

基础研究

DOI: 10.11699/cyxb20131121

乳腺癌 B7-H4 的表达与 FOXP3⁺Treg 细胞浸润及淋巴结转移的相关性研究

黄文炼, 徐 曼, 陈 瑜, 王婷婷, 耿卫朴, 张 燕

(重庆医科大学基础医学院病理学教研室、重庆医科大学分子医学与肿瘤研究中心, 重庆 400016)

【摘要】目的:研究 B7 同源体 4(B7 homolog 4, B7-H4)在人乳腺癌组织的表达及其与肿瘤内 FOXP3⁺调节性 T 细胞(Treg)浸润数量和淋巴结转移的相关性。**方法:**应用 SP 免疫组织化学法检测 B7-H4 蛋白在 16 例正常乳腺组织和 79 例乳腺癌组织的表达;间接免疫荧光双标染色法观察 64 例浸润性乳腺癌组织中 CD3⁺T 细胞和 FOXP3⁺Treg 的浸润情况;统计学分析 B7-H4 的表达与癌间质浸润的 FOXP3⁺Treg 数量和淋巴结转移的相关性。**结果:**B7-H4 在正常乳腺组织、导管内癌和浸润性乳腺癌的阳性表达率分别为 6.3%、40.0%和 78.1%,其在浸润性乳腺癌中的表达明显高于正常乳腺组织和导管内癌组($P=0.000, P=0.009$),但在正常乳腺组织和导管内癌间未见明显差异($P=0.037$);B7-H4 的表达与乳腺癌间质浸润的 FOXP3⁺Treg 数量正相关($P=0.368, P=0.003$),而与浸润的 CD3⁺T 细胞数量负相关($r_s=-0.316, P=0.011$);但 B7-H4 的表达与乳腺癌的淋巴结转移无关($P>0.05$)。**结论:**B7-H4 在乳腺癌异常高表达且与肿瘤局部免疫抑制有关,但与淋巴结转移无明显相关性。

【关键词】B7 同源体 4; FOXP3⁺调节性 T 细胞; 淋巴结转移; 乳腺癌

【中国图书分类法分类号】R364.7

【文献标志码】A

【收稿日期】2013-03-25

作者简介:黄文炼, Email: 446452172@qq.com,

研究方向:肿瘤病理与肿瘤免疫。

通信作者:徐 曼, Email: manxucqmu08@yahoo.cn。

基金项目:重庆市自然科学基金资助项目(编号: CSTC, 2009BB5268)。

ocytes[J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 137(1): 263-270.

[6] Qiang H, Wang K Z, Shi Z B, et al. Panax notoginseng saponins protect rabbit bone marrow stromal cells from hydrogen peroxide-induced apoptosis[J]. *Journal of Chinese Integrative Medicine*, 2010, 8(2): 131-137.

[7] Qiang H, Zhang C, Shi Z B, et al. Protective effects and mechanism of Panax Notoginseng saponins on oxidative stress-induced damage and apoptosis of rabbit bone marrow stromal cells[J]. *Chin J Integr Med*, 2010, 16(6): 525-530.

[8] Shen Z J, Wang H, Lu Y L, et al. Gene transfer of vasoactive intestinal polypeptide into the penis improves erectile response in the diabetic rat[J]. *BJU Int*, 2005, 95(6): 890-894.

[9] Heaton J P, Varrin S J, Morales A. The characterization of a bio-assay of erectile function in a rat model[J]. *J Urol*, 1991, 145(5): 1099-1102.

[10] Melman A, Zhao W, Davies K P, et al. The successful long-term treatment of age related erectile dysfunction with hSlo cDNA in rats in vivo[J]. *J Urol*, 2003, 170(1): 285-290.

[11] Bivalacqua T J, Usta M F, Champion H C, et al. Gene transfer of endothelial nitric oxide synthase partially restores nitric oxide synthesis and erectile function in streptozotocin diabetic rats[J]. *J Urol*, 2003, 169(5): 1911-1917.

[12] Yamanaka M, Shirai M, Shiina H, et al. Diabetes induced erectile dysfunction and apoptosis in penile crura are recovered by insulin treatment in rats[J]. *J Urol*, 2003, 170(1): 291-297.

[13] Gou X, He W Y, Xiao M Z, et al. Transplantation of endothelial progenitor cells transfected with VEGF165 to restore erectile function in diabetic rats[J]. *Asian J Androl*, 2011, 13(2): 332-338.

[14] Xie D, Odronic S I, Wu F, et al. Mouse model of erectile dysfunction due to diet-induced diabetes mellitus[J]. *Urology*, 2007, 70(1): 196-201.

[15] Súenz de Tejada I. Molecular mechanisms for the regulation of penile smooth muscle contractility[J]. *Int J Impot Res*, 2002, 14(s1): 6-10.

[16] Yamanaka M, Shirai M, Shiina H, et al. Vascular endothelial growth factor restores erectile function through inhibition of apoptosis in diabetic rat penile crura[J]. *J Urol*, 2005, 173(1): 318-323.

[17] Kim J J, Xiao H, Tan Y, et al. The effects and mechanism of saponins of Panax notoginseng on glucose metabolism in 3T3-L1 cells[J]. *Am J Chin Med*, 2009, 37(6): 1179-1189.

[18] Yang C Y, Wang J, Zhao Y, et al. Anti-diabetic effects of Panax notoginseng saponins and its major anti-hyperglycemic components[J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 130(2): 231-236.

[19] Thiet M P, Suwanvanichkij V, Hasselblatt K, et al. Apoptosis in human term placenta. a morphological and gene expression study[J]. *Gynecol Obstet Invest*, 2000, 50(2): 88-91.

[20] Qiao S, Nagasaka T, Harada T, et al. p53, Bax and Bcl-2 expression, and apoptosis in gestational trophoblast of complete hydatidiform mole[J]. *Placenta*, 1998, 19(5-6): 361-369.

(责任编辑:唐秋姗)

Correlation between B7-H4 expression and tumor-infiltrating FOXP3⁺Tregs and lymphonode metastasis of human breast cancer

HUANG Wenlian, XU Man, CHEN Yu, WANG Tingting, GENG Weipu, ZHANG Yan

(Teaching and Research Section of Pathology, College of Basic Medical Science, Molecular Medicine and Tumor Research Center, Chongqing Medical University)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression of B7 homolog 4 (B7-H4) in human breast cancer and to analyze its relationship with number of tumor-infiltrating FOXP3⁺Tregs and cancer lymphonode metastasis. **Methods:** B7-H4 expression was detected by immunohistochemistry in 16 cases of normal breast tissues and 79 cases of breast cancer. Number of tumor-infiltrating CD3⁺T cells and FOXP3⁺Tregs was determined by indirect immunofluorescent double-staining in 64 cases of invasive breast cancer. Correlation between B7-H4 expression and number of tumor-infiltrating CD3⁺T cells and FOXP3⁺Tregs as well as lymphonode metastasis was analyzed. **Results:** B7-H4 expressed in 6.3% normal breast tissues, 40.0% ductal cancer in situ and 78.1% invasive breast cancer. B7-H4 expression in invasive breast cancer was significantly higher than that in normal breast tissues and ductal cancer in situ ($P=0.000, P=0.009$) without significantly difference between normal breast tissues and ductal cancer in situ ($P=0.037$). Intensity of B7-H4 was positively correlated with number of infiltrating FOXP3⁺Tregs ($r_s=0.368, P=0.003$) but was negatively correlated with number of infiltrating CD3⁺T cells ($r_s=-0.316, P=0.011$) and had no relationship with lymphonode metastasis of breast cancer ($P>0.05$). **Conclusions:** B7-H4 overly expresses in breast cancer. B7-H4 is in association with the local antitumor immune inhibition not lymphonode metastasis of tumors.

[Key words] B7 homolog 4; FOXP3⁺Treg; lymphonode metastasis; breast cancer

局部免疫功能低下导致肿瘤细胞的免疫逃逸是恶性肿瘤发生发展的重要机制之一^[1-3]。肿瘤微环境中多种因素参与抑制抗肿瘤免疫,如肿瘤细胞表达负性共刺激分子、局部浸润的免疫调节性 T 细胞 (Treg) 数量增多以及抑制性细胞因子白细胞介素 (interleukin, IL)-10、转化生长因子 (transforming growth factor, TGF)- β 1 产生增多等,它们可能导致抗肿瘤效应 T 细胞数量减少或功能低下^[4]。共刺激分子 B7 同源体 4 (B7 homolog 4, B7-H4) 是免疫球蛋白超家族成员之一,文献报道 B7-H4 在多种上皮来源的恶性肿瘤异常表达^[5-9],参与抑制 T 细胞增殖及细胞因子 IL-2 和干扰素 (interferon, IFN)- γ 的分泌,从而负性调节 T 细胞免疫^[10-11]。由于肿瘤局部淋巴细胞浸润状况与肿瘤的进展及预后密切相关,我们在前期研究中观察到乳腺癌细胞异常表达 B7-H4 与间质浸润的 CD8⁺T 细胞数量及其分泌细胞因子 IFN- γ 减少有关。肿瘤微环境中 Treg 有抑制抗肿瘤免疫作用,它们通过细胞接触或分泌抑制性细胞因子抑制细胞免疫及维持机体的免疫耐受^[12-14]。文献报道负性共刺激分子家族成员 B7-H1 的表达与肿瘤局部 Treg 数量增多有关^[15],但有关 B7-H4 的表达是否与肿瘤微环境中 Treg 浸润有关目前尚未见报道。本研究利用 Treg 的特异性表面标志物转录因子叉状头/翅膀状螺旋转录因子 (forkhead/winged he-

lix transcription factor, FOXP3), 通过免疫组织化学和免疫荧光染色法分析了 B7-H4 在乳腺癌细胞的表达及其与肿瘤局部浸润的 FOXP3⁺Treg 数量和淋巴结转移的相关性。

1 材料和方法

1.1 组织样本

16 例癌旁正常乳腺组织、15 例导管内癌和 64 例浸润性乳腺癌均取自 2009-2011 年重庆医科大学附属第一医院的手术切除标本。64 例浸润性乳腺癌包括 42 例浸润性导管癌、10 例浸润性小叶癌和 12 例髓样癌,在术前均未进行放疗或化疗。患者平均年龄为 50.1 岁 (29~76 岁)。乳腺癌淋巴结转移的信息来源于手术标本的病理报告。

1.2 实验试剂

兔抗人 B7-H4 (bs-0673R) 购自北京博奥森生物技术有限公司; SP 免疫组化试剂盒和 DAB 试剂购自福建迈新公司; 兔抗人 CD3、鼠抗人 FOXP3 (14-4777-82) 购自美国 eBioscience 公司; 羊抗鼠 IgG-FTTC、羊抗兔 IgG-TRITC 购自北京中杉金桥生物技术公司。

1.3 实验方法

1.3.1 SP 法检测 B7-H4 的表达 4 μ m 切片常规脱蜡至水,于枸橼酸钠缓冲液 (pH 6.0) 中微波抗原修复,经内源性过氧化物酶于 37 $^{\circ}$ C 阻断 10 min,用正常羊血清 37 $^{\circ}$ C 孵育 10 min,加兔抗人 B7-H4 (1:200) 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,37 $^{\circ}$ C 复温 45 min 后滴加生物素标记的二抗 37 $^{\circ}$ C 孵育 10 min,链霉菌抗生物素-

过氧化物酶 37 °C 孵育 10 min, DAB 显色 3~10 min 后自来水冲洗, 苏木精复染, 梯度酒精脱水后经二甲苯透明、中性树脂封片并镜检。以 PBS 代替一抗作为阴性对照。

1.3.2 间接免疫荧光双标染色检测 CD3/FOXP3 的表达
4 μm 切片同上述步骤处理后, 加鼠抗人 FOXP3(1:50) 和兔抗人 CD3(1:100) 4 °C 孵育过夜, 37 °C 复温 45 min 后避光滴加羊抗鼠 FITC(1:600) 和羊抗兔 TRITC(1:1 200) 37 °C 孵育 30 min, 洗片后甘油:0.01 mol/L PBS(1:1) 封片并镜检。分别设置阳性和阴性对照。

1.4 结果判定

1.4.1 免疫组化 根据阳性细胞数量和染色的强弱判断结果: 无阳性细胞为 0 分, 阳性细胞数 <10% 为 1 分, 11%~50% 为 2 分, 51%~75% 为 3 分, >75% 为 4 分; 无着色为 0 分, 淡黄色为 1 分, 棕黄色为 2 分, 棕褐色为 3 分。2 项得分相乘结果 >3 分为阳性表达病例, ≤3 分为阴性表达病例。

1.4.2 免疫荧光结果 CD3 呈胞质/膜橘红色荧光, FOXP3 呈胞核/浆黄绿色荧光。每张切片在荧光显微镜下选取阳性细胞数较多的 3 个高倍视野(high power objective, HP) 照像, 计数阳性细胞并分级: 1 级(≤5 个细胞/3 HP), 2 级(6~50/3 HP), 3 级(51~99/3 HP), 4 级(≥100/3 HP), 其中 1 级和 2 级为低表达组, 3 级和 4 级为高表达组。

1.5 统计学处理

运用 SPSS 17.0 统计软件分析, 应用 χ² 检验和 Fisher 确切概率法以及 Spearman 等级相关比较分析, P≤0.05 为差异有统计学意义(因表 1 中涉及 3 组数据比较, 故特调低检验水准, P≤0.016 7 为差异有统计学意义)。

2 结果

2.1 B7-H4 在正常乳腺和乳腺癌组织的表达

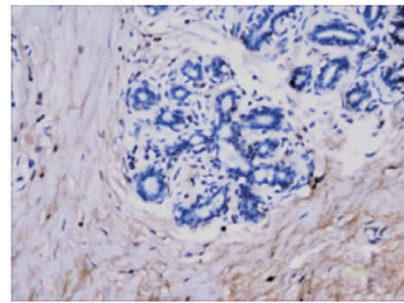
在 16 例正常乳腺组织中, 仅 1 例导管肌上皮和腺泡细胞弱阳性表达 B7-H4, 阳性率为 6.3%; 在 15 例导管内癌中, 6 例癌细胞质和胞膜表达 B7-H4, 阳性率为 40.0%; 而在 64 例浸润性乳腺癌中, 50 例癌细胞质和胞膜弥漫表达 B7-H4, 阳性率为 78.1%。虽然统计分析 B7-H4 在正常乳腺组织与导管内癌组织中的表达未见统计学差异(P=0.037), 但其在浸润性乳腺癌中的表达明显高于乳腺导管内癌和正常乳腺组织(P<0.01, P<0.01)(表 1、图 1)。

表 1 B7-H4 在正常乳腺、导管内癌和浸润性乳腺癌的表达 (n, %)

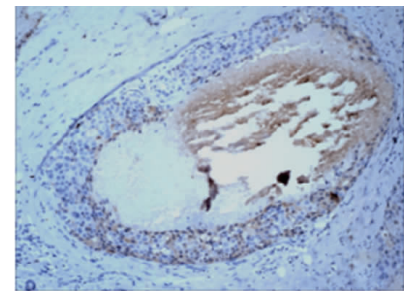
Tab.1 B7-H4 expressions in normal breast tissues, ductal cancer in situ and invasive breast cancer (n, %)

组别	例数 (n)	B7-H4 的表达情况		χ² 值	P 值
		-	+		
正常乳腺	16	15	1 (6.3)		0.037 ^a
导管内癌	15	9	6 (40.0)	6.811 ^b	0.009 ^b
浸润性癌	64	14	50 (78.1)	28.614 ^c	<0.001 ^c

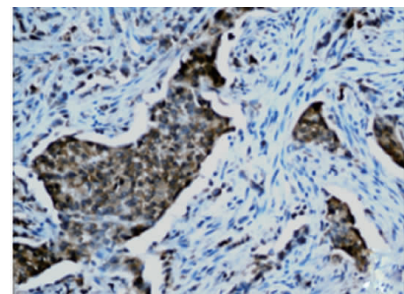
注: a, 正常乳腺和导管内癌; b, 导管内癌和浸润性癌; c, 正常乳腺和浸润性癌



A. 正常乳腺小叶 B7-H4 无表达 (200 ×)



B. 导管内癌 B7-H4 弱阳性表达 (200 ×)



C. 乳腺浸润性导管癌 B7-H4 强阳性表达 (400 ×)

图 1 B7-H4 在正常乳腺组织和乳腺癌中的表达
Fig.1 B7-H4 expression in normal breast tissues and breast cancer

2.2 B7-H4 表达与癌间质内 CD3⁺T 细胞、FOXP3⁺Treg 浸润的相关性

免疫荧光双标染色结果显示, B7-H4 阳性的浸润性乳腺癌局部浸润的 CD3⁺T 细胞数量明显减少, 但 FOXP3⁺Treg/CD3⁺T 细胞的比值较高; 而不表达 B7-H4 的浸润性乳腺癌间质有较多的 CD3⁺T 细胞浸润, 但 FOXP3⁺Treg/CD3⁺T 细胞的比值低。对 B7-H4 染色评分和间质浸润的 FOXP3⁺Treg 数量等级资料进行 Spearman 相关分析结果显示, 乳腺癌表达 B7-H4 与癌间质内浸润的 FOXP3⁺Treg 数量显著正相关, 但与 CD3⁺T 细胞数量显著负相关(P<0.01, P<0.05)(表 2、图 2)。

2.3 B7-H4 表达与淋巴结转移的相关性

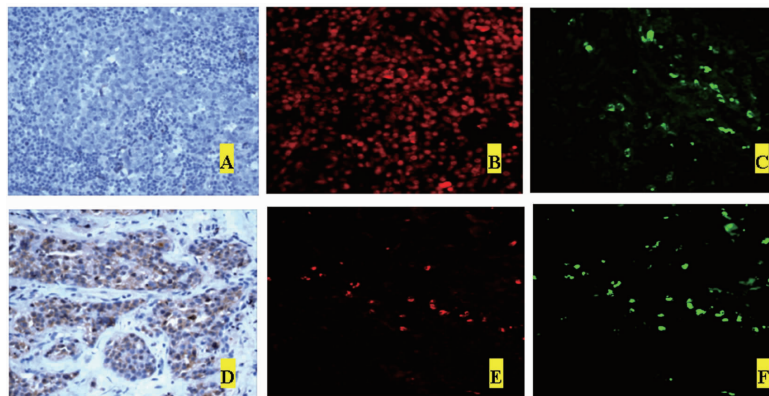
统计学相关分析结果显示 B7-H4 在浸润性乳腺癌中的阳性表达与患者淋巴结转移无关(P>0.05), 但患者淋巴结转移与肿瘤内浸润的 FOXP3⁺Treg 数量正相关(P<0.05)(表 3)。

表 2 B7-H4 表达与 CD3⁺T 细胞及 FOXP3⁺Treg 浸润数量的相关性 (n)

Tab.2 Correlation between B7-H4 expression and number of tumor-infiltrating CD3⁺T cells and FOXP3⁺Tregs (n)

相关性分析	B7-H4 表达 (0~12 分)										r _s 值	P 值
	0	1	2	3	4	6	8	9	12			
FOXP3 ⁺ Treg 数量												
1 级	1	2	1	1	2	1	0	1	1	0.368	0.003	
2 级	0	3	2	0	1	0	0	2	1			
3 级	0	1	3	0	7	9	3	9	5			
4 级	0	0	0	0	1	3	0	2	2			
CD3 ⁺ T 细胞数量												
1 级	0	0	0	0	1	0	0	0	1	-0.316	0.011	
2 级	1	0	0	0	0	1	0	2	1			
3 级	0	1	1	1	5	6	2	9	4			
4 级	0	5	5	0	5	6	1	3	3			

注: Spearman 相关分析, n=64



A、B、C: B7-H4 阴性的浸润性导管癌间质浸润的 CD3⁺T 细胞和 FOXP3⁺Treg (400 ×); D、E、F: B7-H4 阳性的浸润性导管癌间质浸润的 CD3⁺T 细胞和 FOXP3⁺Treg (400 ×); 橘红色为 CD3⁺T 细胞, 黄绿色为 FOXP3⁺Treg

图 2 CD3⁺T 细胞和 FOXP3⁺Treg 在乳腺癌间质的浸润情况

Fig.2 Infiltration of CD3⁺T cells and FOXP3⁺Tregs in mesenchyme of breast cancer

表 3 B7-H4、FOXP3⁺Treg 在乳腺癌的表达与淋巴结转移的相关性分析 (n)

Tab.3 Correlation between expression of B7-H4 and FOXP3⁺Treg in with breast cancer and lymphonode metastasis (n)

淋巴结转移	例数 (n)	B7-H4 表达		χ ² 值	P 值	FOXP3 ⁺ Treg 的表达		χ ² 值	P 值
		-	+			≤ 50	>50		
有	25	6	19	1.08	0.742	4	21	4.441	0.035
无	39	8	31			15	24		

3 讨论

本研究小组在本实验观察到正常乳腺组织不表达或仅微弱表达 B7-H4; 当导管上皮异型增生或发展为乳腺导管内癌时, 瘤变上皮的 B7-H4 表达逐渐增强、阳性率增高, 而浸润性乳腺癌的癌细胞 B7-H4 表达强度更高, 可惜的是经统计分析 B7-H4 在正常乳腺组织和导管内癌中的表达未见明显差异, 可能需要更多标本量的分析; 但可以肯定的是 B7-H4 在浸润性乳腺癌中的阳性率明显高于乳腺导管内癌和正常乳腺组织, 提示 B7-H4 的表达可能随乳腺导管上皮的异型增生和癌细胞的浸润而逐

渐增强。

因癌间质内浸润的 FOXP3⁺Treg 具有抑制局部抗肿瘤免疫的作用^[6], 为了探明乳腺癌细胞表达 B7-H4 是否与肿瘤局部 Treg 浸润有关, 本研究小组进一步对浸润性乳腺癌进行了 FOXP3⁺Treg 和 CD3⁺T 细胞的免疫荧光双标染色, 结果显示局部浸润 FOXP3⁺Treg 增多与 B7-H4 蛋白在乳腺癌的过度表达显著相关, 而且 B7-H4 高表达的浸润性乳腺癌间质内浸润的 FOXP3⁺Treg/CD3⁺T 细胞的比值高于不表达 B7-H4 的浸润性乳腺癌; B7-H4 高表达的乳腺癌局部 CD3⁺T 细胞浸润数量明显低于 B7-H4 阴性的癌组织, CD3⁺T 细胞浸润的数量与 B7-H4 的表

达负相关。本研究小组在体外实验结果也发现 B7-H4 蛋白能抑制人外周血 T 淋巴细胞增殖,使 FOXP3⁺Treg/CD3⁺T 细胞比例增高(实验结果未显示)。Kryczek 等^[17-18]发现卵巢癌间质的肿瘤相关巨噬细胞表达 B7-H4,与 Treg 的数量显著正相关。Karim 等^[15]也报道负性共刺激分子家族成员 B7-H1 具有促进宫颈癌患者外周血 Treg 增殖的作用。笔者推测肿瘤细胞表达 B7-H4 促进 FOXP3⁺Treg 的局部浸润,他们可能协同抑制肿瘤内效应 T 细胞的浸润和功能发挥,从而下调肿瘤局部 T 细胞的抗肿瘤免疫功能。B7-H4 促进 FOXP3⁺Treg 浸润的机制尚需更深入地探讨研究。

淋巴结转移是评估乳腺癌患者预后的重要指针,文献报道我国乳腺癌患者的 5 年生存率随淋巴结转移数量增多而下降;且有淋巴结转移的乳腺癌患者 5 年内死亡的危险性是无转移者的 11.665 倍^[19-20]。肿瘤细胞进入淋巴道并发生淋巴结转移提示免疫效应 T 细胞功能受到明显抑制,因此我们对浸润性乳腺癌 B7-H4 的表达与淋巴结转移进行相关分析,结果发现虽然 B7-H4 阳性组患者淋巴结转移的例数更多,但与 B7-H4 阴性组患者淋巴结转移无差别;但肿瘤内浸润的 FOXP3⁺Treg 数量与乳腺癌淋巴结转移呈正相关。鉴于肿瘤内 B7-H4 的表达与 FOXP3⁺Treg 的浸润数量相关,作者推测 B7-H4 表达可能与乳腺癌患者预后差间接相关。

总之,本研究结果表明 B7-H4 的表达可能随乳腺导管上皮的异型增生和浸润性生长而逐渐增强;B7-H4 的表达与肿瘤内浸润的 FOXP3⁺Treg 数量显著相关,二者可能协同作用抑制肿瘤内效应 T 细胞的浸润和抗肿瘤免疫功能;但 B7-H4 的表达与乳腺癌患者局部淋巴结的转移无关。采用分子靶向治疗抑制癌细胞表达 B7-H4 可能有助于增强肿瘤微环境的免疫功能从而改善患者的预后。

参 考 文 献

- [1] Seliger B. Strategies of tumor immune evasion[J].*Bio Drugs*, 2005, 19(6): 347-354.
- [2] Manjili M H, Egilmez N, Knutson K L, et al. Tumor escape and progression under immune pressure[J].*Clin Dev Immunol*, 2012. doi: 10.1155/2012/641079[Epub ahead of time].
- [3] Höchst B, Diehl L. Antigen shedding into the circulation contributes to tumor immune escape[J].*Oncoimmunology*, 2012, 1(9): 1620-1622.
- [4] Seliger B, Quandt D. The expression, function, and clinical relevance of B7 family members in cancer[J].*Cancer Immunol Immunother*, 2012, 61(8): 1327-1341.
- [5] Sica G L, Choi I H, Zhu G, et al. B7-H4, a molecule of the B7 family, negatively regulates T cell immunity[J].*Immunity*, 2003, 18(6): 849-861.
- [6] Zheng X, Li X D, Wu C P, et al. Expression of costimulatory molecule B7-H4 in human malignant tumors[J].*Onkologie*, 2012, 35(11): 700-705.
- [7] Mugler K C, Singh M, Tringler B, et al. B7-h4 expression in a range of breast pathology: correlation with tumor T-cell infiltration [J].*Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2007, 15(4): 363-370.
- [8] Jiang J, Zhu Y, Wu C, et al. Tumor expression of B7-H4 predicts poor survival of patients suffering from gastric cancer[J].*Cancer Immunol Immunother*, 2010, 59(11): 1707-1714.
- [9] Chen L J, Sun J, Wu H Y, et al. B7-H4 expression associates with cancer progression and predicts patient's survival in human esophageal squamous cell carcinoma[J].*Cancer Immunol Immunother*, 2011, 60(7): 1047-1055.
- [10] Quandt D, Fiedler E, Boettcher D, et al. B7-H4 Expression in human melanoma: its association with patients' survival and antitumor immune response[J].*Clin Cancer Res*, 2011, 17(10): 3100-3111.
- [11] 黄文炼, 徐曼, 王婷婷, 等. 乳腺癌 B7-H4 异常表达及与肿瘤内 CD8⁺T 细胞浸润、IFN- γ 分泌的相关性研究[J].*中国肿瘤临床*, 2012, 39(15): 1096-1103.
- [12] Huang W L, Xu M, Wang T T, et al. Over expression of B7-H4 in breast carcinoma inversely correlated with CD8⁺T cells infiltration and IFN- γ secretion[J].*Chin J Clin Oncol*, 2012, 39(15): 1096-1103.
- [13] Nielsen J S, Nelson B H. Tumor-infiltrating B cells and T cells: working together to promote patient survival[J].*Oncoimmunology*, 2012, 1(9): 1623-1625.
- [14] Ohkura N, Kitagawa Y, Sakaguchi S. Development and maintenance of regulatory T cells[J].*Immunity*, 2013, 38(3): 414-423.
- [15] Sun M, Yang P, Du L, et al. Contribution of CD4⁺CD25⁺T cells to the regression phase of experimental autoimmune uveoretinitis[J].*Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2010, 51(1): 383-389.
- [16] 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.
- [17] Kryczek I, Liu R, Wang G, et al. FOXP3 defines regulatory T cells in human tumor and autoimmune disease[J].*Cancer Res*, 2009, 69(9): 3995-4000.
- [18] Kryczek I, Zou L, Rodriguez P, et al. B7-H4 expression identifies a novel suppressive macrophage population in human ovarian carcinoma [J].*J Exp Med*, 2006, 203(4): 871-881.
- [19] Kryczek I, Wei S, Zhu G, et al. Relationship between B7-H4, regulatory T cells, and patient outcome in human ovarian carcinoma[J].*Cancer Res*, 2007, 67(18): 8900-8905.
- [20] 林本耀. 乳腺癌[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2007: 30-41.
- [21] Lin B Y. Breast cancer[M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2007: 30-41.
- [22] 惠锐. 乳腺癌腋窝淋巴结转移规律的回溯性分析[J].*肿瘤防治杂志*, 2004, 11(9): 933-935.
- [23] Hui R. Retrospective study of axillary lymph nodes metastasis from breast cancer[J].*Chin J Cancer Prevention and Treatment*, 2004, 11(9): 933-935.

(责任编辑: 关蕴良)