

PD-L2 在宫颈鳞状细胞癌的表达及对外周血 T 细胞凋亡的影响^{*}

耿卫朴,徐 曼[△],张 燕,陈 瑜,黄文炼,王婷婷
(重庆医科大学病理教研室/分子与肿瘤研究中心 400016)

摘要:**目的** 检测负性共刺激分子 PD-L2 在人宫颈鳞状细胞癌的表达情况,分析其与患者临床病理特征的相关性,并观察重组人 PD-L2 蛋白对患者外周血 T 细胞凋亡的影响。**方法** 采用免疫组织化学染色检测 PD-L2 蛋白在 60 例宫颈鳞状细胞癌患者癌组织中的表达,并统计分析 PD-L2 蛋白表达与宫颈鳞状细胞癌患者临床病理特征的相关性。将患者外周血 T 淋巴细胞分为空白对照组、PD-L2 组和 PD-L2+抗 PD-1 组单克隆抗体组,流式细胞术分析各组 T 细胞的凋亡率。**结果** 宫颈鳞状细胞癌表达 PD-L2 的阳性率为 53.3%(32/60)。PD-L2 的表达与宫颈鳞状细胞癌的淋巴结转移相关($P<0.05$)。PD-L2 组宫颈鳞状细胞癌患者外周血活化 CD4⁺T 和 CD8⁺T 的凋亡率分别为 17.0%和 22.4%,明显高于空白对照组 9.0%和 16.2%;加入抗 PD-1 阻断 PD-L2 与 T 淋巴细胞、PD-1 结合后,PD-L2+抗 PD-1 组 CD4⁺T 和 CD8⁺T 淋巴细胞凋亡率下降到 11.1%和 17.5%。**结论** 宫颈鳞状细胞癌细胞异常表达 PD-L2,且与肿瘤的淋巴结转移有关。PD-L2 通过促进 T 细胞凋亡而削弱宫颈微环境的抗肿瘤免疫,并促进肿瘤的淋巴结转移。PD-L2/PD-1 途径有可能成为宫颈鳞状细胞癌免疫治疗的靶点之一。

关键词:宫颈肿瘤;T 淋巴细胞;淋巴转移;PD-L2
doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.09.010 文献标识码:A 文章编号:1671-8348(2014)09-1052-03

The expression of PD-L2 in human cervical carcinomas and the influence to peripheral blood T lymphocytes apoptosis^{*}

Geng Weipu, Xu Man[△], Zhang Yan, Chen Yu, Huang Wenlian, Wang Tingting
(Department of Pathology/Molecular Medicine and Tumor Research Center,
Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract:**Objective** To determine PD-L2 expression in human cervical squamous cell carcinomas and analyze its association with the clinical and pathologic characteristics of these cases; observe the role of recombinant PD-L2 protein on apoptosis of active peripheral blood T lymphocytes of cervical carcinoma patients. **Methods** PD-L2 expression in cervical squamous cell carcinomas was determined by immunohistochemistry staining, and the association between PD-L2 expression with the clinical and pathologic characteristics of these cases was analyzed. In vitro, the peripheral blood T lymphocytes of cervical carcinoma patients were divided into blank group, PD-L2 group and PD-L2+anti-PD-1 group respectively. After these active T cells were cultured 72 h, their apoptotic rates were detected by flow cytometry. **Results** PD-L2 expressed in 53.3%(32/60) cervical squamous cell carcinomas, and its expression associated with lymph node metastasis of these cases($P<0.05$). In vitro, PD-L2 promoted apoptosis of CD4⁺T and CD8⁺T lymphocytes, the apoptotic rates were 17.0% and 22.4% respectively, which were higher than 9.0% and 16.2% of blank group; however, the apoptotic rates dropped to 11.1% and 17.5% in PD-L2+anti-PD-1 group. **Conclusion** PD-L2 aberrantly expresses in cervical squamous cell carcinomas and is associated with their lymph node metastasis. PD-L2 promotes apoptosis of T lymphocytes and depresses the anti-tumor immunity of cervical microenvironment, and promotes lymph node metastasis of these cancers. PD-L2/PD-1 pathway may be a potential immunotherapy target of cervical squamous cell carcinomas.

Key words: uterine cervical neoplasms; T-lymphocytes; lymphatic metastasis; PD-L2

我国宫颈癌的发病率近年来逐渐增高并出现年轻化趋势,宫颈鳞状细胞癌是最主要的组织学类型。宫颈鳞状细胞癌的发生与乳头瘤病毒感染密切相关,但病毒感染后仅少部分病例发展为癌,提示癌变细胞未能被局部微环境的 T 细胞识别和清除。宫颈癌微环境出现 T 细胞免疫水平下降与宫颈局部出现负性共刺激分子如 B7 家族成员、调节 T 细胞浸润以及白细胞介素(IL)-10 和转化生长因子 β (TGF- β)水平增高等因素有关。PD-L2 是共刺激分子 B7 家族成员之一,它与 T 细胞表面的 PD-1 受体结合后通过 PD-L2/PD-1 信号途径影响 T 细胞增殖及分泌细胞因子,负性调节 T 细胞活化并促进 T 细胞凋亡,从而抑制人体的抗肿瘤免疫^[1-2]。癌细胞表达 PD-L2 还能促

进癌细胞逃避宿主机体的免疫监视^[3]。文献报道 PD-L2 在多种恶性肿瘤如肺癌、肝癌、食管癌、胰腺癌、子宫颈癌和卵巢癌细胞异常表达,PD-L2 与肿瘤内 CD8⁺T 细胞减少相关,在肿瘤原发部位及其转移的淋巴结内均能抑制效应 T 细胞的抗肿瘤免疫功能,而且癌细胞表达 PD-L2 与患者预后差密切相关^[4-6],但对 PD-L2 调节 T 细胞凋亡的作用目前尚未见报道。为进一步阐明 PD-L2/PD-1 信号途径在调节子宫颈鳞状细胞癌患者抗肿瘤 T 细胞免疫中的作用,本实验采用免疫组织化学方法观察 PD-L2 在宫颈鳞状细胞癌组织的表达,分析 PD-L2 表达与患者临床病理特征的相关性,并通过体外实验观察了可溶性 PD-L2 蛋白对宫颈癌患者外周血活化 T 细胞凋亡的

^{*} 基金项目:重庆市自然科学基金资助项目(CSTC2009BB5268)。 作者简介:耿卫朴(1983—),硕士,主要从事肿瘤病理与肿瘤免疫的研究。
[△] 通讯作者,E-mail:2402316007@qq.com。

影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 正常宫颈组织 30 例,高级别宫颈上皮内瘤变(CIN)Ⅱ、Ⅲ级 30 例和宫颈鳞状细胞癌 60 例均取自重庆医科大学病理教研室 2009~2010 年的病理标本。患者年龄 32~65 岁,平均 43.12 岁。免疫组织化学实验采用 10%中性甲醛固定、石蜡包埋组织。外周血取自重庆医科大学第一附属医院妇产科未经化疗的宫颈鳞状细胞癌患者。采血前已得到患者及其家属的同意,并通过医院伦理委员会审批。

1.2 主要试剂 兔抗人 PD-L2(bs-1868R)和鼠抗人 PD-1(bs-1867R)购自北京博奥森生物技术有限公司;重组人 PD-L2 活性蛋白(10292-H08H)购自北京 Sino Biological 公司;PV-6000 试剂盒购自北京中杉金桥生物技术公司;淋巴细胞分离液购自天津灏洋生物有限公司;RPMI1640 培养基购自美国 Gibco 公司;Annexin V-PE/7-AAD 凋亡试剂盒购自南京凯基生物技术有限公司;小鼠 IgG1-PE(No. 12-4714)、IgG1-FITC(No. 11-4714)、鼠抗人 CD8-FITC(No. 11-0086)和鼠抗人 CD4-FITC(No. 11-0049)购自美国 eBioscience 公司;尼龙毛购自德国 Kisker 公司;聚羟基脂肪酸酯购自美国 Sigma 公司;胎牛血清购自杭州四季青公司。

1.3 方法

1.3.1 免疫组织化学染色 4 μm 石蜡切片脱蜡至梯度乙醇后,经 3% H₂O₂ 孵育 10 min 及枸橼酸钠缓冲液(pH 6.0)进行抗原修复后,滴加 PD-L2 抗体(1:150)并于 4℃ 冰箱过夜;加二抗后 37℃ 温箱孵育 30 min,以上各步后均用磷酸盐缓冲液(PBS)洗 3 次,最后经 DAB 显色并用中性树脂封片。实验中用 PBS 替代一抗作为阴性对照。PD-L2 在细胞膜或胞质着色为阳性(+~+++),其中染色细胞数 10%~25%,染成淡棕色为+、++;染色细胞数大于 25%,染成棕褐色+++;否则为阴性(-)。

1.3.2 外周血 T 细胞的分离活化与培养 宫颈鳞状细胞癌患者的新鲜抗凝外周血经梯度离心后吸取单个核细胞,再经尼龙毛获得 T 淋巴细胞。将 T 淋巴细胞分为对照组、重组 PD-

L2 组和 PD-L2+抗 PD-1 组。在 24 孔板内将 5×10⁵ mL⁻¹ T 淋巴细胞置于 RPMI1640 培养液(含 10%胎牛血清 10 mg/L)中 37℃、5%CO₂ 孵箱内培养 24 h 后,3 组分别加入 PBS、重组人 PD-L2 蛋白(1 μg/mL)和抗人 PD-1 抗体(2 μg/mL)培养 48 h 进行后续实验。每组实验分别重复 3 次。

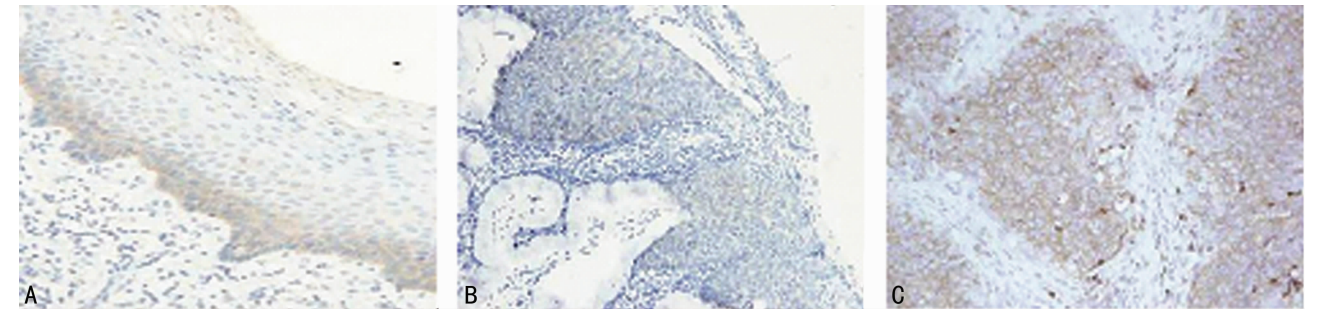
1.3.3 流式细胞术检测 T 细胞凋亡率 收集上述各组 T 淋巴细胞,1×10⁶ 个 T 细胞悬浮于 100 μL 磷酸盐缓冲液(PBS)后分别与鼠抗人 CD8-FITC、鼠抗人 CD4-FITC 和 Annexin V-PE 室温避光孵育 30 min,再加入 7AAD 避光孵育 5 min,PBS 洗 3 次后立即用 400 μL PBS 重悬细胞并进行流式细胞检测。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行分析,偏态分布资料采用 Fisher 精确概率检验法,等级资料采用秩和检验法。临床病理特征与 PD-L2 表达的关系的分析采用 Logistic 回归分析。以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PD-L2 在人正常宫颈上皮、CIN Ⅱ、Ⅲ级和宫颈鳞状细胞癌的表达 PD-L2 在部分正常宫颈鳞状上皮的基底层细胞微弱表达,阳性率为 20.0%(6/30);在部分 CIN Ⅱ、Ⅲ级细胞中微弱表达,阳性率为 20.0%(6/30);但在宫颈鳞状细胞癌的阳性表达率为 53.3%(32/60),显著高于 CIN Ⅱ、Ⅲ级的表达率(P<0.05),见图 1、表 1。此外,PD-L2 蛋白也在宫颈鳞状细胞癌局部的间质细胞表达。

2.2 PD-L2 表达与临床病理特征的相关性分析 本实验对宫颈鳞状细胞癌 PD-L2 的表达与肿瘤浸润深度、淋巴结转移、局部脉管内瘤栓形成以及患者临床分期和年龄进行相关性分析,结果显示 PD-L2 的表达与癌细胞的淋巴结转移相关(P=0.023)。进一步进行 Logistic 回归分析显示,PD-L2 表达与癌细胞的淋巴结转移密切相关。在 2 例发生淋巴结转移的宫颈鳞状细胞癌病例中,转移灶和原发灶癌细胞均表达 PD-L2;另 2 例原发灶癌细胞不表达 PD-L2,但转移灶内癌细胞强阳性表达 PD-L2。实验中还发现同一病例中 PD-L2 在浅表浸润的癌细胞中表达略弱于深部浸润的癌细胞,但统计学结果未能证实 PD-L2 表达与肿瘤浸润深度的相关性,见表 2。



A:正常宫颈基底层细胞微弱表达(IHC×200);B:CINⅡ、Ⅲ级弱阳性表达(IHC×100);C:宫颈鳞状细胞癌强阳性表达(IHC×200)。

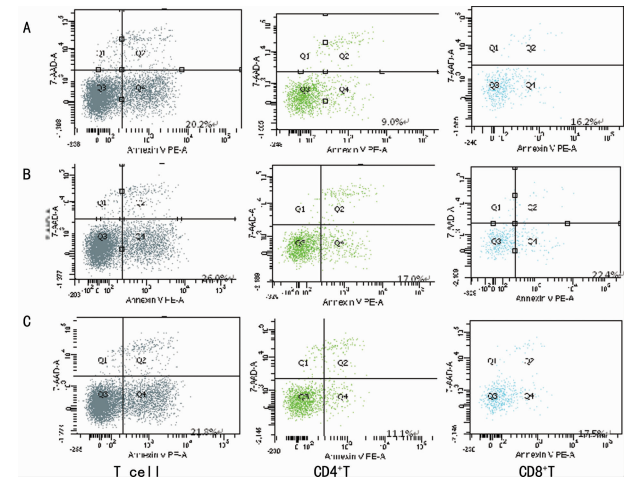
图 1 PD-L2 在不同组织的表达

表 1 PD-L2 在宫颈鳞状细胞癌和 CIN Ⅱ、Ⅲ组的表达(n)		PD-L2		
类别	n	—	+, ++	+++
宫颈鳞状细胞癌	60	28	3	29
CIN Ⅱ、Ⅲ级	30	24	6	0

表 2 宫颈鳞状细胞癌表达 PD-L2 与临床病理特征的相关性[n(%)]			
临床病理特征	—	+~+++	P
浸润深度(mm)			
<10	22(55.0)	18(45.0)	0.135
≥10	6(30.0)	14(70.0)	
淋巴结转移			

续表 2 宫颈鳞状细胞癌表达 PD-L2 与临床病理特征的相关性[n(%)]			
临床病理特征	—	+~++++	P
无	23(60.5)	15(39.5)	0.023
有	6(27.3)	16(73.7)	
局部血管瘤栓形成			0.257
无	29(52.7)	26(47.3)	
有	1(20.0)	4(80.0)	
分期			1.081
I 期	19(47.5)	21(52.5)	
II 期	11(55.0)	9(45.0)	
年龄(岁)			0.451
<45	16(44.4)	20(55.6)	
≥45	13(54.2)	11(45.8)	

2.3 PD-L2 蛋白对患者外周血 T 细胞凋亡的影响 重组人 PD-L2 与宫颈鳞状细胞癌患者外周血 T 细胞混合培养 72 h 后,流式细胞术检测结果显示 PD-L2 组 T 淋巴细胞总凋亡率为 26.0%,其中 CD8⁺T 和 CD4⁺T 细胞凋亡率分别为 22.4% 和 17.0%;对照组 T 淋巴细胞总凋亡率为 20.2%,其中 CD8⁺T 和 CD4⁺T 淋巴细胞凋亡率分别为 16.2%和 9.0%;PD-L2 组 T 细胞、CD8⁺T 和 CD4⁺T 淋巴细胞凋亡率均明显高于空白对照组。然而在加入抗 PD-1 阻断 PD-L2 与 T 淋巴细胞的 PD-1 结合后,PD-L2+抗 PD-1 组 T 细胞、CD8⁺T 和 CD4⁺T 淋巴细胞凋亡率均明显下降,分别为 21.8%、17.5%和 11.1%,见图 2、3。



A:对照组;B:PD-L2 组;C:PD-L2+抗 PD-1 组。
图 2 混合培养 T 细胞的凋亡率

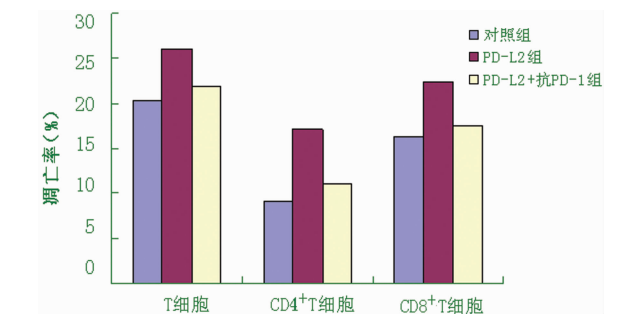


图 3 T 淋巴细胞凋亡率

3 讨 论

本实验结果表明,宫颈鳞状细胞癌异常表达 PD-L2,其阳

性表达率为 53.3%,显著高于 CIN II、III 级细胞及正常宫颈鳞状上皮细胞,也高于文献报道宫颈癌细胞表达 PD-L2 为 29.0%的阳性率,原因可能和国外患者与本实验患者之间存在种族差异以及组织芯片取材范围局限有关。本研究还观察到宫颈癌部分间质细胞异常表达 PD-L2,结合前期研究发现宫颈癌局部浸润的淋巴细胞表达 PD-L2 受体 PD-1,以及文献报道活化 T 淋巴细胞表达 PD-L2 与抑制 T 细胞增殖和分泌细胞因子有关^[7],推测宫颈鳞状细胞癌细胞及间质细胞表达 PD-L2 蛋白可能与浸润淋巴细胞表达的 PD-1 受体结合,从而发挥对宫颈癌患者微环境的免疫负调节作用。

PD-L2 与 T 细胞的 PD-1 受体特异结合而负性调节 T 细胞免疫^[8-9]。作者在前期实验中观察到人外周血活化 T 淋巴细胞和宫颈癌组织内浸润的淋巴细胞大部分表达 PD-1,而且宫颈癌微环境中浸润的淋巴细胞存在凋亡的现象^[10]。文献报道 PD-L2 既可通过 PD-1 胞浆区 C 端的免疫受体酪氨酸抑制基序下调 PI3K/Akt 激酶活性,抑制 T 细胞增殖相关基因的转录并促进 T 细胞凋亡^[11];也可招募酪氨酸磷酸酶-1 和酪氨酸磷酸酶-2,使相应的信号分子去磷酸化,从而抑制 T 细胞增殖活化并使其丧失免疫功能^[12]。有研究发现,酪氨酸磷酸酶-1 可使 T 细胞的 ZAP70 蛋白去磷酸化而抑制其增殖活化,还使 p56lck 失活而抑制肿瘤内浸润 T 细胞的溶瘤作用^[13]。本研究将重组人 PD-L2 与宫颈鳞状细胞癌患者外周血 T 细胞混合培养后,观察到 PD-L2 蛋白促进外周血 T 细胞,CD8⁺T 和 CD4⁺T 细胞凋亡,而且其促进 CD8⁺T 细胞凋亡的作用强于 CD4⁺T 细胞;当采用抗 PD-1 抗体阻碍 T 细胞 PD-1 受体与 PD-L2 结合后,T 细胞、CD8⁺T 和 CD4⁺T 细胞亚群的凋亡率均下降,提示 PD-L2/PD-1 途径促进了宫颈鳞状细胞癌微环境中 T 细胞凋亡,从而抑制其抗肿瘤免疫。近期报道不论采用抗体阻断 PD-L2 或 PD-1,或用 RNA 干扰技术敲除 PD-L2 基因均能促进 CD8⁺T 细胞增殖和发挥细胞毒功能^[14];阻断 PD-1 使小鼠肿瘤局部浸润的 CD8⁺T 和 CD4⁺T 细胞数量增多,干扰素-γ 水平增高并抑制了鳞状细胞癌的进展。

综上所述,本实验发现宫颈鳞状细胞癌 PD-L2 的异常表达与肿瘤微环境 T 细胞凋亡、抗肿瘤免疫受抑制,从而促进肿瘤的淋巴结转移相关。因此,PD-1/PD-L2 途径可能成为宫颈鳞状细胞癌免疫治疗的靶点之一。

参考文献:

[1] Rozali EN, Hato SV, Robinson BW, et al. Programmed death ligand 2 in cancer-induced immune suppression [J]. Clin Dev Immunol, 2012, 2012: 656340.
[2] Zhang E, Zhang X, Liu J, et al. The expression of PD-1 ligands and their involvement in regulation of T cell functions in acute and chronic woodchuck hepatitis virus infection [J]. PLoS One, 2011, 6(10): e26196.
[3] Okazaki T, Honjo T. PD-1 and PD-1 ligands: from discovery to clinical application [J]. Int Immunol, 2007, 19(7): 813-824.
[4] Karim R, Jordanova ES, Piersma SJ, 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.
[5] Rozali EN, Hato SV, Robinson BW, (下转第 1057 页)

Ravaglia 等^[10]测试了 62 例健康老年人简易智能精神状态检查量表(MMSE)、语言能力、血浆 Hcy、叶酸以及维生素 B₁₂ 水平,发现 Hcy 水平与叶酸、维生素 B₁₂ 及 MMSE 呈负相关,Hcy 水平升高与语言能力下降相关,提示 Hcy 是早期认知功能障碍的标志。Hcy 对认知功能影响的机制尚不完全清楚,目前认为其对大脑的作用分为血管作用和神经毒性两大类,Hcy 影响脂质代谢、损伤血管内皮及凝血系统,从而引发血管性损害;Hcy 可引起钙超载及氧自由基的产生从而具有神经毒性,引起或促进认知功能障碍的发生、发展。

作者推测对 Hcy 进行药物干预可能会改善 SVD 患者认知功能或延缓其发展。叶酸、维生素 B₁₂ 是 Hcy 代谢的重要辅酶,补充叶酸、维生素 B₁₂ 可显著降低 Hcy 水平,Hcy 是 SVD 危险因素中,可以通过营养素的补充进行有效干预的一个因素^[11-12]。本研究中,VMCI 合并 Hcy 患者联合叶酸和甲钴胺干预治疗后,血浆叶酸、维生素 B₁₂ 水平上升,Hcy 水平明显下降,证实通过营养素的补充可以降低血浆 Hcy 水平。进一步的神经心理测试显示,叶酸联合甲钴胺干预治疗 6 个月后患者认知功能明显改善。本研究结果同丁建平等^[13]的研究结果一致,提示通过叶酸联合甲钴胺干预治疗 Hcy 改善 VMCI 患者认知功能,对防治 VMCI 患者发展为血管性痴呆可能有一定作用。

参考文献:

[1] 中华医学会神经病学分会痴呆与认知障碍学组写作组. 血管性认知障碍诊治指南[J]. 中华神经科杂志,2011,44(2):142-148.

[2] Frisoni GB, Galluzzi S, Bresciani L, et al. Mild cognitive impairment with subcortical vascular features: clinical characteristics and outcome[J]. J Neurol,2002,249(10):1423-1432.

[3] Grau-Olivares M, Arboix A. Mild cognitive impairment in stroke patients with ischemic cerebral small-vessel disease; a forerunner of vascular dementia[J]. Expert Rev

(上接第 1054 页)

et al. Programmed death ligand 2 in cancer-induced immune suppression[J]. Clin Dev Immunol, 2012, 2012: 656340.

[6] Hamanishi J, Mandai M, Iwasaki M, et al. Programmed cell death 1 ligand 1 and tumor infiltrating CD8+ T lymphocytes are prognostic factors of human ovarian cancer[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007, 104(9): 3360-3365.

[7] Messal N, Serriari NE, Pastor S, et al. PD-L2 is expressed on activated human T cells and regulates their function[J]. Mol Immunol, 2011, 48(15/16): 2214-2219.

[8] 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.

[9] Butte MJ, Keir ME et al. Programmed death-1 ligand 1 interacts specifically with the B7-1 costimulatory molecule to inhibit T cell responses[J]. Immunity, 2007, 27(1): 111-122.

Neurother, 2009, 9(8): 1201-1217.

[4] Hänninen T, Hallikainen M, Tuomainen S, et al. Prevalence of mild cognitive impairment: a population-based study in elderly subjects[J]. Acta Neurol Scand, 2002, 106(3): 148-154.

[5] Bowler JV. Modern concept of vascular cognitive impairment[J]. Br Med Bull, 2007, 83(3): 291-305.

[6] 周华, 高炳忠, 邱晨红, 等. 蒙特利尔认知评估量表在血管性认知功能障碍中的应用[J]. 临床神经病学杂志, 2010, 23(3): 221-223.

[7] Moorhouse P, Rockwood K. Vascular cognitive impairment: current concepts and clinical developments[J]. Lancet Neurol, 2008, 7(3): 246-255.

[8] Herrmann W, Obeid R. Homocysteine: a biomarker in neurodegenerative diseases[J]. Clin Chem Lab Med, 2011, 49(3): 435-441.

[9] Wright CB, Paik MC, Brown TR, et al. Total homocysteine is associated with white matter hyperintensity volume[J]. Stroke, 2005, 36(6): 1207-1211.

[10] Ravaglia G, Forti P, Maioli F, et al. Homocysteine and cognitive performance in healthy elderly subjects[J]. Arch Gerontol Geriatr Suppl, 2004, 56(9): 349-357.

[11] Vogel T, Dali-Youcef N, Kaltenbach G, et al. Homocysteine, vitamin B₁₂, folate and cognitive functions: a systematic and critical review of the literature[J]. Int J Clin Pract, 2009, 63(7): 1061-1067.

[12] Perez L, Heim L, Sherzai A, et al. Nutrition and vascular dementia[J]. J Nutr Health Aging, 2012, 16(4): 319-324.

[13] 丁建平, 孙文君, 贾建平. 合并高同型半胱氨酸血症的脑白质疏松患者轻度认知功能障碍的治疗[J]. 神经疾病与精神卫生, 2011, 11(5): 455-456.

(收稿日期: 2013-11-26 修回日期: 2014-01-13)

[10] 王渝琦, 徐光旭, 耿卫朴, 等. 人子宫颈癌 PD-L1 的表达及其与肿瘤内浸润 T 细胞的相关性研究[J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(11): 1173-1175.

[11] Parry RV, Chemnitz JM, Frauwirth KA, et al. CTLA-4 and PD-1 Receptors Inhibit T-Cell Activation by Distinct Mechanisms[J]. Mol Cell Biol, 2005, 25(21): 9543-9553.

[12] Wang SF, Fouquet S, Chapon M, et al. Early T cell signaling is reversibly altered in PD-1+ T lymphocytes infiltrating human tumors[J]. PLoS One, 2011, 6(3): e17621.

[13] Riley JL. PD-1 signaling in primary T cells[J]. Immunol Rev, 2009, 229(1): 114-125.

[14] Breton G, Yassine-Diab B, Cohn L, et al. siRNA knock-down of PD-L1 and PD-L2 in monocyte-derived dendritic cells only modestly improves proliferative responses to Gag by CD8(+) T cells from HIV-1-infected individuals[J]. J Clin Immunol, 2009, 29(5): 637-645.

(收稿日期: 2013-10-18 修回日期: 2013-12-09)