

三阴性乳腺癌细胞通过 PD-1/PD-L1 信号通路抑制共培养 T 细胞活化、增殖及促进其凋亡

汤青^{1,2}, 孙立柱¹, 张翔¹, 郭亚茹³, 韩正祥^{4*}

(1. 徐州医科大学附属沭阳医院肿瘤科, 江苏 沭阳 223600; 2. 徐州医科大学, 江苏 徐州 221004; 3. 徐州医科大学附属医院放疗科, 江苏 徐州 221002; 4. 徐州医科大学附属医院肿瘤科)

摘要: **目的** 探讨三阴性乳腺癌(TNBC)细胞能否通过程序性死亡受体-1(PD-1)/程序性死亡配体 1 (PD-L1)信号通路调节共培养 CD4⁺T 细胞的活化、增殖和凋亡,为 TNBC 患者的免疫治疗提供理论依据。**方法** 分离健康志愿者外周血 CD4⁺T 细胞,将其与癌细胞系 MDA-MB-231 进行共培养并分组。空白对照组:CD4⁺T 细胞单独培养;共培养组:CD4⁺T 细胞+MDA-MB-231;PD-L1 共培养组:CD4⁺T 细胞+MDA-MB-231+PD-L1 单抗;同型抗体共培养组:CD4⁺T 细胞+MDA-MB-231+同型抗体。采用 MTT 法、流式细胞术分别检测 CD4⁺T 细胞增殖、凋亡情况;荧光定量 PCR 检测 CD4⁺T 细胞中调节性 T 细胞(Treg)相关标志物的表达;ELISA 检测各组细胞培养上清液白细胞介素-2(IL-2)、白细胞介素-10(IL-10)及转化生长因子 β 1(TGF- β 1)含量变化;Western blot 检测 CD4⁺T 细胞内 B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)、Bcl-2 相关的 X 蛋白(Bax)表达变化。**结果** 与空白对照组相比,共培养组 CD4⁺T 细胞增殖率显著降低,凋亡率显著增加,CD4⁺T 细胞中叉头/翼状螺旋转录因子(Foxp3)、CD25、细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原-4(CTLA-4)、糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体(GITR) mRNA 及 Bcl-2 蛋白表达水平明显降低,CD127 mRNA 及 Bax 蛋白表达水平显著增加(均 $P < 0.01$);细胞培养上清液 TGF- β 1、IL-10 含量显著升高,IL-2 含量显著降低(均 $P < 0.01$)。与共培养组相比,PD-L1 共培养组上述各指标表达逆转(均 $P < 0.01$)。**结论** 三阴性乳腺癌细胞可通过 PD-1/PD-L1 信号通路抑制共培养 CD4⁺T 细胞活化、增殖并促进其凋亡。

关键词: 三阴性乳腺癌;PD-1/PD-L1 通路;CD4⁺T 细胞;活化;增殖;凋亡

中图分类号: R737.9 **文献标志码:** A **文章编号:** 2096-3882(2021)11-0781-06

DOI: 10.3969/j.issn.2096-3882.2021.11.001

Triple negative breast cancer cells inhibit the activation, proliferation and apoptosis of T cells through the PD-1/PD-L1 signaling pathway

TANG Qing^{1,2}, SUN Lizhu¹, ZHANG Xiang¹, GUO Yaru³, HAN Zhengxiang^{4*}

(1. Department of Oncology, Shuyang Hospital Affiliated to Xuzhou Medical University, Shuyang, Jiangsu 223600, China; 2. Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu 221004; 3. Department of Radiotherapy, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu 221002; 4. Department of Oncology, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University)

Abstract: Objective To investigate whether triple negative breast cancer (TNBC) cells can regulate the activation, proliferation and apoptosis of co-cultured CD4⁺T cells through the PD-1/PD-L1 signaling pathway, so as to provide theoretical evidence for the immunotherapy of TNBC patients. **Methods** Peripheral blood CD4⁺T cells were isolated from healthy volunteers and co-cultured with cancer cell line MDA-MB-231. The following groups were used: a blank control group, where CD4⁺T cells were cultured alone; a co-culture group, where CD4⁺T cells were co-cultured with MDA-MB-231 cells; a PD-L1 co-culture group, where CD4⁺T cells were cultured with the presence of MDA-MB-231+PD-L1 monoclonal antibody; and an isotype control co-culture group, where CD4⁺T cells were cultured with the presence of MDA-MB-231 isotype control. Then, MTT assay and flow cytometry were used to detect the proliferation and apoptosis of CD4⁺T cells. Fluorescent quantitative PCR was performed

基金项目: 2020 年高层次卫生人才“六个一工程”拔尖人才项目(LGY2020006)

* 通信作者, E-mail: cnhzyq@163.com

to detect the expression of Treg related markers in CD4⁺ T cells. ELISA was performed to measure the contents of interleukin (IL)-2, IL-10 and transforming growth factor (TGF)- β 1 in the supernatant of each group. Western blot was used to detect the expression of Bax and Bcl-2 in CD4⁺ T cells. **Results** Compared with the blank control group, the co-culture group showed remarkable decreases in the proliferation rate of CD4⁺ T cells, increases in the apoptosis rate, decreases in the levels of forkhead box P3 (Foxp3), CD25, cytotoxic T lymphocyte associated antigen-4 (CTLA-4), glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor (GITR) mRNA and Bcl-2 protein in CD4⁺ T cells, increases in the levels of CD127 mRNA and Bax protein (all $P < 0.01$); increases in the contents of TGF- β 1 and IL-10 in the supernatant and decreases in the contents of IL-2 (all $P < 0.01$). Compared with the co-culture group, the above indexes was reversed in the PD-L1 co-culture group (all $P < 0.01$). **Conclusions** Triple negative breast cancer cells can inhibit the activation and proliferation of co-cultured CD4⁺ T and promote its apoptosis through the PD-1/PD-L1 signaling pathway.

Key words: triple negative breast cancer; PD-1/PD-L1 pathway; CD4⁺ T cells; activation; proliferation; apoptosis

乳腺癌是女性常发的恶性肿瘤,在全球范围内其发病率和死亡率均较高^[1]。三阴性乳腺癌(triple negative breast cancer, TNBC)为雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)和人类表皮生长因子受体-2(HER-2)均为阴性表达的乳腺癌,具有高组织学分级、侵袭能力强、高远处转移率及高复发率等特点,患者预后较差^[2-4]。

程序性死亡配体 1(PD-L1)是程序性死亡受体-1(PD-1)的配体,在包括肿瘤细胞、T 细胞在内的多种细胞中均有表达^[5]。研究表明^[6],TNBC 中肿瘤浸润淋巴细胞的 PD-1 及 PD-L1 表达均高于 HER-2 阴性、管腔 A 和管腔 B 亚型。乳腺癌为非免疫性疾病,但 TNBC 中常见 TP53 缺失以及体细胞拷贝数突变,故而存在明显的基因不稳定性,相对其他类型的乳腺癌而言有较强的免疫原性^[7]。PD-1/PD-L1 表达于乳腺癌细胞表面,在介导乳腺癌细胞免疫逃逸中起重要作用^[8]。正常情况下,PD-1/PD-L1 信号通路可诱导和维持外周组织的免疫耐受,而在病理情况下,PD-1 与 PD-L1 相互作用,下调 T 细胞免疫刺激性细胞因子,如白细胞介素-2(IL-2)、干扰素 γ (IFN- γ)和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)的分泌以及存活蛋白的表达,促进免疫抑制性细胞因子白细胞介素-10(IL-10)的分泌,从而抑制 T 细胞的免疫反应^[9-11]。

近年来,以 PD-1/PD-L1 信号通路为靶标,研发阻断 PD-1/PD-L1 途径的 PD-1/PD-L1 单克隆抗体,其可增强 T 细胞对肿瘤细胞的杀伤力,达到抗肿瘤的效果^[12],目前关于 PD-1/PD-L1 在 TNBC 治疗领域的相关研究也逐渐开展。基于以上背景,本研究拟探讨 TNBC 细胞通过 PD-1/PD-L1 信号通路抑制共培养 T 细胞活化、增殖及促进其凋亡机

制,为 TNBC 患者的免疫治疗提供新的方向。

1 材料和方法

1.1 细胞及相关试剂 乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 购自中科院上海细胞库;人外周血 CD4⁺ T 细胞从健康志愿者外周静脉血中分离获得;RPMI 1640、L-15、胎牛血清、青霉素、链霉素和 L-谷氨酰胺购自美国 Gibco 公司;CD4⁺ T 细胞磁珠分选试剂盒购自德国美天旎公司;PD-L1 单抗(BMS-936559)购自美国 Bristol-Myers Squibb 公司; β -actin 抗体购自美国 Cell Signaling Technology 公司;同型对照抗体(mIgG)购自美国 eBioscience 公司;IL-2、IL-10 及转化生长因子 β 1(TGF- β 1)酶联免疫吸附实验(ELISA)试剂盒购自武汉博士德生物公司。

1.2 实验方法

1.2.1 乳腺癌细胞系与细胞培养 采用包含 10% 胎牛血清、 1×10^5 U/L 青霉素、100 mg/L 链霉素以及 2 mmol/L 谷氨酰胺的 L-15 培养基培养 MDA-MB-231 细胞,细胞培养条件为 37 °C、5% CO₂。

1.2.2 人外周血 CD4⁺ T 细胞分离 用 EDTA 抗凝管采集健康志愿者外周静脉血 30 ml,用 PBS 稀释后加入淋巴细胞分离液(比例为 2 : 1),通过密度梯度离心法分离人单个核细胞(包括淋巴细胞和单核细胞),用 MACS 磁性分离柱对 CD4⁺ T 淋巴细胞进行分离。采用 Anti-CD3 抗体 2 mg/L 包被 6 孔板 12 h,再加 CD4⁺ T 淋巴细胞和 Anti-CD28 抗体 2 mg/L,刺激 3 d,以活化 CD4⁺ T 淋巴细胞。

1.2.3 共培养体系构建及分组 实验分组如下。①空白对照组:CD4⁺ T 细胞单独培养组;②共培养组:CD4⁺ T 细胞+MDA-MB-231;③PD-L1 共培养组:CD4⁺ T 细胞+MDA-MB-231+PD-L1 单抗;④

同型抗体共培养组:CD4⁺T 细胞 + MDA-MB-231 + 同型抗体。共培养组将 MDA-MB-231 细胞用胰酶消化为单个细胞,按 1:1 的比例和 CD4⁺T 细胞共培养,采用 24 孔 Transwell 细胞共培养板,MDA-MB-231 细胞在上室,CD4⁺T 细胞在下室,培养细胞 72 h;PD-L1 共培养组在共培养体系中加入 PD-L1 抗体(10 mg/L)培养 72 h;同型抗体共培养组在共培养体系中加入同型对照抗体(10 mg/L)培养 72 h。

1.2.4 MTT 法检测共培养系统对 CD4⁺T 细胞增殖的影响 各组细胞培养 72 h 后收集 T 细胞,将细胞密度调整为 3×10^7 个/L,接种于 96 孔板,每孔 200 μ l,每孔加入浓度为 5 g/L 的 MTT 溶液,然后继续将培养基置于 5% CO₂、37℃ 培养箱中培养,4 h 后弃去培养液,每孔加入 200 μ l DMSO 溶液,采用酶联免疫检测仪在 490 nm 波长下测定各组光密度值(D)。

1.2.5 ELISA 检测各组 TGF- β 1、IL-2、IL-10 表达量的变化 活化的 CD4⁺T 细胞与 MDA-MB-231 细胞共培养后,分别在培养 8、12、24 h 时收集细胞培养上清液,8 000 r/min 离心 5 min 后严格按照 ELISA 试剂盒操作步骤检测 TGF- β 1、IL-2、IL-10 表达量。

1.2.6 细胞凋亡率的检测 细胞培养 48 h 后,分别收集空白对照组、共培养组、PD-L1 共培养组及同型抗体共培养组的细胞,将细胞浓度调整为 1×10^9 个/L,按细胞凋亡检测试剂盒操作步骤,采用流式细胞仪检测各组细胞凋亡率。

1.2.7 RNA 提取和实时荧光定量 PCR miR-Neasy Mini Kit 提取 CD4⁺T 细胞 RNA,反转录总体系为 20 μ l,总 RNA 量为 400 μ g,以 GAPDH 为内参,进行叉头/翼状螺旋转录因子(Foxp3)、CD25、细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原-4(CTLA-4)、糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体(GITR)及 CD127 实时荧光定量 PCR,根据 PCR 所得 Ct 值应用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 Foxp3、CD25、CTLA-4、GITR 和 CD127 的表达百分比。

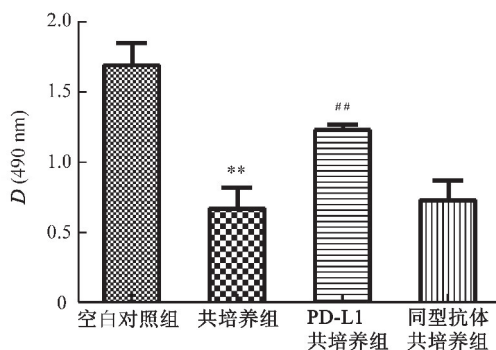
1.2.8 Western blot 检测 CD4⁺T 细胞相关蛋白表达 裂解各组 CD4⁺T 细胞蛋白溶液,BCA 法测定蛋白浓度,测定总蛋白质量浓度,12% 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白后转膜,浸入含有 5% 脱脂奶粉的封闭液中孵育 1 h,加入适宜浓度一抗室温下封闭过夜。次日加入辣根过氧化物酶标记二抗孵育 1 h, TBST 冲洗后采用 ECL 化学发光试剂盒进行检测,凝胶成像系统成像,以 β -actin 为内参,计算各组

CD4⁺T 细胞 B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)、Bcl-2 相关的 X 蛋白(Bax)表达。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 22.0 统计学软件对数据进行统计分析,利用 Graphpad Prism 5.0 绘图,通过 Shaapiro-Wilk 法对计量资料进行正态性分布检验,均符合正态分布,计量资料均以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 *t* 检验;计数资料以百分比(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 共培养体系对 CD4⁺T 细胞增殖的影响 与空白对照组比较,共培养组 CD4⁺T 细胞增殖活性显著降低($P < 0.01$);与共培养组比较,PD-L1 共培养组 CD4⁺T 细胞增殖活性显著升高($P < 0.01$)。见图 1。



与空白对照组比较:** $P < 0.01$;与共培养组比较:## $P < 0.01$

图 1 共培养体系对 CD4⁺T 细胞增殖的影响

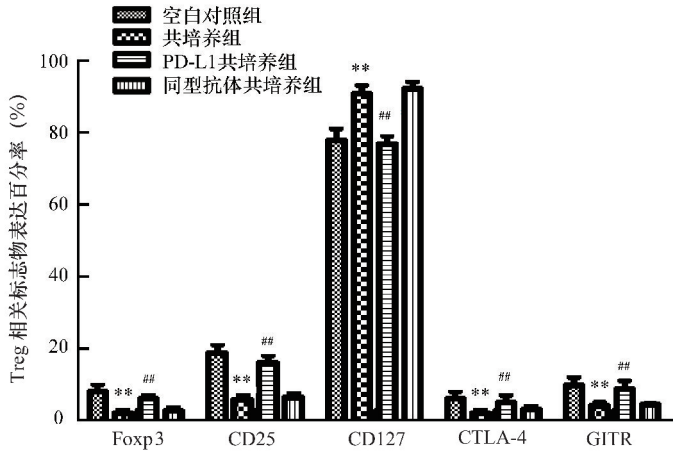
2.2 共培养体系对 CD4⁺T 细胞中调节性 T 细胞(Treg)相关标志物表达的影响 与空白对照组比较,共培养组 CD4⁺T 细胞 Foxp3、CD25、CTLA-4 及 GITR 表达水平明显降低,CD127 表达水平显著增加($P < 0.01$);与共培养组比较,PD-L1 共培养组 CD4⁺T 细胞 Foxp3、CD25、CTLA-4 及 GITR 表达水平明显增加,CD127 表达水平明显降低,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。见图 2。

2.3 共培养体系对细胞凋亡的影响 与空白对照组比较,共培养组 CD4⁺T 细胞凋亡率增加;与共培养组比较,PD-L1 共培养组 CD4⁺T 细胞凋亡率显著降低,差异均具有统计学意义($P < 0.01$)。见图 3。

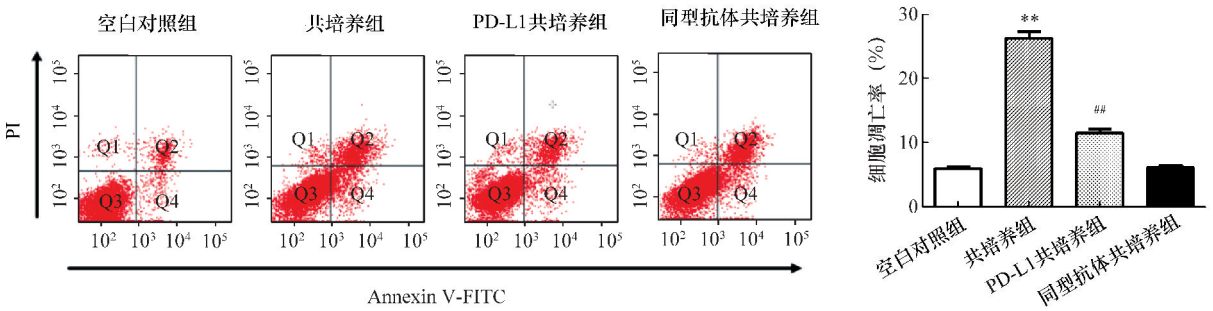
2.4 共培养体系对 CD4⁺T 细胞培养上清液 IL-2、IL-10 和 TGF- β 1 含量的影响 空白对照组及 PD-L1 共培养组细胞培养上清液中 IL-2 含量随培养时

间增加,共培养组 CD4⁺T 细胞上清液中 IL-2 含量随培养时间降低。与空白对照组比较,共培养组 CD4⁺T 细胞上清液 IL-2 含量显著降低,TGF-β1 和 IL-10 含量显著升高,差异均具有统计学意义($P <$

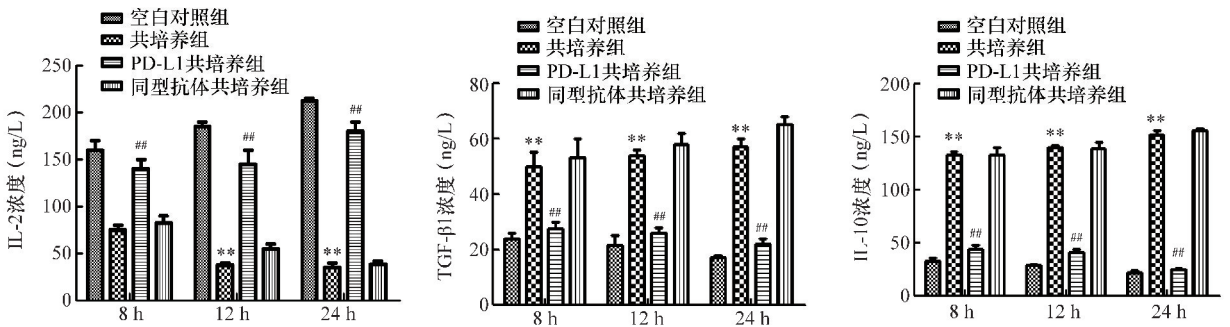
0.01)。与共培养组比较,PD-L1 共培养组 CD4⁺T 细胞上清液 IL-2 含量显著升高,TGF-β1 和 IL-10 含量显著降低,差异均具有统计学意义($P <$ 0.01)。见图 4。



与空白对照组比较: ** $P <$ 0.01; 与共培养组比较: ## $P <$ 0.01
图 2 共培养体系对 CD4⁺T 细胞中 Treg 相关标志物表达水平的影响



与空白对照组比较: ** $P <$ 0.01; 与共培养组比较: ## $P <$ 0.01
图 3 共培养体系对 CD4⁺T 细胞凋亡率的影响

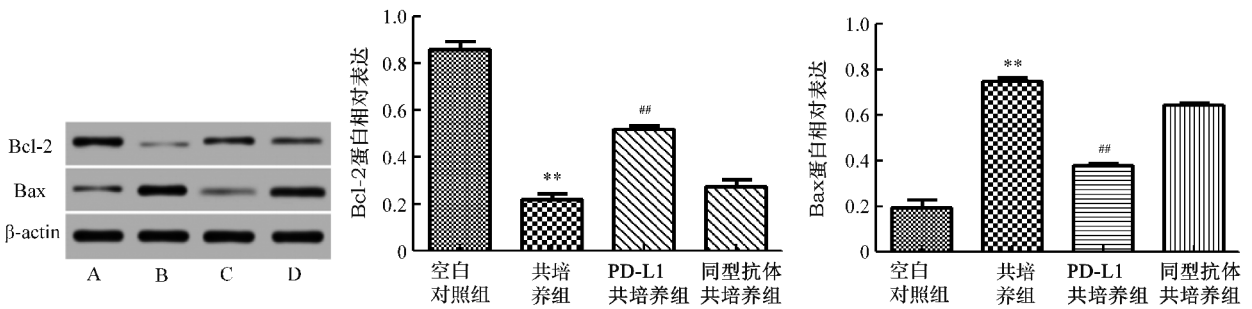


与空白对照组比较: ** $P <$ 0.01; 与共培养组比较: ## $P <$ 0.01
图 4 共培养体系对 CD4⁺T 细胞 IL-2、IL-10 和 TGF-β1 表达量变化的影响

2.5 共培养体系对 CD4⁺T 细胞凋亡蛋白的影响

与空白对照组比较,共培养组 CD4⁺T 细胞内 Bcl-2 蛋白水平表达显著降低,Bax 蛋白表达水平显著增加,差异均具有统计学意义(均 $P <$ 0.01); 与

共培养组比较,PD-L1 共培养组 CD4⁺T 细胞内 Bcl-2 蛋白水平表达显著增加,Bax 蛋白表达水平显著降低,差异均具有统计学意义(均 $P <$ 0.01)。见图 5。



与空白对照组比较: ** $P < 0.01$; 与共培养组比较: ## $P < 0.01$; A. 空白对照组; B. 共培养组; C. PD-L1 共培养组; D. 同型抗体共培养组

图5 共培养体系对 $CD4^+$ T 细胞 Bax、Bcl-2 蛋白表达的影响

3 讨论

乳腺癌是目前女性最常见的恶性肿瘤之一,国际癌症研究机构发布的最新全球癌症统计数据结果显示,2020 年全球有 68.5 万人死于乳腺癌,有 230 万例新发乳腺癌,女性乳腺癌首次成为世界范围内最常见的癌症^[13]。其中 TNBC 占乳腺癌的 15%~20%,发病率逐年增加,严重影响患者的身心健康和生活质量^[14],因此,了解并发现 TNBC 的生物学特性、病理特点及免疫受体的表达,对改善患者的预后具有重要意义。

目前,PD-L1 因其在肿瘤细胞表面的高表达和对 T 细胞的调控,已成为肿瘤领域的研究热点。研究表明^[15],约 20% 的 TNBC 表达 PD-L1,与其他类型乳腺癌比较,TNBC 患者组织标本中有更高的 mRNA 表达。当肿瘤发生时,肿瘤细胞凭借肿瘤微环境中的炎性细胞产生炎性因子,诱导 PD-L1 和 PD-L2 表达上调,与 T 细胞表面的 PD-1 受体相互作用,抑制 T 细胞的活化与增殖,从而发生肿瘤免疫逃逸^[16]。有研究表明^[17],T 细胞分泌的 $INF-\gamma$ 可上调乳腺癌细胞表达的 PD-L1,临床试验结果表明 PD-L1 抗体对多种实体瘤的治疗有效果,对 TNBC 的疾病控制率达 25%^[18]。此外,PD-L1 抗体还可直接作用于肿瘤细胞表面的 PD-1,从而抑制 PD-1/PD-L1 信号通路的促肿瘤活化作用^[19]。

Treg 是一群免疫抑制细胞,可通过抑制抗肿瘤免疫反应促进肿瘤的发生和发展,多种肿瘤微环境中均存在较高水平的 $CD4^+$ Treg^[20]。PD-1 具有协同阻滞受体负性调节 T 细胞的作用,其与肿瘤细胞表面的 PD-L1 配体结合后,能激活 T 淋巴细胞内抑制性信号,发生免疫抑制效应,导致 T 细胞功能丧

失或减弱,介导肿瘤细胞逃逸^[21]。目前,关于 PD-1 在 $CD4^+$ T 细胞中的具体作用机制尚未阐明,有研究指出^[22],PD-1 可有效抑制免疫应激后 $CD4^+$ T 细胞聚集,在肿瘤晚期和肿瘤转移患者 $CD4^+$ T 细胞中的表达水平显著增加。本研究结果显示,在与 MDA-MB-231 细胞共培养的 $CD4^+$ T 细胞中, $CD4^+$ Treg 分子标志物 Foxp3、CD25、CTLA-4 及 GITR 蛋白表达水平明显下调,CD127 蛋白表达水平显著上调,提示 MDA-MB-231 细胞对 $CD4^+$ T 细胞分化产生一定影响。与添加 PD-L1 单抗的 MDA-MB-231 细胞共培养后, $CD4^+$ T 细胞 Foxp3、CD25、CTLA-4 及 GITR 蛋白表达水平明显增加,CD127 蛋白表达水平显著降低,提示 $CD4^+$ T 细胞可能参与了 MDA-MB-231 细胞微环境的形成,乳腺癌细胞生长微环境又可诱导 $CD4^+$ T 细胞向 $CD4^+$ Treg 分化,并且 PD-1 信号通路是 TNBC 细胞生长微环境诱导 $CD4^+$ Treg 分化过程重要的分子机制之一。

IL-2 是 $CD4^+$ T 细胞增殖过程中发挥重要作用的细胞因子,TGF- β 1 是重要的参与免疫负调控的细胞因子,可通过使转录因子磷酸化抑制 T 淋巴细胞增殖^[23]。本研究结果显示,空白对照组及 PD-L1 共培养组上清液 IL-2 随培养时间的延长而增加,共培养组上清液 IL-2 随培养时间的延长而降低,提示乳腺癌肿瘤微环境可通过减少 IL-2 的分泌抑制活化 $CD4^+$ T 细胞的增殖。此外我们的研究结果还表明,与 MDA-MB-231 细胞共培养后 $CD4^+$ T 细胞分泌 TGF- β 1 及 IL-10 水平显著增加,提示 MDA-MB-231 细胞能诱导 $CD4^+$ T 细胞,使其具备免疫抑制功能。本研究进一步探讨了 MDA-MB-231 共培养体系对 $CD4^+$ T 细胞生物学行为的影响,结果显示,细胞共培养体系能显著抑制 $CD4^+$ T 细胞增殖,促进

CD4⁺T 细胞凋亡。Bcl-2 和 Bax 被认为是重要的抑制和促进细胞凋亡的调控基因^[24],与 MDA-MB-231 共培养的 CD4⁺T 细胞 Bcl-2 蛋白水平表达显著降低,Bax 蛋白表达水平显著增加;而添加 PD-L1 抗体共培养后,CD4⁺T 细胞内细胞凋亡相关调控基因表达水平发生逆转,提示 MDA-MB-231 细胞微环境可影响 CD4⁺T 细胞功能,通过作用于 CD4⁺T 细胞上的相关 PD-L1 受体调节细胞凋亡相关调控基因的表达,抑制 CD4⁺T 细胞增殖,促进其凋亡。

基于以上研究得出,TNBC 细胞可通过 PD-1/PD-L1 信号通路抑制共培养 CD4⁺T 细胞活化、增殖并促进其凋亡。PD-1/PD-L1 阻滞剂可减弱乳腺癌细胞对 T 细胞的抑制作用,增强 T 细胞对肿瘤细胞的杀伤力,从而达到抗肿瘤的效果。

参考文献:

[1] 莫森,陈茂剑,黄怡,等. 秦皮甲素通过下调人类免疫缺陷病毒短转录诱导物连接因子 1 抑制三阴性乳腺癌细胞增殖[J]. 中华肿瘤杂志,2020,42(8):629-634.

[2] 唐莉,韦达,严枫. 长链非编码 RNA 树突状细胞-特异性跨膜蛋白域包含 1-反义链 1 通过 α -烯醇化酶促进三阴性乳腺癌细胞的增殖与侵袭[J]. 中华实验外科杂志,2021,38(4):606-609.

[3] Ozman Z, Ozbek Iptec B, Sahin E, et al. Regulation of valproic acid induced EMT by AKT/GSK3 β / β -catenin signaling pathway in triple negative breast cancer[J]. Mol Biol Rep,2021,48(2):1335-1343.

[4] Singh S, Kumar S, Srivastava RK, et al. Loss of ELF5-FBXW7 stabilizes IFNGR1 to promote the growth and metastasis of triple-negative breast cancer through interferon- γ signalling[J]. Nat Cell Biol,2020,22(5):591-602.

[5] Zhang L, Zhao Y, Tu Q, et al. The roles of programmed cell death ligand-1/programmed cell death-1 (PD-L1/PD-1) in HPV-induced cervical cancer and potential for their use in blockade therapy[J]. Curr Med Chem,2021,28(5):893-909.

[6] Zhang Y, Tian J, Qu C, et al. Prognostic value of programmed cell death ligand-1 expression in breast cancer: a meta-analysis [J/OL]. Medicine (Baltimore),2020,99(49):e23359.

[7] Curtis C, Shah SP, Chin SF, et al. The genomic and transcriptomic architecture of 2,000 breast tumours reveals novel subgroups[J]. Nature,2012,486(7403):346-352.

[8] 于晓然,温桥生,肖漪,等. 阻断乳腺癌细胞 PD-L1 减弱对共培养树突状细胞成熟的抑制作用[J]. 南方医科大学学报,2018,38(5):561-566.

[9] Bénigni P, Guénolé M, Bonsang B, et al. Foci of programmed cell death-ligand 1 (PD-L1)-positive tumor areas with tumor-infiltrating leukocytes (TILs) evocative of a PD-1/PD-L1-related adaptive immune resistance are frequent in merkel cell carcinoma[J]. Appl Immunohistochem Mol Morphol,2020,28(1):17-22.

[10] Williams GH, Nicholson AG, Snead DRJ, et al. Interobserver reliability of programmed cell death ligand-1 scoring using the VENTANA PD-L1 (SP263) assay in NSCLC[J]. J Thorac Oncol,2020,15(4):550-555.

[11] 张晓洁,吴梦,陈献,等. mTORC1-HIF1 α 通路基因在人 CD8⁺ 调节 T 细胞中的表达及意义[J]. 南京医科大学学报(自然科学版),2016,36(12):1418-1421,1480.

[12] Jeong H, Kim S, Hong BJ, et al. Tumor-associated macrophages enhance tumor hypoxia and aerobic glycolysis[J]. Cancer Res,2019,79(4):795-806.

[13] 刘军兰. 乳腺癌首次成为全球最常见的癌症[J/OL]. 中华乳腺病杂志(电子版),2020,14(6):389.

[14] 傅聪,周月鹏,尹超云,等. 干扰乙酰辅酶 A 合成酶 2 对三阴性乳腺癌 MDA-MB-468 细胞增殖及凋亡的影响[J]. 江苏大学学报(医学版),2021,31(5):374-379.

[15] Kalim M, Iqbal Khan MS, Zhan J. Programmed cell death ligand-1: a dynamic immune checkpoint in cancer therapy[J]. Chem Biol Drug Des,2020,95(6):552-566.

[16] Ye L, Leslie C, Jacques A, et al. Programmed death ligand-1 expression in non-small cell lung cancer in a Western Australian population and correlation with clinicopathologic features [J]. Mod Pathol,2019,32(4):524-531.

[17] 张凤春,张硕渊,陈天恩,等. PD-1/PD-L1 通路在三阴性乳腺癌预后预测及治疗中的意义[J]. 上海交通大学学报(医学版),2020,40(1):128-133.

[18] 潘佳佳,贾晓青,黄岗,等. PD-1/PD-Ls 信号通路及其抗体在肿瘤治疗中的应用[J]. 中国药科大学学报,2016,47(1):9-18.

[19] Tomioka N, Azuma M, Ikarashi M, et al. The therapeutic candidate for immune checkpoint inhibitors elucidated by the status of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) and programmed death ligand 1 (PD-L1) expression in triple negative breast cancer (TNBC)[J]. Breast Cancer,2018,25(1):34-42.

[20] 柯星,张良,沈立松. CD4⁺CD25^{high}CD127^{low} 调节性 T 细胞促进上皮性卵巢癌转移机制的初步探讨[J]. 检验医学,2019,34(2):110-115.

[21] 韩丽丽,王金科,章帅. PD-1 信号对骨肉瘤类肿瘤干细胞及 T 细胞增殖的影响[J]. 临床和实验医学杂志,2019,18(15):1614-1617.

[22] Oh DY, Kwek SS, Raju SS, et al. Intratumoral CD4⁺T cells mediate anti-tumor cytotoxicity in human bladder cancer[J]. Cell,2020,181(7):1612-1625.

[23] Stephen-Victor E, Cui Y, Wang ZW, et al. Essential functions of regulatory T cell TGF- β 1 revealed by differential gene-targeting approaches[J]. Immunity,2021,54(3):397-398.

[24] 王乔雨,孙洪娜,周齐,等. 叶酸和维生素 B₁₂ 通过 Bcl-2/Bax 途径抑制神诱导 SH-SY5Y 细胞凋亡[J]. 中华地方病学杂志,2021,40(1):5-11.

收稿日期:2021-09-15 修回日期:2021-11-01

本文编辑:李昕