH.⁷ A pesar de estas discrepancias, estos estudios muestran que PD1 puede influir de forma importante en las funciones efectoras de los linfocitos T CD8⁺ en la infección por el VIH y, sobre todo, muestran que el fenotipo "agotado" es reversible.

Los estudios mencionados abren las puertas a nuevas posibilidades de investigación para una posible intervención terapéutica, utilizando, por ejemplo, un anticuerpo antiPDL1 para restaurar la capacidad de los linfocitos T CD8⁺ de controlar el VIH. Sin embargo, quedan aún muchas preguntas por contestar. Necesitamos aclarar si la expresión de PD1 es sólo un marcador del "agotamiento" de estas células o si su presencia desempeña un papel en el establecimiento del fenotipo "agotado". Además, es necesario determinar si el desenlace de la señalización a través de PD1 es la supresión de la producción de citocinas y de la proliferación o la apoptosis. Es posible imaginar la pérdida progresiva de las funciones de los linfocitos T a medida que aumenta el nivel de expresión de PD1, culminando en la apoptosis para los linfocitos con una mayor expresión de la molécula.

Otro aspecto importante que concierne a una de las funciones principales de los linfocitos T CD8⁺ es la lisis de células infectadas. Si bien los estudios muestran la influencia de PD1 en la proliferación, secreción de citocinas y apoptosis, ninguno abordó si la expresión de PD1 afecta la capacidad citolítica de las células.

Así mismo, es necesario investigar con mayor precisión hasta qué punto es reversible el fenotipo "agotado" de estas células y si una funcionalidad suficiente como para controlar al virus puede ser obtenida a través del bloqueo de la vía de señalización de PD1. Cabe imaginar que una recuperación sustancial de las funciones de los linfocitos T sea únicamente posible en la infección temprana, más no en una infección crónica avanzada, por lo que se requiere estudiar los efectos de PD1 en etapas tempranas de la infección por VIH.

En cuanto a la promisorio utilización terapéutica de un anticuerpo para bloquear PDL1 con el objetivo de mejorar la respuesta inmune celular, es necesario avanzar con cautela. En estudios clínicos recientes donde se ha estudiado la administración de anticuerpos contra otras moléculas de la familia B7/CD28 para ayudar a controlar el melanoma, no sólo no lograron los resultados esperados sino que se estimularon reacciones de tipo autoinmune en algunos de los pacientes evaluados.^{20,21} Recientemente la compañía Medarex en conjunción con Ono Pharmaceuticals, anunció el comienzo de un ensayo clínico con un anticuerpo bloqueador de PD1 en pacientes con enfermedades malignas, puesto que múltiples estudios han mostrado que la expresión de PDL1 en células tumorales es un marcador de mal pronóstico y que el bloqueo de PD1 y su ligando aumenta, al menos *in vitro*, las respuestas de linfocitos T antitumorales.²² Este estudio mostrará si la interrupción temporal de la señalización por PD1 en humanos puede realizarse de forma segura, además de que abrirá el camino a un posible ensayo clínico para evaluar la utilización inmunoterapéutica de un anticuerpo antiPD1 o antiPDL1 en pacientes con infección por VIH.

Referencias

1. Borrow P, Lewicki H, Hahn BH, Shaw GM and Oldstone MB. Virus-specific CD8⁺ cytotoxic T-lymphocyte activity associated with control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Virol* 1994;68: 6103-6110.
2. Koup RA, Safrit JT, Cao Y, Andrews CA, McLeod G, Borkowsky W, et al. Temporal association of cellular immune responses with the initial control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 syndrome. *J Virol* 1994;68:4650-4655.
3. Lyles RH, Munoz A, Yamashita TE, Bazmi H, Detels R, Rinaldo CR, et al. Natural history of human immunodeficiency virus type 1 viremia after seroconversion and proximal to AIDS in a large cohort of homosexual men. Multicenter AIDS Cohort Study. *J Infect Dis* 2000;181:872-880.
4. Hoffenbach A, Langlade-Demoyen P, Dadaglio G, Vilmer E, Michel F, Mayaud C, et al. Unusually high frequencies of HIV-specific cytotoxic T lymphocytes in humans. *J Immunol* 1989;142:452-462.
5. Joly P, Guillon JM, Mayaud C, Plata F, Theodorou I, Denis M, et al. Cell-mediated suppression of HIV-specific cytotoxic T lymphocytes. *J Immunol* 1989;143:2193-2201.
6. Day CL, Kaufmann DE, Kiepiela P, Brown JA, Moodley ES, Reddy S, et al. PD-1 expression on HIV-specific T cells is associated with T-cell exhaustion and disease progression. *Nature* 2006;443:350-354.
7. Petrovas C, Casazza JP, Brenchley JM, Price DA, Gostick E, Adams WC, et al. PD-1 is a regulator of virus-specific CD8⁺ T cell survival in HIV infection. *J Exp Med* 2006;203:2281-2292.
8. Trautmann L, Janbazian L, Chomont N, Said EA, Wang G, Gimmig S, et al. Upregulation of PD-1 expression on HIV-specific CD8⁺ T cells leads to reversible immune dysfunction. *Nat Med* 2006;12:1198-1202.
9. Chen L. Co-inhibitory molecules of the B7-CD28 family in the control of T-cell immunity. *Nat Rev Immunol* 2004;4:336-347.
10. Agata Y, Kawasaki A, Nishimura H, Ishida Y, Tsubata T, Yagita H, et al. Expression of the PD-1 antigen on the surface of stimulated mouse T and B lymphocytes. *Int Immunol* 1996;8:765-772.
11. Nishimura H, Nose M, Hiai H, Minato N, Honjo T. Development of lupus-like autoimmune diseases by disruption of the PD-1 gene encoding an ITIM motif-carrying immunoreceptor. *Immunity* 1999;11:141-151.
12. Nishimura H, Okazaki T, Tanaka Y, Nakatani K, Hara M, Matsumori A, et al. Autoimmune dilated cardiomyopathy in PD-1 receptor-deficient mice. *Science* 2001;291:319-322.
13. Isogawa M, Furuichi Y, Chisari FV. Oscillating CD8(+) T cell effector functions after antigen recognition in the liver. *Immunity* 2005;23:53-63.
14. Iwai Y, Terawaki S, Ikegawa M, Okazaki T, Honjo T. PD-1 inhibits antiviral immunity at the effector phase in the liver. *J Exp Med* 2003;198:39-50.
15. Ishida M, Iwai Y, Tanaka Y, Okazaki T, Freeman GJ, Minato N, et al. Differential expression of PD-L1 and PD-L2, ligands for an inhibitory receptor PD-1, in the cells of lymphohematopoietic tissues. *Immunol Lett* 2002;84:57-62.

16. **Loke P, Allison JP.** PD-L1 and PD-L2 are differentially regulated by Th1 and Th2 cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:5336-5341.
17. **Yamazaki T, Akiba H, Iwai H, Matsuda H, Aoki M, Tanno Y, et al.** Expression of programmed death 1 ligands by murine T cells and APC. *J Immunol* 2002;169:5538-5545.
18. **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;33:2706-2716.
19. **Barber DL, Wherry EJ, Masopust D, Zhu B, Allison JP, Sharpe AH, et al.** Restoring function in exhausted CD8 T cells during chronic viral infection. *Nature* 2006;439:682-687.
20. **Phan GQ, Yang JC, Sherry RM, Hwu P, Topalian SL, Schwartzentruber DJ, et al.** Cancer regression and autoimmunity induced by cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 blockade in patients with metastatic melanoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:8372-8377.
21. **Wadman M.** London's disastrous drug trial has serious side effects for research. *Nature* 2006;440:388-389.
22. **Blank C, Kuball J, Voelkl S, Wiendl H, Becker B, Walter B, et al.** Blockade of PD-L1 (B7-H1) augments human tumor-specific T cell responses in vitro. *Int J Cancer* 2006;119:317-327.