

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.11.008

· 临床研究 ·

## PD-L1 在三阴性乳腺癌组织中表达及其与脉管生成的关系

范晓杰<sup>a</sup>, 王心然<sup>a</sup>, 岳萌<sup>a</sup>, 张劭<sup>a</sup>, 邓会岩<sup>a</sup>, 谷丽娜<sup>b</sup>, 桑梅香<sup>c</sup>, 刘月平<sup>a</sup> (河北医科大学第四医院 a. 病理科; b. 科研中心; c. 肿瘤研究所 免疫室, 河北 石家庄 050011)

**[摘要]** **目的:** 探讨程序性死亡配体-1(PD-L1)在三阴性乳腺癌(TNBC)组织中的表达及其与脉管生成的相关性。**方法:** 采用组织芯片结合免疫组织化学法检测 120 例 TNBC 组织(收集自河北医科大学第四医院 2011 年 3 月 1 日至 2012 年 6 月 1 日手术切除并经病理证实的 TNBC 组织标本)中 PD-L1 蛋白表达,并分析其与患者各项临床指标关系,同时用 CD34 和 D2-40 标记血管和淋巴管后检测 TNBC 中微血管密度(MVD)和淋巴管密度(LVD)。**结果:** PD-L1 蛋白在 TNBC 肿瘤细胞及间质浸润淋巴细胞中阳性表达率为 56.7%(68/120),PD-L1 的表达与 TNBC 患者的性别、年龄、临床分期、组织学分级及肿瘤大小均无相关性( $P>0.05$ ),但与淋巴结转移情况( $P<0.05$ )及脉管癌栓形成相关( $P<0.05$ );PD-L1 高表达的 TNBC 淋巴结转移率高及脉管癌栓形成高,PD-L1 的表达与 MVD 呈正相关关系( $r=0.500, P=0.02$ ),PD-L1 的表达与 LVD 呈正相关( $r=0.662, P=0.01$ )。Log-Rank 检验结果显示,PD-L1 蛋白表达阳性 TNBC 患者的生存期均显著低于表达阴性的患者( $P<0.05$ )。Cox 多因素分析提示,PD-L1 蛋白表达可作为 TNBC 整体生存的独立预后因素。**结论:** PD-L1 在 TNBC 血管生成及淋巴管生成中起重要作用,其与 TNBC 的侵袭、转移关系密切,阻断 PD1/PD-L1 信号通路有望成为治疗 TNBC 的有效新策略。

**[关键词]** 三阴性乳腺癌;程序性死亡配体-1;免疫逃逸;微血管密度;淋巴管密度

**[中图分类号]** R737.9; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)11-1229-06

## Expression of PD-L1 in triple negative breast cancer tissues and its relationship with angiogenesis

FAN Xiaojie<sup>a</sup>, WANG Xinran<sup>a</sup>, YUE Meng<sup>a</sup>, ZHANG Meng<sup>a</sup>, DENG Huiyan<sup>a</sup>, GU Lina<sup>b</sup>, SANG Meixiang<sup>c</sup>, LIU Yueping<sup>a</sup> (a. Department of Pathology; b. Center of Scientific Research; c. Department of Immunology, Institute of Tumor Research, Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the expressions of programmed death ligand 1 (PD-L1) in triple-negative breast cancer (TNBC) and its correlation with angiogenesis. **Methods:** 120 cases of TNBC patients who underwent surgery in the Fourth Hospital of Hebei Medical University from March 1, 2011 to June 1, 2012 were collected. The tumor tissues of patients were surgically resected and confirmed by pathology. PD-L1 protein expression in TNBC tissues of 120 patients was detected by tissue microarray combined with immunohistochemistry, and its relationship with various clinical indicators was analyzed. Blood vessels and lymphatic vessels were labeled with CD34 and D2-40 to detect microvessel density (MVD) and lymphatic vessel density (LVD) in TNBC. **Results:** The positive expression rate of PD-L1 in the tumor cells and interstitial infiltrating lymphocytes from TNBC was 56.7% (68/120); No correlation was found between PD-L1 protein expression and the gender, age, histological grade, clinical stage, or tumor size of patients with TNBC ( $P>0.05$ ), but related to the lymph node metastasis ( $P<0.05$ ) and vascular thrombus ( $P<0.05$ ). TNBC with high PD-L1 expression exhibited high incidence of lymph node metastasis and formation of vascular thrombus, and the expression of PD-L1 was positively correlated with MVD ( $r=0.500, P=0.02$ ) as well as LVD ( $r=0.662, P=0.01$ ). Log-Rank test showed that the survival time of TNBC patients with positive PD-L1 protein expression was significantly shorter than that of patients with negative expression ( $P<0.05$ ). Cox multivariate analysis suggested that PD-L1 protein expression could be an independent prognostic factor for TNBC overall survival. **Conclusion:** PD-L1 plays an important role in TNBC angiogenesis and lymphangiogenesis, and is closely related to TNBC invasion and metastasis; blocking PD1/PD-L1 signal pathway is expected to be an effective new strategy for TNBC treatment.

**[Key words]** triple-negative breast cancer (TNBC); programmed death ligand 1 (PD-L1); immune evasion; microvessels density (MVD); lymphatic vessel density (LVD)

[Chin J Cancer Biother, 2019, 26(11): 1229-1234. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.11.008]

**[基金项目]** 河北省医学科学研究重点课题资助项目(No.20190718)。Project supported by Medical Science Research Key Project Fund of Hebei Province(No.20190718)

**[作者简介]** 范晓杰(1986-),女,硕士,主管技师,主要从事肿瘤病理技术工作, E-mail: fanxiaojierf@163.com

**[通信作者]** 刘月平(LIU Yueping, corresponding author),博士,教授,博士生导师,主要从事肿瘤病理诊断的研究, E-mail: annama@163.com

乳腺癌已成为全球女性中发病率和病死率均居首位的恶性肿瘤,其中三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)呈现恶性程度高、侵袭性强、复发率高、易远处转移、易局部复发及预后差等显著特征,严重危害女性生命健康。尽管近年来外科手术水平不断提高,新辅助化疗和放疗也取得了很大进步,但TNBC患者的预后仍然不佳。TNBC已成为国际乳腺癌研究领域的新热点,但尚无有效治疗手段<sup>[1]</sup>。乳腺癌的发生是一个多步骤、多基因参与的复杂过程,包括致癌基因的激活和抑癌基因的失活,免疫逃逸在肿瘤的发生发展中起到重要的作用<sup>[2]</sup>。程序性死亡配体1(programmed death ligand 1, PD-L1)是程序性死亡因子1(programmed cell death 1, PD1)的配体之一,在多种肿瘤细胞以及免疫细胞,例如T细胞、B细胞、树突状细胞等的表面表达<sup>[3]</sup>。肿瘤细胞通过高表达PD-L1,与肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocytes, TILs)表面的受体PD1结合后,向TILs传递免疫抑制信号,抑制T细胞迁移、增殖及细胞毒性介质的分泌,诱导T细胞耗竭,限制其对肿瘤细胞的杀伤作用,从而实现免疫逃逸。本研究旨在分析PD-L1在TNBC组织中的表达及其与脉管生成的关系,通过分析该分子表达及其与临床病理特征相关性,评估其对肿瘤进展的影响,以期对TNBC的治疗提供新的策略。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

收集2011年3月1日至2012年6月1日期间于河北医科大学第四医院住院手术切除且经病理证实为TNBC(ER<sup>-</sup>, PR<sup>-</sup>, HER2<sup>-</sup>或荧光原位杂交检测HER2/Neu基因无扩增)的肿瘤组织标本。患者均为首次发病,且术前未行放疗、化疗和内分泌治疗。患者均为女性,共120例,年龄22~72岁,平均年龄(54.2±11.7)岁。按照美国肿瘤联合会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)2010年第7版TNM分期标准,I期20例(17%)、II期70例(58%)、III期30例(25%)。按照组织学分级标准,I级28例(23%)、II级74例(62%)、III级18例(15%)。肿瘤大小≤2 cm者58例(48%)、2~5 cm者40例(33%)、>5 cm者22例(18%);有淋巴结转移90例(75%)、无淋巴结转移30例(25%);有脉管瘤栓者54例(45%)、无脉管瘤栓者66例(55%)。所有组织标本均经病理组织学确诊。标本经4%多聚甲醛固定,常规石蜡包埋,制成厚4 μm的病理切片用于免疫组织化学检测。120例TNBC患者中112例获得完整随访资料,均采用电话随访。随访至2017

年6月1日,随访时间60个月,中位随访时间48个月,随访率93.3%。上述标本的获取均取得受试者或其家属的知情同意并签署知情同意书,通过医院伦理委员会批准。

### 1.2 免疫组织化学法检测PD-L1、CD34和D2-40在TNBC组织中的表达

TNBC组织标本常规制片。组织芯片制作使用美国Beecher组织芯片阵列仪,选择1.5 mm孔径。免疫组化选用Roche Benchmark XT全自动免疫组化仪染色。一抗PD-L1单抗(克隆号SP142,即用型)购自北京中杉金桥生物科技有限公司,CD34单抗(QBEnd/10,1:200)和D2-40单抗(D2-40,1:50)购自福州迈新生物技术开发有限公司。以PBS代替一抗作为阴性对照,用正常乳腺导管上皮作为阳性对照。

### 1.3 免疫组织化学染色结果判定

免疫组化切片均由2名资深病理科医师双盲独立观察评估。由于PD-L1在乳腺癌中的阳性阈值尚未明确,本实验PD-L1以细胞质或细胞膜出现黄色至棕褐色颗粒为阳性显色。PD-L1表达采用半定量积分法<sup>[4]</sup>,结合染色强度和阳性细胞百分比来评定阳性表达病例。先在低倍镜下观察切片整个视野,分别在肿瘤细胞及肿瘤间质随机选择5个高倍视野(×400)。染色强度分级如下:无着色为0分,淡黄色为1分,棕黄色为2分,棕褐色为3分;阳性细胞密度分级为:阳性细胞数≤10%为1分,10%~50%为2分,>50%为3分。两项得分相乘结果≥3分为强阳性表达,<1分为阴性表达。肿瘤细胞及肿瘤间质内任一项阳性即为阳性表达。CD34免疫组化阳性染色信号主要定位于血管内皮细胞的胞质及胞膜上,D2-40免疫组化阳性染色信号主要定位于淋巴管内皮细胞的胞质及胞膜上,均呈棕黄色颗粒。依照参考文献[5]的方法对TNBC组织进行微血管密度(microvessel density, MVD)和淋巴管密度(lymphatic vessel density, LVD)计数:无论是否有管腔,以阳性染色的单个内皮细胞或内皮细胞簇都被认为是微血管。在40倍视野下选取脉管丰富的区域,然后在200视野下计数5个视野的MVD和LVD,以5个视野的平均值作为MVD值和LVD值。

### 1.4 统计学处理

采用SPSS19.0软件进行统计分析。计量资料两组间比较采用 $t$ 检验,3组间比较采用方差分析;计数数据以百分率表示,采用 $\chi^2$ 检验或连续校正的 $\chi^2$ 检验统计分析PD-L1的表达与临床病理学指标的关系;采用Kaplan-Mier方法对TNBC患者阳性表达PD-L1蛋白进行生存分析,利用Cox回归模型对PD-L1蛋白及

淋巴结转移和脉管瘤栓进行多因素分析。以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 PD-L1在TNBC组织及转移淋巴结中的表达

免疫组织化学染色结果(图1)显示,PD-L1蛋白在TNBC组织中表达主要位于细胞质和细胞膜。TNBC组织中PD-L1蛋白的阳性表达率为56.7% (68/120),其相应癌旁组织无表达,两者差异具有统计学意义( $P < 0.01$ ,表1)。

### 2.2 PD-L1蛋白的表达与TNBC患者临床病理指标间的关系

如表2所示,PD-L1蛋白的表达与TNBC患者年龄( $\chi^2=0.026, P=0.987$ )、病理类型( $\chi^2=2.529, P=0.639$ )、组织分级( $\chi^2=1.745, P=0.418$ )、临床分期( $\chi^2=0.026, P=$

0.625)、肿瘤大小( $\chi^2=1.454, P=0.483$ )无相关性;但与淋巴结转移( $\chi^2=8.869, P=0.003$ )和脉管瘤栓( $\chi^2=12.116, P=0.001$ )呈显著相关。

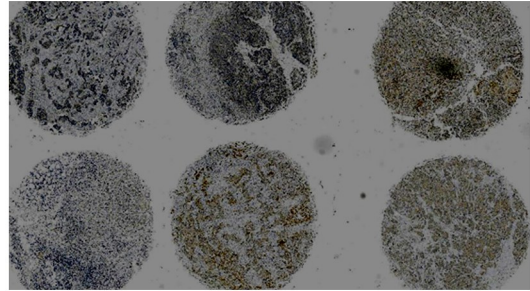


图1 免疫组化芯片技术检测PD-L1在TNBC中的表达( $\times 20$ )  
Fig.1 Expression of PD-L1 in human TNBC by immunohistochemical tissue microarray ( $\times 20$ )

表1 免疫组化法检测PD-L1在TNBC组织的表达率

Tab.1 Expression rate of PD-L1 protein in TNBC tissues detected by immunohistochemical staining

Group	Positive number	Negative number	Positive rate	$\chi^2$	$P$
Breast cancer tissue	68	52	56.7%	39.420	0.000
Tumor-free breast tissue	0	40	0		

表2 TNBC组织中PD-L1蛋白的阳性表达与患者临床病理特征之间的关系(n)

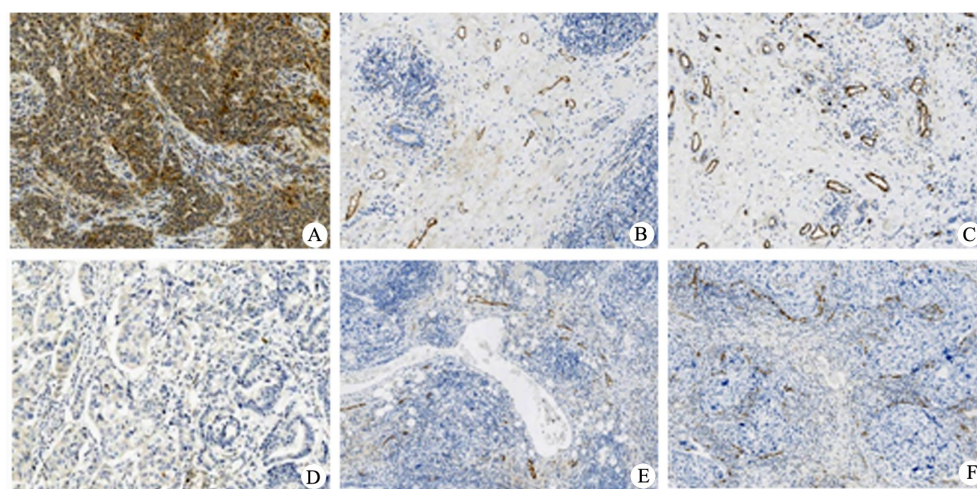
Tab.2 Expression rate of PD-L1 protein in TNBC tissues detected by immunohistochemical staining (n)

Clinicopathological feature	N	PD-L1		$\chi^2$	$P$
		-	+		
Age (t/a)				0.026	0.987
<40	14	6	8		
40-60	70	30	40		
>60	36	16	20		
Pathological type				2.529	0.639
In situ breast cancer	11	6	5		
Invasive ductal breast cancer	53	18	35		
Breast Medullary cancer	8	2	6		
Breast Mucinous cancer	10	4	6		
Invasive lobular breast cancer	38	22	16		
Histological grade				1.745	0.418
I	20	10	10		
II	70	32	38		
III	30	10	20		
Clinical stage				0.941	0.625
I	28	12	16		
II	74	34	40		
III	18	6	12		
Tumor size ( $V/cm^3$ )				1.454	0.483
<2	58	22	36		
2-5	40	20	20		
>5	22	10	12		
Lymph node metastasis				8.869	0.003
No	30	20	10		
Yes	90	32	58		
Vessel invasion				12.116	0.001
-	66	38	28		
+	54	14	40		

### 2.3 PD-L1 表达与MVD、LVD的关系

免疫组织化学检测结果(图2)显示,PD-L1低表达组的MVD平均值为(18.86±9.26)个,PD-L1高表达组的MVD平均值为(62.53±18.87)个,两组差异显著( $t=13.085, P<0.05$ )。通过 Spearman 分析发现,在 TNBC 组织中 PD-L1 的表达与 MVD 呈正相关关系

( $r=0.500, P=0.02$ )。PD-L1 低表达组的 LVD 平均值为(7.95±3.51)个,PD-L1 高表达组的 LVD 平均值为(18.91±5.47)个,两组差异显著( $t=5.970, P<0.05$ )。通过 Spearman 分析发现,在 TNBC 组织中 PD-L1 的表达与 LVD 呈正相关关系( $r=0.662, P=0.01$ )。



A: High expression of PD-L1 in TNBC; B: MVD of high expression of PD-L1 in TNBC; C: LVD of high expression of PD-L1 in TNBC; D: Low expression of PD-L1 in TNBC; E: MVD of low expression of PD-L1 in TNBC; F: LVD of low expression of PD-L1 in TNBC; B,E: D2-40; C, F: CD34

图2 免疫组织化学检测 PD-L1、D2-40 和 CD34 在 TNBC 中的表达(×100)

Fig.2 Expressions of PD-L1, D2-40 and CD34 in TNBC tissues by immunohistochemical staining (×100)

### 2.4 PD-L1 蛋白的表达与生存关系

Kaplan-Meier 生存曲线(图3)结果显示,PD-L1 蛋白阴性表达患者的生存期显著高于 PD-L1 蛋白表达阳性的患者( $\chi^2=6.254, P=0.012$ )。Cox 回归模型进行多因素分析结果(表3)显示,PD-L1 蛋白表达( $HR=1.997, P=0.011$ )、淋巴结转移( $HR=1.819, P=0.025$ )及脉管瘤栓( $HR=2.105, P=0.049$ )可作为 TNBC 患者生存独立预后因素。

0.05),淋巴结转移率高( $P<0.05$ )及脉管瘤栓形成( $P<0.05$ )密切相关。

### 2.5 MVD、LVD 与 TNBC 临床病理特征的关系

120 例 TNBC 患者中,MVD 与患者年龄、肿瘤直径、组织学分级和临床分期无关( $P>0.05$ )。MVD 的升高与 TNBC 的淋巴结转移率高( $P<0.05$ )及脉管瘤栓形成( $P<0.05$ )密切相关。120 例 TNBC 中 LVD 与患者年龄、肿瘤直径组织学分级和临床分期无关( $P>0.05$ )。LVD 的升高与 TNBC 的淋巴结转移率高( $P<$

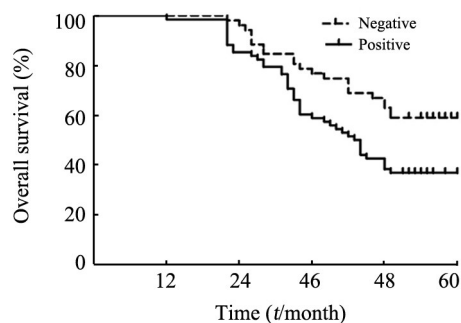


图3 TNBC 患者总体生存率与 PD-L1 表达关系的 Kaplan-Meier 曲线

Fig.3 Relationship between expression of PD-L1 protein and overall survival rate in the patients with TNBC

表3 TNBC 患者总体生存预后影响因素多因素 Cox 回归分析

Tab.3 Multivariate Cox regression analysis of the influential factors for overall survival prognosis of TNBC patients

Independent prognostic factor	$\beta$	SE	Wald	df	HR	95%CI	P
Vessel invasions	0.744	0.378	3.875	1	2.105	1.003~4.417	0.049
Lymph node metastasis	0.598	0.268	4.996	1	1.819	1.076~3.074	0.025
PD-L1 positive expression	0.692	0.271	6.499	1	1.997	1.173~3.339	0.011

### 3 讨论

肿瘤的形成是细胞在遗传和环境作用下的共同结果。正常情况下,机体的免疫系统能够发现、识别并清除肿瘤细胞;但肿瘤细胞和免疫系统相互作用的过程受大量的免疫激活/抑制分子调控<sup>[6]</sup>。肿瘤细胞引起免疫系统的反应,上调或下调免疫分子的活性抑制抗肿瘤免疫应答,从而实现肿瘤的免疫逃逸。PD-1/PD-L1 是免疫检查点中重要负向调控分子,在肿瘤免疫逃逸中起重要作用<sup>[7-8]</sup>。研究肿瘤细胞免疫检查点相关分子表达调控机制对于阐明肿瘤发生免疫逃逸的机制具有重要的意义,并为探索抗肿瘤免疫新疗法提供潜在的靶点。

PD-L1 作为 PD-1 的配体,是穿膜蛋白 B7 家族的成员。PD-L1 分子由 1 个穿膜区域和 2 个胞外结构域 IgC 和 IgV 构成,在肿瘤组织中过度表达且于 PD-1 结合下调抗肿瘤免疫反应<sup>[9-10]</sup>。PD-L1/PD-1 通路在诱导效应 T 细胞凋亡、抑制 T 细胞活化、抑制机体抗肿瘤免疫反应和肿瘤免疫逃逸过程中发挥重要作用。多种肿瘤如黑色素瘤<sup>[11]</sup>、乳腺癌<sup>[12]</sup>、肺癌<sup>[4]</sup>、胃癌<sup>[13]</sup>等的肿瘤细胞中 PD-L1 蛋白表达升高,且其表达与肿瘤的高侵袭性、转移及不良预后等临床病理指标密切相关。本研究发现,PD-L1 蛋白在 TNBC 中的阳性表达率为 56.7%(68/120),其相应癌旁组织未有表达,两者具有显著差异;PD-L1 蛋白的表达与 TNBC 淋巴结转移 ( $P<0.05$ ) 及脉管瘤栓 ( $P<0.05$ ) 有关。综上,提示 PD-L1 可能参与了抑制外周 T 淋巴细胞的抗肿瘤免疫反应,促进了肿瘤的浸润和转移,这与 GATALICA 等<sup>[14]</sup>的研究结果相一致。

血管生成是由毛细血管逐渐融合成大的血管,进而为肿瘤组织提供营养供给;抑制血管生成,可切断肿瘤组织的营养供给,成为癌症治疗的新趋势。肿瘤细胞的转移是肿瘤患者死亡的重要原因,肿瘤的转移主要借助于血管和淋巴管。以往认为,淋巴管在肿瘤转移中只是被动作用,但目前发现淋巴管的生成也会增加肿瘤细胞的转移<sup>[15]</sup>。本研究结果显示,在 TNBC 中,PD-L1 的表达与 MVD 呈正相关,提示 PD-L1 可能参与了血管生成。有研究<sup>[16]</sup>表明,MVD 与乳腺浸润性导管癌的肿瘤大小,淋巴结转移及 TNM 分期成正相关。MVD 在肺类癌中与淋巴结转移及 TNM 密切相关<sup>[17]</sup>。前瞻性研究<sup>[18]</sup>显示,MVD 可能与乳腺疾病预后不良相关。本组结果显示,PD-L1 的表达与 LVD 呈正相关关系,提示 PD-L1 可能参与淋巴管的生成。LVD 在肺类癌中与淋巴结转移及 TNM 密切相关<sup>[17]</sup>。STANTON 等<sup>[19]</sup>研究显示,间质淋巴细胞浸润多见于乳腺癌亚型,TNBC 的免疫浸润

尤为明显,且 TNBC 肿瘤微环境中存在更高的 PD-L1 的表达。由此推断,在 TNBC 组织中 PD-L1 的高表达增加了肿瘤细胞的逃逸,进而增加肿瘤的脉管转移风险<sup>[20-21]</sup>。综上推测,PD-L1 在 TNBC 的脉管转移中起到促进的作用,PD-L1 可能是 TNBC 预后不良的因素之一。

本研究 Kaplan-Meier 生存曲线分析表明,PD-L1 蛋白阳性表达患者的生存率显著低于阴性表达的患者。多因素 Cox 回归模型分析进一步提示,PD-L1 蛋白可作为总体生存的独立预后因素。PDL-1 蛋白高表达的乳腺癌患者的 OS 明显缩短<sup>[22-23]</sup>;BOTTI<sup>[12]</sup>等的研究显示在 TNBC 患者中,高表达 PD-L1 与无转移生存、特异性总生存有关;TSANG 等<sup>[24]</sup>的研究显示高表达 PD-L1 的肿瘤往往伴随着肿瘤浸润淋巴细胞的浸润,肿瘤浸润淋巴细胞的出现同样与显著缩短的 OS 相关,预示着乳腺癌患者的预后不良。PD-L1 蛋白的表达与 TNBC 患者临床病理特征,如淋巴结转移情况及脉管瘤栓情况等显著相关,提示在 TNBC 患者在肿瘤切除后,浸润淋巴结中的 PD-L1 蛋白仍有表达,可能继续影响原发肿瘤周围微环境的抗肿瘤免疫反应,从而导致术后生存缩短。

TNBC 患者由于缺乏特异性治疗靶点,目前除了传统的手术方式以外,仍无十分有效的治疗方法,其预后很不理想。寻找 TNBC 特异性治疗靶点是延长 TNBC 患者无病生存期和改善其生活质量的关键。HOMET 等<sup>[25]</sup>报道了自制 PD-L1 单克隆抗体 MP-DL3280A、MEDI4736 和 MSB0010718C,它们在黑色素瘤、非小细胞肺癌、小细胞肺癌及霍奇金淋巴瘤中有持续的抗肿瘤效果。因此,靶向 PD-L1 的免疫疗法有望成为治疗 TNBC 的有效新策略。

### [参考文献]

- [1] 范东伟,姚昌洋,姚廷敬. 三阴性乳腺癌的研究进展[J]. 医学综述, 2018, 24(1): 71-75.
- [2] SWOBODA A, NANDA R. Immune checkpoint blockade for breast cancer. [J]. Cancer Treat Res, 2018, 173: 155-165. DOI: 10.1007/978-3-319-70197-4\_10.
- [3] SHAH N J, KELLY W J, LIU S V, et al. Product review on the Anti-PD-L1 antibody atezolizumab[J]. Hum Vaccin Immunother, 2018, 14(2): 269-276. DOI:10.1080/21645515.2017.1403694.
- [4] ADAM J, LE STANG N, ROUQUETTE I, et al. Multicenter harmonization study for PD-L1 IHC testing in non-small-cell lung cancer [J]. Ann Oncol, 2018, 29(4): 953-958. DOI: 10.1093/annonc/mdy014.
- [5] ŞENER E, ŞİPAL S, GÜNDOĞDU C. Comparison of microvessel density with prognostic factors in invasive ductal carcinomas of the breast[J]. Turk Patoloji Derg, 2016, 32(3): 164-170. DOI:10.5146/tj-path.2016.01366.

- [6] GATALICA Z, XIU J, SWENSEN J, et al. Comprehensive analysis of cancers of unknown primary for the biomarkers of response to immune checkpoint blockade therapy[J/OL]. *Eur J Cancer*, 2018, 94: 179-186[2019-08-08]. [https://www.ejca.com/article/S0959-8049\(18\)30228-4/fulltext](https://www.ejca.com/article/S0959-8049(18)30228-4/fulltext). DOI:10.1016/j.ejca.2018.02.021.
- [7] ZOU W P, WOLCHOK J D, CHEN L P. PD-L1 (B7-H1) and PD-1 pathway blockade for cancer therapy: Mechanisms, response biomarkers, and combinations[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2016, 8(328): 328rv4[2019-08-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4859220/>. DOI:10.1126/scitranslmed.aad7118.
- [8] 王月华, 胡志远. PD-1/PD-L1 在肿瘤免疫逃逸中的作用机制及其临床应用[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2017, 24(7): 784-790. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.07.015.
- [9] ALDERSON K L, ZHOU Q, BERNER V, et al. Regulatory and conventional CD4+ T cells show differential effects correlating with PD-1 and B7-H1 expression after immunotherapy[J]. *J Immunol*, 2008, 180(5): 2981-2988. DOI:10.4049/jimmunol.180.5.2981.
- [10] AFREEN S, DERMIME S. The immunoinhibitory B7-H1 molecule as a potential target in cancer: killing many birds with one stone[J]. *Hematol Oncol Stem Cell Ther*, 2014, 7(1): 1-17. DOI:10.1016/j.hemonc.2013.09.005.
- [11] CHO J, AHN S, YOO K H, et al. Treatment outcome of PD-1 immune checkpoint inhibitor in Asian metastatic melanoma patients: correlative analysis with PD-L1 immunohistochemistry[J]. *Invest New Drugs*, 2016, 34(6): 677-684. DOI:10.1007/s10637-016-0373-4.
- [12] BOTTI G, COLLINA F, SCOGNAMIGLIO G, et al. Programmed death ligand 1 (PD-L1) tumor expression is associated with a better prognosis and diabetic disease in triple negative breast cancer patients[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(2): E459[2019-08-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5343992/>. DOI:10.3390/ijms18020459.
- [13] AMATATSU M, ARIGAMI T, UENOSONO Y, et al. Programmed death-ligand 1 is a promising blood marker for predicting tumor progression and prognosis in patients with gastric cancer[J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(3): 814-820. DOI:10.1111/cas.13508.
- [14] GATALICA Z, SNYDER C, MANEY T, et al. Programmed cell death 1 (PD-1) and its ligand (PD-L1) in common cancers and their correlation with molecular cancer type[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2014, 23(12): 2965-2970. DOI:10.1158/1055-9965.epi-14-0654.
- [15] STACKER S A, WILLIAMS S P, KARNEZIS T, et al. Lymphangiogenesis and lymphatic vessel remodelling in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2014, 14(3): 159-172. DOI:10.1038/nrc3677.
- [16] ZHEN L F, YE C S, LIU M F, et al. Expressions of D2-40 and CD34 in invasive ductal carcinoma of the breast and the clinical implications[J]. *J South Med Univ*, 2010, 30(7): 1548-1551.
- [17] DE VILHENA A F, DAS NEVES PEREIRA J C, PARRA E R, et al. Histomorphometric evaluation of the Ki-67 proliferation rate and CD34 microvascular and D2-40 lymphovascular densities drives the pulmonary typical carcinoid outcome[J]. *Hum Pathol*, 2018, 81: 201-210. DOI:10.1016/j.humpath.2018.07.007.
- [18] AGARWAL S, SINGH A, BAGGA P K. Immunohistochemical evaluation of lymphovascular invasion in carcinoma breast with CD34 and D2-40 and its correlation with other prognostic markers[J]. *Indian J Pathol Microbiol*, 2018, 61(1): 39-44. DOI: 10.4103/IJPM.IJPM\_791\_16.
- [19] STANTON S E, ADAMS S, DISIS M L. Variation in the incidence and magnitude of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer subtypes: a systematic review[J]. *JAMA Oncol*, 2016, 2(10): 1354-1360. DOI: 10.1001/jamaoncol.2016.1061.
- [20] SAFONOV A, JIANG T T, BIANCHINI G, et al. Immune gene expression is associated with genomic aberrations in breast cancer[J]. *Cancer Res*, 2017, 77(12): 3317-3324. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-3478.
- [21] VONDERHEIDE R H, DOMCHEK S M, CLARK A S. Immunotherapy for breast cancer: what are we missing? [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(11): 2640-2646. DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-16-2569.
- [22] SABATIER R, FINETTI P, MAMESSIER E, et al. Prognostic and predictive value of PDL1 expression in breast cancer[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(7): 5449-5464. DOI:10.18632/oncotarget.3216.
- [23] BAPTISTA M Z, SARIAN L O, DERCHAIN S F M, et al. Prognostic significance of PD-L1 and PD-L2 in breast cancer[J]. *Hum Pathol*, 2016, 47(1): 78-84. DOI:10.1016/j.humpath.2015.09.006.
- [24] TSANG J Y S, AU W, LO K, et al. PD-L1 expression and tumor infiltrating PD-1+ lymphocytes associated with outcome in HER2+ breast cancer patients[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2017, 162(1): 19-30. DOI:10.1007/s10549-016-4095-2.
- [25] HOMET MORENO B, RIBAS A. Anti-programmed cell death protein-1/ligand-1 therapy in different cancers[J]. *Br J Cancer*, 2015, 112(9): 1421-1427. DOI:10.1038/bjc.2015.124.

[收稿日期] 2019-08-10

[修回日期] 2019-11-05

[本文编辑] 黄静怡