

Ministério da Saúde



COORDENAÇÃO DE ENSINO

Residência Médica em Patologia

Lucas Quinet de Andrade Bastos

**Expressão do PD-L1 correlacionada ao infiltrado linfocitário tumoral nas
neoplasias de mama: revisão sistemática da literatura**

Rio de Janeiro

2018

Lucas Quinet de Andrade Bastos

**Expressão do PD-L1 correlacionada ao infiltrado linfocitário tumoral nas
neoplasias de mama: revisão sistemática da literatura**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto Nacional de
Câncer José Alencar Gomes da Silva
como requisito parcial para a conclusão

do programa de residência médica em
patologia

Orientador: Dr. Aline Helen da Silva
Camacho

Doutoranda em Medicina (Anatomia
Patológica) - UFRJ

Rio de Janeiro

2018

Lucas Quinet de Andrade Bastos

**Expressão do PD-L1 correlacionada ao infiltrado linfocitário tumoral nas
neoplasias de mama: revisão sistemática da literatura**

Avaliado e Aprovado por:

Nome do orientador: Dra. Aline Helen da Silva Camacho

Ass. _____

Nome do(a) avaliador(a) Dra. Ana Lucia Amaral Eisenberg

Ass. _____

Rio de Janeiro, ____/____/____.

Rio de Janeiro
2018

SUMÁRIO:

Introdução -----	08
Metodologia -----	10
Discussão -----	11
Conclusão -----	14
Referências -----	15
Anexo -----	20

RESUMO

A importância do sistema imune como uma eficiente defesa anti-tumoral vem sendo consolidada nos últimos anos e terapias imuno-relacionadas vem contribuindo fortemente no tratamento do câncer de mama. O infiltrado linfocitário tumoral (TILs) reflete a tentativa do sistema imune de erradicar a neoplasia maligna. Durante décadas, o TILs demonstra um papel importante no prognóstico dos cânceres de mama, especialmente nos subtipos moleculares HER2+ e triplos negativos. Já a proteína de morte celular programada 1 (PD-1), tem papel inverso ao se ligar aos seus ligantes, ligante 1 da proteína de morte celular programada 1 (PD-L1) e ligante 2 da proteína de morte celular programada 1 (PD-L2), apresentado uma ação imunossupressora no microambiente tumoral, favorecendo bastante a progressão neoplásica. Nesse contexto, muitos estudos atuais vem mostrando os benefícios do tratamento neoadjuvante e adjuvante, com objetivo de inibir a ligação PD-1/PD-L1 e potencializar a resposta imune contra o tumor. O presente estudo tem por objetivo apresentar um levantamento dos dados publicados na literatura médica a respeito da expressão do PD-L1 e dos TILs nos carcinomas mamários. Realizou-se uma revisão sistemática da literatura na base de dados "PubMed", compreendendo um período de 5 anos, de 2013 até 2017, com os seguintes descritores: "PD-1", "PD-L1", "TILs", "breast" e "cancer".

Palavras chave:

Infiltrado linfocitário tumoral (TILs); proteína de morte celular programada 1 (PD-1); ligante 1 da proteína de morte celular programada 1 (PD-L1); câncer; mama.

ABSTRACT

The importance of the immune system as an anti-tumor defense has been consolidated in recent years, and anti-tumor therapies have been contributing heavily in the treatment of breast cancer. Tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) reflects an immune system's attempt to eradicate a malignant neoplasm. For decades, TILs have been shown to play an important role in the prognosis of breast cancers, especially in the HER2 + and triple negative molecular subtypes. On the other hand, the programmed cell death protein 1 (PD-1) plays an inverse role in binding to its ligands, the programmed death protein 1 ligand 1 (PD-L1) and the programmed death protein 1 ligand 2 (PD-L2), presenting an immunosuppressive action in the tumor microenvironment and favoring neoplastic progression. In this context, many current studies have shown the benefit of neoadjuvant and adjuvant treatment, in order to inhibit PD-1/PD-L1 binding and potentiate the immune response against the tumor. The present study aims to present a survey of the data published in the medical literature regarding the expression of PD-L1 and TILs in mammary carcinomas. A systematic review of the literature was carried out in the PubMed database, comprising a period of 5 years, from 2013 to 2017, with the following descriptors: "PD-1", "PD-L1", "TILs" breast "and" cancer ".

Keywords:

Tumor-infiltrating lymphocytes (TILs); programmed cell death protein 1 (PD-1); programmed death protein 1 ligand 1 (PD-L1); cancer; breast.

INTRODUÇÃO

O câncer de mama é o tumor mais comum em mulheres, correspondendo a 25% de todos os tumores do sexo feminino e a um quarto dos tumores de pacientes de países em desenvolvimento. Apesar de já existirem inúmeros fatores prognósticos relacionados ao estadiamento (tamanho do tumor e envolvimento nodal), graduação histológica (pleomorfismo nuclear e mitoses) e expressão gênica do tumor (receptores hormonais e HER 2), outros fatores prognósticos e de risco, ainda não tão compreendidos, estão sendo estudados com objetivo de descobrir novos tratamentos e melhorar a expectativa e qualidade de vida desses pacientes (**Baldassarre et al., 2016**).

Nos casos de neoplasia ou até mesmo de uma leve infecção, o sistema imune tem papel fundamental na manutenção da homeostasia tecidual, coordenando as reações inflamatórias através da imunidade adaptativa e inata (**Schalper et al., 2014**). A transformação neoplásica das células altera a homeostasia do tecido e induz o sistema imune a tentar eliminar as células tumorais. Nos casos em que a extinção do tumor é incompleta, a chance de progressão tumoral é enorme, mesmo com a manutenção da resposta imune anti-tumoral contínua (**Mittal et al., 2014**).

Devido a isso, a avaliação do microambiente tumoral é de extrema importância para o controle da neoplasia. Já que é nesse local onde se inicia os primeiros atos de nosso sistema imune para o combate às células tumorais (**Wimberly et al., 2015**).

Na mama, o desenvolvimento e progressão dos tumores malignos esta diretamente relacionado às células do microambiente tumoral. Nas fases iniciais dos tumores HER2+ e nos triplos negativos, os TILs são detectados em mais de 75% das neoplasias com 20% dos casos apresentando um infiltrado denso. Enquanto nos tumores luminais esse infiltrado linfocitário é geralmente pobre. Isso ocorre pelo fato dos tumores HER2+ e triplos negativos serem mais imunogênicos, podendo indicar um melhor prognóstico (**García-Tejido et al., 2016; Dieci et al., 2017**). Imunogenicidade essa, que ocorrem entre receptores expressos na superfície das células estromais, com seus ligantes, presentes principalmente nas células neoplásicas (**Kitano et al., 2017**).

Muito associado aos tumores com TILs estão as proteínas PD-1 e PD-L1. A expressão dessas proteínas na superfície de múltiplas células do infiltrado linfocitário tumoral ocorre de forma diretamente proporcional a concentração do TILs no tumor. A associação e conexão desses bio-marcadores se faz principalmente entre o linfócito T no estroma tumoral com a célula mamária neoplásica (**Kroemer et al., 2015**).

PD-1 é uma proteína, co-receptora, da família da imunoglobulina CD28/CTLA-4 expressa em várias células imunes, entre elas nas células T ativadas do infiltrado linfocitário tumoral (**He et al., 2015**). Quando ligada ao seus ligantes, PD-L1 e PD-L2, presentes nas células apresentadoras de antígeno (APCs) e em células tumorais, forma-se uma ação co-inibitória sobre o sistema imune anti-tumor causando a preservação do tecido local (**Schalper et al., 2014**). Esse ato é crucial para preservar o tecido não neoplásico do dano colateral, causado pela resposta imune, contra o tumor (**Disis et al., 2015**). Em contrapartida, a diminuição da eficiência do sistema imune no microambiente tumoral, forma um meio extremamente favorável ao desenvolvimento da neoplasia (**Sun et al., 2015**).

METODOLOGIA

Realizou-se uma revisão sistemática da literatura médica na base de dados “PubMed”, compreendendo um período de 5 anos, de 2013 até 2017, com os seguintes descritores: “PD-1”, “PD-L1”, “TILs”, “breast” e “cancer”.

Os critérios de inclusão foram: artigos relacionados a neoplasias com infiltrado leucocitário tumoral ou PD-L1 positivo, publicados em língua inglesa com estudo imuno-histoquímico realizado em material humano. Os critérios de exclusão foram: artigos publicados em língua não-inglesa, estudos em animais ou que não se relacione diretamente com exame imuno-histoquímico (PD-L1) e/ou TILs no microambiente tumoral.

DISCUSSÃO

Desde Virchow (1863) e Paget (1889) a discussão sobre a conexão entre a inflamação crônica e o desenvolvimento do câncer vem sendo abordada, tendo o TILs, presente no microambiente de várias neoplasias, obtido uma atenção muito especial (**Romagnoli et al., 2017**).

Embora os TILs tenham sido observados há muito tempo nos tumores de mama, somente estudos realizados nos últimos anos, demonstraram a natureza imunogênica e o caráter específico dos TILs na progressão tumoral e na resposta ao tratamento do câncer de mama HER2+ e triplo negativo, tumores mais imunogênicos. (**Luen et al., 2017**). Os macrófagos e as células T efetoras CD3 e CD8+, tem papéis fundamentais na ação imunogênica e resposta patológica dos TILs na neoplasia de mama, enquanto os linfócitos B CD20+ apresentam importância apenas secundária (**Pruneri et al., 2016**). Em contrapartida, não são só células imunes efetoras que estão presentes no infiltrado dos TILs, células T regulatórias (Tregs), FOXP3 e CD4+, também podem participar dos TILs. Essas células, ao contrário das células T efetoras, podem abrigar atividade imunossupressora, promovendo o crescimento tumoral e restringindo a efetividade imune das células T CD3 e CD8+ (**Salgado et al., 2015**).

Com esse conhecimento sobre os TILs, fica claro a importância da imunohistoquímica e da quantificação do infiltrado nos casos de tumores de mama HER2+ e triplo negativo, onde o infiltrado linfocitário tumoral está presente em mais de 75% dos casos e com 20% apresentando um infiltrado denso (Tabela 1). Já que a maior proporcionalidade da positividade das células T CD3 e CD8+ ou das células T CD4 e FOXP3+ é que irá definir a funcionalidade dos TILs junto às células neoplásicas (**Lee et al., 2013; Dieci et al., 2017**). Sendo a positividade para FOXP3+ rara nos TILs, já que sua positividade geralmente é tardia, período em que o tumor já está sendo tratado. Por isso a presença dos TILs, em níveis elevados, no microambiente tumoral é quase sempre relacionada a um melhor prognóstico (**Ravelli et al., 2017**).

A quantificação dos TILs na neoplasia tem que ser feita seguindo as recomendações do The International TILS Working Group. Utilizando-se a microscopia óptica e a coloração pela Hematoxilina e Eosina (H&E) para a contagem do infiltrado

inflamatório. Sendo o foco principal o infiltrado estromal e não o infiltrado intratumoral (Tabela 2). A cada aumento de 10% dos TILs nas neoplasias de mama há uma redução de cerca de 15 a 17% no risco de recidiva tumoral e de cerca de 17 a 27% no risco de morte independente do tipo de quimioterapia **(Loi et al., 2013)**. Tumores com TILs maior do que 50% passam a ser chamado de câncer de mama predominantemente linfocítico, cujo prognóstico é muito melhor **(Disis et al., 2015; Salgado et al., 2015)**.

O tratamento com quimioterapia neoadjuvante também apresenta uma grande relevância nos tumores HER-2+ e triplos negativos, já que há uma interessante relação desse tratamento com as neoplasias TILs+ **(Pelekanou et al., 2017)**. Isso ocorre, pois, a concentração linfocitária estromal e intratumoral, aumenta com o uso de alguns tratamentos neoadjuvantes, fazendo com que ocorra uma elevação da resposta patológica completa (RPC) e diminuição das metástases nos casos onde houver tumor residual **(Bianchini et al., 2015)**.

A resposta imune no câncer de mama é um fenômeno complexo baseado no balanço entre as vias ativadoras e inibidoras que regulam a atividade dos TILs. Esse balanço é alterado nos casos de neoplasia, cuja função primordial é realizar modificações no microambiente tumoral, causando a diminuição da atuação do sistema imune e facilitando a proliferação tumoral. Com base nesse complicado sistema ativador e inibitório, há a ligação dos bio-marcadores proteicos, PD-1/PD-L1, expressos na superfície dos linfócitos T e das células neoplásicas, respectivamente, como a principal via facilitadora para a progressão tumoral, inibindo a imunogenicidade dos TILs no microambiente da neoplasia **(Bertucci et al., 2015)**.

As células T, presente nos TILs do microambiente tumoral, reconhecem o antígeno tumoral (célula neoplásica), se ligam a ele através do seu receptor de células T (TCR), ficam ativadas e iniciam um processo de secreção de citocina inflamatórias que atuam na proliferação de novos linfócitos T e na resistência à morte tumoral. Com a manutenção da ligação antígeno/TCR e ação das citocinas inflamatórias há um estímulo maior da expressão do PD-1 na superfície da célula T e do PD-L1 na célula tumoral, facilitando a ligação receptor/ligante. PD-1/PD-L1 inibe a ligação antígeno/TCR, acarretando na redução da secreção das citocinas inflamatórias no microambiente tumoral. Conseqüentemente, há uma redução na proliferação de novas

células linfocitárias T e aumento na sobrevida tumoral (Figura 1) **(Buchbinder et al., 2016)**.

O PD-1, uma proteína, trans-membrana, expressa nos linfócitos T e B, monócitos e células natural killer, cuja principal função, quando ativada é regular a função, expansão e sobrevida das células T do infiltrado leucocitário, presente tanto em um processo infeccioso quanto em um processo tumoral. **(Mahoney et al., 2015)**. O PD-L1 é uma proteína ligante expressa em APCs e em cerca de 30% dos tumores de mama (epitélio/estroma), com o objetivo de ativar o PD-1, expresso nas células do microambiente tumoral **(Wimberly et al., 2015)**. A ideia principal dessa ligação PD-1/PD-L1 é inibir a ação imunogênica das células T para a preservação da homeostasia tecidual **(Dolan et al 2014)**.

A interação proteica entre o PD-1/PD-L1 tem como maior objetivo a proteção do tecido do hospedeiro. Mas, a ação anti-imunogênica secundária, provocada pela disfunção dos leucócitos T ativados, propicia um ambiente pró-tumoral muito eficaz para evolução do tumor e progressão de metástases **(Zhang et al., 2017)**. Com base nesses aspectos, muitos estudos evidenciam que a utilização de agentes quimioterápicos nos casos de tumores PD-L1 positivos, com objetivo de inibir a interação PD-1/PD-L1, e conseqüentemente evitar a ação anti-imunogênica do tumor são essenciais para uma maior sobrevida do paciente **(Schütz et al., 2017; Karnik et al., 2018)**.

A incidência do PD-L1 nas células neoplásicas do tumor de mama está altamente relacionada ao tipo tumoral (não luminal), grau histológico (alto grau) e concentração do TILs (elevada). Essas características mostram que a avaliação e classificação morfológica/imuno-histoquímica do tumor auxilia bastante o tratamento e prognóstico do doente **(Hartkopf et al., 2016; Alsaab., et al 2017)**.

CONCLUSÃO:

Múltiplos estudos na literatura concluíram que a expressão do PD-L1 e a presença do TILs são biologicamente importantes no prognóstico do câncer de mama triplo negativo e HER2+ e considerados os preditores básicos na resposta ao tratamento desses tumores. Porém, o valor prognóstico e preditivo do TILs, apesar de significativo, é modesto. Na maioria dos casos, o infiltrado linfocitário tem apenas um papel secundário na resposta anti-tumoral. Em contrapartida, a expressão do PD-L1 em alguns dos tumores mamários, constatado pela positividade da proteína PD-L1, imuno-histoquimicamente, apresenta um papel chave no combate à neoplasia. Essa positividade nas células tumorais cria a possibilidade de utilizar a conduta quimioterápica com imunomoduladores para inibir a ligação PD-1/PD-L1 e aumentar consideravelmente a expectativa de resposta tumoral completa no tratamento desses pacientes com câncer de mama.

REFERÊNCIAS:

Alsaab H.O., Sau S., Alzhrani R., Tatiparti K., Bhise K., Kashaw S.K., Iyer A.K. PD-1 and PD-L1 checkpoint signaling inhibition for cancer immunotherapy: mechanism, combinations, and clinical outcome. *Front. Pharmacol.* 2017;8:561.

Baldassarrea G, Belletti B. Molecular biology of breast tumors and prognosis. *F1000Res.* 2016; 5.

Bertucci F, Finetti P, Birnbaum D, Mamessier E. The PD1/PDL1 axis, a promising therapeutic target in aggressive breast cancers. *Oncoimmunology.* 2015; 31: e1085148.

Bianchini G, Puztai L, Pienkowski T, Im YH, Bianchi GV, Tseng LM, Liu MC, Lluch A, Galeota E, Magazzù D, de la Haba-Rodríguez J, Oh DY, Poirier B, Pedrini JL, Semiglazov V, Valagussa P, Gianni L. Immune modulation of pathologic complete response after neoadjuvant HER2-directed therapies in the NeoSphere trial. *Ann Oncol.* 2015; 26:2429-36.

Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 Pathways: Similarities, Differences, and Implications of Their Inhibition. *Am J Clin Oncol.* 2016; 39:98-106.

Demaria S, Pikarsky E, Karin M, Coussens LM, Chen YC, El-Omar EM, Trinchieri G, Dubinett SM, Mao JT, Szabo E, Krieg A, Weiner GJ, Fox BA, Coukos G, Wang E, Abraham RT, Carbone M, Lotze MT. Cancer and inflammation: promise for biologic therapy. *J Immunother.* 2010; 33:335-51.

Disis ML, Stanton SE. Triple-negative breast cancer: immune modulation as the new treatment paradigm. *Am Soc Clin Oncol Educ Book.* 2015; 25-30.

Dolan DE, Gupta S. PD-1 pathway inhibitors: changing the landscape of cancer immunotherapy. *Cancer Control*. 2014;231-7.

García-Tejido P, **Cabal** ML, **Fernández** IF, **Pérez** YF. Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Triple Negative Breast Cancer: The Future of Immune Targeting. *Clin Med Insights Oncol*. 2016; 10:31–39.

Hartkopf AD, Taran FA, Wallwiener M, Walter CB, Kramer B, Grischke EM, Brucker SY. PD-1 and PD-L1 Immune Checkpoint Blockade to Treat Breast Cancer. *Breast Care* 2016;11:385–390.

He J, Hu Y, Hu M, Li B. Development of PD-1/PD-L1 Pathway in Tumor Immune Microenvironment and Treatment for Non-Small Cell Lung Cancer. *Sci Rep*. 2015; 17:13110.

Karnik T, Kimler BF, Fan F, Tawfik O. PD-L1 in breast cancer: comparative analysis of 3 different antibodies. *Human Pathology* 2018; 72: 28–34.

Kitano A, Ono M, Yoshida M, Noguchi E, Shimomura A, Shimoi T, Kodaira M, Yunokawa M, Yonemori K, Shimizu C, Kinoshita T, Fujiwara Y, Tsuda H, Tamura K. Tumour-infiltrating lymphocytes are correlated with higher expression levels of PD-1 and PD-L1 in early breast cancer. *ESMO Open* 2017;2: e000150.

Kroemer G, Senovilla L, Galluzzi L, André F, Zitvogel L. Natural and therapy-induced immunosurveillance in breast cancer. *Nat Med*. 2015; 21:1128-38.

Lee HJ, Seo JY, Ahn JH, Ahn SH, Gong G. Tumor-associated lymphocytes predict response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients. *J Breast Cancer*. 2013; 16:32-9.

Loi S, Sirtaine N, Piette F, Salgado R, Viale G, Van Eenoo F, Rouas G, Francis P, Crown JP, Hitre E, de Azambuja E, Quinaux E, Di Leo A, Michiels S, Piccart MJ, Sotiriou C. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in a phase III randomized adjuvant breast cancer trial in node-positive breast cancer comparing the addition of docetaxel to doxorubicin with doxorubicin-based chemotherapy: BIG 02-98. *J Clin Oncol*. 2013; 31:860-7.

Luen SJ, Salgado R, Fox S, Savas P, Eng-Wong J, Clark E, Kiermaier A, Swain SM, Baselga J, Michiels S, Loi S. Tumour-infiltrating lymphocytes in advanced HER2-positive breast cancer treated with pertuzumab or placebo in addition to trastuzumab and docetaxel: a retrospective analysis of the CLEOPATRA study. *Lancet Oncol*. 2017; 18:52-62.

Mahoney KM, Rennert PD, Freeman GJ. Combination cancer immunotherapy and new immunomodulatory targets. *Nat Rev Drug Discov*. 2015; 14:561-84.

Mittal D, Gubin MM, Schreiber RD, Smyth MJ. New insights into cancer immunoediting and its three component phases--elimination, equilibrium and escape. *Curr Opin Immunol*. 2014; 27:16-25.

Pelekanou V, Carvajal-Hausdorf DE, Altan M, Wasserman B, Carvajal-Hausdorf C, Wimberly H, Brown J, Lannin D, Pusztai L, Rimm DL. Effect of neoadjuvant

chemotherapy on tumor-infiltrating lymphocytes and PD-L1 expression in breast cancer and its clinical significance. *Breast Cancer Res.* 2017; 19: 91.

Pruneri G, Gray KP, Vingiani A, Viale G, Curigliano G, Criscitiello C, Láng I, Ruhstaller T, Gianni L, Goldhirsch A, Kammler R, Price KN, Canello G, Munzone E, Gelber RD, Regan MM, Colleoni M. Tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) are a powerful prognostic marker in patients with triple-negative breast cancer enrolled in the IBCSG phase III randomized clinical trial 22-00. *Breast Cancer Res Treat.* 2016; 158:323-31.

Ravelli A, Roviello G, Cretella D, Cavazzoni A, Biondi A, Cappelletti MR, Zanotti L, Ferrero G, Ungari M, Zanconati F, Bottini A, Alfieri R, Petronini PG, Generali D. Tumor-infiltrating lymphocytes and breast cancer: Beyond the prognostic and predictive utility. *Tumour Biol.* 2017; 39:10.

Romagnoli G, Wiedermann M, Hübner F, Wenners A, Mathiak M, Röcken C, Maass N, Klapper W, Alkatout I. Morphological Evaluation of Tumor-Infiltrating Lymphocytes (TILs) to Investigate Invasive Breast Cancer Immunogenicity, Reveal Lymphocytic Networks and Help Relapse Prediction: A Retrospective Study. *Int J Mol Sci.* 2017; 18.

Salgado R, Denkert C, Demaria S, Sirtaine N, Klauschen F, Pruneri G, Wienert S, Van den Eynden G, Baehner FL, Penault-Llorca F, Perez EA, Thompson EA, Symmans WF, Richardson AL, Brock J, Criscitiello C, Bailey H, Ignatiadis M, Floris G, Sparano J, Kos Z, Nielsen T, Rimm DL, Allison KH, Reis-Filho JS, Loibl S, Sotiriou C, Viale G, Badve S, Adams S, Willard-Gallo K, Loi S; International TILs Working Group 2014. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs)

in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Ann Oncol.* 2015; 26:259-71.

Schalper KA, Velcheti V, Carvajal D, Wimberly H, Brown J, Pusztai L, Rimm DL.

In situ tumor PD-L1 mRNA expression is associated with increased TILs and better outcome in breast carcinomas. *Clin Cancer Res.* 2014; 10:2773-82.

Schütz F, Stefanovic S, Mayer L, von Au A, Domschke C, Sohn C. PD-1/PD-L1 Pathway in Breast Cancer. *Oncol Res Treat.* 2017; 40:294-297.

Sun Z, Fourcade J, Pagliano O, Chauvin JM, Sander C, Kirkwood JM, Zarour HM. IL10 and PD-1 Cooperate to Limit the Activity of Tumor-Specific CD8+ T Cells. *Cancer Res.* 2015; 75:1635-44.

Wimberly H, Brown JR, Schalper K, Haack H, Silver MR, Nixon C, Bossuyt V, Pusztai L, Lannin DR, Rimm DL. PD-L1 Expression Correlates with Tumor-Infiltrating Lymphocytes and Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Cancer. *Cancer Immunol Res.* 2015; 3:326-32.

Zhang F, Wei H, Wang X, Bai Y, Wang P, Wu J, Jiang X, Wang Y, Cai H, Xu T, et al. Structural basis of a novel PD-L1 nanobody for immune checkpoint blockade. *Cell Discov.* 2017; 3:17004.

ANEXO:

Figura 1: **Classificação e prognóstico do câncer de mama.**

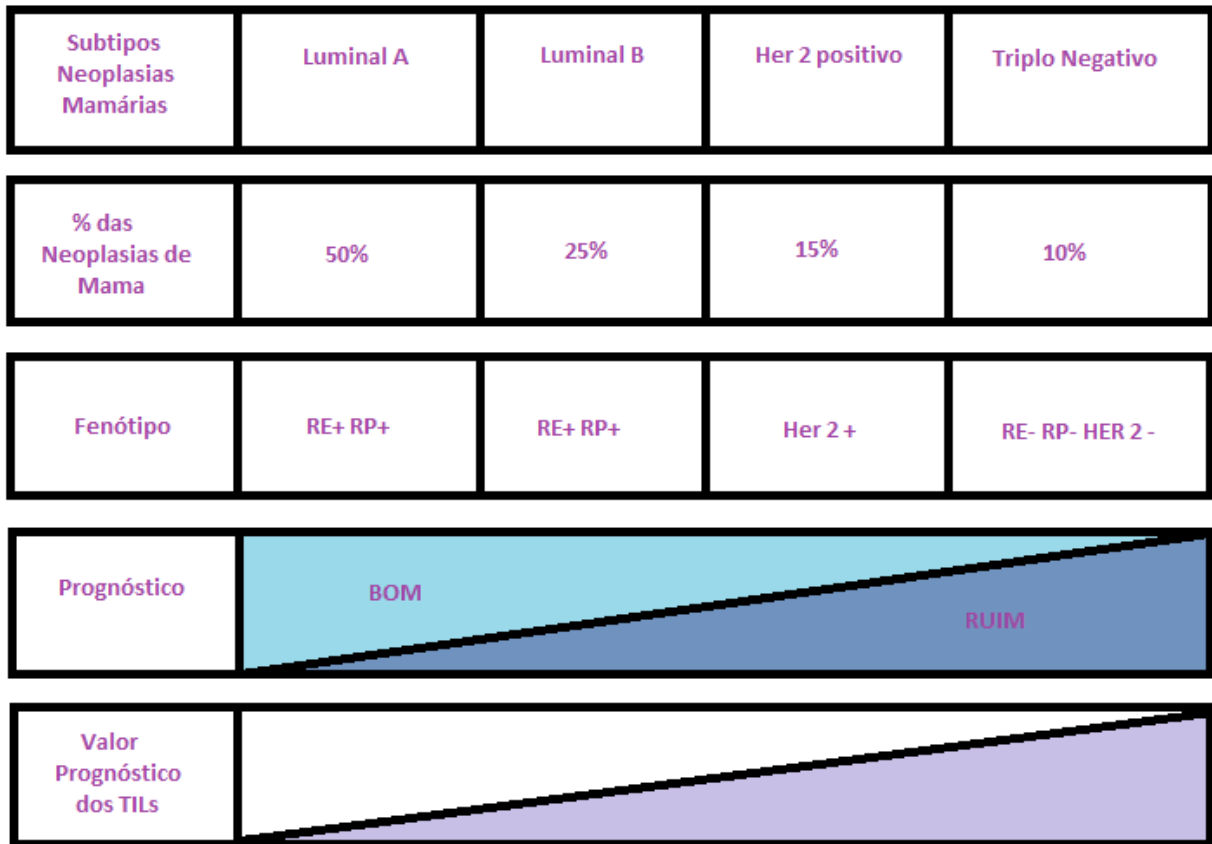


Figura adaptada de Kroemer et al., 2015.

Figura 2: **Morfologia, definições e relevância diagnóstica dos diferentes tipos de infiltrado linfocitário tumoral encontrado nos cânceres de mama.**

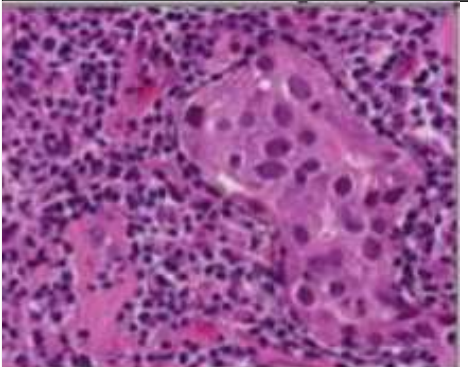
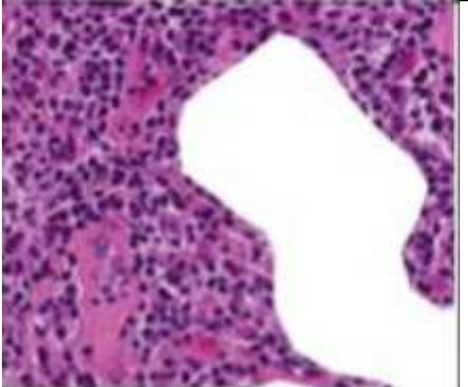

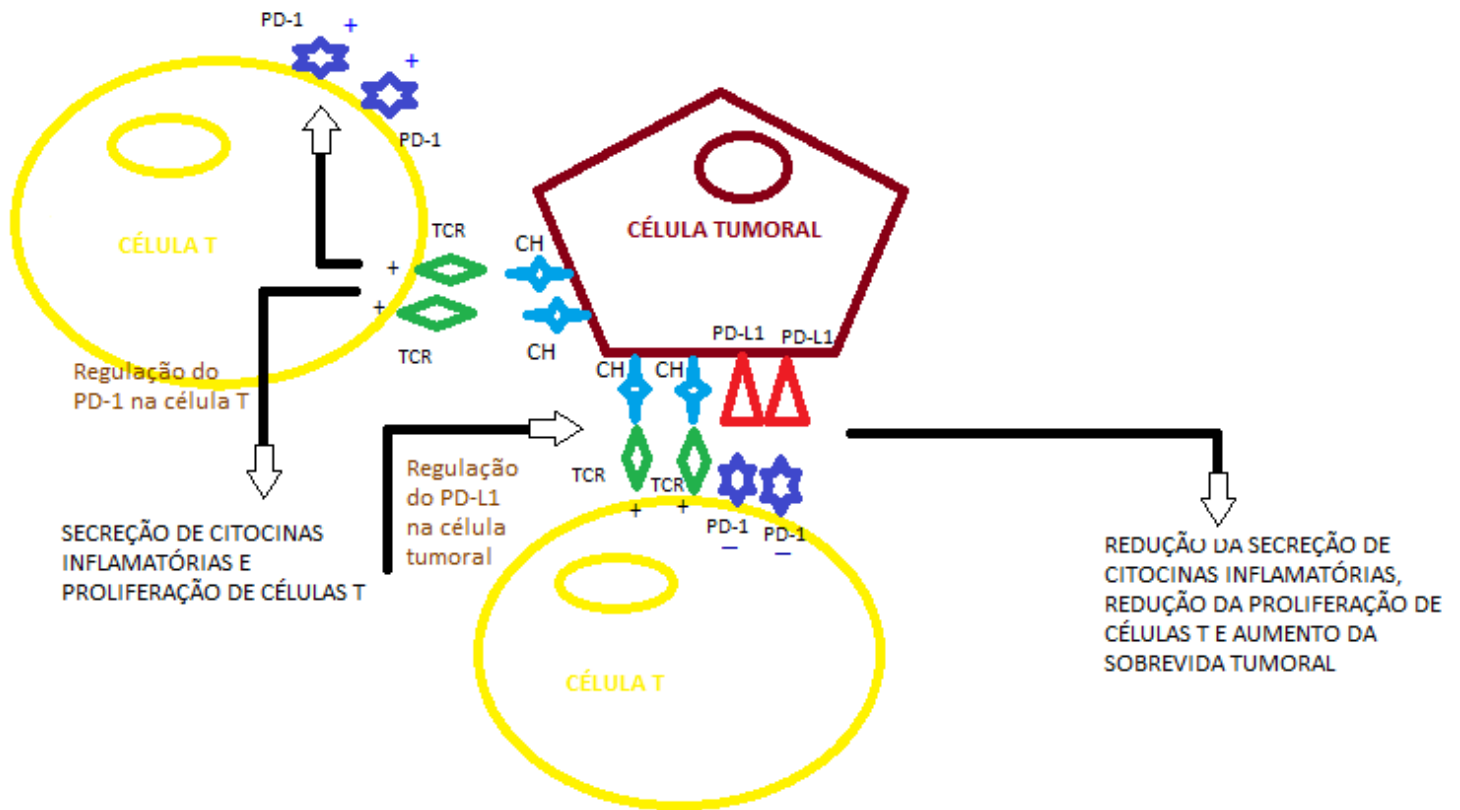
Morfologia	Definição	Relevância diagnóstica
Câncer de Mama Predominantemente Linfocítico		
	<p>Tumores com mais células linfocíticas do que células tumorais</p>	<p>Tumores com TILs maior do que 50%, cujo prognóstico é muito melhor</p>
TILs Estromal		
	<p>Indicador de aumento do acúmulo de células imunes no microambiente tumoral</p>	<p>O TILs estromal tem mostrado ser um fator preditivo de aumento da resposta ao tratamento quimioterápico neoadjuvante e, posteriormente, ao tratamento quimioterápico adjuvante. Trata-se do melhor parâmetro para a caracterização dos TILS.</p>
TILs Intratumoral		
	<p>TILs em contato direto, Back-to-Back, com as células tumorais. Pode se tratar de um efeito, anti tumor, direto da células imune.</p>	<p>Muito mais difícil de avaliar e não resulta em uma melhor resposta preditiva/prognóstica se comparada com os TILS estromal.</p>

Figura adaptada de Salgado et al., 2015.

Figura 3: **Regulação inibitória das células T pelo PD-1.**



As células T, presente nos TILs do microambiente tumoral, reconhecem o antígeno tumoral (célula neoplásica), se ligam a ele através do seu receptor de células T (TCR), ficam ativadas e iniciam um processo de secreção de citocina inflamatórias que atuam na proliferação de novos linfócitos T e na resistência à morte tumoral. Com a manutenção da ligação antígeno/TCR e ação das citocinas inflamatórias há um estímulo maior da expressão do PD-1 na superfície da célula T e do PD-L1 na célula tumoral, facilitando a ligação receptor/ligante. PD-1/PD-L1 inibe a ligação antígeno/TCR, acarretando na redução da secreção das citocinas inflamatórias no microambiente tumoral. Figura adaptada de Buchbinder et al., 2016.

(PD-1 indica proteína de morte celular programada 1; TCR, receptor de células T; PD-L1, ligante 1 da proteína de morte celular programada 1; CH, complexo de histocompatibilidade).