

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2011.05.013

· 临床研究 ·

Foxp3 在乳腺癌组织中的表达及其临床意义

赵纹芸^{1,2}, 沈坤炜¹, 包家林², 徐明³, 谢轶群², 陈赛蓉² (1. 上海交通大学医学院附属瑞金医院 外科, 上海 200025; 2. 上海市黄浦区中心医院 乳腺外科, 上海 200002; 3. 上海市黄浦区中心医院 病理科, 上海 200002)

[摘要] 目的: 研究乳腺癌组织中 Foxp3⁺ 细胞浸润和 Foxp3 蛋白的表达及其临床意义。方法: 160 例乳腺癌以及 22 例癌旁正常乳腺组织取自上海市黄浦区中心医院(2005 年 1-12 月), 免疫组化检测乳腺癌组织和癌旁组织中 Foxp3⁺ 淋巴细胞浸润和 Foxp3 蛋白的表达, 分析它们与乳腺癌患者病理特征以及 ER、PR、P53、Bcl-2、HER-2 表达间的关系。结果: 乳腺癌间质 Foxp3⁺ 细胞浸润和实质 Foxp3 蛋白表达阳性率均高于癌旁组织(50.6% vs 13.6%, $P < 0.05$; 38.1% vs 4.5%, $P < 0.05$); 乳腺癌 Foxp3⁺ 细胞浸润和 Foxp3 蛋白表达间无相关性($P > 0.05$)。乳腺癌间质 Foxp3⁺ 细胞浸润与乳腺癌淋巴结转移、组织学分级、P53 过表达呈正相关($P < 0.05$); 癌实质 Foxp3 蛋白表达与肿瘤淋巴结转移、组织学分级、pTNM 和 P53 过表达呈正相关($P < 0.05$); 但两者与 ER、PR、HER-2、Bcl-2 过表达均无关($P > 0.05$)。单因素分析提示, 乳腺癌中 Foxp3 表达和 Foxp3⁺ 细胞浸润都是影响 5 年生存率的因素; 多因素分析结果表明, Foxp3 的表达不是影响乳腺癌 5 年生存率的独立预后指标。结论: 乳腺癌组织高表达 Foxp3 蛋白可作为一个潜在的乳腺癌生物标记物, 但不是一个独立的预后指标。

[关键词] Foxp3; 乳腺癌; 免疫组织化学; 预后

[中图分类号] R737.9; R730.7

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2011)05-0533-06

Expression and clinical significance of Foxp3 in breast carcinoma tissues

ZHAO Wen-yun^{1,2}, SHEN Kun-wei¹, BAO Jia-lin², XU Ming³, XIE Yi-qun², CHEN Sai-rong² (1. Department of General Surgery, Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200025, China; 2. Department of Breast Surgery, Shanghai Huangpu Center Hospital, Shanghai 200002, China; 3. Department of Pathology, Shanghai Huangpu Center Hospital, Shanghai 200002, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the infiltration of Foxp3⁺ cells and expression of Foxp3 protein in breast carcinoma tissues and their clinical significance. **Methods:** One hundred and sixty breast carcinoma and 22 paracancerous tissues (who had been diagnosed in Shanghai Huangpu Center Hospital from Jan. 2005 to Dec. 2005) were included in present study. The infiltration of Foxp3⁺ cells and expression of Foxp3 protein in breast carcinoma and paracancerous tissues were detected by immunohistochemistry, and their relationships to clinicopathologic features and expression of ER, PR, P53, Bcl-2, HER-2 in breast carcinoma were analyzed. **Results:** Both positive rate of Foxp3⁺ cell infiltration in mesenchyma tissues and Foxp3 protein in parenchyma tissues were significantly higher than those in normal paracancerous tissues ($P < 0.05$), but there was no correlation between the Foxp3⁺ cell infiltration and Foxp3 protein expression in breast carcinoma tissues ($P > 0.05$). Foxp3⁺ cell infiltration in mesenchyma tissues was positively correlated to lymph node metastasis, histological grade and P53 overexpression ($P < 0.05$); Foxp3 protein expression in parenchyma tissues was positively correlated to lymph node metastasis, histological grade, pTNM stage and P53 overexpression ($P < 0.05$), but not to overexpression of ER, PR, HER-2 and Bcl-2 ($P > 0.05$). Univariate survival analysis indicated that Foxp3 expression in breast carcinoma was associated with 5-year overall survival rate, while multivariate analysis indicated that Foxp3 expression was not an independent prognostic factor for 5-year overall survival rate in breast carcinoma ($P > 0.05$). **Conclusion:** Foxp3 protein is overexpressed in breast carcinoma tissues, which might be a potential bio-marker but not an independent prognostic factor in breast carcinoma.

[作者简介] 赵纹芸(1969-), 女, 上海人, 硕士生, 副主任医师, 主要从事乳腺癌的临床与基础研究。E-mail: zwyundd@hotmail.com

[通信作者] 沈坤炜(SHEN Kun-wei, corresponding author), E-mail: kwshen@medmail.com

[**Key words**] Foxp3; breast neoplasms; immunohistochemistry; prognosis

[Chin J Cancer Biother, 2011, 18(5): 533-538]

转录因子家族 Foxp(forkhead box protein)是一个以具有叉头螺旋结构(forkhead/winged helix, FKH)为特征、功能各异的蛋白分子大家族。Foxp3 是叉头样转录因子家族中的成员, 早期被发现特异地表达在 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)表面, 与 Treg 在胸腺的发育和功能密切相关。近年国外研究^[1-3]发现, Foxp3 在胰腺癌细胞、黑色素瘤细胞及其他多种癌细胞中都有表达。有研究^[4]指出, Foxp3 不仅仅是 CD4⁺ CD25⁺ Treg 的表面标志物, 还可能通过某种途径来调节肿瘤细胞的生长, 提示 Foxp3 在肿瘤的发生、发展中有重要的作用。目前国内对 Foxp3 的研究多采用流式细胞术和 ELISA 等方法检测患者外周血中 Foxp3⁺ Treg 状况, 但用免疫组织化学方法研究乳腺癌组织中 Foxp3 表达及其与乳腺癌预后关系的研究较少见。本研究采用免疫组织化学方法检测 Foxp3⁺ 淋巴细胞和 Foxp3 蛋白在人乳腺癌组织中的表达水平及其与患者临床病理特征和预后的关系, 探讨 Foxp3 在乳腺癌发生、发展中可能的作用。

1 材料与方法

1.1 患者资料

所有标本均取自上海市黄浦区中心医院乳腺外科 2005 年 1-12 月手术切除的浸润性乳腺癌组织标本共 160 例, 经病理 H-E 染色和本院 2 位以上病理科医师确诊, 其中浸润性导管癌 126 例、浸润性小叶癌 12 例、浸润性筛状癌 3 例、黏液腺癌 5 例、神经内分泌癌 4 例、浸润性微乳头状癌 5 例、浸润性大汗腺癌 4 例、小管癌 1 例。ER(+)79 例, 伴有腋窝淋巴结转移和(或)淋巴管浸润 61 例。乳腺癌患者均为女性, 年龄分布 27~83 岁(中位 53 岁)。手术前均未经过抗癌治疗(包括放疗、化疗及内分泌治疗等)。癌旁正常乳腺组织标本 22 例, 选自乳腺癌患者癌组织边缘 5 cm 以上的非癌正常乳腺组织。对本组 160 例浸润性乳腺癌患者进行多次多种方式术后随访, 其中失访 15 例, 死亡 23 例, 其余患者进行 5 年随访, 以病理确诊时开始计算生存时间, 随访截止时间为 2010 年 11 月, 失访率 9.3%, 中位随访时间为 5.3 年。

1.2 主要试剂

浓缩型鼠抗人 Foxp3 单克隆抗体(236A/E7)为英国 Abcam 公司产品, 购于妙通(上海)生物科技有

限公司, 稀释度 1:50。EnVision 试剂购自上海蓝创生物科技发展有限公司, 对二甲胺基偶氮苯(DAB)显色试剂盒购自福州迈新生物技术有限公司。

1.3 免疫组化检测乳腺癌组织中 Foxp3 的表达

所有标本均经 10% 中性甲醛固定, 经常规脱水透明石蜡包埋, 4 μm 厚连续切片, 常规 H-E 染色及 EnVision 法免疫组织化学染色。石蜡切片常规脱蜡至水后, 以 3% H₂O₂ 室温下孵育 10 min 以阻断内源性过氧化物酶的活性。石蜡切片浸入 0.05 mol/L EDTA(pH = 8.0)的缓冲液中, 微波加炉热 10 min, 重复 2 次, 自然冷却 20 min, 进行热诱导抗原修复。滴加鼠抗 Foxp3 单克隆抗体(1:50), 4 °C 孵育过夜。滴加酶标记的二抗(EnVision 试剂), 室温湿盒中孵育 30 min。DAB 显色 3 min, 苏木精衬染, 常规酒精梯度脱水、二甲苯透明、中性树胶封片、光镜观察实验结果。实验中以 PBS 代替一抗作阴性对照, 用慢性扁桃体炎组织切片作阳性对照。

镜下以正常乳腺及乳腺癌细胞胞核中出现棕黄色或棕褐色颗粒染色为 Foxp3 阳性表达细胞。每张切片随机选择 5 个高倍(×400)视野, 按阳性细胞数占同类细胞的百分比分类, 阳性细胞数 ≥ 10% 为 Foxp3 表达阳性切片。Foxp3⁺ 淋巴细胞计数: 高倍镜不重复视野对每例样本进行计数, Foxp3⁺ 淋巴细胞数 ≥ 3 为阳性。

1.4 ER、PR、P53、Bcl-2 和 HER-2 的阳性判定标准

以阳性已知 ER、PR、P53、Bcl-2、HER-2 阳性肿瘤组织切片作阳性对照, 以 PBS 代替一抗为阴性对照。显微镜下观察免疫组化信号为棕褐色颗粒, ER、PR、P53、Bcl-2 表达均定位于细胞核, HER-2 表达定位于肿瘤细胞膜。ER、PR、P53、Bcl-2 指标判定根据切片中阳性肿瘤细胞在肿瘤细胞中所占的比例分为: 阴性, 阳性细胞 < 5%; 弱阳性, 阳性细胞 ≤ 25%; 中等阳性, 阳性细胞 26%~50%; 强阳性, 阳性细胞 > 50%。对 ER/PR 染色的强弱判定有很多方法, 多家研究结果认为阳性细胞率具有较好的预测价值, 而染色强度可不加以考虑。HER-2 判定标准: 采用美国临床肿瘤协会(ASCO)和美国病理家协会(CAP)制定的《乳腺癌 HER-2 基因临床检测指南》评分标准判定。本研究中 ER、PR、P53、Bcl-2 均记为(+)和(-)。ER、PR、P53、Bcl-2(+)为(弱阳性、中等阳性、强阳性); ER、PR、P53、Bcl-2(-)为(阴性)。HER-2(+)为 HER-2(+++); HER-2(-)为

HER-2(0)、(+)或(++)。

1.5 统计学处理

采用 SPSS 13.0 统计学软件, Foxp3 的表达与临床病理因素的相关关系采用 χ^2 检验, 单因素生存分析采用 Kaplan-Meier 法, 用 Log-Rank 进行生存率差别检验, 采用 Cox 风险模型法进行多因素生存分析, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 乳腺癌组织高表达 Foxp3

160 例乳腺癌及 22 例癌旁正常乳腺组织免疫组化结果(图 1)显示, 在乳腺癌组织中均可见有 Foxp3 的阳性表达, 异质性, 呈弥漫性分布, 少数呈灶性分布, 其呈深棕色及棕黄色颗粒为细胞核着色。正常乳腺组织 Foxp3 表达率低, 且仅表达于导管上皮细胞, 不表达于肌上皮细胞。癌旁正常乳腺实质中 Foxp3 表达的阳性率为 4.5% (1/22), 乳腺癌实质中 Foxp3 表达的阳性率为 38.1% (61/160), 两者的表达差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

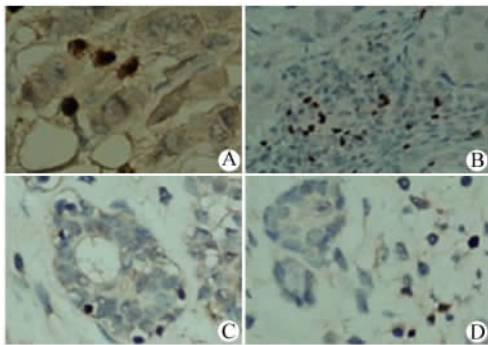


图 1 Foxp3 蛋白在乳腺癌和癌旁组织中的表达(EnVision, $\times 400$)

Fig.1 Foxp3 protein expression in breast carcinoma and paracarcinoma tissues(EnVision, $\times 400$)

A: Breast carcinoma tissuss; B: Breast carcinoma mesenchyma; C: Breast paracarcinoma tissue; D: Breast paracarcinoma mesenchyma

Foxp3 蛋白在乳腺癌浸润的部分淋巴细胞中也有表达, 呈深棕色及棕黄色颗粒, 阳性细胞数多少不等。在癌旁正常乳腺间质中浸润的 Foxp3⁺ 细胞表达率较低, 阳性率为 13.6% (3/22)。乳腺癌间质中浸润的 Foxp3⁺ 细胞表达阳性率为 50.6% (81/160), 两者差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。而乳腺癌实质中 Foxp3 蛋白表达和乳腺癌间质浸润的 Foxp3⁺ 细胞表达无相关性 ($P > 0.05$)。

2.2 乳腺癌组织 Foxp3 的表达与患者临床病理特征的关系

本研究中各组织病理类型乳腺癌实质中 Foxp3 蛋白的阳性率分别为浸润性导管癌 42%、浸润性小叶癌 17%、浸润性微乳头状癌 60%、大汗腺癌 50%。浸润性神经内分泌癌、黏液腺癌、浸润性筛状癌实质中均未见 Foxp3 的表达。1 例小管癌实质中见 Foxp3 蛋白表达。癌间质浸润的 Foxp3⁺ 细胞阳性率分别为浸润性导管癌 54%、浸润性小叶癌 25%、浸润性微乳头状癌 80%、大汗腺癌 75%、浸润性神经内分泌癌 25%、黏液腺癌 20%、浸润性筛状癌 33%, 小管癌间质无 Foxp3⁺ 细胞表达。

经 χ^2 检验分析, 比较乳腺癌间质浸润的 Foxp3⁺ 细胞表达及乳腺癌实质 Foxp3 蛋白表达与患者年龄、肿瘤大小、淋巴结转移、组织学分级、pTNM 分期的关系, 结果(表 1)提示, 乳腺癌间质浸润 Foxp3⁺ 细胞与乳腺癌淋巴结转移、组织学分级有关 ($P < 0.05$), 乳腺癌实质 Foxp3 蛋白表达与淋巴结转移、组织学分级、pTNM 分期有关 ($P < 0.05$), 两者均与患者年龄、肿瘤大小无关 ($P > 0.05$)。

2.3 Foxp3 在乳腺癌组织中的表达与其他免疫指标的关系

比较乳腺癌间质中 Foxp3⁺ 细胞浸润和实质中 Foxp3 蛋白的表达与患者的 ER、PR、HER-2、P53、Bcl-2 的关系, 结果(表 2)提示, 乳腺癌间质的 Foxp3⁺ 细胞浸润与 P53 过表达有关 ($P < 0.05$), 乳腺癌实质 Foxp3 蛋白表达与 P53 过表达也相关 ($P < 0.05$); 但乳腺癌中 Foxp3 的表达与 ER、PR、HER-2、Bcl-2 等的过表达均无关 ($P > 0.05$)。

2.4 Foxp3 在乳腺癌组织中的表达与患者预后的关系

本组研究中对 160 例浸润性乳腺癌进行单因素的 Kaplan-Meier 总生存率曲线分析, 结果(图 2A)发现, 患者 5 年总生存率为 85.6%, Foxp3⁺ 细胞浸润阳性组和阴性组 5 年生存率分别为 77.8% 和 93.7%; 乳腺癌实质 Foxp3 蛋白表达阳性组和阴性组 5 年生存率分别为 77.1% 和 90.9%。经 Log-Rank 检验两者差别均有统计学意义 ($P < 0.05$)。单因素分析提示, 在浸润性乳腺癌中间质 Foxp3⁺ 细胞浸润及实质 Foxp3 蛋白的表达均与预后有关。对其他因素进行单因素分析显示, 对乳腺癌患者预后有影响的因素为: 肿瘤大小、淋巴结转移、组织学分级、pTNM 分期和 HER-2 表达 ($P < 0.05$); 与预后无关的因素有年龄、ER、PR、P53 和 Bcl-2 ($P > 0.05$)。

表 1 乳腺癌间质 Foxp3⁺ 细胞浸润及实质 Foxp3 蛋白表达与乳腺癌临床病理特征的关系 (n)

Tab. 1 Correlation between infiltration of Foxp3⁺ cells, expression of Foxp3 protein and clinicopathological characteristics of breast carcinoma (n)

Clinicopathological characteristic	N	Infiltration of Foxp3 ⁺ cell	P	Foxp3 protein expression	P
Age					
< 40	10	6	0.257	6	0.264
40-60	114	53		40	
>60	36	22		15	
Tumor size (d/cm)					
≤2	72	35	0.645	23	0.145
>2	88	46		38	
Axillary nodal status					
Negative	99	37	0.001	24	0.001
Positive	61	44		37	
Tumor grade					
I + II	90	31	0.001	19	0.001
III	70	50		42	
pTNM					
I	47	18	0.057	8	0.001
II	86	45		37	
III	27	18		16	

除去 pTNM 分期因素, 选取本组其他单因素分析与预后有关的相关因素采用 COX 模型多因素分析, 结果(图 2B)显示, 淋巴结转移是影响患者总生存率预后的独立因素 ($P < 0.05$); 肿瘤大小是可能的独立因素 ($P = 0.058$); 间质 Foxp3⁺ 细胞浸润及实质 Foxp3 蛋白的表达均不是影响乳腺癌 5 年总生存率的独立因素。

3 讨论

Brunkow 等^[5]于 2001 年在 Scurfy 小鼠体内发现了 *Foxp3* 基因的突变。随后的研究^[6]证明, *Foxp3*

主要表达于 CD4⁺ CD25⁺ Treg, 在一定程度上可以反映 Treg 的水平和功能活性。Treg 以细胞膜表达 CD4 和 CD25 为特征, Treg 可抑制免疫系统对抗原的免疫反应^[7]。Foxp3 转录因子为 Treg 特征性标志, 与 Treg 的发育、功能密切相关^[8]。Treg 是形成肿瘤免疫耐受的关键成分, Foxp3⁺ CD4⁺ CD25⁺ Treg 在肿瘤免疫逃逸机制中发挥作用^[9-10], Foxp3 在黑素瘤、胰腺癌、胃癌、肝癌、乳腺癌、肺癌等肿瘤中高表达, 在不同肿瘤组织中具有不同的生物学意义。Foxp3 在正常肝脏和胰腺组织无表达, 但在肝癌和胰腺癌细胞异常表达, 促进癌细胞免疫逃逸^[11]。Foxp3⁺ Treg 可通过不同的机制介导恶性肿瘤的免疫耐受与免疫逃逸, 从而影响肿瘤侵袭和转移能力以及临床治疗效果。

表 2 乳腺癌间质中 Foxp3⁺ 细胞浸润及实质中 Foxp3 蛋白的表达与 ER 等免疫指标的关系 (n)

Tab. 2 Correlation between infiltration of Foxp3⁺ cells, expression of Foxp3 protein and immunohistochemical markers, such as ER, in breast carcinoma (n)

Parameters	N	Infiltration of Foxp3 ⁺ cell	P	Foxp3 protein expression	P
ER					
-	81	42	0.753	33	0.490
+	79	39		28	
PR					
-	92	49	0.438	40	0.105
+	68	32		21	
HER-2					
-	120	57	0.171	42	0.159
+	40	24		19	
P53					
-	117	53	0.026	36	0.020
+	43	28		25	
Bcl-2					
-	103	51	0.502	36	0.267
+	57	30		25	

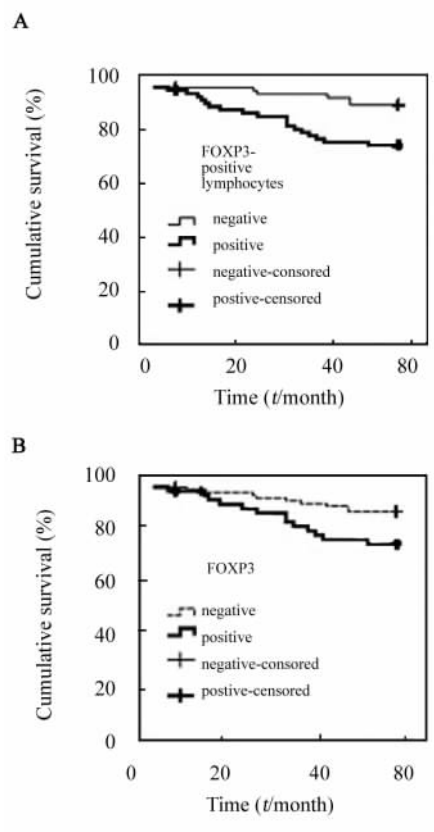


图2 乳腺癌组织中 Foxp3 的表达与患者预后的关系
 Fig.2 Correlation between Foxp3 expression and prognosis of breast carcinoma

文献[3]报道,乳腺肿瘤细胞自身表达 Foxp3。本研究结果显示,乳腺癌实质中 Foxp3 蛋白的表达明显高于正常乳腺上皮细胞,其高表达与乳腺癌淋巴结转移状态、组织学分级、TNM 分期呈正相关。Foxp3 在癌实质细胞中的表达是否对肿瘤特异性免疫有作用还不清楚,但肿瘤细胞中 Foxp3 蛋白的高表达,提示 T 细胞功能不仅能通过 CD4⁺CD25⁺Treg 的 Foxp3 调节,而且还可能通过肿瘤相关的 Foxp3 调节。Hinz 等^[1]报道,在胰腺癌细胞中 Foxp3 表达抑制 Treg 增殖,促进肿瘤细胞的免疫逃逸。Foxp3 作为一种转录因子可能通过促进 VEGF 的表达,诱导血管生成,促进肿瘤的浸润和转移^[12]。Foxp3 在肿瘤细胞中的高表达,提示靶向 Foxp3 治疗可能不仅针对 Treg,而且针对 Foxp3 蛋白表达的肿瘤细胞,使药物渗入肿瘤组织可能比下调组织中 Foxp3 的表达更有效。

本研究结果显示,浸润性乳腺癌间质浸润 Foxp3⁺细胞阳性率明显高于正常乳腺组织,与 Bates 等^[13]报道的在乳腺癌肿瘤中局部 Foxp3⁺细胞明显增多现象一致。本研究发现,乳腺癌间质浸润的

Foxp3⁺细胞与乳腺癌淋巴结转移、组织学分级呈正相关,提示乳腺癌间质浸润的 Foxp3⁺细胞可能与乳腺癌侵袭、转移有关。有研究^[14-15]显示,经新辅助化疗后完全缓解的乳腺癌与治疗中间质浸润 Foxp3⁺细胞消失有关,该结果提示,可将下调 Foxp3⁺细胞作为一个治疗目标,通过疫苗接种消除 Foxp3⁺细胞,以增加抗肿瘤免疫^[16]。由此推断,乳腺癌间质浸润 Foxp3⁺细胞可作为乳腺癌预后判断的辅助指标,也有望成为乳腺癌临床治疗的新靶标。

本研究的单变量生存分析表明, Foxp3 表达的浸润性乳腺癌患者预后较差;多变量分析提示,患者预后仅与肿瘤大小、淋巴结转移有关,而癌间质浸润 Foxp3⁺细胞及癌实质 Foxp3 蛋白的表达并不是一个独立的生存期预测指标。该结论与 Mahmoud 等^[17]的研究一致,但 Merlo 等^[18]多因素生存分析显示, Foxp3 可以作为乳腺癌一个独立的预后预测因子,但不能作为局部复发的预后因子。另一组研究^[19-20]结果认为,乳腺癌中表达的 Foxp3 是一个 X 连锁抑癌基因,是乳腺癌致癌基因 SKP2 的一个新的转录抑制基因。近期卵巢癌研究^[21]表明, Foxp3 能抑制肿瘤细胞增殖、转移和侵袭,上调 Foxp3 可抑制卵巢癌进展。

肿瘤的发生发展是一项多因素、多机制综合作用的结果。本研究显示, Foxp3 表达可能与其他已认同的乳腺癌预后因素有关,如淋巴结转移状态、组织学分级等,可作为一个潜在的乳腺癌生物标记物,但不是一个乳腺癌的独立预后指标。本研究病例数较少,随访时间不长,其结果可能有一定局限性。

[参考文献]

- [1] Hinz S, Pagerols-Raluy L, Oberg H, et al. Foxp3 expression in pancreatic carcinoma cells as a novel mechanism of immune evasion in cancer [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(17): 8344-8350.
- [2] Ebert LM, Tan BS, Browning J, et al. The regulatory T cell-associated transcription factor Foxp3 is expressed by tumor cells [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(8): 3001-3009.
- [3] Karanikas V, Speletas M, Zamanakou M, et al. Foxp3 expression in human cancer cells [J]. *Transl Med*, 2008, 6(1): 19.
- [4] Ziegler SF. Foxp3: Not just for regulatory T cells anymore [J]. *Eur J Immunol*, 2007, 37(1): 21-23.
- [5] Brunkow ME, Jeffery EW, Hjerrild KA, et al. Disruption of a new forkhead/winged-helix protein, scurfy, results in the fatal lymphoproliferative disorder of the scurfy mouse [J]. *Nat Genet*, 2001, 27(1): 68-73.
- [6] Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cells development by the transcription factor Foxp3 [J]. *Science*, 2003, 299(5609): 1057-1061.
- [7] Grauer OM, Nierkens S, Bennink E, et al. CD4⁺ Foxp3 regulato-

- ry T cells gradually accumulate in gliomas during tumor growth and efficiently suppress anti-glioma immune responses *in vivo* [J]. Int J Cancer, 2007, 121(1): 95-105.
- [8] Sakaguchi S. Naturally arising Foxp3 expressing CD25⁺ CD4⁺ regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self [J]. Nat Immunol, 2005, 6(4): 345-352.
- [9] Fontenot JD, Rudensky AY. A well adapted regulatory contrivance: Regulatory T cell development and the forkhead family transcription factor Foxp3 [J]. Nat Immunol, 2005, 6(3): 331-337.
- [10] Gallimore A, Godkin A. Regulatory T cells and tumor immunity-observations in mice and men [J]. Immunology, 2008, 123(2): 157-163.
- [11] Martin F, Ladoire S, Mignot G, et al. Human Foxp3 and cancer [J]. Oncogene, 2010, 29(29): 4121-4129.
- [12] Gupta S, Joshi K, Wiq J D, et al. Intratumoral Foxp3 expression in infiltrating breast carcinoma: Its association with clinicopathologic parameters and angiogenesis [J]. Acta Oncol, 2007, 46(6): 792-797.
- [13] Bates GJ, Fox SB, Han C, et al. Quantification of regulatory T cells enables the identification of high-risk breast cancer patients and those at risk of late relapse [J]. Clin Oncol, 2006, 24(34): 5373-5380.
- [14] Ladoire S, Arnould L, Apetoh L, et al. Pathologic complete response to neoadjuvant chemotherapy of breast carcinoma is associated with the disappearance of tumor-infiltrating Foxp3 regulatory T cells [J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(8): 2413-2420.
- [15] Aruga T, Suzuki E, Saji S, et al. A low number of tumor-infiltrating Foxp3-positive cells during primary systemic chemotherapy correlates with favorable anti-tumor response in patients with breast cancer [J]. Oncol Res, 2009, 22(2): 273-278.
- [16] Nair S, Boczkowski D, Fassnacht M, et al. Vaccination against the forkhead family transcription factor Foxp3 enhances tumor immunity [J]. Cancer Res, 2007, 67(1): 371-380.
- [17] Mahmoud SM, Paish EC, Powe DG, et al. An evaluation of the clinical significance of Foxp3⁺ infiltrating cells in human breast cancer [J]. Breast Cancer Res Treat, 2011, 127(1): 99-108.
- [18] Merlo A, Casalini P, Carcangiu ML, et al. Foxp3 expression and overall survival in breast cancer [J]. Clin Oncol 2009, 27(11): 746-1752.
- [19] Zuo T, Wang L, Morrison C, et al. Foxp3 is an X-linked breast cancer suppressor gene and an important repressor of the HER-2/ ErbB2 oncogene [J]. Cell, 2007, 129(7): 1275-1286.
- [20] Zuo T, Liu R, Zhang H, et al. Foxp3 is a novel transcriptional repressor for the breast cancer oncogene SKP2 [J]. Clin Invest, 2007, 117(12): 3765-3773.
- [21] Zhang HY, Sun H. Up-regulation of Foxp3 inhibits cell proliferation, migration and invasion in epithelial ovarian cancer [J]. Cancer Lett. 2010, 287(1): 91-97.
- [收稿日期] 2011-06-25 [修回日期] 2011-08-19
[本文编辑] 韩丹

· 读者 · 作者 · 编者 ·

常见参考文献著录格式示例

1 专著

著录格式: 主要责任者. 题名[文献类型标志]. 其他责任者(例如翻译者). 版本项(1 版不著录). 出版者: 出版地, 出版年: 起页-止页.

- [1] Abrams WB, Beers MH, Berkow R. 默克老年病手册 [M]. 陈灏珠, 王赞舜, 刘厚钰, 等. 译. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 22-25.

2 专著析出文献

著录格式: 析出文献主要责任者. 文献题名[文献类型标志]//专著主要责任者. 专著题名. 版本项. 出版地: 出版者, 出版年: 起页-止页.

- [1] Weinstein L, Swartz MN. Pathogenic properties of invading microorganisms [M]//Soderman WA Jr, Soderman WA. Pathologic physiology: Mechanisms of disease. Philadelphia: Saunders, 1974: 457-472.

3 期刊文献

著录格式: 主要责任者. 题名[文献类型标志]. 刊名, 出版年, 卷号(期号): 起页-止页.

- [1] Nobles KN, Guan Z, Xiao K, et al. The active conformation of beta-arrestin 1: Direct evidence for the phosphate sensor in the N-domain and conformational differences in the active states of beta-arrestins 1 and -2 [J]. J Biol Chem, 2007, 282(29): 21370-21381.

4 专利文献

著录格式: 专利申请者或所有者. 专利题名: 专利国别, 专利号[文献类型标志]. 公告日期或公开日期.

- [1] 钱其军, 李琳芳, 吴红平, 等. 一种多功能免疫杀伤转基因细胞(PIK)、其制备方法及应用: 中国, 2010101496839 [P]. 2010-10-14.

5 学位论文

著录格式: 责任者. 题名[文献类型标志]. 学位授予单位所在地: 学位授予单位, 年.

- [1] 曹新广. Cathepsin L 和 Cystatin B 的表达与大肠癌生物学行为的关系 [D]. 郑州, 郑州大学, 2007.

6 电子文献

著录格式: 主要责任者. 题名[文献类型标志/文献载体标志]. 刊名, 出版年, 卷号(期号): 起页-止页. (更新或修改日期) [引用日期]. 获取和访问路径.

- [1] Christine M. Plant physiology: Plant biology in the Genome Era [J/OL]. Science, 1998, 281: 331-332 [1998-09-23]. <http://www.sciencemag.org/cgi/collection/anatmorp>.
- [2] Hopkinson A. UNIMARC and metadata: Dublin Core [EB/OL]. [1999-12-08]. <http://www.ifla.org/IV/ifla64/138-161e.htm>.