

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.13.024

非小细胞肺癌组织 PD-L1、TTF-1、SYN 表达与临床病理特征及预后的关系研究 *

奚剑敏¹ 谭小宁² 文欢¹ 陆伟倩¹ 黄劲¹

(1 湖南省中医药研究院附属医院病理科 湖南 长沙 413006; 2 湖南省中医药研究院中医肿瘤学重点实验室 湖南 长沙 410006)

摘要 目的:探讨非小细胞肺癌(NSCLC)组织程序性细胞死亡蛋白 1 配体(PD-L1)、甲状腺转录因子-1(TTF-1)、突触素(SYN)表达与临床病理特征及预后的关系。**方法:**对 2013 年 2 月至 2015 年 2 月期间在我院治疗的 97 例 NSCLC 患者进行研究。检测 NSCLC 组织以及癌旁组织中 PD-L1、TTF-1、SYN 表达。分析 PD-L1、TTF-1、SYN 表达与临床病理特征的相关性。Kaplan-Meier 生存曲线分析不同 PD-L1、TTF-1、SYN 表达患者总生存率的差异。Cox 比例风险回归分析 NSCLC 患者预后的影响因素。**结果:**与癌旁组织相比,NSCLC 组织中 PD-L1、TTF-1 阳性表达升高,SYN 阴性表达升高($P<0.05$)。PD-L1、TTF-1、SYN 表达均与 TNM 分期和淋巴结转移相关($P<0.05$)。PD-L1、TTF-1 阴性患者的生存率分别高于 PD-L1、TTF-1 阳性患者,SYN 阴性患者的生存率低于 SYN 阳性患者($P<0.05$)。Cox 比例风险回归分析结果显示,TNM 分期、PD-L1 阳性表达、TTF-1 阳性表达、SYN 阴性表达、淋巴结转移是 NSCLC 患者预后的影响因素($P<0.05$)。**结论:**NSCLC 组织中 PD-L1、TTF-1 阳性表达升高,SYN 阴性表达升高,并且均与 TNM 分期、淋巴结转移和预后相关,其在 NSCLC 的诊断和预后评估中具有一定临床价值。

关键词:非小细胞肺癌;程序性细胞死亡蛋白 1 配体;甲状腺转录因子-1;突触素;预后;病理特征

中图分类号:R734.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2021)13-2517-05

Study of the Expressions of PD-L1, TTF-1, SYN in Non-small Cell Lung Cancer and Its Relationships with Clinicopathological Features and Prognosis*

XI Jian-min¹, TAN Xiao-ning², WEN Huan¹, LU Wei-qian¹, HUANG Jin¹

(1 Department of Pathology, Affiliated Hospital of Hunan Academy of Traditional Chinese Medicine, Changsha, Hunan, 413006, China;

2 Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Oncology, Hunan Academy of Traditional Chinese Medicine, Changsha, Hunan, 410006, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expressions of programmed cell death protein 1 ligand (PD-L1), thyroid transcription factor-1 (TTF-1), synaptophysin (SYN) in non small cell lung cancer (NSCLC) tissue and its relationships with clinicopathological features and prognosis. **Methods:** 97 patients with NSCLC who were treated in our hospital from February 2013 to February 2015 were studied. The expressions of PD-L1, TTF-1, SYN in NSCLC tissue and paracancerous tissue were detected. The correlation between the expression of PD-L1, TTF-1, SYN and clinicopathological features were analyzed. Kaplan-Meier survival curve was used to analyze the differences in the overall survival rate of patients with different expressions of PD-L1, TTF-1, SYN. Cox proportional hazards regression was used to analyze the prognostic factors in NSCLC patients. **Results:** Compared with paracancerous tissue, the positive expression of PD-L1 and TTF-1 increased in NSCLC tissue, negative expression of SYN increased ($P<0.05$). The expression of PD-L1, TTF-1, SYN were all correlated with TNM stage and lymph node metastasis ($P<0.05$). The survival rates of PD-L1, TTF-1 negative patients were respectively higher than those of PD-L1, TTF-1 positive patients. The survival rate of SYN negative patients was lower than that of SYN positive patients ($P<0.05$). Cox proportional hazard regression analysis showed that TNM stage, PD-L1 positive expression, TTF-1 positive expression, SYN negative expression, lymph node metastasis were the prognostic factors for patients with NSCLC ($P<0.05$). **Conclusion:** The positive expression of PD-L1, TTF-1 are increase in NSCLC tissue, the negative expression of SYN are increase, and are all correlated with TNM stage, lymph node metastasis and prognosis, which has a certain clinical value in the diagnosis and prognosis evaluation of NSCLC.

Key words: Non-small cell lung cancer; Programmed cell death protein-1 ligand; Thyroid transcription factor-1; Synaptophysin; Prognosis; Pathological features

Chinese Library Classification(CLC): R734.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2021)13-2517-05

* 基金项目:国家自然科学基金青年基金项目(81503452)

作者简介:奚剑敏(1973-),女,本科,副主任医师,研究方向:肿瘤病理学,E-mail: xijianmin@163.com

(收稿日期:2020-12-07 接受日期:2020-12-31)

前言

在恶性肿瘤当中,肺癌的死亡率和发病率位居前排,其中非小细胞肺癌(NSCLC)患者的预后较差^[1]。目前对于 NSCLC 的治疗会按照患者的 TNM 分期选择相应的治疗方案,但是由于 NSCLC 的异质性较强,治疗效果上仍然存在较大的个体差异,仅以 TNM 分期作为 NSCLC 治疗方案制定的依据难以满足临床治疗的需求,因此迫切需要寻求更多与 NSCLC 密切相关的肿瘤标志物^[2]。程序性细胞死亡蛋白 1 配体(PD-L1)是一种跨膜蛋白,主要分布于细胞膜上,参与细胞免疫调控过程^[3]。在前列腺癌和乳腺癌等肿瘤细胞中 PD-L1 表达量异常上调,并且与肿瘤细胞的转移和免疫抑制密切相关^[4,5]。甲状腺转录因子-1(TTF-1)属于转录因子家族,通过与基因启动子区结合起到基因转录调节的作用^[6]。在前列腺神经内分泌癌以及小细胞肺癌中 TTF1 高表达,并且参与调节肿瘤侵袭和转移^[7,8]。突触素(SYN)是一种钙结合糖蛋白,主要分布于细胞膜上,参与细胞的囊泡运输以及钙平衡调节^[9]。在前列腺癌和肠癌中 SYN 表达上调,参与肿瘤转移以及上皮-间质转化等过程^[10,11]。本研究检测 130 例 NSCLC 样本及其对应癌旁组织样本中 PD-L1、TTF-1、SYN 表达,以此探究 NSCLC 组织 PD-L1、TTF-1、SYN 表达与临床病理特征及预后之间的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

患者纳入标准:(1)经病理学诊断确诊为 NSCLC;(2)入院前未接受过放化疗;(3)不存在全身感染性疾病;(4)临床资料完整。排除标准:(1)肝肾功能存在异常者;(2)不适宜进行肺癌根治术者;(3)合并存在其它类型肿瘤者;(4)存在自身免疫性疾病。于 2013 年 2 月至 2015 年 2 月期间选择 97 例我院诊治的 NSCLC 患者,年龄介于 39-82 岁,平均年龄(62.18±19.78)岁。男性患者 51 例,女性 46 例;腺癌 63 例,鳞癌 34 例;其中 31 例有吸烟史;TNM 分期为 I 期 29 例,II 期 37 例,III 期 31 例;低分化 29 例,中分化 32 例,高分化 36 例;淋巴结转移患者有 37 例;肿瘤大小在 3 cm 及以下的有 28 例,3 cm 以上有 69 例。临床研究的开展经过院伦理委员会的批准。

1.2 主要试剂和仪器

全自动免疫组化染色机(罗氏诊断产品有限公司,型号:BenchMark GX 编号:国械备 20140160)生物组织脱水机(LE-

ICA,型号:ASP200S,批准文号:FY20140002),中性甲醛(上海远慕生物科技有限公司,货号:YM-MY804J,规格:250 mL),一抗试剂:Anti-PD-L1 抗体(Roche,克隆号:SP263),重组 Anti-TTF-1 抗体(安必平生物科技有限公司,克隆号:SPT24),Anti-SYN 抗体(安必平生物科技有限公司,克隆号:MRQ-40),重组兔 IgG(IgG)抗体及其他试剂均为全自动免疫组化染色机配套试剂(Roche),生物显微镜(OLYMPUS,型号:BX53)。

1.3 免疫组织化学染色法检测 PD-L1、TTF-1、SYN 的表达

免疫组织化学染色法的操作流程主要包括:CT 下经皮穿刺活检取材肺肿瘤三条,癌旁肺组织 5 cm 处取材三条供病理切片做对比。手术获取的组织经 10%中性甲醛固定,全自动脱水机脱水,石蜡包埋组织样本,组织切片,上机(全自动免疫组化染色机)后,按操作流程手工滴加一抗 Anti-PD-L1 抗体、Anti-TTF-1、Anti-SYN 及重组兔 IgG 抗体后,其他流程全部自动化完成,封片后于显微镜下镜检。

1.4 免疫组织化学染色法结果评定

单个组织于高倍镜下($\times 400$)观察 10 个视野,根据阳性细胞比例对染色结果进行评分,10%以下为 0 分,11%~25%为 1 分,26%~50%为 2 分,51%~75%为 3 分,75%以上为 4 分。根据染色强度进行评分,无色为 0 分,浅黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。两项评分的乘积即为最终评分,最终评分在 0~4 分则为阴性,最终评分为 5~12 分则为阳性^[12]。免疫组化染色结果评分由 2 位病理科医师进行双盲法评估。

1.5 随访

采用门诊复查或电话随访对出院患者随访 5 年,当出现复发或死亡时则随访结束,末次随访时间为 2020 年 2 月 17 日,生存时间截止到患者死亡时间或末次随访时间。

1.6 统计学分析

数据统计分析软件采用 SPSS20.0,计数资料以频数来表示,实施 χ^2 检验,Kaplan-Meier 法绘制 NSCLC 患者生存曲线,生存比较采用 Log-rank 检验,应用 Cox 比例风险回归模型分析预后的影响因素,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 不同组织 PD-L1、TTF-1、SYN 的表达

PD-L1、TTF-1 在 NSCLC 组织中表达阳性率明显高于癌旁组织,SYN 在 NSCLC 组织中表达阳性率明显低于癌旁组织,组间差异具有统计学意义($P<0.05$),具体数据见表 1。

表 1 不同组织 PD-L1、TTF-1、SYN 的表达[n(%)]
Table 1 Expression of PD-L1, TTF-1, SYN in different tissues [n (%)]

Tissues	n	PD-L1		TTF-1		SYN	
		Positive	Negative	Positive	Negative	Positive	Negative
NSCLC tissue	97	69(71.13)	28(28.87)	72(74.23)	25(25.77)	23(23.71)	74(76.29)
Paracancerous tissue	97	25(25.77)	72(74.23)	22(22.68)	75(77.32)	80(82.47)	17(17.53)
χ^2		39.956		51.596		67.396	
P		0.000		0.000		0.000	

2.2 NSCLC 组织中 PD-L1、TTF-1、SYN 表达与临床病理特征的关系

NSCLC 组织中 PD-L1、TTF-1、SYN 表达与 TNM 分期、淋

巴结转移有关($P<0.05$),而与肿瘤大小、吸烟史、年龄、组织学分化、病理类型、性别无关($P>0.05$)。见表 2。

表 2 NSCLC 组织中 PD-L1、TTF-1、SYN 表达与临床病理特征的关系[n(%)]

Table 2 Expression of PD-L1, TTF-1, SYN in NSCLC tissues and their relationship with clinicopathological features [n (%)]

Parameter		n	PD-L1		χ^2	P	TTF-1		χ^2	P	SYN		χ^2	P
			Posi- tive	Nega- tive			Posi- tive	Nega- tive			Posi- tive	Nega- tive		
Age	<60 years old	41	26 (63.41)	15 (36.59)	2.061	0.151	29 (70.73)	12 (29.27)	0.453	0.501	12 (29.27)	29 (70.73)	1.212	0.271
	≥ 60 years old	56	43 (76.79)	13 (23.21)			43 (76.79)	13 (23.21)			11 (19.64)	45 (80.36)		
Gender	Male	51	34 (66.67)	17 (33.33)	1.045	0.307	36 (70.59)	15 (29.41)	0.744	0.388	14 (27.45)	37 (72.55)	0.831	0.362
	Female	46	35 (76.09)	11 (23.91)			36 (78.26)	10 (21.74)			9 (19.57)	37 (80.43)		
Smoking history	Yes	31	23 (74.19)	8 (25.81)	0.208	0.649	25 (80.65)	6 (19.35)	0.981	0.322	8 (25.81)	23 (74.19)	0.111	0.740
	No	66	46 (69.70)	20 (30.30)			47 (71.21)	19 (28.79)			15 (22.73)	51 (77.27)		
Pathological type	Adenocarcino- ma	63	44 (69.84)	19 (30.16)	0.146	0.702	47 (74.60)	16 (25.40)	0.013	0.908	14 (22.22)	49 (77.78)	0.220	0.639
	Squamous cell carcinoma	34	25 (73.53)	9 (26.47)			25 (73.53)	9 (26.47)			9 (26.47)	25 (73.53)		
Tumor size	≤ 3 cm	28	19 (67.86)	9 (32.14)	0.206	0.650	18 (64.29)	10 (35.71)	2.033	0.154	8 (28.57)	20 (71.43)	0.514	0.473
	>3 cm	69	50 (72.46)	19 (27.54)			54 (78.26)	15 (21.74)			15 (21.74)	54 (78.26)		
Histological differentiation	High and medium differentiation	68	46 (67.65)	22 (32.35)	1.347	0.246	48 (70.59)	20 (29.41)	1.574	0.210	17 (25.00)	51 (75.00)	0.209	0.648
	Low differentiation	29	23 (79.31)	6 (20.69)			24 (82.76)	5 (17.24)			6 (20.69)	23 (79.31)		
Lymph node metastasis	No	60	38 (63.33)	22 (36.67)	4.661	0.031	40 (66.67)	20 (33.33)	4.699	0.030	19 (31.67)	41 (68.33)	5.503	0.019
	Yes	37	31 (83.78)	6 (16.22)			32 (86.49)	5 (13.51)			4 (10.81)	33 (89.19)		
TNM staging	I~II stage	66	42 (63.64)	24 (36.36)	5.654	0.017	44 (66.67)	22 (33.33)	6.170	0.013	20 (30.30)	46 (69.70)	4.130	0.042
	III stage	31	27 (87.10)	4 (12.90)			28 (90.32)	3(9.68)			3(9.68)	28 (90.32)		

2.3 NSCLC 组织中 PD-L1、TTF-1、SYN 表达与患者预后的关系

如图 1 所示,PD-L1 阴性患者的总生存率为 78.60% (22/28), 高于阳性患者的 52.20%(36/69)(Log-rank $\chi^2=4.984$, $P=0.026$);TTF-1 阴性患者的总生存率为 88.00%(22/25),高于阳性患者的 50.00%(36/72)(Log-rank $\chi^2=8.223$, $P=0.004$);SYN 阴性患者的总生存率为 54.10%(40/74), 低于阳性患者的 78.30%(18/23)(Log-rank $\chi^2=3.207$, $P=0.049$)。

2.4 影响 NSCLC 患者预后的 Cox 比例风险回归分析

Cox 比例风险回归分析结果显示,TNM 分期III期、PD-L1 阳性表达、TTF-1 阳性表达和 SYN 阴性表达以及有淋巴结转移是 NSCLC 患者预后的影响因素($P<0.05$)。变量赋值见表 3, 具体数据见表 4。

3 讨论

NSCLC 的是发病率和死亡率增长最快的恶性肿瘤, 对人们的生命健康造成严重威胁^[13]。NSCLC 的预后较差并且复发率较高, 目前对 NSCLC 预后的影响因素仍然缺乏了解, 缺乏有效的 NSCLC 预后预测因子^[14]。因此对影响 NSCLC 患者预后的分子机制进行深入探究并从中寻找与 NSCLC 患者预后密切相关的生物标志物, 同时将其应用于 NSCLC 患者预后预测是今后的研究重点。

PD-L1 是一种膜蛋白, 通过与 PD-1 受体结合发挥免疫抑制功能^[15]。在乳腺癌等肿瘤细胞表面 PD-L1 表达量上调, 从而产生肿瘤免疫逃逸, 促进肿瘤发生发展^[16]。本研究发现 NSCLC 组织中 PD-L1 表达阳性率明显升高, 并且与 NSCLC 患者

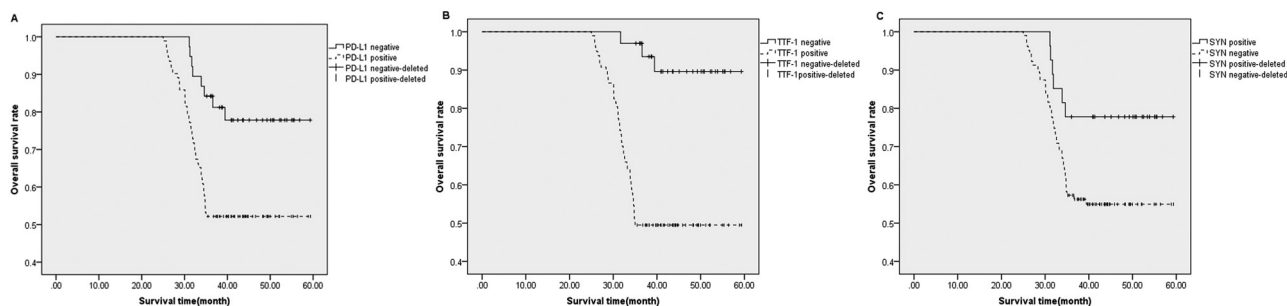


图 1 NSCLC 组织 PD-L1、TTF-1、SYN 表达与患者预后的关系

Fig.1 The relationships between the expression of PD-L1, TTF-1, SYN in NSCLC tissue and prognosis of patients

表 3 变量赋值

Table 3 Variable assignment

Factors	Assignment description
TNM staging	1=III, 0= I ~ II
PD-L1 expression	1=Positive, 0=Negative
TTF-1 expression	1=Positive, 0=Negative
SYN expression	1=Negative, 0=Positive
Lymph node metastasis	1=Yes, 0=No

表 4 影响 NSCLC 患者预后的 Cox 比例风险回归分析

Table 4 Cox proportional hazards regression analysis of prognosis in NSCLC patients

Factors	Regression coefficient	Standard error	Wald χ^2	P	HR	95% confidence interval
TNM staging	1.427	0.186	10.273	0.000	2.013	1.017~3.042
PD-L1 expression	1.615	0.265	33.317	0.000	4.972	2.863~8.541
TTF-1 expression	1.549	0.392	7.642	0.004	4.712	2.243~9.974
SYN expression	1.021	0.285	12.217	0.000	2.802	1.563~5.017
Lymph node metastasis	0.260	0.078	12.342	0.000	1.308	1.152~1.513

TNM 分期、淋巴结转移和预后相关。分析其原因可能是由于 NSCLC 细胞产生免疫逃逸,并且能够激活肿瘤转移信号通路。人白细胞分化抗原 25(CD25)是激活型 T 细胞的生物标志物分子,Maruse 等人^[17]的研究发现在口腔鳞癌中 CD25 表达水平与 PD-L1 表达呈负相关。Liu 等人^[18]发现在乳腺癌中 PD-L1 蛋白能够通过磷脂酰肌醇-3 羟基激酶 (PI3K)/ 丝氨酸 - 苏氨酸激酶(AKT)以及丝裂原激活的蛋白激酶(MAPK)/ 细胞外信号调节激酶(ERK)信号通路调节多药耐药基因(MDR1)表达,因此 PD-L1 是 PI3K/AKT 以及 MAPK/ERK 信号通路的上游调控分子,而 PI3K/AKT 以及 MAPK/ERK 信号通路的激活与肿瘤细胞侵袭和转移能力的增强密切相关^[19]。因此在 NSCLC 中 PD-L1 表达量上调一方面能够抑制 CD25 蛋白的表达,从而抑制 T 淋巴细胞的激活,导致体内细胞免疫功能下降,免疫系统无法及时清除肺癌细胞而导致肺癌细胞发生转移^[20]。另一方面 PD-L1 表达量上调会活化 PI3K/AKT 以及 MAPK/ERK 信号通路,而两条通路的下游靶基因多与肿瘤侵袭和转移密切相关,通过激活肿瘤侵袭和转移相关基因的转录促进肺癌细胞的侵袭和转移^[21]。

本研究发现 NSCLC 组织中 TTF-1 阳性表达上调,且与预

后、转移、分期相关,可能是由于 TTF-1 参与调节淋巴管生成。Li 等人^[22]的研究发现 TTF-1 能够诱导淋巴管形成。肿瘤转移的途径主要包括三种,其一是通过血管发生转移,借由血管转移至远端组织形成转移灶;其二则是通过淋巴结形成转移;其三则是肿瘤细胞直接侵袭至周围正常组织造成转移^[23]。其中淋巴结转移较为普遍,因此在 NSCLC 中 TTF-1 表达上调能够诱导淋巴管生成,肺癌细胞借由生成的淋巴管发生转移。同时,Zamboni 等人^[24]的研究发现 TTF-1 能够上调 EGFR 的表达。已有研究报道显示 EGFR 信号通路是肿瘤血管新生的关键信号通路^[25]。因此 NSCLC 中 TTF-1 表达上调能够激活 EGFR 信号通路,进而诱导肿瘤血管生成。肿瘤血管的生成一方面为肿瘤转移提供转移路径,另一方面能够为 NSCLC 细胞提供氧气和营养物质,以满足 NSCLC 细胞增殖和代谢的营养需求^[26]。NSCLC 往往形成肝转移、脑转移,影响患者肝脏功能、大脑功能,病情严重时容易导致患者出现脏器衰竭而死亡^[27]。

此外,NSCLC 组织中 SYN 阴性表达上调,与预后、分期、转移有关,可能是 SYN 抑制了肿瘤细胞发生上皮 - 间质转化,其在转化过程中肿瘤细胞外基质成分变化,可以降解具有黏性的蛋白聚糖、胶原蛋白,导致粘附性下降,进而发生肿瘤转移^[28]。

Zhong 等人^[29]的研究发现在肾上腺皮质瘤中 SYN 基因的甲基化程度增高。基因的甲基化修饰是一种基因组的表观遗传修饰方式,并且基因甲基化程度升高往往引起基因表达下调^[30]。因此在 NSCLC 中 SYN 基因甲基化程度增高,进而引起 SYN 蛋白阳性表达下调。

综上所述,在 NSCLC 中 PD-L1、TTF-1 表达阳性率增高,SYN 表达阴性率增高,并且均与 TNM 分期、淋巴结转移和预后相关,其在 NSCLC 的诊断和预后评估中具有一定临床价值。

参考文献(References)

- [1] Osmani L, Askin F, Gabrielson E, et al. Current WHO guidelines and the critical role of immunohistochemical markers in the subclassification of non-small cell lung carcinoma (NSCLC): Moving from targeted therapy to immunotherapy [J]. *Semin Cancer Biol*, 2018, 52 (Pt 1): 103-109
- [2] Nagasaka M, Gadgeel SM. Role of chemotherapy and targeted therapy in early-stage non-small cell lung cancer [J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2018, 18(1): 63-70
- [3] 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
- [4] 李蕾, 陈平, 潘燕, 等. PD-L1 与肿瘤浸润性淋巴细胞在浸润性导管乳腺癌中表达的相关性[J]. *广东医学*, 2019, 40(5): 702-705
- [5] Haffner M C, Guner G, Taheri D, et al. Comprehensive evaluation of PD-L1 expression in primary and metastatic prostate cancer [J]. *Am J Pathol*, 2018, 188(6): 1478-1485
- [6] Jeong B, Kim HR, Choi NS, et al. Role of thyroid transcription factor-1 in transcriptional regulation of heme oxygenase-1 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 496(1): 147-152
- [7] Rodríguez-Zarco E, Vallejo-Benítez A, Umbría-Jiménez S, et al. Immunohistochemical study of the neural development transcription factors (TTF1, ASCL1 and BRN2) in neuroendocrine prostate tumours [J]. *Actas Urol Esp*, 2017, 41(8): 529-534
- [8] Yoshimura K, Inoue Y, Mori K, et al. Distinct prognostic roles and heterogeneity of TTF1 copy number and TTF1 protein expression in non-small cell lung cancer[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2017, 56 (7): 570-581
- [9] Kokotos AC, Harper CB, Marland JRK, et al. Synaptophysin sustains presynaptic performance by preserving vesicular synaptobrevin-II levels[J]. *J Neurochem*, 2019, 151(1): 28-37
- [10] Pal SK, He M, Chen L, et al. Synaptophysin expression on circulating tumor cells in patients with castration resistant prostate cancer undergoing treatment with abiraterone acetate or enzalutamide[J]. *Urol Oncol*, 2018, 36(4): 162. e1-162. e6
- [11] Tudoraşcu DR, Pirici D, Târtea EA, et al. Synaptophysin expression as prognostic factor for survival in colorectal carcinomas [J]. *Rom J Morphol Embryol*, 2017, 58(4): 1409-1415
- [12] 曾赞, 王昕炜, 尹必俭, 等. VEGF、P-ACC、LKB1 在非小细胞肺癌组织中的表达及意义[J]. *现代生物医学进展*, 2018, 18(23): 70-75
- [13] 吴炳群, 魏慎海, 田进涛, 等. 不同转移部位的非小细胞肺癌患者的生存时间比较[J]. *中国肺癌杂志*, 2019, 22(2): 105-110
- [14] Duma N, Santana-Davila R, Molina JR. Non-Small Cell Lung Cancer: Epidemiology, Screening, Diagnosis, and Treatment [J]. *Mayo Clin Proc*, 2019, 94(8): 1623-1640
- [15] Jiao S, Xia W, Yamaguchi H, et al. PARP Inhibitor Upregulates PD-L1 Expression and Enhances Cancer-Associated Immunosuppression[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(14): 3711-3720
- [16] Almozayn S, Colak D, Mansour F, et al. PD-L1 promotes OCT4 and Nanog expression in breast cancer stem cells by sustaining PI3K/AKT pathway activation[J]. *Int J Cancer*, 2017, 141(7): 1402-1412
- [17] Maruse Y, Kawano S, Jinno T, et al. Significant association of increased PD-L1 and PD-1 expression with nodal metastasis and a poor prognosis in oral squamous cell carcinoma [J]. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2018, 47(7): 836-845
- [18] Liu S, Chen S, Yuan W, et al. PD-1/PD-L1 interaction up-regulates MDR1/P-gp expression in breast cancer cells via PI3K/AKT and MAPK/ERK pathways[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(59): 99901-99912
- [19] Hou T, Zhou L, Wang L, et al. Leupaxin Promotes Bladder Cancer Proliferation, Metastasis, and Angiogenesis Through the PI3K/AKT Pathway[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 47(6): 2250-2260
- [20] Wang Z, Tan F. The blockade of PD-1/PD-L1 pathway promotes the apoptosis of CD19+ CD25+ Bregs and suppresses the secretion of IL-10 in patients with allergic rhinitis [J]. *Scand J Immunol*, 2020, 91 (2): e12836
- [21] Jiang N, Dai Q, Su X, et al. Role of PI3K/AKT pathway in cancer: the framework of malignant behavior [J]. *Mol Biol Rep*, 2020, 47 (6): 4587-4629
- [22] Li M, Zheng W, Wei J, et al. Thyroid transcription factor-1 promotes lymph node metastasis by inducing lymphangiogenesis in ovarian carcinoma[J]. *Pathol Res Pract*, 2017, 213(9): 1054-1058
- [23] Altorki NK, Markowitz GJ, Gao D, et al. The lung microenvironment: an important regulator of tumour growth and metastasis[J]. *Nat Rev Cancer*, 2019, 19(1): 9-31
- [24] Zamboni M, Civitareale D. TTF-1/Nkx2.1 functional connection with mutated EGFR relies on LRIG1 and β -catenin pathways in lung cancer cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 505 (4): 1027-1031
- [25] Skirnisdottir I, Åkerud H, Seidal T. Clinical significance of growth factor receptor EGFR and angiogenesis regulator VEGF R2 in patients with ovarian cancer at FIGO stages I-III[J]. *Int J Oncol*, 2018, 53 (4): 1633-1642
- [26] Manzo A, Montanino A, Carillio G, et al. Angiogenesis Inhibitors in NSCLC[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(10): 2021
- [27] Tumeh PC, Hellmann MD, Hamid O, et al. Liver Metastasis and Treatment Outcome with Anti-PD-1 Monoclonal Antibody in Patients with Melanoma and NSCLC [J]. *Cancer Immunol Res*, 2017, 5(5): 417-424
- [28] Nam RK, Benatar T, Amemiya Y, et al. MicroRNA-652 induces NED in LNCaP and EMT in PC3 prostate cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(27): 19159-19176
- [29] Zhong JY, Cui RR, Lin X, et al. Aberrant DNA methylation of synaptophysin is involved in adrenal cortisol-producing adenoma[J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11(14): 5232-5245
- [30] Morgan AE, Davies TJ, Mc Auley MT. The role of DNA methylation in ageing and cancer[J]. *Proc Nutr Soc*, 2018, 77(4): 412-422