

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.05.003

肿瘤防治专题

三阴性乳腺癌组织中 NRP-1 和 PD-L1 表达及临床意义

马啸, 刘浩楠, 吕帝, 崔永征, 韩正祥

基金项目: 江苏省高层次卫生人才“六个一工程”A 类项目(LGY2020006)

作者单位: 221000 江苏徐州, 徐州医科大学附属医院肿瘤科

通信作者: 韩正祥, E-mail: cyhzyq@163.com

【摘要】目的 分析三阴性乳腺癌(TNBC)组织中神经纤毛蛋白-1(NRP-1)和程序性死亡配体-1(PD-L1)的表达水平及其相关性和临床意义。**方法** 收集2012年3月—2014年12月行手术治疗的TNBC患者40例的癌组织及其中10例对应的癌旁组织芯片,使用免疫组织化学法检测癌组织及癌旁组织中NRP-1和PD-L1表达水平,并分析NRP-1、PD-L1在不同临床病理特征间的表达差异;Spearman等级法分析两者的相关性;Kaplan-Meier法绘制生存曲线,多因素Cox回归模型分析TNBC患者预后相关影响因素。**结果** TNBC癌组织NRP-1、PD-L1蛋白表达水平高于癌旁组织($P < 0.01$);NRP-1的表达与肿瘤直径、病理分级明显相关($\chi^2/P = 6.218/0.013, 4.392/0.036$)。PD-L1的表达与病理分级、Ki67水平明显相关($\chi^2/P = 6.465/0.011, 8.102/0.004$)。NRP-1与PD-L1的表达呈正相关($r = 0.570, P < 0.001$)。NRP-1、PD-L1高表达患者中位总生存期分别低于低表达患者($\chi^2/P = 14.510/0.002, 9.641/0.001$),NRP-1、PD-L1均高表达患者中位总生存期显著低于NRP-1、PD-L1均低表达患者($\chi^2 = 15.940, P = 0.001$)。Cox回归分析显示,PD-L1高表达是患者预后的独立危险因素[$HR(95\% CI) = 6.323(1.324 \sim 30.202), P = 0.021$]。**结论** NRP-1、PD-L1的表达可能与TNBC的发生、发展、预后有关,有望成为TNBC治疗的新靶点,联合NRP-1和PD-L1用来评估TNBC的严重程度。

【关键词】 三阴性乳腺癌;神经纤毛蛋白-1;程序性死亡配体-1;临床意义**【中图分类号】** R737.9 **【文献标识码】** A

Expression and clinical significance of NRP-1 and PD-L1 in triple negative breast cancer Ma Xiao, Liu Haonan, Lyu Di, Cui Yongzheng, Han Zhengxiang. Department of Oncology, The Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Jiangsu Province, Xuzhou 221000, China

Corresponding author: Han Zhengxiang, E-mail: cyhzyq@163.com

Funding program: Jiangsu Province High Level Health Talents "Six One Project" Class A Project (LGY2020006)

【Abstract】 Objective To analyze the expression levels of neurocilin-1 (NRP-1) and programmed death ligand 1 (PD-L1) in triple negative breast cancer (TNBC) tissues and their correlation and clinical significance. **Methods** Collect 40 cancer tissues and 10 corresponding adjacent tissues of TNBC patients who underwent surgical treatment at the Oncology Department of Xuzhou Medical University Affiliated Hospital from March 2012 to December 2014. Immunohistochemical methods were used to detect the expression levels of NRP-1 and PD-L1 in the cancer tissues and adjacent tissues, and the expression differences of NRP-1 and PD-L1 among different clinical and pathological features were analyzed; The Spearman hierarchy method was used to analyze the correlation between the two; Kaplan Meier method was used to draw survival curves, and a multivariate Cox regression model was used to analyze the prognostic factors related to TNBC patients. **Results** The expression levels of NRP-1 and PD-L1 proteins in TNBC cancer tissue were higher than those in adjacent tissues ($P < 0.01$); The expression of NRP-1 is significantly correlated with tumor diameter and pathological grading ($\chi^2/P = 6.218/0.013, 4.392/0.036$). The expression of PD-L1 are significantly correlated with pathological grading ki67 levels ($\chi^2/P = 6.465/0.011, 8.102/0.004$). There is a positive correlation between the expression of NRP-1 and PD-L1 ($r = 0.570, P < 0.001$). The median overall survival time of patients with high expression of NRP-1 and PD-L1 is lower than that of patients with low expression, respectively ($\chi^2/P = 14.510/0.002, 9.641/0.001$), the median overall survival of patients with high expression of NRP-1 and PD-L1 was significantly lower than that of patients with low expression of NRP-1 and PD-L1 ($\chi^2 = 15.940, P = 0.001$). Cox re-

gression analysis showed that high expression of PD-L1 was an independent risk factor for patient prognosis [$HR(95\% CI) = 6.323 (1.324 - 30.202), P = 0.021$]. **Conclusion** The expression of NRP-1 and PD-L1 may be related to the occurrence, development, and prognosis of TNBC, and may become a new target for TNBC treatment. Combining NRP-1 and PD-L1 can be used to evaluate the severity of TNBC.

【Key words】 Triple negative breast cancer; Neurocilin-1; Programmed death ligand 1; Clinical significance

在世界范围内,乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤^[1],是女性健康的主要威胁之一。其中三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)是指乳腺癌组织中免疫组化结果为雌激素受体(estrogen receptor, ER)、孕激素受体(progesterone receptor, PR)、人类表皮生长因子受体-2(human epidermal growth factor receptor 2, HER-2)均为阴性的特殊类型乳腺癌^[2]。TNBC约占所有乳腺癌病理类型的15%~20%^[3]。传统的内分泌治疗及抗HER-2治疗均无效且其具有侵袭性强、复发性高等生物学特性^[4-5],因此预后极差,寻找有效的治疗手段迫在眉睫。

近年来随着免疫治疗不断发展,免疫检查点抑制剂药物在许多晚期恶性肿瘤中的广泛应用为TNBC的治疗带来了曙光^[6]。神经纤毛蛋白-1(neuropilin-1, NRP-1)是一种非酪氨酸激酶跨膜糖蛋白受体,同时也是血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的共受体,在神经发育、血管生成、肿瘤的增殖和转移中发挥重要作用^[7]。研究发现,NRP-1在淋巴瘤、卵巢癌、黑色素瘤、胃肠道肿瘤等多种人类肿瘤组织中均过表达,但在相应的正常组织中表达较低,并与肿瘤的预后相关^[8-10]。在TNBC中尚无关于NRP-1、PD-L1表达水平的相关性研究。因此本研究通过检测TNBC组织标本中NRP-1和PD-L1的表达水平,分析其相关性及其与预后的关系,以为TNBC的诊断、个体化治疗、预后评估等提供新策略,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 收集2012年3月—2014年12月行手术治疗的TNBC患者40例的癌组织及10例对应的癌旁组织(组织芯片均购自上海芯超生物科技有限公司),患者均为女性,中位年龄53(28~84)岁。患者术前均未行放、化疗或其他针对肿瘤的治疗。依据世界卫生组织(WHO)乳腺肿瘤分类标准进行分类分级:G2级22例,G3级18例;TNM临床分期:0期4例,I~II期25例,III~IV期11例。本研究于2019年10月11日通过上海芯超生物科技有限公司伦理委员会的批准(YB M-05-02),患者及家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 NRP-1和PD-L1表达检测 采用免疫组化方法

检测,将组织芯片放入烘箱中,烘蜡1h,脱蜡。将玻片进行修复,而后放在室温的蒸馏水中,使其自然冷却>10min,PBS缓冲液冲洗;加入稀释好的一抗工作液,4℃度冰箱过夜。冰箱取出玻片,室温复温45min,PBS缓冲液清洗玻片;玻片放入DAKO全自动免疫组化仪,按照“Autostainer Link 48使用指南”选择相应程序运行阻断、二抗结合、DAB显色程序;苏木素染色1min,在0.25%的盐酸酒精(70%酒精400ml+浓盐酸1ml)中浸没约10s,自来水冲洗5min;室温晾干玻片,中性树脂封片;免疫组化染色均采用EnVision法,NRP-1抗体(鼠单克隆抗体,稀释比1:1000)和PD-L1抗体(鼠单克隆抗体,稀释比1:1000)购自南京肽迪生物技术中心。具体操作步骤严格按试剂盒说明书进行。

1.3 结果判断 NRP-1蛋白主要表达于细胞浆,PD-L1主要表达于细胞膜和细胞浆。以细胞相应部位呈棕色或棕黄色判定为阳性染色,根据细胞染色强度进行评分,分别记为0分(阴性),0.5分(±),1分(+),2分(++),3分(+++);根据阳性细胞占肿瘤细胞总数的百分比,将染色阳性率评分记为0~100%。免疫组化总评分为“染色强度评分”与“染色阳性率”的乘积,分值范围为0~300%。胞浆NRP-1:总评分≤160%为低表达,>160%为高表达;胞浆PD-L1:总评分≤15%为低表达,>15%为高表达。

1.4 统计学方法 采用PRISM 8软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验;计数资料以频数或率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验或Fisher精确检验;Spearman检验分析PD-L1与NRP-1表达的相关性;总生存期(overall survival, OS)用Kaplan-Meier法绘制生存曲线,比较生存差异采用Log-rank检验;预后影响因素采用多因素Cox回归分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。其中NRP-1抗体检测时,5个点(4例癌组织及其中1例对应的癌旁组织)因脱片和无癌组织原因导致未归入统计分析。

2 结果

2.1 TNBC癌组织及癌旁组织NRP-1和PD-L1表达比较 TNBC中PD-L1阳性定位于细胞膜和细胞浆

上,NRP-1 定位于细胞浆,见图 1。PD-L1 在 TNBC 癌组织和癌旁组织的阳性率分别为 80% 和 20%;NRP-1 在 TNBC 癌组织和癌旁组织的阳性率分别为 80% 和 20%。NRP-1 蛋白、PD-L1 蛋白在癌组织中的表达水平显著高于癌旁组织($P < 0.01$),见表 1、图 2。

2.2 TNBC 癌组织 NRP-1 与 PD-L1 表达的相关性 根据 Spearman 检验可知,NRP-1 与 PD-L1 的表达呈正相关($r = 0.570, P < 0.001$)。GEPIA 数据库(<http://gepia.cancer-pku.cn/>)分析显示,NRP-1 与 PD-L1 表达呈正相关($r = 0.065, P = 0.016$),与上述结果一致。

2.3 NRP-1 和 PD-L1 的表达与临床/病理特征的相关性 NRP-1 的表达与病理分级、肿瘤直径明显相关($P < 0.05$);PD-L1 的表达与病理分级、Ki67 水平明显相关($P < 0.05$),见表 2。

2.4 NRP-1 和 PD-L1 表达与患者预后关系分析 Kaplan-Meier 生存曲线显示,PD-L1 高表达患者的中位 OS 短于 PD-L1 低表达患者(13.1 个月 vs. 15.1 个月, $\chi^2 = 9.641, P = 0.001$);NRP-1 高表达患者中位 OS 短于低表达患者(13.6 个月 vs. 15.2 个月, $\chi^2 = 14.510, P = 0.002$);PD-L1 和 NRP-1 均高表达患者中位 OS 显

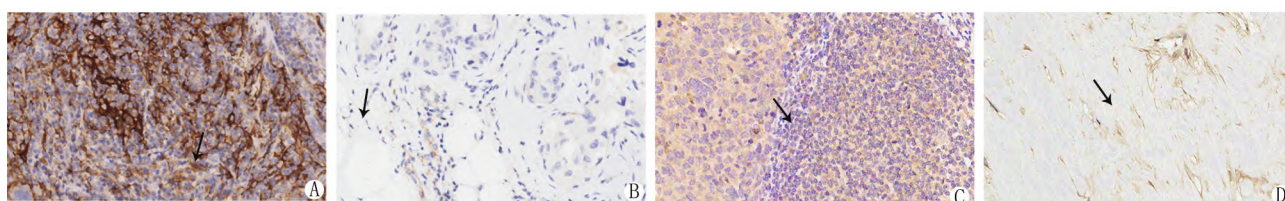
表 1 PD-L1 和 NRP-1 在三阴性乳腺癌组织和癌旁组织表达比较 [例(%)]

Tab. 1 Comparison of PD-L1 and NRP-1 expression in triple negative breast cancer tissues and adjacent tissues

组 织	例数	NRP-1		例数	PD-L1	
		低表达	高表达		低表达	高表达
癌旁组织	9	9(100.0)	0	10	10(100.0)	0
癌组织	36	14(38.9)	22(61.1)	40	20(50.0)	20(50.0)
χ^2 值		10.761		8.333		
P 值		0.001		0.004		

著短于 PD-L1 和 NRP-1 均低表达患者(13.5 个月 vs. 15.2 个月, $\chi^2 = 15.940, P = 0.001$)。

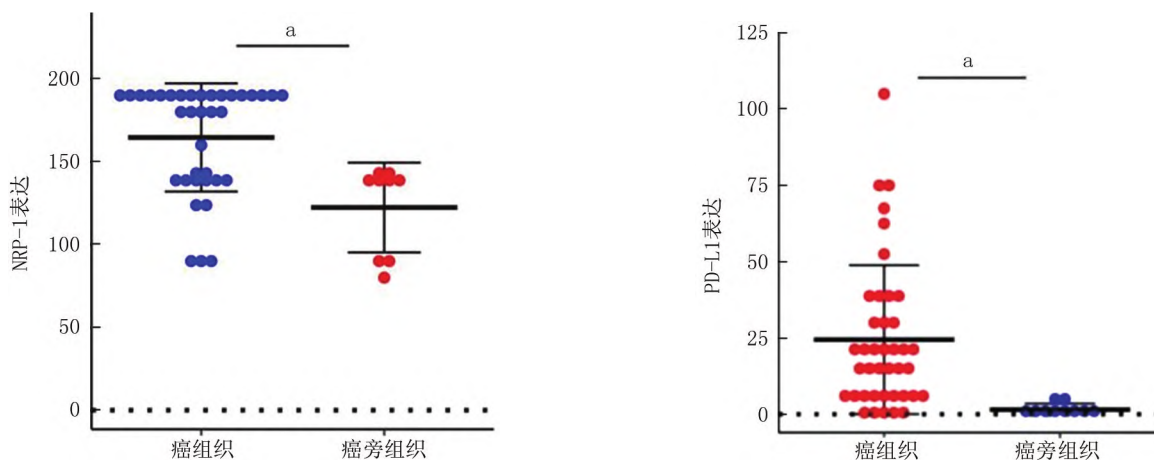
2.5 TNBC 患者预后影响因素的 Cox 回归模型分析 以 TNBC 患者预后为因变量,上述结果 $P < 0.05$ 因素为自变量进行 Cox 回归模型分析,结果显示,PD-L1 表达水平高是影响患者预后的独立危险因素($P = 0.021$),而年龄、病理分级、肿瘤直径、TNM 分期、Ki67 水平和 NRP-1 表达水平不是影响患者预后的独立危险因素($P > 0.05$),见表 3。Kaplan-Meier Plotter 数据库(<https://kmpplot.com/analysis/>)分析结果也显示,NRP-1 高表达患者较低表达患者风险比例高 60% (图



注:A. PD-L1 高表达;B. PD-L1 低表达;C. NRP-1 高表达;D. NRP-1 低表达

图 1 PD-L1、NRP-1 在三阴性乳腺癌组织中的表达(EnVision 染色, $\times 200$)

Fig. 1 PD-L1, NRP-1 expression in triple negative breast cancer tissue (EnVision staining, $\times 200$)



注:与癌旁组织比较,^a $P < 0.01$ 。

图 2 NRP-1、PD-L1 蛋白在癌组织和癌旁组织中表达差异分析

Fig. 2 Analysis of differences in the expression of NRP-1 and PD-L1 proteins in cancer and adjacent tissues

表 2 NRP-1 和 PD-L1 的表达与临床/病理特征的相关性 [例(%)]

Tab. 2 The correlation between the expression of NRP-1, PD-L1 and clinical/pathological characteristics

项 目	例数	NRP-1		χ^2 值	P 值	例数	PD-L1		χ^2 值	P 值	
		低表达	高表达				低表达	高表达			
年龄(岁)	≤60	28	11(39.29)	17(60.71)	0.008	0.927	31	15(48.39)	16(51.61)	0.143	0.705
	>60	8	3(37.50)	5(62.50)			9	5(55.56)	4(44.44)		
病理分级	I ~ II 级	13	8(61.54)	5(38.46)	4.392	0.036	22	15(68.18)	7(31.82)	6.465	0.011
	III 级	23	6(26.09)	17(73.91)			18	5(27.78)	13(72.22)		
肿瘤直径(cm)	≤2	14	9(64.29)	5(35.71)	6.218	0.013	16	10(62.50)	6(35.50)	1.667	0.197
	>2	22	5(22.73)	17(77.27)			24	10(41.67)	14(58.33)		
T 分期	T1 ~ T2	26	11(42.31)	15(57.69)	1.407	0.495	27	11(40.74)	16(59.26)	2.926	0.232
	T3 ~ T4	8	3(37.50)	5(62.50)			9	6(66.67)	3(33.33)		
	Tis	2	0	2(100.00)			4	3(75.00)	1(25.00)		
N 分期	N0	21	8(38.10)	13(61.90)	0.013	0.908	25	12(48.00)	13(52.00)	0.107	0.744
	N1 ~ N3	15	6(40.00)	9(60.00)			15	8(53.33)	7(46.67)		
TNM 分期	I ~ II 期	23	10(43.48)	13(56.52)	1.506	0.471	25	12(48.00)	13(52.00)	1.131	0.568
	III ~ IV 期	11	4(36.36)	7(63.64)			11	5(45.45)	6(54.55)		
	0 期	2	0	2(100.00)			4	3(75.00)	1(25.00)		
Ki67	≤0.3	17	9(52.94)	8(47.06)	2.676	0.102	21	15(71.43)	6(28.57)	8.120	0.004
	>0.3	19	5(26.32)	14(73.68)			19	5(26.32)	14(73.68)		

3A), PD-L1 高表达患者较低表达患者风险比例高 36% (图 3B)。

表 3 三阴性乳腺癌患者预后影响因素的 Cox 回归模型分析

Tab. 3 Cox regression model analysis of prognostic factors of triple negative breast cancer patients

变 量	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	HR(95% CI)
年龄大	0.847	0.485	3.054	0.081	2.333(0.902 ~ 6.033)
病理分级低	-0.342	0.437	0.610	0.435	0.711(0.302 ~ 1.675)
肿瘤直径大	0.342	0.483	0.502	0.479	1.408(0.546 ~ 3.632)
TNM 分期低	-0.039	0.498	0.006	0.938	0.962(0.362 ~ 2.554)
Ki67 高	0.974	0.529	3.395	0.065	2.648(0.940 ~ 7.461)
PD-L1 高	1.844	0.798	5.343	0.021	6.323(1.324 ~ 30.202)
NRP-1 高	0.402	0.802	0.251	0.616	1.495(0.310 ~ 7.197)

3 讨 论

由于生活压力的增加、生育模式及生活环境的改变,乳腺癌发病率逐年升高,并呈现出年轻化的趋势^[11]。随着精准医学的不断发展,尽管内分泌治疗、化学治疗、放射治疗、靶向治疗及免疫治疗提高了乳腺癌患者的生存率^[12],但 TNBC 由于自身生物学特性,治疗方式有限且预后差,因此目前迫切需要能够找到在 TNBC 中表达且与肿瘤进展和预后有关的分子,为 TNBC 患者提供更有效、更特异的治疗方案。

PD-L1 是一种 I 型跨膜蛋白,属于 B7 共刺激分子家族,可称为 CD274^[13]。它在多种肿瘤细胞表面表达,在体内与肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte, TIL)上的 PD-1 进行结合,传导免疫抑制的信号,抑制 TIL 的增生和活化,并阻止抗原特异性 CD8⁺

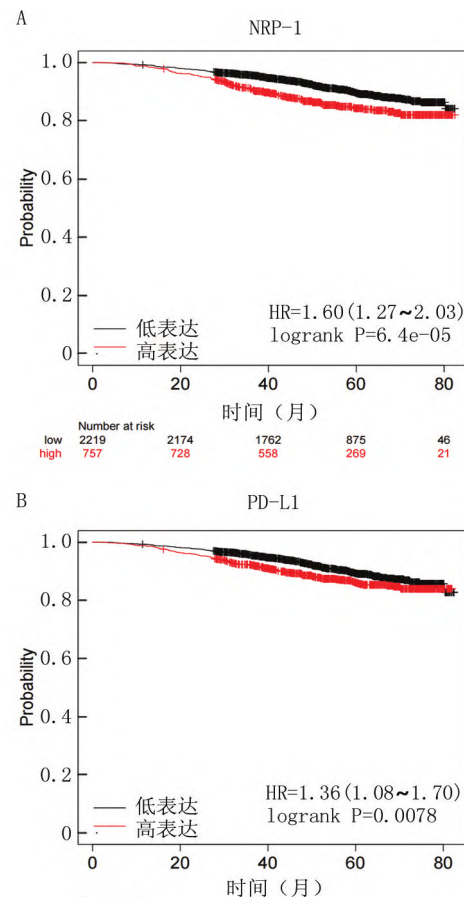


图 3 Kaplan-Meier Plotter 在线数据库中 NRP-1 和 PD-L1 的表达与患者预后关系

Fig. 3 Relationship between the expression of NRP-1 and PD-L1 in Kaplan-Meier Plotter online database and the prognosis of patients

T 淋巴细胞消除肿瘤细胞,从而使 TIL 处于失活的状态,最终诱导免疫逃逸^[14]。黄浙睿等^[15]报道 PD-L1 在 TNBC 患者中过表达,其机制尚不清楚,但它被认为与更强的侵袭力和较差的预后有关。一些针对 PD-L1 的单克隆抗体,能够竞争性地与人体内的 PD-L1 结合,从而影响到 PD-1 和 PD-L1 的结合,故而能够解除 PD-1 和 PD-L1 结合所介导的免疫功能抑制,使人体内 CD8⁺T 细胞被重新激活^[16]。在肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)中会有活化的 T 细胞大量聚集,从而启动人体的抗肿瘤免疫反应^[17]。

NRP-1 是一类非酪氨酸激酶跨膜多功能糖蛋白,它可以与血管内皮生长因子受体 2(vascular endothelial cell growth factor receptor 2, VEGFR2) 一起作为 VEGF 的共受体,通过增强 VEGF165(vascular endothelial cell growth factor 165)与 VEGFR2 结合,增加血管内皮的趋化性、诱导内皮细胞的迁移,促进肿瘤血管的生成^[18-19]。在 TME 中,可通过调节性 T 细胞(Tregs)上表达的 NRP-1 起作用,肿瘤衍生的 VEGF 吸引 NRP-1 + Treg 向肿瘤组织募集^[20],增强肿瘤的免疫逃逸;Tregs 还可通过与 NRP-1 的相互作用,弱化树突状细胞(DC)活化效应性 T 细胞的功能,最终使效应性 T 淋巴细胞活化不足。胸腺来源的 Tregs 可表达 PD-1,PD-1/PD-L1 相互作用有助于使 CD4⁺T 细胞转化成 Treg 细胞,Treg 细胞上表达的 PD-1 还可以与 T 细胞上表达的 PD-L1 相互作用,以介导免疫抑制,在抗原识别过程中,NRP-1 表达促进 Treg 与 DC 的相互作用,从而抑制 T 细胞活化^[21-22]。但 NRP-1 与 PD-L1 相互作用的机制仍不明确。

本研究发现,在 TNBC 癌组织中 PD-L1 和 NRP-1 的表达水平高于癌旁组织,且二者表达存在正相关性。进一步探讨发现 PD-L1 和 NRP-1 均高表达的患者预后较差,基于这一结果,对于临床中出现双基因高表达患者可以进行早期发现,及时干预,避免癌症终末期事件发生。而针对性调节 NRP-1 表达的分子也使得这一目的发现成为可能。Hang 等^[23]观察到 NRP-1 的表达与 microRNA 分子的表达之间存在相关性。过表达 miR-9-5p 可降低 NRP-1 的表达,还可以导致间质标志物 N-钙黏蛋白(N-cadherin)和波形蛋白(vimentin)表达上调,上皮标志物 E-钙黏蛋白(E-cadherin)和 β -连环蛋白(β -catenin)表达下调。在胃癌(GC)发生过程中,过表达 miR-9-5p 可抑制细胞增殖、迁移和侵袭。miR-9-5p 的过表达使 GC 细胞对广泛使用的抗癌药物顺铂具有更高的敏感性。

目前,抗 PD-1/PD-L1 药物对肿瘤具有一定缓解

作用,但单独疗效并不显著,只有 10% ~ 30% 的患者在接受抗 PD-1/PD-L1 药物后可产生持续疗效^[24]。Checkmate-648 项目作为全球最大的随机 III 期药物试验,纳入 970 例全球各地晚期食管癌患者。结果表明,PD-1 抑制剂 + CTLA-4 抑制剂双重免疫治疗相较于化疗可获得更好的中位总生存率。而在晚期肾细胞癌及黑色素瘤中,也得到了类似的结论,尼武单抗联合伊匹单抗的治疗相较于单药免疫治疗疗效显著^[25-26]。目前,已有研究显示,免疫联合治疗能够使 TNBC 患者获得更好的肿瘤缓解率,使生存周期明显延长^[27-28]。基于这一现状,可以大胆推测 PD-L1 和 NRP-1 的联合免疫治疗有利于推动分子精准医疗的发展。

综上所述,PD-L1 与 NRP-1 在 TNBC 的发生发展中起到促进作用,推测 NRP-1 可能参与 PD-L1 的表达调控,促进肿瘤具有更强的转移和侵袭能力,并进一步参与肿瘤的免疫逃逸。因此 NRP-1 和 PD-L1 有望成为治疗 TNBC 的潜在靶点,二者的联合治疗能有效改善预后。但是二者之间具体调控机制有待后续基础研究深入探讨。本研究将 PD-L1 与 NRP-1 表达水平进行综合分析,探讨其与 TNBC 发生、发展的相关性。但由于本试验所取的样本量较少,可能存在一定的偏倚,还需积累更多病例进一步分析。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

马啸:提出研究思路,论文撰写;刘浩楠:病例资料收集;吕帝:统计学分析处理;崔永征:数据分析;韩正祥:指导写作,文章审核

参考文献

- [1] Wilkinson L, Gathani T. Understanding breast cancer as a global health concern [J]. *The British Journal of Radiology*, 2022, 95 (1130):20211033. DOI:10.1259/bjr.20211033.
- [2] Chai C, Wu HH, Abuatabh Y, et al. Regulation of the tumor suppressor PTEN in triple-negative breast cancer [J]. *Cancer Letters*, 2022, 527:41-48. DOI:10.1016/j.canlet.2021.12.003.
- [3] Sporikova Z, Koudelakova V, Trojanec R, et al. Genetic markers in triple-negative breast cancer [J]. *Clinical Breast Cancer*, 2018, 18 (5):e841-e850. DOI:10.1016/j.clbc.2018.07.023.
- [4] Yin L, Duan JJ, Bian XW, et al. Triple-negative breast cancer molecular subtyping and treatment progress [J]. *Breast Cancer Research*, 2020, 22(1):1-13. DOI:10.1186/s13058-020-01296-5.
- [5] Du J, Fan JJ, Dong C, et al. Inhibition effect of exosomes-mediated Let-7a on the development and metastasis of triple negative breast cancer by down-regulating the expression of c-Myc [J]. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2019, 23(12):5301-5314. DOI:10.26355/eurrev_201906_18197.
- [6] Bagchi S, Yuan R, Engleman EG. Immune checkpoint inhibitors for the treatment of cancer: Clinical impact and mechanisms of response and resistance [J]. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Dis-*

- ease, 2021, 16: 223-249. DOI: 10. 1146/annurev-pathol-042020-042741.
- [7] Benhadou F, Glitzner E, Brisebarre A, et al. Epidermal autonomous VEGFA/Flt1/Nrp1 functions mediate psoriasis-like disease[J]. Science Advances, 2020, 6(2): eaax5849. DOI: 10.1126/sciadv. aax5849.
- [8] Hu C, Jiang X. Role of NRP-1 in VEGF-VEGFR2-independent tumorigenesis[J]. Targeted Oncology, 2016, 11(4): 501-505. DOI: 10.1007/s11523-016-0422-0.
- [9] Rachner TD, Kasimir-Bauer S, Goebel A, et al. Soluble neuropilin-1 is an independent marker of poor prognosis in early breast cancer[J]. Journal of Cancer Research and Clinical Oncology, 2021, 147(8): 2233-2238. DOI: 10.1007/s00432-021-03635-1.
- [10] Chaudhary B, Khaled YS, Ammori BJ, et al. Neuropilin 1: Function and therapeutic potential in cancer[J]. Cancer Immunology, Immunotherapy, 2014, 63(2): 81-99. DOI: 10.1007/s00262-013-1500-0.
- [11] Sun YS, Zhao Z, Yang ZN, et al. Risk factors and preventions of breast cancer[J]. International Journal of Biological Sciences, 2017, 13(11): 1387. DOI: 10.7150/ijbs.21635.
- [12] Waks AG, Winer EP. Breast cancer treatment: A review [J]. Jama, 2019, 321(3): 288-300. DOI: 10.1001/jama.2018.19323.
- [13] Liu Z, Yu X, Xu L, et al. Current insight into the regulation of PD-L1 in cancer[J]. Experimental Hematology & Oncology, 2022, 11(1): 1-16. DOI: 10.1186/s40164-022-00297-8.
- [14] Liu Z, Wang T, She Y, et al. N⁶-methyladenosine-modified circIGF2BP3 inhibits CD8⁺ T-cell responses to facilitate tumor immune evasion by promoting the deubiquitination of PD-L1 in non-small cell lung cancer[J]. Molecular Cancer, 2021, 20: 1-25. DOI: 10.1186/s12943-021-01398-4.
- [15] 黄浙睿, 杨承纲. 三阴性乳腺癌中 PD-L1 的表达与上皮-间质转化的关系及意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2021, 37(5): 541-545. DOI: 10.13315/j.cnki.cjcep.2021.05.007.
- Huang XR, Yang CG. Relationship between expression of PD-L1 and epithelial-mesenchymal transition in triple-negative breast cancer and its significance[J]. Chinese Journal of Clinical and Experimental Pathology, 2021, 37(5): 541-545. DOI: 10.13315/j.cnki.cjcep.2021.05.007.
- [16] Sharma P. Immune checkpoint therapy and the search for predictive biomarkers[J]. Cancer Journal, 2016, 22(2): 68-72. DOI: 10.1097/PPO.000000000000185.
- [17] Ai L, Xu A, Xu J. Roles of PD-1/PD-L1 pathway: signaling, cancer, and beyond[J]. Regulation of Cancer Immune Checkpoints: Molecular and Cellular Mechanisms and Therapy, 2020, 1248: 33-59. DOI: 10.1007/978-981-15-3266-5_3.
- [18] Bowler E, Oltean S. Alternative splicing in angiogenesis[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(9): 2067. DOI: 10.3390/ijms20092067.
- [19] Leclerc M, Voilin E, Gros G, et al. Regulation of antitumour CD8 T-cell immunity and checkpoint blockade immunotherapy by Neuropilin-1 [J]. Nature Communications, 2019, 10(1): 1-14. DOI: 10.1038/s41467-019-11280-z.
- [20] Hansen W, Hutzler M, Abel S, et al. Neuropilin 1 deficiency on CD4⁺ Foxp3⁺ regulatory T cells impairs mouse melanoma growth[J]. Journal of Experimental Medicine, 2012, 209(11): 2001-2016. DOI: 10.1084/jem.20111497.
- [21] Li L, Yang SH, Yao Y, et al. Block of both TGF- β and IL-2 signaling impedes Neuropilin-1 + regulatory T cell and follicular regulatory T cell development[J]. Cell Death & Disease, 2016, 7(10): e2439. DOI: 10.1038/cddis.2016.348.
- [22] Zhang L, Chen Y, Li C, et al. RNA binding protein PUM2 promotes the stemness of breast cancer cells via competitively binding to neuropilin-1 (NRP-1) mRNA with miR-376a [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2019, 114: 108772. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.108772.
- [23] Hang C, Yan HS, Gong C, et al. MicroRNA-9 inhibits gastric cancer cell proliferation and migration by targeting neuropilin-1 [J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2019, 18(4): 2524-2530. DOI: 10.3892/etm.2019.7841.
- [24] Andrews LP, Yano H, Vignali DAA. Inhibitory receptors and ligands beyond PD-1, PD-L1 and CTLA-4: breakthroughs or backups [J]. Nature Immunology, 2019, 20(11): 1425-1434. DOI: 10.1038/s41590-019-0512-0.
- [25] Wolchok JD, Kluger H, Callahan MK, et al. Nivolumab plus ipilimumab in advanced melanoma [J]. N Engl J Med, 2013, 369: 122-133. DOI: 10.1056/NEJMoa1302369.
- [26] Motzer RJ, Tannir NM, McDermott DF, et al. Nivolumab plus ipilimumab versus sunitinib in advanced renal-cell carcinoma [J]. New England Journal of Medicine, 2018, 378(14): 1277-1290. DOI: 10.1056/NEJMoa1712126.
- [27] 王华, 胡晓磊, 李星宇, 等. 三阴性乳腺癌的免疫联合治疗研究进展[J]. 肿瘤防治研究, 2022, 49(10): 996-1002. DOI: 10.3971/j.issn.1000-8578.2022.22.0272.
- Wang H, Hu XL, Li XY, et al. Advances in combined immunotherapy for triple negative breast cancer [J]. Cancer Research on Prevention and Treatment, 2022, 49(10): 996-1002. DOI: 10.3971/j.issn.1000-8578.2022.22.0272.
- [28] Zhu Y, Zhu X, Tang C, et al. Progress and challenges of immunotherapy in triple-negative breast cancer [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer, 2021, 1876(2): 188593. DOI: 10.1016/j.bbcan.2021.188593.

(收稿日期: 2023-01-26)