

临床研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyx.001512

BRAF V600E 和 PD-L1 蛋白表达在
甲状腺乳头状癌中的临床意义

曹益嘉,王成龙,胡代星,周 静,苏新良

(重庆医科大学附属第一医院内分泌外科,重庆 400016)

【摘要】目的:研究甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma,PTC)中 BRAF V600E 与程序性死亡因子配体 1(programmed death ligand 1,PD-L1)蛋白表达,探讨其与 PTC 临床特征的相关性。**方法:**随机收集 2015 至 2017 年重庆医科大学附属第一医院 128 例 PTC 患者作为研究对象,收集 40 例甲状腺癌旁正常组织患者作为对照。采用免疫组化检查 BRAF V600E 蛋白和 PD-L1 蛋白的表达。**结果:**PTC 中 BRAF V600E 蛋白阳性率为 67.9%(87/128),明显高于正常组($\chi^2=11.693, P=0.000$);单因素卡方检验分析 BRAF 蛋白阳性与患者年龄 ≥ 45 岁($\chi^2=22.345, P=0.000$)、甲状腺包膜侵犯($\chi^2=4.643, P=0.031$)关系密切。而 PD-L1 在 PTC 中阳性率为 57.8%(74/128),明显高于正常组织($\chi^2=9.812, P=0.000$);单因素卡方检验分析 PD-L1 蛋白阳性与 PTC 患者年龄 ≥ 45 岁($\chi^2=44.390, P=0.000$)、淋巴结转移状态($\chi^2=28.584, P=0.000$)及甲状腺包膜侵犯($\chi^2=12.895, P=0.000$)显著相关。多因素 logistic 回归分析显示 BRAF 蛋白的表达与患者年龄 ≥ 45 岁($OR=3.003, 95\%CI=1.218\sim 7.404, P=0.017$)、甲状腺包膜侵犯($OR=12.341, 95\%CI=3.944\sim 38.620, P=0.000$)关系密切,PD-L1 蛋白表达与患者年龄 ≥ 45 岁($OR=6.667, 95\%CI=2.668\sim 16.657, P=0.000$)、淋巴结转移($OR=3.987, 95\%CI=1.592\sim 9.987, P=0.003$)和甲状腺包膜侵犯($OR=4.249, 95\%CI=1.447\sim 12.478, P=0.008$)关系密切。进一步分析显示,BRAFV600E 蛋白阳性的 PTC 中 PD-L1 阳性率为 75.8%(66/87),明显高于 BRAF 蛋白阴性 PTC 中 PD-L1 阳性率 19.5%(8/41)($Kappa=0.520, P=0.000$)。提示在甲状腺乳头状癌中,BRAF 蛋白与 PD-L1 蛋白表达存在一致性。**结论:**BRAF 蛋白阳性的 PTC 中,PD-L1 免疫抑制分子存在过量表达,BRAFV600E 蛋白和 PD-L1 蛋白的共同过量表达与患者更差的预后相关。

【关键词】甲状腺乳头状癌;BRAF;程序性死亡因子配体 1;蛋白表达**【中图分类号】**R736.1**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2017-09-12Clinical significance of BRAFV600E and PD-L1 protein expression
in papillary thyroid carcinoma

Cao YiJia, Wang Chenglong, Hu Daixing, Zhou Jing, Su Xinliang

(Department of Endocrine and Breast surgery, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To detect the expression of BRAF V600E and PD-L1 in papillary thyroid carcinoma (PTC) and to explore its correlation with clinical features of PTC. **Methods:** Totally 128 cases of PTC in the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University from the year 2015 to 2017 were randomly collected as the research subjects, and 40 cases of normal thyroid tissue were served as controls. The expression of BRAF V600E and PD-L1 protein was detected using immunohistochemistry. **Results:** The positive rate of BRAF V600E protein was 67.9% (87/128) in PTC, which was significantly higher than that in normal thyroid tissue ($\chi^2=11.693, P=0.000$), and it was closely related to the age of patients [more than or equal to 45 years old ($\chi^2=22.345, P=0.000$)] and thyroid capsule invasion ($\chi^2=4.643, P=0.031$). The positive rate of PD-L1 protein was 57.8% (74/128) in PTC, which was also significantly higher than that in normal thyroid tissue ($\chi^2=9.812, P=0.000$), and it was significantly correlated with the age [more than or equal to 45 years old, $\chi^2=44.390, P=0.000$], lymph node metastasis ($\chi^2=28.584, P=0.000$) and thyroid capsule invasion ($\chi^2=12.895, P=0.000$). Multiple factors analysis showed that BRAF V600E protein expression was significantly correlated with age ≥ 45 ($OR=3.003$,

作者介绍:曹益嘉,Email:442321826@qq.com,

研究方向:甲状腺乳腺肿瘤外科。

通信作者:苏新良,Email:suxinliang@21cn.com。

基金项目:重庆市卫生局科研计划资助项目(编号:2010-2-017)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20180130.1205.015.html>

(2018-01-30)

95%CI=1.218 to 7.404, $P=0.017$) and thyroid capsule invasion ($OR=12.341, 95\%CI=3.944$ to 38.620, $P=0.000$). PD-L1 protein expression was significantly correlated with age ≥ 45 ($OR=6.667, 95\%CI=2.668$ to 16.657, $P=0.000$), lymph node metastasis ($OR=3.987, 95\%CI=1.592$ to 9.987, $P=0.003$) and thyroid capsule invasion ($OR=4.249, 95\%CI=1.447$ to 12.478,

$P=0.008$). Further analysis showed that the PD-L1 expression rate in the PTC patients with positive BRAF V600E expression was 75.8%(66/87), which was significantly higher than that in the PTC patients with negative BRAF V600E expression 19.5%(8/41) ($\kappa=0.520, P=0.000$). There was a consistency between BRAF protein and PD-L1 protein expression in thyroid papillary carcinoma.

Conclusion: This study show immunosuppressive molecule PD-L1 is overexpressed in the PTC patients with positive BRAF V600E expression, and the co-overexpression of BRAF V600E and PD-L1 protein in PTC patients is associated with the worse prognosis.

【Key words】 papillary thyroid carcinoma; BRAF; programmed death ligand 1; protein expression

近年来,甲状腺乳头状癌(papillary thyroid carcinoma, PTC)的全球发病率逐年增高。大部分甲状腺癌患者病情进展缓慢,但仍存在肿瘤复发、转移甚至患者病死的情况^[1-3]。因此,对甲状腺癌患者进行分层分析和精细化治疗,从而减少肿瘤复发和延缓疾病进展尤为重要。研究发现,甲状腺乳头状癌患者 BRAF V600E 基因是最主要的致癌突变基因,与甲状腺癌的进展相关^[4]。同时,肿瘤的免疫逃逸也是肿瘤进展机制之一。已有许多文献报道程序性死亡因子配体 1(programmed death ligand 1, PD-L1)的过表达存在许多种类的恶性肿瘤^[5-7],但 PD-L1 在甲状腺乳头状癌的表达,特别是与 BRAF 蛋白表达状态之间的关系鲜有报道。本实验拟研究甲状腺乳头状癌肿瘤组织中 BRAF 蛋白与 PD-L1 表达情况,并进一步探讨其与患者临床病理特点的关系,为甲状腺乳头状癌寻找新的分层指标提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

纳入标准:随机选取我院 2015 至 2017 年 128 例经病理诊断确诊且有完整临床和病理资料的甲状腺乳头状癌患者作为研究对象。随机选取 40 例正常甲状腺旁组织患者作为对照。排除标准:良性甲状腺病变或其他类型甲状腺癌病例。BRAF V600E 蛋白和 PD-L1 蛋白的表达情况均采用免疫组化法。主要试剂 BRAF V600E 抗体(ZA-0632)购自中国北京中杉金桥生物技术有限公司,PD-L1 抗体(No.13684)购自美国 CST 公司,二抗试剂盒 PV9000 和 DAB 检测系统均购自中国北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2 免疫组化方法

BRAF V600E 抗体浓度为 1:150,PD-L1 抗体浓度为 1:100。石蜡标本切片厚度 4 μm ,脱蜡处理,3% H_2O_2 浸泡 5 min 阻断内源性过氧化物酶,柠檬酸溶液(BRAF V600E 抗体 pH=6.0)、EDTA 溶液(PD-L1 抗体 pH=8.0)中保持煮沸前温度 10 min,冷却至室温,一抗 37 $^{\circ}\text{C}$ 温箱孵育 1 h,二抗室温孵育 20 min,DAB 显色。

1.3 分析判定

免疫组化结果分别由 2 位资深病理医师判断,染色结果采用双盲评分。BRAF 评分参考文献^[20]方法进行评价。小于 50%细胞弥漫胞浆着色视为阴性,大于等于 50%计为阳性。PD-L1 蛋白表达则通过肿瘤细胞膜上或(和)胞质内是否有阳性染色进行判读。染色强度分级如下:无着色记为 0 分,淡黄色记为 1 分,棕黄色记为 2 分,棕褐色记为 3 分;阳性细胞百分比分级为:阳性细胞小于 30%记为 1 分,阳性细胞数大于 30%记为 2 分。两项得分相乘,结果 0~1 分为阴性(-),2~6 分为阳性(+).

1.4 统计分析

统计分析采用 SPSS 19.0 统计软件包。BRAF V600E 和 PD-L1 蛋白在各组别中的阳性表达率采用卡方检验,其与临床病理参数之间的关系用多因素 logistic 回归分析,BRAF V600E 和 PD-L1 蛋白之间的一致性程度用 Kappa 值进行分析。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 BRAF V600E 蛋白在各组样本中的表达情况

128 例患者中,多数 PTC 细胞 BRAF V600E 免疫组化染色胞浆明显阳性,PTC 中 BRAF V600E 蛋白的阳性率为 67.9%。对照组 40 例中,BRAF V600E 蛋白阳性率为 5.0%。BRAF V600E 蛋白的表达在乳头状癌组与对照组差异有统计学意义($\chi^2=11.693, P=0.000$)(表 1,图 1)。

表 1 BRAF V600E 蛋白在各组样本中的表达情况

Tab.1 The expression of BRAF V600E in each group

组别	BRAF 蛋白			χ^2 值	P 值
	阳性	阴性	阳性率(%)		
对照组	2	38	5.0	11.693	0.000
乳头状癌组	41	87	67.9		

2.2 PD-L1 蛋白在各组样本中的表达情况

PD-L1 蛋白在正常组织中表达阳性率为 15.0%,在 PTC 中表达阳性率为 57.8%。PD-L1 蛋白在 PTC 中的表达与对照组中的表达差异有统计学意义($\chi^2=9.812, P=0.000$)(表 2,图 2)。

表 2 PD-L1 蛋白在各组样本中的表达情况
Tab.2 The expression of PD-L1 in each group

组别	BRAF蛋白			χ^2 值	P 值
	阳性	阴性	阳性率(%)		
对照组	6	34	15.0	9.812	0.000
乳头状癌组	54	74	57.8		

2.3 BRAF V600E 和 PD-L1 蛋白的表达情况与 PTC 临床病理特点之间的关系

采用单因素卡方检验分析结果显示,患者的性别、肿瘤大小(是否为微小癌)、淋巴结转移情况、病灶数量对于 BRAF V600E 蛋白的表达无显著影响;而患者年龄 ≥ 45 岁

($P=0.000$)、包膜侵犯($P=0.031$)可显著影响其表达。患者性别、肿瘤大小(是否为微小癌)、病灶数量对于 PD-L1 蛋白表达无显著影响;而患者年龄 ≥ 45 岁($P=0.000$)、淋巴结转移($P=0.000$)、肿瘤包膜侵犯($P=0.000$)可明显影响其表达(表 3)。进一步采用 logistic 多因素回归分析(赋值见表 4)可得, BRAF 蛋白表达阳性和患者的年龄 ≥ 45 岁($OR=3.003, 95\%CI=1.218\sim 7.404$)、包膜侵犯($OR=12.341, 95\%CI=3.944\sim 38.620$)有显著的相关性(表 5)。PD-L1 蛋白表达阳性与患者年龄 ≥ 45 岁($OR=6.667, 95\%CI=2.668\sim 16.657$)、淋巴结转移($OR=3.987, 95\%CI=1.592\sim 9.987$)及肿瘤包膜侵犯($OR=4.249, 95\%CI=1.447\sim 12.478$)显著相关(表 6)。

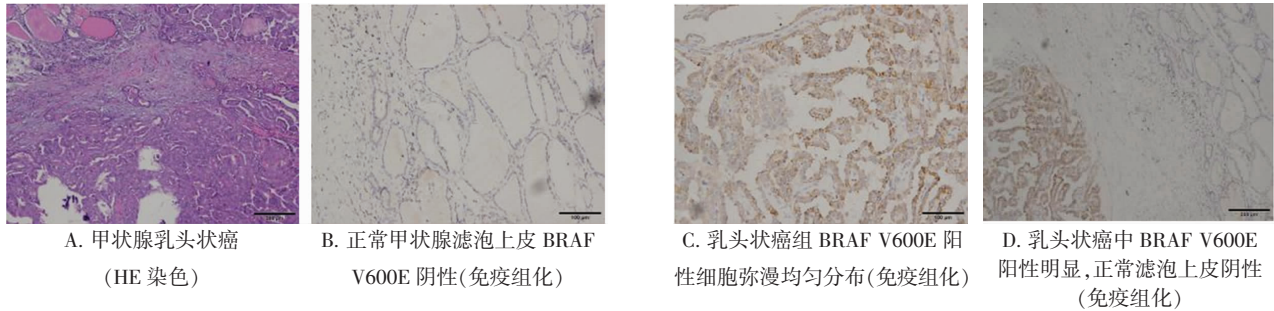


图 1 PTC 中 BRAF V600E 蛋白的免疫组化表达情况

Fig.1 The immunohistochemistry of BRAF V600E proteins from PTC

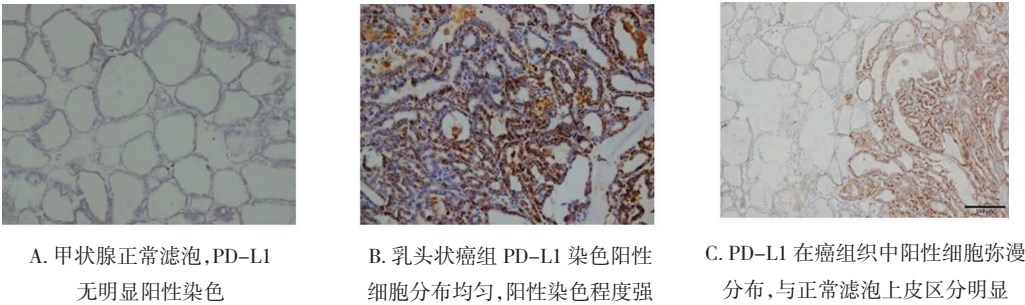


图 2 PTC 中 PD-L1 蛋白的免疫组化表达情况

Fig.2 The immunohistochemistry of PD-L1 proteins from PTC (papillary thyroid carcinoma)

表 3 BRAF V600E 和 PD-L1 蛋白的表达情况与 PTC 临床病理特点之间的关系(单因素分析)

Tab.3 Correlation analysis between the expression of BRAF V600E and PD-L1 and PTC clinical pathological characteristics(single factor analysis)

临床病理特征		BRAF			χ^2 值	P 值	PD-L1			χ^2 值	P 值
		+(n=87)	-(n=41)	阳性率(%)			+(n=74)	-(n=54)	阳性率(%)		
年龄(岁)	≥ 45	60	10	68.9	22.345	0.000	59	11	79.7	44.390	0.000
	< 45	27	31	31.0			15	43	20.2		
性别	男	23	12	65.7	0.112	0.737	18	17	51.4	0.805	0.424
	女	64	29	73.5			56	37	63.4		
肿瘤大小(cm)	> 1	55	22	71.4	1.063	0.303	47	30	61.0	0.825	0.364
	≤ 1	32	19	62.7			27	24	52.9		
淋巴结转移	有	39	20	66.1	0.175	0.675	49	10	83.0	28.584	0.000
	无	48	21	69.5			25	44	36.2		
病灶多发	单发	69	33	67.6	0.024	0.877	56	46	54.9	1.744	0.187
	多发	18	8	69.2			18	8	69.2		
包膜侵犯	有	20	3	86.9	4.643	0.031	21	2	91.3	12.895	0.000
	无	67	38	63.8			53	52	50.4		

表 4 赋值说明
Tab.4 Assignment instructions

因素	变量	赋值说明	
蛋白表达情况	Y	0: 阴性	1: 阳性
年龄	X1	0: < 45	1: ≥ 45
性别	X2	0: 男性	1: 女性
肿瘤大小	X3	0: ≤ 1 cm	1: > 1 cm
淋巴结转移	X4	0: 无	1: 有
病灶多发	X5	0: 无	1: 有
包膜侵犯	X6	0: 无	1: 有

表 5 BRAF V600E 蛋白的表达情况与 PTC
临床病理特点之间的关系(多因素分析)

Tab.5 Correlation analysis between the expression of BRAF V600E and PTC clinical pathological characteristics (multiple factor analysis)

参数	β值	标准误	Wald χ ² 值	P 值	OR 值	95%CI
年龄	1.099	0.460	5.701	0.017	3.003	1.218~7.404
包膜侵犯	2.513	0.582	18.640	0.000	12.341	3.944~38.620

表 6 PD-L1 蛋白的表达情况与 PTC
临床病理特点之间的关系(多因素分析)

Tab.6 Correlation analysis between the expression of PD-L1 and PTC clinical pathological characteristics (multiple factor analysis)

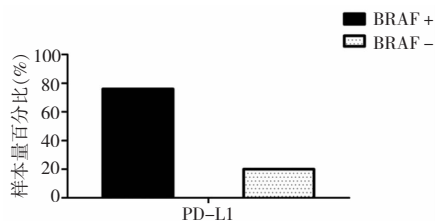
参数	β值	标准误	Wald χ ² 值	P 值	OR 值	95%CI
年龄	1.897	0.467	16.489	0.000	6.667	2.668~16.657
淋巴结转移	1.383	0.469	8.714	0.003	3.987	1.592~9.987
包膜侵犯	1.447	0.550	6.927	0.008	4.249	1.447~12.478

2.4 BRAF V600E 蛋白与 PD-L1 蛋白在乳头状癌组中的表达关系

进一步将实验数据整理分析发现,在 BRAF V600E 阳性病例(87 例)中有 66 例 PD-L1 蛋白阳性表达,共表达率为 75.8%(66/87)。而在 BRAF V600E 蛋白阴性的病例(41 例)中 PD-L1 蛋白的表达率仅为 19.5%(8/41),Kappa 值检验一致性较高($\kappa=0.520, P=0.000$) (表 7, 图 3)。

表 7 BRAFV600E 蛋白与 PD-L1 蛋白在 PTC 中的表达关系
Tab.7 Relationship between the expression of BRAFV600E and PD-L1 protein in PTC

		PD-L1 蛋白		合计
		+	-	
BRAFV600E 蛋白	+	66	21	87
	-	8	33	41
	合计	74	54	128



BRAF V600E 蛋白阳性组中 PD-L1 蛋白的表达率明显高于 BRAF V600E 蛋白阴性组 ($P<0.05$)

图 3 BRAF V600E 蛋白和 PD-L1 蛋白表达情况

Fig.3 The expression of BRAF V600E and PD-L1 protein in papillary thyroid cancer

3 讨论

一直以来,如何对甲状腺乳头状癌患者风险分层评估都是存在争议的问题。许多研究中已经证实 BRAF V600E 基因的突变与 PTC 患者的复发风险、病死率呈正相关^[1]。BRAF V600E 基因的突变伴随 BRAF V600E 蛋白的过度表达导致许多相关癌症通路的激活,其中包括肿瘤细胞抗凋亡、细胞增殖能力增强以及血管生成增加。但 BRAF 突变及蛋白表达与其肿瘤免疫微环境的关系特别是与 PD-L1 的相关性及其与临床特征的关系鲜有研究。

近年来国内外 BRAF V600E 蛋白的检测已有许多文献报道,在多种恶性肿瘤(恶性黑色素瘤、结肠癌、卵巢癌等)中用免疫组化法测定 BRAF V600E 蛋白的表达与 PCR 法测定 BRAF 基因突变具有很高的的一致性^[9-12]。这提示 BRAF V600E 蛋白的免疫组化测定可以作为 BRAF 基因突变的替代检测方法,简便、经济实用。目前 BRAF V600E 基因突变与 PTC 临床病理参数的关系尚未定论。本研究结果显示,BRAF 蛋白在 PTC 中的阳性率为 67.9%(87/128),在正常组织中仅为 5.0%(2/40),这与文献报道结果基本一致^[8]。在本试验中 BRAFV600E 蛋白和患者临床病理特点之间的关系分析显示,BRAF V600E 蛋白阳性表达与 PTC 年龄 ≥ 45 岁 ($P=0.000$) 和包膜外侵犯明显相关 ($P=0.031$)。但与肿瘤直径(是否为微小癌)、患者性别、淋巴结转移情况、病灶数目无关。与文献报道 PTC 和 PTMC 中 BRAF V600E 的突变率情况一致^[13],说明 BRAF V600E 基因的突变或许为导致甲状腺癌发生的早期分子事件。该基因的突变伴随蛋白的过度表达,是患者预后较差的影响因素之一。

PD-L1 是近年来研究较多的免疫抑制信号通路。已有许多研究发现在多种实体瘤中该分子信号通路(PD-1/PD-L1)的过度表达与肿瘤免疫逃逸机制之间的关系^[5-7]。然而在甲状腺乳头状癌的表达情况研究不多。本试验结果显示 PD-L1 蛋白在乳头状癌组中的表达阳性率[57.8%(54/128)]明显高于对照组阳性率[22.5%(9/40)],这与 Cunha 等^[14]的研究结果一致。国外有研究报道 PD-L1 在 PTC 中的过量表达与肿瘤复发、患者更短的无病生存(disease-free survival,DFS)时间关系密切^[15]。本试验发现PD-L1

的过量表达和一些临床病理参数关系密切,比如患者的确诊年龄(≥ 45 岁, $P=0.000$)、伴淋巴结转移($P=0.000$)、包膜侵犯情况($P=0.000$),这说明 PD-L1 的过量表达可能增加了肿瘤的侵袭转移能力,进而影响患者的预后。

Angell 等^[16]研究发现伴随 BRAF V600E 基因的突变, BRAF V600E 型 PTC 过度表达 PD-L1 分子与肿瘤周围浸润淋巴细胞表达的受体分子 PD-1 相互匹配抑制淋巴细胞的活化,从而保护肿瘤细胞免受直接的细胞毒性杀伤。本研究显示在 BRAF 蛋白阳性病例中 PD-L1 蛋白阳性表达率(75.8%)明显高于 BRAF 蛋白阴性组阳性表达率(19.5%),提示 2 种蛋白存在共表达关系。其机制可能是由于 BRAF V600E 蛋白的持续表达,使得 CD8+ 淋巴细胞长期处于激活状态以致对 PD-L1/PD-1 信号通路的免疫抑制作用变得相当敏感^[17-19]。这很可能是参与肿瘤免疫逃逸的重要机制之一。

总之,试验显示在甲状腺乳头状癌中,不仅 BRAF 的过表达与临床预后较差有关,而且 PD-L1 的过表达也有相同的临床意义。同时,这 2 种蛋白表达的一致性较高,说明在肿瘤的发生、进展、转移过程中有可能存在相互协同作用。因此,对于患者,可以常规性 BRAF 和 PD-L1 免疫组化检测分选出高危患者,采取积极的治疗措施。

致谢

感谢重庆医科大学生命科学研究院提供实验平台及重庆医科大学第一临床学院对本研究的支持。

参考文献

- [1] Xing MZ, Alzahrani AS, Carson KA, et al. Association between BRAF V600E mutation and recurrence of papillary thyroid cancer[J]. J Clin Oncol, 2015, 33(1): 42-50.
- [2] 梁 贝. 甲状腺乳头状癌外科治疗进展[J]. 中国当代医药, 2016, 23(36): 15-17.
- [2] Liang B. Progress of surgical treatment for thyroid papillary carcinoma[J]. China Modern Medicine, 2016, 23(36): 15-17.
- [3] 张婷婷, 渠 宁, 史荣亮, 等. BRAF V600E 突变对甲状腺乳头状癌发生及预后的影响[J]. 中国癌症杂志, 2017, 27(2): 145-150.
- [4] Zhang Q, Liu SZ, Zhang Q, et al. Meta-analyses of association between BRAF(V600E) mutation and clinicopathological features of papillary thyroid carcinoma[J]. Cell Physiol Biochem, 2016, 38(2): 763-776.
- [5] Zhang M, Sun H, Zhao S, et al. Expression of PD-L1 and prognosis in breast cancer: a meta-analysis[J]. Oncotarget, 2017, 8(19): 31347-31354.
- [6] Zhou C, Tang J, Sun H, et al. PD-L1 expression as poor prognostic factor in patients with non-squamous non-small cell lung cancer [J]. Oncotarget, 2017, 8(35): 58457-58468.
- [7] Wang Q, Liu F, Liu L. Prognostic significance of PD-L1 in solid tumor: an updated meta-analysis[J]. Medicine (Baltimore), 2017, 96(18): e6369.
- [8] 董丽儒, 杨 虎, 李 双, 等. 甲状腺乳头状癌 BRAF V600E 基因突变及相关蛋白的表达[J]. 中国癌症杂志, 2017, 27(4): 251-255.
- [9] Tetzlaff MT, Pattanapichakul P, Wargo J, et al. Utility of BRAF V600E immunohistochemistry expression pattern as a surrogate of BRAF mutation status in 154 patients with advanced melanoma [J]. Hum Pathol, 2015, 46(8): 1101-1110.
- [10] Paja FM, Ugalde OA, Fuertes TE, et al. Immunohistochemical detection of the BRAF V600E mutation in papillary thyroid carcinoma. Evaluation against real-time polymerase chain reaction[J]. Endocrinol Diabetes Nutr, 2017, 64(2): 75-81.
- [11] Hayashi Y, Sasaki H, Takeshita S, et al. Usefulness of immunohistochemistry for the detection of the BRAF V600E mutation in ovarian serous borderline tumors[J]. Oncol Rep, 2014, 32(5): 1815-1819.
- [12] Bösmüller H, Fischer A, Pham DL, et al. Detection of the BRAF V600E mutation in serous ovarian tumors: a comparative analysis of immunohistochemistry with a mutation-specific monoclonal antibody and allele-specific PCR[J]. Hum Pathol, 2013, 44(3): 329-335.
- [13] Virk RK, Van Dyke AL, Finkelstein A, et al. BRAF V600E mutation in papillary thyroid microcarcinoma: a genotype-phenotype correlation[J]. Mod Pathol, 2013, 26(1): 62-70.
- [14] Cunha LL, Marcello MA, Morari EC, et al. Differentiated thyroid carcinomas may elude the immune system by B7H1 upregulation[J]. Endocr Relat Cancer, 2013, 20(1): 103-110.
- [15] Chowdhury S, Veyhl J, Jessa F, et al. Programmed death-ligand 1 overexpression is a prognostic marker for aggressive papillary thyroid cancer and its variants[J]. Oncotarget, 2016, 7(22): 32318-32328.
- [16] Angell TE, Lechner MG, Jang JK, et al. BRAF V600E in papillary thyroid carcinoma is associated with increased programmed death ligand 1 expression and suppressive immune cell infiltration[J]. Thyroid, 2014, 24(9): 1385-1393.
- [17] Severson JJ, Serracino HS, Mateescu V, et al. PD-1+Tim-3+ CD8+ T lymphocytes display varied degrees of functional exhaustion in patients with regionally metastatic differentiated thyroid cancer[J]. Cancer Immunol Res, 2015, 3(6): 620-630.
- [18] Bastman JJ, Serracino HS, Zhu Y, et al. Tumor-infiltrating T cells and the PD-1 checkpoint pathway in advanced differentiated and anaplastic thyroid cancer[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2016, 101(7): 2863-2873.
- [19] Kaiser AD, Schuster K, Gadiot J, et al. Reduced tumor-antigen density leads to PD-1/PD-L1-mediated impairment of partially exhausted CD8+ T cells[J]. Eur J Immunol, 2012, 42(3): 662-671.
- [20] da Silva RC, de Paula HS, Leal CB, et al. BRAF overexpression is associated with BRAF V600E mutation in papillary thyroid carcinomas [J]. Genet Mol Res, 2015, 14(2): 5065-5075.

(责任编辑: 冉明会)