

基础研究

DOI: 10.3969/j.issn.0253-3626.2012.10.005

人子宫颈癌异常表达程序性死亡配体-1 并促 CD₄⁺T 和 CD₈⁺T 细胞凋亡陈 瑜¹, 徐 曼¹, 肖 琳², 耿卫朴¹, 王婷婷¹, 黄文炼¹

(重庆医科大学 1. 基础医学院病理学教研室, 分子与肿瘤研究中心; 2. 附属第一医院妇产科, 重庆 400016)

【摘 要】目的:探讨程序性死亡配体-1 (Programmed death ligand-1, PD-L1) 在人子宫颈癌的表达及其与肿瘤内 CD₄⁺T 和 CD₈⁺T 细胞浸润的相关性,体外实验观察重组人 PD-L1 蛋白对宫颈癌患者外周血 T 细胞凋亡的影响。方法:采用免疫组化 SP 法检测 PD-L1 在 10 例正常人宫颈组织和 67 例宫颈癌组织中的表达以及死亡受体-1 (Programmed death receptor-1, PD-1) 在宫颈癌内浸润淋巴细胞的表达;TUNEL 法检测肿瘤内浸润的淋巴细胞凋亡;免疫荧光分析宫颈癌内浸润的 CD₄⁺T 和 CD₈⁺T 淋巴细胞数量;流式细胞术分析 PD-L1 促进宫颈癌患者外周血活化 CD₄⁺T 和 CD₈⁺T 细胞凋亡情况。结果:正常宫颈上皮不表达 PD-L1;宫颈癌 PD-L1 的表达率为 70% (47/67)。部分宫颈癌内浸润的淋巴细胞表达 PD-1, 且淋巴细胞存在凋亡现象。PD-L1 阳性宫颈癌肿瘤内浸润的 CD₈⁺T 细胞数量明显减少 ($P<0.05$)。体外实验发现 PD-L1 与健康人或宫颈癌患者外周血活化 T 细胞混合培养 48 h 后, T 细胞凋亡率明显高于空白组, 2 组平均凋亡率分别为 $(32.8 \pm 1.4)\%$ 、 $(38.3 \pm 1.5)\%$ ($P<0.05$) 和 $(27.7 \pm 1.3)\%$ 、 $(30.9 \pm 1.9)\%$ ($P<0.05$); 抗 PD-1 抗体使 PD-L1 诱导的 T 细胞凋亡率下降, 分别为 $(29.8 \pm 1.6)\%$ 和 $(31.6 \pm 1.4)\%$ ($P>0.05$)。PD-L1 对人外周血活化 CD₄⁺T 和 CD₈⁺T 细胞均有促凋亡作用。结论:人子宫颈癌异常表达 PD-L1 与肿瘤内浸润的淋巴细胞凋亡及 CD₈⁺T 细胞数量减少有关。PD-L1 经 PD-1 受体促进活化的 CD₄⁺T 和 CD₈⁺T 细胞凋亡。

【关键词】子宫颈癌;程序性死亡配体-1;程序性死亡受体-1;T 淋巴细胞;凋亡

【中国图书分类号】R392.3;R392.11;R737.3

【文献标志码】A

【收稿日期】2012-3-16

Promotion of apoptosis of CD₄⁺T and CD₈⁺T lymphocytes induced by aberrant expression of programmed death ligand-1 in human cervical carcinomasCHEN Yu¹, XU Man¹, XIAO Lin², GENG Weipu¹, WANG Tingting¹, HUANG Wenlian¹(1. Department of Pathology, College of Basic Medicine, Molecular Medicine and Tumor Research Center;
2. Department of Obstetrics and Gynecology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the expression of programmed death ligand-1 (PD-L1) and the association between PD-L1 expression and T cell infiltration in human cervical carcinomas and to observe the effect of PD-L1 on promoting apoptosis of active peripheral blood T lymphocytes of patients with cervical cancer in vitro. Methods: PD-L1 and programmed death receptor-1 (PD-1) expressions were determined in 10 cases of normal cervical tissues and 67 cases of cervical carcinoma tissues by immunohistochemistry staining; the apoptosis of tumor infiltrating lymphocytes was examined by TUNEL assay; the number of tumor infiltrating CD₄⁺T and CD₈⁺T lymphocytes was determined by immunofluorescent staining and the apoptotic promoting effect of recombinant human PD-L1 protein on peripheral blood CD₄⁺T and CD₈⁺T lymphocytes was analyzed by flow cytometry. Results: No expression of PD-L1 in normal cervical epithelium was observed but expression of PD-L1 was found in 70% (47/67) cervical cancer tissues. PD-1 expression was found in part of tumor infiltrating lymphocytes. Some tumor infiltrating lymphocytes showed apoptosis. The tumor infiltrating CD₈⁺T cells were significantly reduced in PD-L1 positive cervical carcinoma cases ($P<0.05$). In vitro, recombinant human PD-L1 induced apoptosis of activated peripheral blood T lymphocytes of healthy people and cervical cancer patients and the T cell apoptotic rates were significantly higher than those in blank group, which were $(32.8 \pm 1.4)\%$, $(38.3 \pm 1.5)\%$ ($P<0.05$) and $(27.7 \pm 1.3)\%$, $(30.9 \pm 1.9)\%$ ($P<0.05$) respectively. Anti-PD-1 antibody depressed PD-L1 induced T cells apoptosis, the apoptotic rates were $(29.8 \pm 1.6)\%$ and $(31.6 \pm 1.4)\%$ ($P>0.05$). PD-L1 induced apoptosis of peripheral blood CD₈⁺T and CD₄⁺T cells. Conclusions: PD-L1 is aberrantly expressed in cervical cancer. The expression of PD-L1 associates with lymphocytic apoptosis and decrease of tumor infiltrating CD₈⁺T cells. PD-L1 promotes apoptosis of activated CD₄⁺T and CD₈⁺T cells by PD-L1/PD-1 pathway.

【Key words】cervical cancer; programmed death ligand-1; programmed death receptor-1; T lymphocytes; apoptosis

作者介绍: 陈 瑜 (1982-), 男, 硕士,

研究方向: 肿瘤病理与肿瘤免疫。

通信作者: 徐 曼, 女, 教授, Email: manxucmu@yahoo.cn。

基金项目: 重庆市自然科学基金资助项目 (编号: CSTC2009BB5268)。

子宫颈局部微环境免疫监视功能下降是宫颈癌发生发展的重要原因,而肿瘤内浸润的 T 淋巴细胞尤其 CD_8^+ T 细胞数量减少和免疫无能起关键性作用^[1]。近年来研究发现协同刺激分子 B7 家族成员与活化 T 细胞表面受体结合参与调节 T 细胞的免疫功能^[2]。程序性死亡配体-1 (Programmed death ligand-1, PD-L1) 是 B7 家族成员之一,由 290 个氨基酸组成。膜型 PD-L1 属 I 型跨膜蛋白,由胞内区、跨膜区及胞外区组成。PD-L1 的胞外区与活化 T 细胞表面的程序性死亡受体-1 (Programmed death receptor-1, PD-1) 结合,通过 PD-L1/PD-1 途径诱导 T 细胞凋亡并抑制其增殖,参与抑制抗肿瘤细胞免疫^[3-5]。近来文献报道卵巢癌、乳腺癌、胃癌、结肠癌、前列腺癌等多种恶性肿瘤异常表达 PD-L1,肿瘤表达 PD-L1 与 T 淋巴细胞表面的 PD-1 结合能抑制 T 细胞增殖和分泌细胞因子,而且 PD-L1 的表达常与肿瘤微环境内浸润的淋巴细胞尤其 CD_8^+ T 细胞数量减少、肿瘤浸润转移以及患者预后不良有关^[6]。本实验观察了人子宫颈癌 PD-L1 的表达情况,分析了 PD-L1 表达与对肿瘤内浸润的淋巴细胞凋亡及 CD_4^+ T 和 CD_8^+ T 细胞浸润数量的关系,并通过体外实验观察了重组人 PD-L1 蛋白诱导宫颈癌患者外周血活化 CD_4^+ T 和 CD_8^+ T 细胞凋亡的作用。

1 材料和方法

1.1 材料与试剂

正常子宫颈组织 10 例、子宫颈癌 67 例(鳞癌 66 例,腺癌 1 例)取自 2008-2010 年重庆医科大学附属第一医院妇科收治的患者。标本经 10% 中性甲醛溶液固定,石蜡包埋制片。另收集 5 例健康人和 5 例宫颈癌患者的新鲜抗凝外周血用于体外实验。PD-L1 (bs-1103R)、PD-1 (bs-1867R) 抗体购自北京博奥森生物技术有限公司;UltraSensitive™ 超敏 SP 试剂盒 (KIT-9710) 购自福州迈新生物技术开发有限公司;FITC- CD_4 、FITC- CD_8 抗体购自北京中杉金桥生物技术公司;PD-1-PE (No.12-2799)、 CD_4 -FITC (No.11-0049)、 CD_8 -FITC (No.11-0086)、小鼠 IgG1-PE (No.12-4714) 和 IgG1-FITC (No.11-4714) 购自美国 eBioscience 公司;人淋巴细胞分离液购自天津灏洋生物公司;尼龙毛购自德国 KISKER 公司;RPMI1640 培养基购自美国 Gibco 公司;小牛血清购自杭州四季青公司;植物血凝素 (Phytohemagglutinin, PHA) 购自美国 Sigma 公司;Tunel 试剂盒、Annexin V-PE/7-AAD 细胞凋亡检测试剂盒购自南京凯基生物公司;重组人 PD-L1 蛋白购自 Sino Biological 公司。

1.2 SP 免疫组化染色以及结果判断

4 μ m 切片脱蜡至水,10% H_2O_2 室温孵育 10 min, Tris-EDTA (pH 9.0) 微波抗原修复并经 PBS 洗涤,在加山羊血清室温孵育 20 min 后滴加 PD-L1 抗体 (1:100) 或 PD-1 抗体 (1:100) 4 $^{\circ}C$ 孵育过夜。室温二抗孵育 30 min 后,切片经二氨基联苯胺 (Diaminobenzidine, DAB) 显色,苏木精复染,中性树脂封片。以 PBS 替代一抗作为阴性对照。PD-L1 阳性表达于细胞膜和细胞浆,染色结果判定标准参照 Fromowitz。细胞染色强度:无色为 0 分,淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。阳性细胞所占的百分比:<5% 为 0 分,5%~25% 为 1 分,26%~50% 为 2 分,51%~75% 为 3 分,>75% 为 4 分,两项评分之积 ≥ 2 分为阳性。染色结果由经验丰富的病理医师进行判定。

1.3 免疫荧光染色

切片预处理同前。滴加鼠抗人 CD_4 (1:50) 或 CD_8 (1:50) 4 $^{\circ}C$ 孵育过夜。异硫氰酸荧光素 (Fluorescein isothiocyanate, FITC) 标记二抗 (1:50) 室温避光孵育 1 h, PBS 清洗后甘油封片,荧光显微镜观察。

1.4 TUNEL 法检测淋巴细胞凋亡

切片脱蜡至水, Tris-EDTA (pH 9.0) 微波抗原修复并经 PBS 洗涤后 3% 牛血清白蛋白 (Bovine serum albumin, BSA) 室温孵育 15 min, PBS 清洗后滴加 50 μ l 末端脱氧核苷酸转移酶 (Terminal deoxynucleotidyl transferase, TdT) 酶反应液室温避光孵育 1 h, PBS 冲洗后滴加 50 μ l Streptavidin-HRP 工作液室温避光孵育 30 min 后 DAB 显色,苏木精复染,中性树脂封片。以 PBS 替代 TdT 酶作为阴性对照。

1.5 流式细胞术检测 T 细胞凋亡

健康献血者或宫颈癌患者抗凝外周血经 Ficoll 密度梯度离心法后过尼龙毛柱获得 T 细胞并接种于 24 孔板,每孔 T 细胞 500 μ l (1×10^6 个/ml), 加入 PHA (10 μ g/ml) 刺激 24 h。将 T 细胞分为 3 组,实验组 (PD-L1 组) 加入终浓度为 1 μ g/ml 的重组人 PD-L1,拮抗组 (PD-L1+抗 PD-1 组) 加入终浓度为 1 μ g/ml 的重组人 PD-L1 和 1 μ g/ml 的抗 PD-1 抗体,空白组加入等体积 PBS 共培养。48 h 后收集 T 细胞,分别经 Annexin V-PE/7-AAD、小鼠抗人 CD_4 -FITC 和 CD_8 -FITC 避光孵育 15 min 后,流式细胞术检测 T 细胞凋亡。

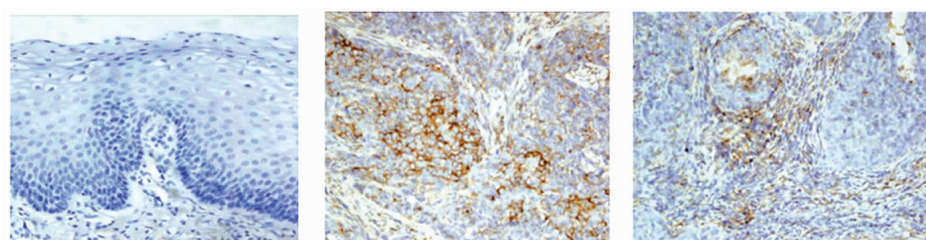
1.6 统计学分析

用 SPSS 17.0 统计软件进行统计学分析。数据比较采取 t 检验,各组平均值以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PD-L1 在正常子宫上皮和宫颈癌组织的表达

免疫组化结果显示正常子宫宫颈上皮不表达 PD-L1;子宫颈癌 PD-L1 阳性表达率为 70% (47/67),且 PD-L1 也表达于子宫颈鳞癌局部的间质细胞 (图 1)。



A. 正常宫颈上皮不表达 PD-L1 (IHC, 400 ×) B. 宫颈鳞癌表达 PD-L1 (IHC, 200 ×) C. 宫颈鳞癌部分间质细胞表达 PD-L1 (IHC, 200 ×)

图 1 PD-L1 在正常宫颈上皮和宫颈癌组织的表达

Fig.1 PD-L1 expression in normal cervical epithelium and cervical carcinoma

2.2 子宫颈癌局部浸润的淋巴细胞表达 PD-1 并出现凋亡

免疫组化染色显示肿瘤内浸润的部分淋巴细胞表达 PD-L1 的受体 PD-1。TUNEL 法检测结果显示 PD-L1 阳性宫颈癌病例肿瘤内浸润的部分淋巴细胞出现凋亡(图 2),而 PD-L1 阴性宫颈癌病例癌巢及间质内 T 细胞凋亡数量少。

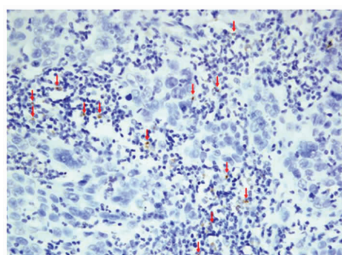


图 2 PD-L1 阳性宫颈鳞癌局部浸润的淋巴细胞凋亡 (TUNEL, 400 ×)

Fig.2 Lymphocytes apoptosis in PD-L1 positive cervical carcinoma (TUNEL, 400 ×)

2.3 宫颈癌 PD-L1 表达与肿瘤内 CD₄⁺T 和 CD₈⁺T 细胞浸润

免疫荧光染色结果显示子宫颈癌间质 CD₄⁺T 和 CD₈⁺T 细胞浸润明显,癌巢内偶见 CD₄⁺T 和 CD₈⁺T 细胞浸润。PD-L1 阳性的宫颈癌局部浸润的 CD₄⁺T 和 CD₈⁺T 细胞少于 PD-L1 阴性的宫颈癌。PD-L1 阳性组宫颈癌微环境内每 5 个高倍视野浸润的 CD₄⁺T 和 CD₈⁺T 细胞平均数为 (62.14 ± 18.37) 和 (91.52 ± 26.49), 但 PD-L1 阴性组宫颈癌肿瘤内浸润的 CD₄⁺T 和 CD₈⁺T 细胞的平均数为 (82.04 ± 13.57) 和 (240.52 ±

26.49), 2 组间浸润的 CD₈⁺T 细胞数量存在差异 ($t=-11.551$, $P=0.000$), 2 组间浸润的 CD₄⁺T 细胞数量差异无统计学意义 ($t=1.824$, $P=0.106$)。

2.4 重组人 PD-L1 对健康人和宫颈癌患者外周血活化 T 细胞凋亡的影响

流式细胞分析结果显示重组人 PD-L1 与健康人或宫颈癌患者外周血经 PHA 活化的 T 细胞共培养 48 h 后, T 细胞凋亡率增高, 但抗 PD-1 抗体能拮抗 PD-L1 诱导的 T 细胞凋亡(图 3)。PD-L1 蛋白与宫颈癌患者或健康人外周血活化混合培养 48 h 后, T 细胞的平均凋亡率高于空白组, 分别为 (38.3 ± 1.5)%、(32.8 ± 1.4)% ($t=-5.966$, $P=0.000$) 和 (30.9 ± 1.9)%、(27.7 ± 1.3)% ($t=-3.129$, $P=0.014$), 差异有统计学意义; 抗 PD-1 抗体下调了 PD-L1 的促凋亡作用, T 细胞平均凋亡率下降为 (31.6 ± 1.4)% 和 (29.8 ± 1.6)% ($t=-1.917$, $P=0.092$), 差异无统计学意义(图 4, 表 1)。

2.5 重组人 PD-L1 对外周血 CD₄⁺T 和 CD₈⁺T 细胞凋亡的影响

PD-L1 对外周血活化的 CD₄⁺T 和 CD₈⁺T 细胞亚群均有诱导凋亡作用。PD-L1 组 CD₄⁺T 和 CD₈⁺T 细胞的平均凋亡率分别为 (30.8 ± 0.8)%、(36.0 ± 1.4)%, 高于空白对照组 CD₄⁺T 和 CD₈⁺T 细胞凋亡率, 分别为 (26.9 ± 1.3)% 和 (31.0 ± 3.8)%, 两组间 CD₄⁺T 细胞凋亡率 ($t=-5.887$, $P=0.000$) 和 CD₈⁺T 细胞凋亡率, ($t=-2.740$, $P=0.025$) 的差异有统计学意义(图 5)。

重组人 PD-L1 与外周血活化 T 细胞混合培养 48 h 后, CD₄⁺T 和 CD₈⁺T 细胞占 CD₃⁺T 细胞的百分比分别为 (52.0 ±

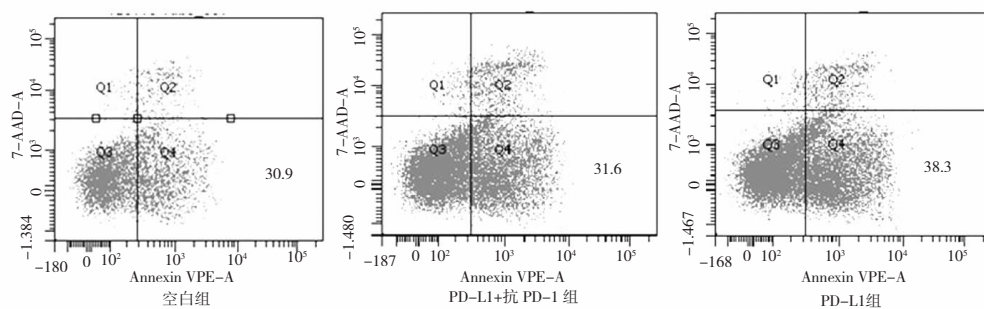


图 3 子宫颈癌患者外周血 T 细胞凋亡

Fig.3 Apoptosis of peripheral blood T cell of patients with cervical cancer

1.6)%和(31.3±1.2)%,与空白对照组 CD₄⁺T 和 CD₈⁺T 细胞占 CD₃⁺T 细胞的百分比基本相同,分别为(52.8±1.4)%和(31.6±1.9)%,2 组间 CD₄⁺T 细胞($t=-0.830, P=0.43$)和 CD₈⁺T 细胞($t=-0.301, P=0.771$)占 CD₃⁺T 细胞百分比的差异无统计学意义(图 6)。

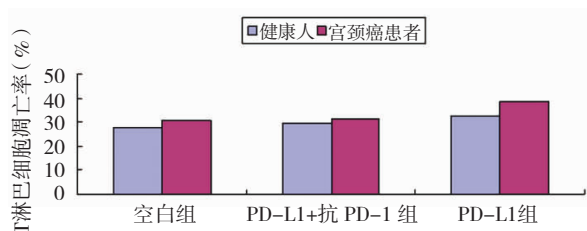


图 4 PD-L1 促进外周血 T 细胞凋亡

Fig.4 PD-L1 induced apoptosis of peripheral blood T cells

表 1 PD-L1 促进外周血 T 细胞凋亡

Tab.1 PD-L1 induced apoptosis of peripheral blood T cells

组别	健康人 T 细胞 凋亡率	宫颈癌患者 T 细胞 凋亡率
空白组	30.9 ± 1.9*	27.7 ± 1.3
PD-L1+抗 PD-1 组	31.6 ± 1.4**	38.3 ± 1.5***
PD-L1 组	29.8 ± 1.6	32.8 ± 1.4

注:*,健康人空白组 T 细胞凋亡率和宫颈癌患者空白组 T 细胞凋亡率比较 $t=-3.129, P=0.014$;**,健康人 PD-L1+ 抗 PD-1 组 T 细胞凋亡率和宫颈癌患者 PD-L1+ 抗 PD-1 组 T 细胞凋亡率比较 $t=-1.917, P=0.092$;***,健康人 PD-L1 组 T 细胞凋亡率和宫颈癌患者 PD-L1 组 T 细胞凋亡率比较 $t=-5.966, P=0.000$

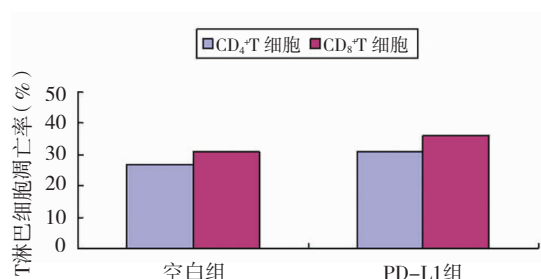


图 5 PD-L1 促进外周血 CD₄⁺T 和 CD₈⁺T 细胞凋亡

Fig.5 PD-L1 induced apoptosis of peripheral blood CD₄⁺T and CD₈⁺T cells

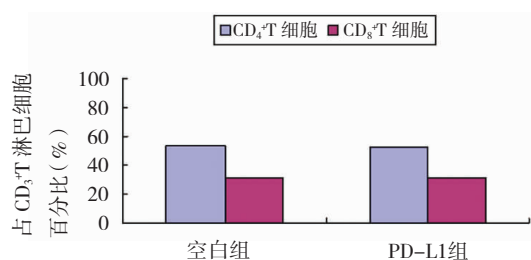


图 6 PD-L1 对外周血 CD₄⁺T 和 CD₈⁺T 细胞所占比例的影响

Fig.6 Effect of PD-L1 on the proportion of CD₄⁺T and CD₈⁺T cells in peripheral blood

3 讨论

子宫颈癌局部肿瘤微环境免疫功能下降多种因素有关,如病灶内出现负性免疫调节分子、肿瘤内浸润的 CD₈⁺T 细胞减少或无能、调节性 T 细胞增多等;而肿瘤内浸润的 CD₈⁺T 细胞数量与患者预后密切相关。本实验观察了负性免疫调节分子 PD-L1 在宫颈癌的表达,结果发现 70% 的宫颈癌病例癌细胞表达 PD-L1,部分病例的少数间质细胞也表达 PD-L1,该结果与 Karim 等^[7]报道宫颈癌 PD-L1 表达率(19%)存在差异,其原因可能与该作者采用组织芯片所观察范围局限以及宫颈癌患者来源于不同人种有关。因 PD-L1 与淋巴细胞表面的 PD-1 结合促进淋巴细胞凋亡^[8],本研究检测了宫颈癌内浸润淋巴细胞的 PD-1 表达,发现部分淋巴细胞表达 PD-1。TUNEL 检测结果显示肿瘤内浸润的部分淋巴细胞发生了凋亡,进一步观察发现 PD-L1 阳性的宫颈癌病例肿瘤内凋亡的淋巴细胞数量较 PD-L1 阴性病例多,提示宫颈癌细胞或间质细胞表达的 PD-L1 与淋巴细胞表面的 PD-1 结合促进了淋巴细胞凋亡。淋巴细胞凋亡的机制可能与 PD-L1 的胞外区 IgV 样结构域和 PD-1 胞外区结合而使 PD-1 胞浆区尾部的免疫受体酪氨酸抑制基序磷酸化,招募酪氨酸磷酸酶 SHP-1/2 使下游的效应分子(如磷脂酰肌醇激酶 3, PI3K)去磷酸化,抑制了 T 细胞增殖相关基因和凋亡抑制基因 Bcl-xl 的转录而促进 T 细胞凋亡^[9,10]。

因宫颈癌内浸润的 CD₈⁺T 细胞数量与患者预后密切相关,本研究分析了宫颈癌 PD-L1 表达与肿瘤内浸润的 CD₈⁺T 和 CD₄⁺T 细胞数量的关系,结果发现 PD-L1 阳性的宫颈癌内浸润的 CD₈⁺T 和 CD₄⁺T 细胞减少,而且 CD₈⁺T 细胞数量明显少于 PD-L1 阴性的宫颈癌病例,该结果提示宫颈癌 PD-L1 的表达与肿瘤内抗肿瘤效应 T 细胞数量减少而使宫颈局部 T 细胞免疫下调,造成宫颈癌细胞发生免疫逃逸。Thompson 等^[11]人发现肾癌细胞表达 PD-L1,肿瘤内浸润的淋巴细胞表达 PD-1,且 PD-L1 的表达水平及 PD-1⁺淋巴细胞的浸润程度与患者预后负相关。Hamanishi 等^[12]也发现 PD-L1 表达以及肿瘤内浸润的 CD₈⁺T 细胞数量与卵巢癌患者预后不有关。

PD-L1 有膜型和可溶性 2 种分子,可溶性 PD-L1 是膜型 PD-L1 经蛋白酶酶切其胞外段而形成的可

溶性分子。采用可溶性重组人 PD-L1 与正常人或宫颈癌患者外周血活化 T 细胞体外混合培养,发现 PD-L1 促进了健康人和宫颈癌患者外周血活化 T 细胞凋亡,而且 PD-L1 作用并未使人外周血 CD_4^+ T 和 CD_8^+ T 细胞亚群在 CD_3^+ T 淋巴细胞所占的比例发生明显改变,提示 PD-L1 对外周血活化的 CD_4^+ T 和 CD_8^+ T 细胞亚群均有诱导凋亡作用;该结果表明 PD-L1 抑制 T 细胞免疫的作用不仅仅限于宫颈癌间质的免疫调节 T 细胞^[7],对 CD_4^+ T 和 CD_8^+ T 细胞也存在抑制作用。本实验还发现抗 PD-1 抗体能拮抗 PD-L1 诱导的 T 细胞凋亡,提示宫颈癌细胞经 PD-L1/PD-1 途径诱导了肿瘤内浸润的 T 淋巴细胞尤其 CD_8^+ T 细胞凋亡,该结果支持 PD-L1 结合活化 T 细胞的 PD-1 受体下调抗肿瘤 T 细胞免疫应答的理论^[9,13,14]。

综上所述,人子宫颈癌异常表达 PD-L1 与肿瘤内浸润的淋巴细胞凋亡及 CD_8^+ T 细胞数量减少有关。PD-L1 经 PD-1 受体促进活化的 CD_4^+ T 和 CD_8^+ T 细胞凋亡。利用抗 PD-1 抗体阻断 PD-L1/PD-1 通路可改善宫颈局部的 T 细胞免疫。PD-L1/PD-1 通路有望成为抗肿瘤免疫治疗的新靶点。

参 考 文 献

- [1] Jayshree R S, Sreenivas A, Tessy M, et al. Cell intrinsic & extrinsic factors in cervical carcinogenesis[J]. Indian J Med Res, 2009, 130(3): 286-295.
- [2] Folkl A, Bienzle D. Structure and function of programmed death (PD) molecules[J]. Vet Immunol Immunopathol, 2010, 134(1-2): 33-38.
- [3] Seliger B, Marincola F M, Ferrone S, et al. The complex role of B7 molecules in tumor immunology[J]. Trends Mol Med, 2008, 14(12): 550-559.
- [4] Gao Q, Wang X Y, Qiu S J, et al. Overexpression of PD-L1 significantly associates with tumor aggressiveness and postoperative recurrence in human hepatocellular carcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(3): 971-979.
- [5] Inman B A, Frigola X, Dong H, et al. Costimulation, coinhibition and cancer[J]. Curr Cancer Drug Targets, 2007, 7(1): 15-30.
- [6] Shi F, Shi M, Zeng Z, et al. PD-1 and PD-L1 upregulation promotes CD_8^+ T-cell apoptosis and postoperative recurrence in hepatocellular carcinoma patients[J]. Int J Cancer, 2011, 128(4): 887-896.
- [7] Karim R, Jordanova E S, Piersma S J, et al. Tumor-expressed B7-H1 and B7-DC in relation to PD-1+ T-cell infiltration and survival of patients with cervical carcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(20): 6341-6347.
- [8] Dong H, Strome S E, Salomao D R, et al. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis; a potential mechanism of immune evasion [J]. Nat Med, 2002, 8(8): 793-800.
- [9] Keir M E, Butte M J, Freeman G J, et al. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity[J]. Annu Rev Immunol, 2008, 26: 677-704.
- [10] Parry R V, Chemnitz J M, Frauwirth K A, et al. CTLA-4 and PD-1 receptors inhibit T-cell activation by distinct mechanisms[J]. Mol Cell Biol, 2005, 25(21): 9543-9553.
- [11] Thompson R H, Gillett M D, Cheville J C, et al. Costimulatory B7-H1 in renal cell carcinoma patients: indicator of tumor aggressiveness and potential therapeutic target[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101(49): 17174-17179.
- [12] Hamanishi J, Mandai M, Iwasaki M, et al. Programmed cell death 1 ligand 1 and tumor-infiltrating CD_8^+ T lymphocytes are prognostic factors of human ovarian cancer[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007, 104(9): 3360-3365.
- [13] Francisco L M, Sage P T, Sharpe A H. The PD-1 pathway in tolerance and autoimmunity[J]. Immunol Rev, 2010, 236: 219-242.
- [14] Jacobs J F, Idema A J, Bol K F, et al. Regulatory T cells and the PD-L1/PD-1 pathway mediate immune suppression in malignant human brain tumors[J]. Neuro Oncol, 2009, 11(4): 394-402.

(责任编辑:唐秋姗)