

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2013.05.007

· 基础研究 ·

## IL-2、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 对肾透明细胞癌 786-0 细胞中 B7-H4 表达的影响

徐一鹏<sup>1</sup>, 朱绍兴<sup>1</sup>, 刘维辉<sup>2</sup>, 李永生<sup>3</sup>, 陈贵平<sup>1</sup>, 王华<sup>1</sup>, 赵阳<sup>1</sup>, 李方印<sup>1</sup>, 王宗平<sup>1</sup> (1. 浙江省肿瘤医院 泌尿外科, 浙江杭州 310022; 2. 福建医科大学 附属第二医院 泌尿外科, 福建泉州 362000; 3. 福建医科大学 附属协和医院 泌尿外科, 福建福州 350001)

**[摘要]** **目的:** 探究 IL-2、IFN- $\alpha$  和 IFN- $\gamma$  对人肾透明细胞癌 786-0 细胞 B7-H4 表达的影响。**方法:** IL-2、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  处理 786-0 细胞 24 h 后, RT-PCR 法检测 *B7-H4* mRNA 的表达, ELISA 法、免疫细胞化学法、流式细胞术检测 B7-H4 蛋白的表达。**结果:** RT-PCR 结果显示, IL-2 组(0.75 ± 0.06)、IFN- $\alpha$  组(0.68 ± 0.05)、IFN- $\gamma$  组(0.95 ± 0.08) 786-0 细胞中 *B7-H4* mRNA 的表达均明显高于未处理组细胞(0.30 ± 0.03) ( $P < 0.05$ )。免疫细胞化学染色结果显示, 于 786-0 细胞膜与细胞质均可检测到 B7-H4 蛋白表达, IL-2、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  处理均可增加 786-0 细胞 B7-H4 蛋白的表达。ELISA 结果显示, IL-2 组[(44.89 ± 0.97) ng/ml]、IFN- $\alpha$  组[(46.74 ± 2.25) ng/ml]、IFN- $\gamma$  组[(47.31 ± 1.12) ng/ml] 786-0 细胞上清液中分泌型 B7-H4 的表达明显高于未处理组[(34.42 ± 1.69) ng/ml] ( $P < 0.05$ )。流式细胞术检测结果表明, IL-2 组[(44.89 ± 0.94)%]、IFN- $\alpha$  组[(46.41 ± 0.55)%]、IFN- $\gamma$  组[(54.18 ± 1.42)%] 786-0 细胞表面 B7-H4 蛋白的阳性表达率明显高于未处理组[(30.45 ± 0.96)%] ( $P < 0.05$ )。**结论:** IL-2、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  在转录与翻译两个环节均可上调 786-0 细胞 B7-H4 的表达水平, 其中以 IFN- $\gamma$  上调能力最强。

**[关键词]** 肾透明细胞癌; B7-H4; IL-2; IFN- $\alpha$ ; IFN- $\gamma$ ; 肿瘤免疫

**[中图分类号]** R737.11; R730.54

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2013)05-0547-05

## Effect of IL-2, IFN- $\alpha$ and IFN- $\gamma$ on expression of B7-H4 in clear cell renal cell carcinoma 786-0 cells

Xu Yipeng<sup>1</sup>, Zhu Shaoxing<sup>1</sup>, Liu Weihui<sup>2</sup>, Li Yongsheng<sup>3</sup>, Chen Guiping<sup>1</sup>, Wang Hua<sup>1</sup>, Zhao Yang<sup>1</sup>, Li Fangyin<sup>1</sup>, Wang Zongping<sup>1</sup> (1. Department of Urology, Zhejiang Cancer Hospital, Hangzhou 310022, Zhejiang, China; 2. Department of Urology, Second Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Quanzhou 362000, Zhejiang, China; 3. Department of Urology, Union Hospital Affiliated to Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the influence of IL-2, IFN- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  on the expression of B7-H4 in clear cell renal cell carcinoma 786-0 cells. **Methods:** Clear cell renal cell carcinoma 786-0 cells were stimulated by IL-2, IFN- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  for 24 h. The expression of *B7-H4* mRNA was detected by RT-PCR. The expression of B7-H4 protein was detected by ELISA assay, cytoimmunochemistry assay and flow cytometry. **Results:** RT-PCR result showed that the expression of *B7-H4* mRNA in IL-2 (0.75 ± 0.06), IFN- $\alpha$  (0.68 ± 0.05) and IFN- $\gamma$  (0.95 ± 0.08) group cells was significantly higher than that in the untreated group (0.30 ± 0.03) ( $P < 0.05$ ). Immunocytochemistry showed that the expression of B7-H4 protein was detected both in the cell membrane and cytoplasm, and the expression of B7-H4 protein was up-regulated after stimulated by IL-2, IFN- $\alpha$  and IFN- $\gamma$ . ELISA result showed that the expression of soluble B7-H4 protein in the supernatants of IL-2 (44.89 ± 0.97) ng/ml, IFN- $\alpha$  (46.74 ± 2.25) ng/ml and IFN- $\gamma$  group cells (47.31 ± 1.12) ng/ml was significantly higher than that in the untreated group (34.42 ± 1.69) ng/ml ( $P < 0.05$ ). Flow cytometry assay result showed that the positive expression rate of B7-H4 in IL-2 (44.89 ± 0.94)%, IFN- $\alpha$  (46.41 ± 0.55)% and IFN- $\gamma$

**[基金项目]** 浙江省卫生适宜技术成果转化项目(No. 2013ZHB001); 浙江省肿瘤医院优秀科研人才培育基金项目(No. 2012YC004)。Project supported by the Appropriate Technical Transformation of Zhejiang(No. 2013ZHB001), and the Outstanding Scientific Research and Talent Cultivation of Zhejiang Cancer Hospital(No. 2012YC004)

**[作者简介]** 徐一鹏(1985-), 男, 山东省临沂市人, 硕士, 住院医师, 主要从事泌尿系肿瘤的研究。E-mail: 420993645@qq.com

**[通信作者]** 朱绍兴(Zhu Shaoxing, corresponding author), E-mail: zsxing2005@126.com

( $54.18 \pm 1.42$ )% group cells were significantly higher than that in the untreated group ( $30.45 \pm 0.96$ )% ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** IL-2, IFN- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  can up-regulate the expression of B7-H4, in which IFN- $\gamma$  has the highest capacity.

[ **Key words** ] clear cell renal cell carcinoma; B7-H4; IL-2; IFN- $\alpha$ ; IFN- $\gamma$ ; tumor immunity

[ Chin J Cancer Biother, 2013, 20(5): 547-551 ]

肾细胞癌(renal cell carcinoma, RCC)是最常见的肾脏恶性肿瘤,占肾脏恶性肿瘤的 80% ~ 90%, 全球每年新增病例数超过 20 万,其中 25% ~ 30% 的病例在诊断时就已经发现有远处转移。RCC 被认为是免疫性肿瘤,对放化疗均不敏感,免疫治疗是除外科手术之外的重要治疗方法。IFN- $\alpha$  和 IL-2 是当前治疗转移性肾癌(metastatic renal cell carcinoma, mRCC)的最主要的免疫因子,但两者有效率较低,单用 IFN- $\alpha$  治疗 mRCC 的有效率仅为 10% ~ 20%<sup>[1]</sup>, IFN- $\alpha$  和 IL-2 联合并未显示出明显优越性。B7 家族分子是重要的协同刺激分子,在调节 T 细胞活化、增殖等方面起着重要的作用。B7-H4 (又称 B7S1/B7x)是 B7 家族最新发现的一个协同抑制分子,通过结合 T 细胞表面受体,其可以抑制 T 细胞增殖、抑制抗肿瘤因子的释放,并且抑制 CD8<sup>+</sup> T 细胞对肿瘤细胞的杀伤活性,从而介导肿瘤细胞的免疫逃逸。本研究通过检测 IL-2、IFN- $\alpha$  及 IFN- $\gamma$  对肾透明细胞癌细胞中 B7-H4 分子表达的影响,初步探讨 B7-H4 在肾透明细胞癌免疫治疗中的作用。

## 1 材料与方 法

### 1.1 细胞株及主要试剂

人肾透明细胞癌 786-0 细胞购自武汉博士德生物工程有限公司,用含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基在 37 °C、饱和湿度及 5% CO<sub>2</sub> 条件下培养,取对数生长期细胞进行实验。IL-2、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  购自厦门特宝生物工程有限公司, RPMI 1640 培养基购自 Hyclone 公司, 0.25% 胰酶购自 Gibco 公司,胎牛血清购自杭州四季青生物工程材料有限公司。TRIzol 试剂盒购自 Invitrogen 公司,逆转录试剂盒以及 PCR 试剂盒购自 Fermentas 公司,兔抗人 B7-H4 抗体购自美国 R&D 公司,二抗试剂盒购自福州迈新生物技术开发有限公司, FITC 标记的 B7-H4 抗体购自 Biologend 公司, B7-H4 ELISA 试剂盒购自上海鑫乐生物科技有限公司。

### 1.2 RT-PCR 检测 786-0 细胞 B7-H4 mRNA 的表达

消化、收集、计数 786-0 细胞,按  $1 \times 10^6$  个/孔的数量接种于六孔板中,至细胞汇合度达到 70% ~ 80%,后分别加入 IL-2、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  (终活性浓度均为 1 000 U/ml) 到培养液中继续培养,对照组加入无

IL-2、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  的细胞培养液继续培养。24 h 后用 TRIzol 试剂提取细胞总 RNA,紫外分光光度法测定 RNA 的纯度和浓度。取 2  $\mu$ g RNA,用 MMLV 逆转录酶制备 20  $\mu$ l 体系的 cDNA,取 1  $\mu$ l cDNA,用 PCR 扩增试剂盒进行 PCR 扩增,总反应体积 25  $\mu$ l。B7-H4 上游引物为 5'-CACTCATCATTGGCTTTGG-TATTTTCAG-3', 下游引物为 5'-CGACAGCT-CATCTTTGCCTTCTTTG -3', 扩增产物 203 bp; 内参  $\beta$ -actin 上游引物为 5'-AGCGGGAATCGTGCCT-GAC-3', 下游引物为 5'-ACTCCTGCTTGCTGATCCA-CATC-3', 扩增产物 471 bp。PCR 反应条件: 94 °C、5 min, 94 °C、30 s, 56 °C、30 s, 72 °C、30 s, 循环 30 次; 72 °C、10 min。各取 5  $\mu$ l PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳。

### 1.3 免疫细胞化学检测 786-0 细胞 B7-H4 蛋白的表达

消化、收集、计数 786-0 细胞,按  $1 \times 10^6$  个/孔的数量接种于放置盖玻片的六孔板中, IL-2、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  刺激以及对照组设置同 1.2。24 h 后取出盖玻片, 4% 多聚甲醛溶液中固定,用 PBS 漂洗,中性树脂固定盖玻片于载玻片上,兔抗人 B7-H4 抗体(工作浓度为 1:200)为一抗,按照 MaxVision™ HRP(KIT-5004)说明书进行操作, DAB 显色,苏木精复染、透明、树脂封片。以 PBS 代替一抗作为阴性对照。

### 1.4 ELISA 法检测 786-0 细胞上清液中分泌型 B7-H4(soluble B7-H4, sB7-H4)的表达

消化、收集、计数细胞,按  $3 \times 10^5$  个/孔数量接种于 24 孔板中, IL-2、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  刺激以及对照组设置同前。无菌离心管收集上述细胞培养上清, 4 °C 离心 20 min ( $1\ 500 \times g$ ), 收集上清 40  $\mu$ l, 然后各加入抗 B7-H4 抗体 10  $\mu$ l、链霉亲和素-HRP 50  $\mu$ l (空白对照孔不加样品以及抗体,标准品孔加入标准品 50  $\mu$ l 与链霉亲和素-HRP 50  $\mu$ l), 封板,振荡混匀, 37 °C 孵育 60 min; 洗涤 5 次,拍干;每孔先加入显色剂 A 50  $\mu$ l, 再加入显色剂 B 50  $\mu$ l, 震荡混匀, 37 °C 避光显色 15 min, 每孔加终止液 50  $\mu$ l, 终止反应, 450 nm 波长处检测各孔光密度 D 值。

### 1.5 流式细胞术检测 786-0 细胞表面 B7-H4 分子的阳性表达率

消化、收集、计数细胞,按  $1 \times 10^6$  个/孔的数量

接种于六孔板中,每孔 1 ml,IL-2、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  刺激以及对照组设置同前。待药物刺激 24 h 后,消化、收集细胞,PBS 清洗 2 次;加入 A 液 100  $\mu$ l,混匀,室温静置 15 min;PBS 清洗细胞 2 次,加入 B 液 100  $\mu$ l、B7-H4 抗体 20  $\mu$ l,混匀,避光室温反应 30 min;流式细胞仪检测荧光表达量。同时设立同型对照。

### 1.6 统计学处理

数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS13.0 统计软件,组间比较用单因素方差分析(One-way ANOVA)。以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 IL-2、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 明显增强 786-0 细胞 B7-H4 mRNA 的表达

与未处理组相比,IFN- $\alpha$  组、IL-2 组以及 IFN- $\gamma$  组的 786-0 细胞中 B7-H4 mRNA 的表达均明显增加 [(0.75  $\pm$  0.06)、(0.68  $\pm$  0.05)、(0.95  $\pm$  0.08) vs (0.30  $\pm$  0.03),  $P < 0.05$ ]。结果提示,IL-2、IFN- $\alpha$  和 IFN- $\gamma$  均可上调 786-0 细胞中 B7-H4 mRNA 表达,而且其作用以 IFN- $\gamma$  最强(图 1)。

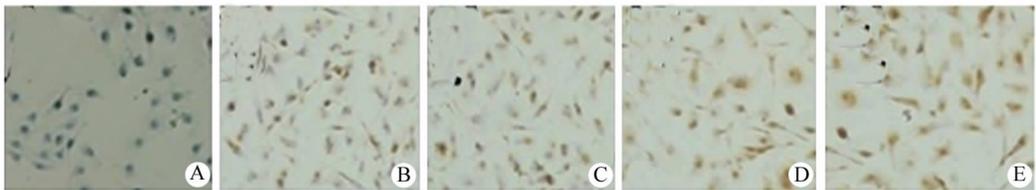


图 1 不同细胞因子处理后 786-0 细胞中 B7-H4 mRNA 的表达

Fig. 1 Expression of B7-H4 mRNA in 786-0 cells after treatment of various cytokines

M: DNA Marker; 1: Unstimulated; 2: IL-2; 3: IFN- $\alpha$ ; 4: IFN- $\gamma$

### 2.2 IL-2、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 增强 786-0 细胞中 B7-H4 蛋白的表达

免疫细胞化学染色结果(图 2)显示,786-0 细胞膜、细胞质中均存在 B7-H4 蛋白的阳性表达。未处理组、IL-2 组、IFN- $\alpha$  组、IFN- $\gamma$  组细胞均有不同程度 B7-H4 蛋白的表达,其中以 IFN- $\gamma$  刺激组表达最强,未处理组表达最弱。结果提示,IL-2、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  均可以增加 786-0 细胞 B7-H4 蛋白在细胞膜和细胞质中的表达。

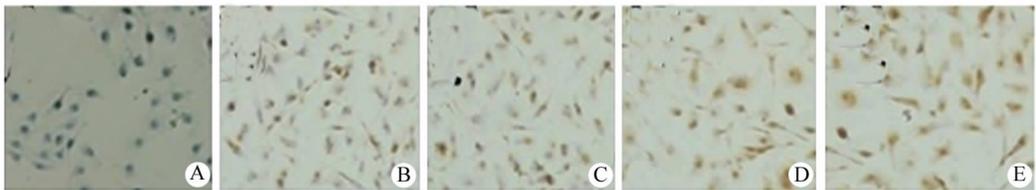


图 2 不同细胞因子处理后 786-0 细胞中 B7-H4 蛋白的表达(×200)

Fig. 2 Expression of B7-H4 protein in 786-0 cells after treatment of various cytokines(×200)

A: Control; B: Unstimulated; C: IL-2; D: IFN- $\alpha$ ; E: IFN- $\gamma$

### 2.3 IL-2、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 增加 786-0 细胞上清中分泌型 B7-H4(soluble B7-H4, sB7-H4)的表达

ELISA 检测结果表明,未处理组 786-0 细胞上清液中 sB7-H4 蛋白表达为(34.42  $\pm$  1.69) ng/ml,IL-2、IFN- $\alpha$  和 IFN- $\gamma$  处理组 786-0 细胞上清液中 sB7-H4 蛋白表达分别为(44.89  $\pm$  0.97)、(46.74  $\pm$  2.25)和(47.31  $\pm$  1.12) ng/ml,两组差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结果提示,IL-2、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  均可以增加 786-0 细胞中分泌型 B7-H4 蛋白的表达,而且其作用以 IFN- $\gamma$  最强。

### 2.4 IL-2、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 增加 786-0 细胞表面 B7-H4 蛋白的阳性表达率

流式细胞术检测结果(图 3)表明,未处理组 786-0 细胞表面存在 B7-H4 蛋白表达,其 B7-H4 阳性细胞比例为(30.45  $\pm$  0.96)%;IL-2、IFN- $\alpha$  和 IFN- $\gamma$  处理均可增加 786-0 细胞表面 B7-H4 的阳性表达率,其阳性率分别为(44.89  $\pm$  0.94)%、(46.41  $\pm$  0.55)%和(54.18  $\pm$  1.42)% ,均较未处理组明显增加( $P < 0.05$ );IFN- $\gamma$  处理组 786-0 细胞 B7-H4 蛋白阳性表达率明显高于其余 3 组( $P < 0.05$ ),而 IL-2 组与 IFN- $\alpha$  组差异无统计学意义( $P = 0.235$ )。结果提示,IL-2、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  均可增加 786-0 细胞 B7-H4 蛋白的阳性表达率,而且其作用以 IFN- $\gamma$  最强。

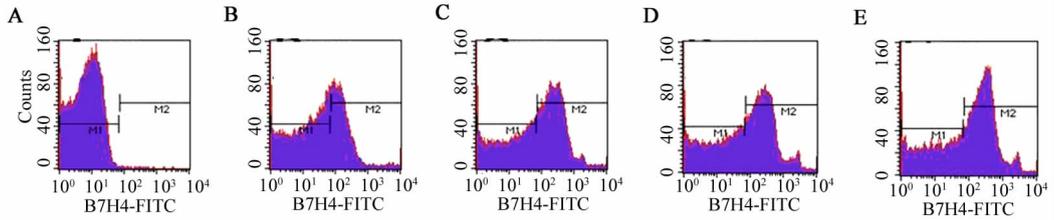


图3 不同细胞因子处理后 786-0 细胞表面 B7-H4 蛋白的阳性表达率

Fig.3 Positive expression rate of B7-H4 protein in 786-0 cells after treatment of various cytokines

A: Ctrl; B: Unstimulated; C: IL-2; D: IFN- $\alpha$ ; E: IFN- $\gamma$

### 3 讨论

B7-H4 是 B7 家族最新发现的成员,其 mRNA 广泛分布于肾脏、前列腺、卵巢、肝脏、骨骼肌、甲状腺、胰腺、小肠等组织<sup>[2]</sup>。然而,在正常上述组织中,B7-H4 蛋白均呈阴性表达。在活化的 T 细胞、B 细胞、巨噬细胞、DC 中,B7-H4 可以呈诱导性表达<sup>[2-4]</sup>。在某些肿瘤组织中,如肾癌、卵巢癌、乳腺癌、子宫内膜癌、非小细胞肺癌、胰腺导管癌以及脑肿瘤等,B7-H4 不论在 mRNA 水平还是在蛋白质水平的表达均明显高于相应的正常组织,而且其表达与肿瘤的分型、分期和患者的转归密切相关<sup>[4-11]</sup>。众多研究表明,正常外周组织能在转录水平对 B7-H4 的表达进行严密调控,而在肿瘤组织中这种调控却被打破。研究<sup>[12-13]</sup>发现:B7-H4 表达与 RCC 患者的临床病理指标明显相关,高表达 B7-H4 蛋白的 RCC 患者的预后明显差于低表达患者,而且更易发生复发与转移。

RCC 是免疫性肿瘤,免疫治疗是除外科手术之外最重要的治疗方法。目前,虽然靶向药物(索拉非尼、舒尼替尼等)在 mRCC 中的疗效得到肯定,但是由于其价格昂贵,无法得到广泛应用。传统的 IFN- $\alpha$ 、IL-2 仍是 mRCC 免疫治疗的主要方法,而 IFN- $\gamma$  在治疗 mRCC 中被证明无效。IFN、IL-2 的抗肿瘤效应的产生主要是通过促进 NK、T 淋巴细胞的增殖,诱导 CTL 及 NK 细胞的活性以及诱导 TNF、IFN- $\gamma$  等抗肿瘤细胞因子的释放发挥作用。多项研究<sup>[14-15]</sup>表明,IFN- $\gamma$  可通过上调协同抑制分子的表达促进肿瘤细胞的免疫逃逸,可能是其治疗 mRCC 疗效欠佳的重要原

因。本研究以肾透明细胞癌 786-0 细胞为模型,观察 IL-2、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  对体外培养的 786-0 细胞上清液以及细胞膜中 B7-H4 表达的影响,通过 RT-PCR、免疫细胞化学、ELISA、流式细胞术从 mRNA 和蛋白两个水平证实:B7-H4 在未受刺激的 786-0 细胞有低水平表达,IL-2、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  可以增加 786-0 细胞 B7-H4 分子在 mRNA 和蛋白质水平的表达,其中以 IFN- $\gamma$  作用最强。作为典型的协同抑制分子,B7-H4 可通过结合 T 细胞表面受体,抑制 T 细胞增殖、抗肿瘤因子的释放,以及抑制 CD8<sup>+</sup> T 细胞对肿瘤细胞的杀伤活性,从而介导肿瘤细胞的免疫逃逸<sup>[17-18]</sup>。B7-H4 介导的免疫逃逸途径可能是导致 IFN- $\alpha$ 、IL-2 治疗 mRCC 的疗效较低,以及 IFN- $\gamma$  无明显疗效的重要原因之一。

肿瘤浸润性 T 淋巴细胞是机体抗肿瘤免疫的重要表现形式,肾癌组织中存在大量 T 淋巴细胞浸润,但研究表明其浸润程度与患者存活率呈负相关<sup>[16]</sup>。因此,判断 RCC 中存在有潜在的破坏宿主抗肿瘤免疫的相关机制,逆转此类机制有望为 RCC 患者的治疗提供新的思路与研究方向。研究发现,通过 shRNA 抑制 B7-H4 的表达可以增强 T 细胞的抗肿瘤效应<sup>[19]</sup>,应用单克隆抗体封闭 B7-H4 治疗卵巢癌和肺癌亦被证实切实有效<sup>[20-21]</sup>。以 B7-H4 为靶点开展 mRCC 的单克隆抗体疗法以及 IFN/IL-2 联合疗法有望成为肾癌治疗的新方向。免疫组织化学染色和 ELISA 等方法方便易行,在临床上容易得到广泛开展。针对 B7-H4 分子开展检测,可以依据其分子生物学改变对患者进行分型,进而准确评估 RCC 患者对 IFN、IL-2 等药物的敏感性,进而制定出适合患者

的个体化免疫治疗方案,取得良好的社会与经济效益。

### [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] Cohen HT, McGovern FJ. Renal-cell carcinoma [ J ]. N Engl J Med, 2005, 353( 23 ): 2477-2490.
- [ 2 ] Choi IH, Zhu G, Sica GL, et al. Genomic organization and expression analysis of B7-H4, an immune inhibitory molecule of the B7 family [ J ]. J Immunol, 2003, 171( 9 ): 4650-4654.
- [ 3 ] Sica GL, Choi IH, Zhu G, et al. B7-H4, a molecule of the B7 family, negatively regulates T cell immunity [ J ]. Immunity, 2003, 18( 6 ): 849-861.
- [ 4 ] Chen L. Co-inhibitory molecules of the B7-CD28 family in the control of T cell immunity [ J ]. Nature Rev Immunol, 2004, 4( 5 ): 336-347.
- [ 5 ] Mao YX, Chen YJ, Ge Y, et al. Recombinant human B7-H4 expressed in *Escherichia coli* inhibits T lymphocyte proliferation and IL-2 secretion *in vitro* [ J ]. Acta Pharmacol Sin, 2006, 27( 6 ): 741-746.
- [ 6 ] Simon I, Zhuo S, Corral L, et al. B7-H4 is a novel membrane-bound protein and a candidate serum and tissue biomarker for ovarian cancer [ J ]. Cancer Res, 2006, 66( 3 ): 1570-1575.
- [ 7 ] Kryczek I, Zou L, Rodriguez P, Zhu G, et al. B7-H4 expression identifies a novel suppressive macrophage population in human ovarian carcinoma [ J ]. J Exp Med, 2006, 203( 4 ): 871-881.
- [ 8 ] Krambeck AE, Thompson RH, Dong H, et al. B7-H4 expression in renal cell carcinoma and tumor vasculature: Associations with cancer progression and survival [ J ]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006, 103( 27 ): 10391-10396.
- [ 9 ] Sun Y, Wang Y, Zhao J, et al. B7-H3 and B7-H4 expression in non-small-cell lung cancer [ J ]. Lung cancer, 2006, 53( 2 ): 143-151.
- [ 10 ] Tringler B, Zhuo SQ, Pilkington G, et al. B7-H4 is highly expressed in ductal and lobular breast cancer [ J ]. Clin Cancer Res, 2005, 11( 5 ): 1842-1848.
- [ 11 ] Salceda S, Tang T, Kmet M, et al. The immunomodulatory protein B7-H4 is overexpressed in breast and ovarian cancers and promotes epithelial cell transformation [ J ]. Exp Cell Res, 2005, 306( 1 ): 128-141.

- [ 12 ] Zhang L, Wu H, Lu D, et al. The costimulatory molecule B7-H4 promote tumor progression and cell proliferation through translocating into nucleus [ J ]. Oncogene, 2013 [ Epub ahead of print ].
- [ 13 ] Jung SG, Choi KU, Lee SD, et al. The relationship between B7-H4 expression and clinicopathological characteristics in clinical stage T1 conventional renal cell carcinoma [ J ]. Korean J Urol, 2011, 52( 2 ): 90-95.
- [ 14 ] Lee SJ, Jang BC, Lee SW, et al. Interferon regulatory factor-1 is prerequisite to the constitutive expression and IFN-gamma-induced upregulation of B7-H1( CD274 ) [ J ]. FEBS Lett, 2006, 580( 3 ): 755-762.
- [ 15 ] Okudaira K, Hokari R, Tsuzuki Y, et al. Blockade of B7-H1 or B7-DC induces an anti-tumor effect in a mouse pancreatic cancer model [ J ]. Int J Oncol, 2009, 35( 4 ): 741-749.
- [ 16 ] Nakano O, Sato M, Naito Y, et al. Proliferative activity of intratumoral CD8( + ) T-lymphocytes as a prognostic factor in human renal cell carcinoma: Clinicopathologic demonstration of antitumor immunity [ J ]. Cancer Res, 2001, 61( 13 ): 5132-5136.
- [ 17 ] He C, Qiao H, Jiang H, et al. The inhibitory role of b7-h4 in anti-tumor immunity: Association with cancer progression and survival [ J ]. Clin Dev Immunol, 2011, 2011: 695834.
- [ 18 ] Zheng X, Li XD, Wu CP, et al. Expression of costimulatory molecule B7-H4 in human malignant tumors [ J ]. Onkologie, 2012, 35( 11 ): 700-705.
- [ 19 ] Sun SQ, Jiang CG, Lin Y, et al. Enhanced T cell immunity by B7-H4 downregulation in nonsmall-cell lung cancer cell lines [ J ]. J Int Med Res, 2012, 40( 2 ): 497-506.
- [ 20 ] Chen C, Qu QX, Shen Y, et al. Induced expression of B7-H4 on the surface of lung cancer cell by the tumor-associated macrophage: A potential mechanism of immune escape [ J ]. Cancer Lett, 2012, 317( 1 ): 99-105.
- [ 21 ] Dangaj D, Lanitis E, Zhao A, et al. Novel recombinant human B7-H4 antibodies overcome tumoral immune escape to potentiate T cell anti-tumor responses [ J ]. Cancer Res, 2013 [ Epub ahead of print ].

[ 收稿日期 ] 2013 - 05 - 21

[ 修回日期 ] 2013 - 07 - 23

[ 本文编辑 ] 韩丹,周玲琳

《 中国肿瘤生物治疗杂志 》 欢迎投稿、欢迎订阅