

负性共刺激分子 PD-L1 在非肌层浸润性膀胱癌的表达及其对术后膀胱灌注治疗的影响

刘志华¹, 叶云林², 卞军³, 赖德辉⁴, 郑伏甫¹, 戴宇平^{1*}

(1.中山大学附属第一医院泌尿外科, 广东 广州 510080; 2.中山大学附属肿瘤医院泌尿外科, 广东 广州 510060; 3.南方医科大学第三附属医院泌尿外科, 广东 广州 510030; 4.广州医科大学附属第五医院泌尿外科, 广东 广州 510700)

摘要:【目的】探讨负性共刺激分子 PD-L1 在非肌层浸润性膀胱癌的表达及其对术后膀胱灌注治疗的影响。【方法】采用免疫组化染色方法检测 131 例膀胱癌组织标本(均经病理诊断确认为非肌层浸润性膀胱癌)和 10 例正常膀胱黏膜组织标本的 PD-L1 表达情况,所有膀胱癌患者术后均予表柔比星或沙培林膀胱灌注,详细记录肿瘤复发、进展的时间和预后情况。【结果】PD-L1 在正常膀胱黏膜组织不表达 0(0/10),在非肌层浸润性膀胱癌组织阳性率为 56.5%(74/131), $P=0.000$ 。PD-L1 的表达与病理分期相关,pTa、pT1 的 PD-L1 阳性率分别为 35.1%(13/37)、60.6%(57/94), $P=0.008$ 。PD-L1 阳性的患者肿瘤复发率和肿瘤进展率均高于 PD-L1 阴性的患者,复发率分别为 37.8%和 12.3%,进展率分别为 10.8%和 3.5%($P<0.05$); PD-L1 阳性的患者术后灌注表柔比星预防肿瘤复发和进展的疗效优于沙培林,复发率分别为 28.8%和 51.7%,进展率分别为 6.5%和 17.2%($P<0.05$);而 PD-L1 阴性患者表柔比星和沙培林两种治疗方案的疗效无明显差异,复发率分别为 9.6%和 15.4%,进展率分别为 3.2%和 3.8%($P>0.05$)。【结论】负性共刺激分子 PD-L1 在非肌层浸润性膀胱癌表达水平与病理分期密切相关,根据 PD-L1 的表达情况选择术后辅助性膀胱灌注治疗药物有助于提高治疗效果。

关键词:非肌层浸润性膀胱癌; PD-L1; 膀胱灌注治疗; 肿瘤免疫逃逸

中图分类号:R73

文献标志码:A

文章编号:1672-3554(2015)02-0221-06

Effect of Negative Costimulatory Molecule PD-L1 on Intravesical Instillation Therapy in Non-muscle Invasive Bladder Cancer after Surgery

LIU Zhi-hua¹, YE Yun-lin², BIAN Jun³, LAI De-hui⁴, ZHENG Fu-Fu¹, DAI Yu-ping^{1*}

(1.Department of Urology, The First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China; 2.Department of Urology, Cancer Center of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510060, China; 3.Department of Urology, The Third Affiliated Hospital of Southern Medical University, Guangzhou 510630, China; 4.Department of Urology, The Fifth Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510700, China)

Corresponding to: DAI Yu-ping, E-mail: daiyp428@126.com

Abstract: 【Objective】To investigate the expression of negative costimulatory molecule PD-L1 in non-muscle invasive bladder cancer (NMIBC) and its effect on intravesical instillation therapy after surgery. 【Methods】10 normal bladder tissues and 131 bladder cancer tissues were available from patients underwent TUR-Bt at our institution between January 2006 and March 2013. NMIBC patients were administrated with epirubicin or Picibanil for adjuvant intravesical instillation therapy. Immunohistochemistry staining was used to detect the PD-L1 expression in tumor and normal specimens. All data of the time and number of tumor recurrence and progression were recorded. 【Results】PD-L1 expression were negative in normal bladder 0(0/10), comparing with 56.5%(74/131) in NMIBC ($P=0.000$). The expression of PD-L1 in pTa and pT1 bladder cancer were 35.14%(13/37) and 60.64%(57/94), respectively ($P=0.008$). The tumor recurrence and progression rates in PD-L1 (+) patients were 37.8% and 10.8%, which were higher than 12.3% and 3.5% in PD-L1 (-) patients ($P<0.05$). Those who treated with epirubicin showed a significant advantage in

收稿日期:2014-12-31

基金项目:国家自然科学基金(81072101)

作者简介:刘志华,博士,主治医师, E-mail: aukua@126.com; * 通信作者:戴宇平,博士,教授,主任医师, E-mail: daiyp428@126.com

preventing tumor recurrence and progression comparing with Picibanil ($P < 0.05$). However, the difference was not significant between epirubicin and Picibanil in PD-L1 (-) patients ($P > 0.05$). 【Conclusions】 Expression of negative costimulatory molecule PD-L1 in NMIBC is significantly correlated with pathologic stage and prognosis. Detecting the PD-L1 might help determine the optimal instillation agents for NMIBC patients.

Key words: non-muscle invasive bladder cancer; PD-L1; intravesical instillation therapy; tumor immune escape

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2015, 36(2): 221-226]

膀胱尿路上皮肿瘤分为肌层浸润型和非肌层浸润型,其中非肌层浸润性(non-muscle invasive bladder cancer, NMIBC)约占初发膀胱肿瘤的75%~80%。经尿道膀胱肿瘤电切术(transurethral resection of bladder tumor, TURBT)是NMIBC的首选治疗方式,但在中危和高危的NMIBC患者中超过70%于TURBT术后6-12个月内出现肿瘤复发甚至进展为更高分期,因此中度危险及以上患者术后行辅助性膀胱灌注治疗非常有必要。目前认为NMIBC电切术后辅助性膀胱灌注药物的选择主要取决于肿瘤复发和进展的风险[1],包括肿瘤的数量、大小、分期、分级,复发的频率以及是否存在原位癌(carcinoma in situ, CIS)等,另外,肿瘤免疫逃逸机制也在其中起着重要作用。B7-H1(PD-L1)是共刺激分子B7家族的一员,它主要通过表达在T细胞和B细胞表面的程序性凋亡受体(PD-1)结合促进细胞凋亡,从而抑制宿主免疫功能,在肿瘤免疫逃逸中起到重要作用[2-3]。最新的研究表明,PD-L1与膀胱癌的预后有强烈关联[4-5]。但PD-L1与NMIBC电切术后肿瘤复发和进展的关系及其对术后辅助性膀胱灌注治疗药物选择的影响相关研究目前尚未见报道。我们通过回顾性研究NMIBC肿瘤组织负性共刺激分子PD-L1的表达情况和TURBT术后不同辅助性膀胱灌注治疗的疗效,探讨负性共刺激分子PD-L1在NMIBC的表达及其与电切术后辅助性膀胱灌注治疗疗效的关联和可能的机制。

1 材料与方法

1.1 临床资料

2006年1月至2013年3月间我院泌尿外科收治的首诊NMIBC患者,行TUR-Bt并术后辅助膀胱灌注治疗,收集其临床资料并随访治疗效果,并检测其肿瘤标本PD-L1的表达情况。入选病例均为我院首诊的非肌层浸润型膀胱癌,术后以表

柔比星或沙培林作为膀胱灌注药,术前未接受化疗或放疗治疗,无及合并其他脏器恶性肿瘤,所有病例随访12月以上。排除标准为同时合并其他器官恶性肿瘤,中途改换其他膀胱灌注药,术后行膀胱动脉灌注化疗。共有131个病例入选,其中男性101例,女性30名,年龄28~83岁(平均55岁)。按病理分期,pTa 37例,pT1 94例。阴性对照组为在膀胱镜下活检中病理证实为正常膀胱组织的组织标本,共计10份。膀胱原位癌(carcinoma in situ, CIS)虽然属于非肌层浸润性膀胱癌,但通常分化差,属于高度恶性肿瘤,发生肌层浸润的概率明显高于pTa、pT1期膀胱癌,术后辅助治疗推荐BCG膀胱灌注免疫治疗,因此CIS不纳入本研究。

1.2 膀胱灌注方案

所有患者术后立即丝裂霉素灌注化疗。化疗药物灌注组与免疫药物灌注组均于术后1周内开始灌注治疗(若手术创面较大或者仍有严重肉眼血尿,灌注可于术后2周开始)。化疗药灌注组:表柔比星30 mg加生理盐水30 mL,每周1次共4周,之后每2周一次共16周,之后再每月1次共7月,疗程共计19次,时间1年。免疫药物灌注组:沙培林3KE+生理盐水30 mL,每周1次共6周,之后每4周1次共6月,疗程共计12次,时间7个月。

1.3 随访

详细记录每次灌注后的全身及局部反应情况;每3个月复查血、尿常规及肝、肾功能;每3个月复查膀胱镜,发现可疑病变即行活检,明确有无肿瘤复发。记录第一次复发时间及进展为高于pT1以上的时间。

1.4 PV-6000 免疫组织化学染色

所有标本经40 g/L多聚甲醛溶液固定,石蜡包埋,连续切片,厚4 μ m。采用PV-6000两步免疫组化法染色,按试剂盒说明书操作,再分别加入不同一抗孵育后,滴加PV-6000工作液,然后经辣根过氧化物酶(Horseradish Peroxidase Color Development

Kit;DAB)显色,苏木精复染,透明,中性树胶封片。所有切片均在同一条件下同一批次内完成染色。以已知阳性片作为阳性对照,PBS 缓冲液(Phosphate Buffered Saline)代替一抗作为阴性对照。

1.5 免疫组化结果判读

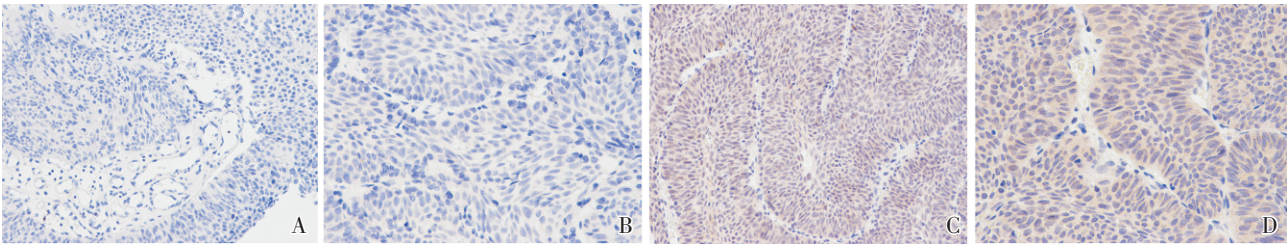
PD-L1(B7-H1)蛋白阳性染色均为细胞膜或细胞质内出现棕色或棕黄色颗粒。在高倍镜下(400 倍)随机观察 3 个不连续视野,计算阳性细胞占细胞总数百分比,并结合阳性细胞表达强度对表达情况进行评分,评分计算公式如下: $S=\sum ei$ 。其中 S 为评分最后得分; e 为阳性细胞百分比评分:无阳性细胞为 0 分,1%~30%为 1 分,31%~60%为 2 分,61%~100%为 3 分; i 为阳性细胞表达强度评分,用 Image pro+6.0 对图像进行扫描,根据累计光密度值(IOD)评分:IOD≤15 计 0 分,IOD 为 16~45 计 1 分,IOD 为 46~75 计 2 分,IOD≥76 计 3 分。 $S\geq 3$ 分为阳性表达。

1.6 统计方法

应用 SPSS 21.0 统计软件进行数据处理,数据组间比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 非肌层浸润型膀胱癌组织和正常膀胱黏膜组织 PD-L1 的表达



A:Normal bladder tissue demonstrating absence of PD-L1 staining. B; High-power(400 ×) images of PD-L1 negative from patient with bladder cancer.Bladder cancer demonstrating positive PD-L1 staining in (C)low-power(200 ×)and (D)high-power(400×)

图 1 PD-L1 在正常膀胱黏膜组织及膀胱癌组织中的表达

Fig.1 Expression of PD-L1 in normal bladder tissue and bladder cancer tissue

非肌层浸润型膀胱癌组织和正常膀胱黏膜组织 PD-L1 的阳性表达率分别为:56.5%(74/131)和 0(0/10), $P = 0.000$ 。PD-L1 的阳性表达与性别和年龄无关,但与病理分期相关,pTa、pT1 的 PD-L1 阳性率分别为 35.14%(13/37)、60.64%(57/94), $P = 0.008$ (图 1)。

2.2 PD-L1 的表达与 NMIBC 术后辅助性膀胱灌注疗效的关系

研究表明 NMIBC 患者 TURBT 术后采用表柔比星或沙培林进行膀胱灌注治疗均能有效预防肿瘤复发率和降低肿瘤进展率,且两者疗效无明显差异,其肿瘤复发率分别为 21.1%(16/76),34.5%(19/55), $P = 0.085$;肿瘤进展率分别为 5.2%(4/76),10.9%(6/55), $P = 0.23$ 。研究发现在表柔比星治疗组和沙培林治疗组中 PD-L1 阳性的患者其肿瘤复发率均高于 PD-L1 阴性患者, $P < 0.005$ 。我们还发现 PD-L1 阳性的患者采用表柔比星作为术后膀胱灌注药物其预防肿瘤复发的效果优于沙培林, $P = 0.048$,而 PD-L1 阴性患者表柔比星和沙培林两种治疗方案的疗效无明显差异, $P = 0.513$ 。在预防肿瘤进展方面,PD-L1 阳性患者选择表柔比星治疗,其肿瘤进展率较沙培林组低, $P = 0.021$;而在 PD-L1 阴性患者中两种药物效果无明显差异($P = 0.661$,表 1)。

截止至 2013.4.1 共有 16 名患者死亡,其中与肿瘤相关的死亡患者 12 名,PD-L1 阳性患者和

表 1 PD-L1 表达对两组膀胱灌注治疗方案疗效的影响

Table 1 Influence of PD-L1 expression to the outcome of two different instillation protocols [n/N(%)]

PD-L1 expression	PD-L1(+)			PD-L1(-)		
	Instillation agent	Epirubicin(n = 45)	Picibanil(n = 29)	P	Epirubicin(n = 31)	Picibanil(n = 26)
Recurrence rate		13/45(28.8)	15/29(51.7)	0.048	3/31(9.6%)	4/26(15.4)
Progression rate		3/45(6.5)	5/29(17.2)	0.021	1/31(3.2%)	1/26(3.8)

PD-L1 阴性患者 3 年无瘤生存率分别为 82.432%、94.737% ($P = 0.033$)。

3 讨 论

非肌层浸润性膀胱癌在初诊膀胱癌中占约 70%^[6]。经尿道膀胱肿瘤电切术(transurethral resection of bladder tumor, TURBT)是非肌层浸润性膀胱癌的首选治疗方式,但是在中危和高危 NMIBC 患者中接近 70%经过 TURBT 治疗后在一定时间内会出现肿瘤复发,而在这些复发的病例中又有约 25%的患者进展为更高级别的膀胱肿瘤^[7-8]。中危及以上 NMIBC 患者 TURBT 术后进行辅助性膀胱灌注治疗已被证明能有效地预防肿瘤复发^[9-10]。辅助性膀胱灌注治疗主要分膀胱灌注化疗和免疫治疗,其中膀胱灌注化疗常用药物有丝裂霉素、表柔比星等^[11],膀胱灌注免疫治疗常用药物有卡介苗(BCG)。研究证明卡介苗对原位膀胱癌和 pT1 期膀胱癌均有良好的预防肿瘤复发作用^[9-10],但临床上因为它的一些严重毒副作用和制备保存的不便而限制了其应用。

沙培林是一种由人源 A 组溶血性链球菌 Su 株(低毒变异株)经处理后获得的新的生物反应调节剂,也是一种超抗原。临床试验证明,沙培林对癌性胸水或腹水,肺癌、胃癌、肝癌、乳腺癌和淋巴管癌等实体肿瘤,以及其转移病灶有良好的疗效。患者的生存率提高,生存期延长,全身状况尤其是各种免疫功能有明显改善,减轻化疗和放疗的毒副作用^[12-13]。临床试验已证实沙培林可通过增强免疫系统功能在治疗实性肿瘤如肺癌,胃癌,肝癌,乳腺癌和淋巴瘤中取得良好效果^[14]。沙培林作为新的生物反应调节剂,有增强机体免疫、抗肿瘤的作用,本中心应用沙培林作为膀胱灌注药物预防肿瘤复发和进展并取得了良好的效果^[15]。

本研究发现,PD-L1 表达阳性的患者其肿瘤复发率、肿瘤进展率和肿瘤特异死亡率均高于 PD-L1 阴性的患者。PD-L1 (B7-H1)是一种细胞表面糖蛋白,属于共刺激分子 B7 家族的一员,组成型表达 PD-L1 通常局限于巨噬细胞系细胞^[16-17]。但多种人类肿瘤细胞异常表达 PD-L1,包括乳腺癌,卵巢癌,肺癌,结肠癌,肾癌,淋巴瘤和黑色素瘤等^[18-20]。在食道癌,肾癌和膀胱癌中,PD-L1 表达增加提示更差的预后^[21-22]。肿瘤细胞表达 PD-L1 可通过结

合 T 细胞表面程序性凋亡受体-1(PD-1)或者一种假定的非 PD-1 受体从而促进抗原特异性 T 细胞凋亡或失能,进而抑制机体的免疫反应。免疫系统不能有效分辨和抑制异常的转化细胞可能导致肿瘤的发展,进而使肿瘤利用多种机制逃避 T 细胞介导的抗肿瘤作用^[23-25]。我们猜测膀胱癌细胞通过表达 PD-L1 抑制肿瘤周围微环境中的免疫 T 细胞,促进肿瘤的复发和进展。理由有以下几点:首先,膀胱癌患者可以表现为与肿瘤分期相关的获得性免疫功能障碍,影响淋巴细胞功能^[4, 26-27]。其次, NMIBC 是对免疫治疗反应最敏感的人类恶性肿瘤之一^[28]。同样的,宿主的免疫力在膀胱癌的发病机制中具有调节作用。第三,最近的研究表明多种人类恶性肿瘤异常表达 T 细胞抑制分子 PD-L1,据此认为异常表达 PD-L1 是肿瘤细胞获得免疫豁免能力的机制之一^[29-30]。总结以上,PD-L1 可作为预测非肌层浸润性膀胱癌复发、进展和预后不良的危险因素之一。

本研究中的另外一个重要发现是 PD-L1 阳性的 NMIBC 患者术后采用化疗性药物(表柔比星)进行膀胱灌注治疗其效果明显优于采用免疫性药物(沙培林),而在 PD-L1 阴性的患者中两者效果无明显差别。我们认为这与表柔比星和沙培林的抗肿瘤机制不同有关。表柔比星属于抗生素类抗肿瘤药,其作用机制是直接嵌入 DNA 核碱对之间,干扰转录过程,阻止 mRNA 的形成,从而抑制 DNA 和 RNA 的合成,达到抗肿瘤的作用。而沙培林主要通过调动体内的细胞免疫系统,活化巨噬细胞、自然杀伤细胞(NK)、LAK 细胞和各种 T 细胞,达到抗肿瘤作用^[31-32]。其次还能增加细胞免疫系统(包括巨噬细胞、NK 细胞、LAK 细胞等)与膀胱肿瘤细胞的结合能力,从而提高抗肿瘤效果^[33]。另一方面沙培林可以刺激机体免疫系统产生多种细胞因子,如 TNF、INF、IL 等,参与抗肿瘤作用。膀胱肿瘤细胞异常表达 PD-L1 使它拥有抵抗宿主抗肿瘤免疫细胞的能力,因此在本研究中膀胱灌注免疫治疗对异常表达 PD-L1 的 NMIBC 患者其治疗效果下降。此外,在免疫系统抗肿瘤过程中起着关键的抗原传递作用的抗原提呈细胞(APCs)可被膀胱肿瘤细胞异常表达 PD-L1 抑制或屏蔽,进一步降低沙培林的抗肿瘤作用。另外本研究中还观察到采用沙培林膀胱灌注免疫治疗复发的肿瘤标本其 PD-L1 免疫组化染色较治疗前颜色加

深,提示 PD-L1 表达水平升高。国外研究发现, IFN- α 可以诱导细胞株 HepG2 和 PLC 细胞 PD-L1 分子的表达,并可通过 PD-1/PD-L1 信号途径诱导 Jurkat T 细胞凋亡^[34]。在体外培养的 mDCs 中,IFN- α 和 IFN- γ 均可以上调 PD-L1 分子的表达^[35]。IL-2 可以通过上调 IFN- γ 的表达,介导上调 CD11b+APCs 膜表面 PD-L1 分子的表达^[36]。因此我们猜想沙培林可刺激免疫系统产生多种细胞因子,如 IL-2、IFN- α 、IFN- γ 进一步提高肿瘤细胞 PD-L1 的表达,而肿瘤细胞 PD-L1 表达升高反过来又降低了沙培林的抗肿瘤效果,形成负性循环。总之,随着治疗的进行膀胱肿瘤细胞 PD-L1 表达增加,进一步抑制 T 细胞和相关的 APCs,或者直接抗肿瘤的免疫细胞,最终抵抗沙培林的抗肿瘤作用。

我们承认任何关于膀胱肿瘤表达 PD-L1 能降低沙培林膀胱灌注免疫治疗的结论只能从回顾性研究中得出。显然关于 PD-L1 在膀胱癌的发生和发展过程中的作用机制的体内和体外实验有待进一步研究。然而我们的研究表明,膀胱肿瘤细胞异常表达 PD-L1 与肿瘤的复发和进展有强烈的相关性,并且是 NMIBC 电切术后沙培林膀胱灌注免疫治疗的抗肿瘤效果随着时间逐渐减弱的主要原因。

结论:共刺激分子 PD-L1 在非肌层浸润性膀胱癌表达水平与肿瘤的病理分期和预后密切相关,根据 PD-L1 的表达情况选择术后膀胱灌注药物有助于提高治疗效果。

参考文献

- [1] Oosterlinck W, Lobel B, Jakse G, et al. Guidelines on bladder cancer[J]. Eur Urol, 2002, 41(2): 105-112.
- [2] Blank C, Gajewski TF, Mackensen A. Interaction of PD-L1 on tumor cells with PD-1 on tumor-specific T cells as a mechanism of immune evasion: implications for tumor immunotherapy [J]. Cancer Immunol Immunother, 2005, 54(4): 307-314.
- [3] Shi L, Chen SH, Yang LJ, et al. The role of PD-1 and PD-L1 in T-cell immune suppression in patients with hematological malignancies[J]. J Hematol Oncol, 2013, 6(1): 74.
- [4] Inman BA, Sebo TJ, Frigola X, et al. PD-L1 (B7-H1) expression by urothelial carcinoma of bladder and BCG-induced granulomata - Associations with localized stage progression[J]. Cancer, 2007, 109(8): 1499-1505.
- [5] Wang YH, Zhuang QY, Zhou SW, et al. Costimulatory Molecule B7-H1 on the immune escape of bladder cancer and its clinical significance [J]. J Huazhong University Sci Technology Med Sci, 2009, 29(1): 77-79.
- [6] Irani J, Bernardini S, Bonnal JL, et al. Urothelial tumors[J]. Prog Urol, 2007, 17(6): 1063-1098.
- [7] Sylvester RJ, van der Meijden APM, Oosterlinck W, et al. Predicting recurrence and progression in individual patients with stage Ta T1 bladder cancer using EORTC risk tables: a combined analysis of 2596 patients from seven EORTC trials[J]. Eur Urol, 2006, 49(3): 466-477.
- [8] Kaufman DS, Shipley WU, Feldman AS. Bladder cancer [J]. Lancet, 2009, 374(9685): 239-249.
- [9] Gandhi NM, Morales A, Lamm DL. Bacillus Calmette-Guerin immunotherapy for genitourinary cancer[J]. Bju International, 2013, 112(3): 288-297.
- [10] De Reijke TM, Kurth KH, Sylvester RJ, et al. Bacillus Calmette -Guerin versus epirubicin for primary, secondary or concurrent carcinoma in situ of the bladder: results of a european organization for the research and treatment of Cancer-Genito-urinary Group phase III trial (30906) [J]. J Urol, 2005, 173(2): 405-409.
- [11] Smith JA, Labasky RF, Cockett ATK, et al. Bladder cancer clinical guidelines panel summary report on the management of nonmuscle invasive bladder cancer (stages Ta, T1 and TIS) [J]. J Urol, 1999, 162(5): 1697-1701.
- [12] Baskota DK, Singh BB, Sinha BK. OK-432: an effective sclerosing agent for the treatment of lymphangiomas of head and neck [J]. Kathmandu Univ Med J(KUMJ), 2007, 5(3): 312-317.
- [13] Kasahara K, Shibata K, Shintano H, et al. Randomized phase II trial of OK-432 in patients with malignant pleural effusion due to non-small cell lung cancer [J]. Anticancer Res, 2006, 26(2B): 1495-1499.
- [14] Ryoma Y, Moriya Y, Okamoto M, et al. Biological effect of OK-432(Picibanil) and possible application to dendritic cell therapy [J]. Anticancer Res, 2004, 24(5C): 3295-3301.
- [15] Sun XZ, Qiu SP. Intravesical instillation of picibanil in prophylaxis of local recurrence after resection of bladder cancer and its mechanism [J]. China Journal of Modern Medicine, 2004, (13): 49-51, 54.
- [16] Dong H, Zhu G, Tamada K, et al. B7-H1, a third member of the B7 family, co-stimulates T-cell proliferation and interleukin-10 secretion [J]. Nat Med,

- 1999, 5(12): 1365-1369.
- [17] Chen C, Qu QX, Huang JA, et al. Expression of programmed -death receptor ligands 1 and 2 may contribute to the poor stimulatory potential of murine immature dendritic cells[J]. Immunobiology, 2007, 212(3): 159-165.
- [18] Ghebeh H, Mohammed S, Al-Omar A, et al. The B7-H1 (PD-L1) T lymphocyte -inhibitory molecule is expressed in breast cancer patients with infiltrating ductal carcinoma; correlation with important high-risk prognostic factors[J]. Neoplasia, 2006, 8(3): 190-198.
- [19] Saito H, Kuroda H, Matsunaga T, et al. Increased PD-1 expression on CD4+and CD8+T cells is involved in immune evasion in gastric cancer [J]. J Surg Oncol, 2013, 107(5): 517-522.
- [20] Blank C, Mackensen A. Contribution of the PD-L1/PD-1 pathway to T -cell exhaustion; an update on implications for chronic infections and tumor evasion[J]. Cancer Immunol Immunother, 2007, 56(5): 739-745.
- [21] Ohigashi Y, Sho M, Yamada Y, et al. Clinical significance of programmed death -1 ligand -1 and programmed death -1 ligand -2 expression in human esophageal cancer[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(8): 2947-2953.
- [22] Thompson RH, Gillett MD, Cheville JC, et al. Costimulatory B7-H1 in renal cell carcinoma patients: indicator of tumor aggressiveness and potential therapeutic target[J]. J Urol, 2005, 173(4): 169-169.
- [23] Okazaki T, Honjo T. The PD-1-PD-L pathway in immunological tolerance[J]. Trends Immunol, 2006, 27(4): 195-201.
- [24] Okazaki T, Honjo T. PD-1 and PD-1 ligands: from discovery to clinical application[J]. Int Immunol, 2007, 19(7): 813-824.
- [25] He L, Zhang G, He Y, et al. Blockade of B7-H1 with sPD -1 improves immunity against murine hepatocarcinoma[J]. Anticancer Res, 2005, 25(5): 3309-3313.
- [26] Boorjian SA, Sheinin Y, Crispen PL, et al. T-cell coregulatory molecule expression in urothelial cell carcinoma; clinicopathologic correlations and association with survival [J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(15): 4800-4808.
- [27] 刘星, 梁平, 周波, 等. 膀胱肿瘤患者外周血源性树突状细胞表型及免疫功能变化[J]. 第三军医大学学
- 报, 2013, 35(09): 901-904.
- Liu X, Liang P, Zhou B, et al. Phenotype and metergasis of dendritic cells from peripheral blood of bladder carcinoma patients [J]. J Third Mil Med Univ, 2013, 35(09): 901-904.
- [28] Alexandroff AB, Nicholson S, Patel PM, et al. Recent advances in bacillus Calmette-Guerin immunotherapy in bladder cancer[J]. Immunotherapy, 2010, 2(4): 551-560.
- [29] Dong HD, Strome SE, Salomao DR, et al. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion[J]. Nat Med, 2002, 8(8): 793-800.
- [30] Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, et al. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity[J]. Annual Review of Immunology, 2008, 26(2008): 677-704.
- [31] Naito K, Ueda Y, Itoh T, et al. Mature dendritic cells generated from patient -derived peripheral blood monocytes in one -step culture using streptococcal preparation OK -432 exert an enhanced antigen -presenting capacity [J]. Int J Oncol, 2006, 28(6): 1481-1489.
- [32] Hosoya Y, Kobayashi E, Takizawa T, et al. Effect of intraperitoneal neutrophils induced by OK432 on malignant ascites [J]. Surg Today, 2005, 35(1): 60-66.
- [33] Okamoto M, Ohe G, Furuichi S, et al. Enhancement of anti -tumor immunity by lipoteichoic acid -related molecule isolated from OK-432, a streptococcal agent, in athymic nude mice bearing human salivary adenocarcinoma; role of natural killer cells [J]. Anticancer Res, 2002, 22(6A): 3229-3239.
- [34] Muhlbauer M, Fleck M, Schutz C, et al. PD-L1 is induced in hepatocytes by viral infection and by interferon -alpha and -gamma and mediates T cell apoptosis[J]. J Hepatol, 2006, 45(4): 520-528.
- [35] Chen LG, Zhang Z, Chen WW, et al. B7-H1 up-regulation on myeloid dendritic cells significantly suppresses T cell immune function in patients with chronic hepatitis B [J]. J Immunol, 2007, 178(10): 6634-6641.
- [36] Cheng XD, Zhao Z, Ventura E, et al. The PD-1/PD-L pathway is up -regulated during IL -12 -induced suppression of EAE mediated by IFN -gamma [J]. J Neuroimmunol, 2007, 185(1-2): 75-86.

(编辑 孙慧兰)