

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.19.005

B7-H1 和 B7-H4 在口腔鳞状细胞癌组织中的表达及临床意义 *

王海涛 静广平 田 兵 俞 晴 钟克涛 胡腾龙[△]

(哈尔滨医科大学口腔医学院口腔外科二病房 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要 目的:探讨口腔鳞状细胞癌(Oral Squamous Cell Carcinoma, OSCC)中 B7-H1 和 B7-H4 的表达及其临床意义,并为 OSCC 的临床诊断、治疗、判断预后及预防等提供依据。**方法:**采用免疫组织化学 S-P 法检测 B7-H1 及 B7-H4 在 60 例 OSCC 及 20 例非肿瘤患者正常口腔黏膜组织(NOM)中的表达情况,分析两者与 OSCC 临床病理特征的相关性。**结果:**B7-H1 在 OSCC 组织中表达显著高于在 NOM 组织中表达(29 例,48.3% v 4 例,20%, $\chi^2=4.969$, $P<0.05$);B7-H4 在 OSCC 组织中表达亦显著高于在 NOM 组织中表达(31 例,51.7% v 5 例,25%, $\chi^2=4.310$, $P<0.05$)。B7-H1 与 B7-H4 在 OSCC 组织的表达都与 TNM 分期、淋巴结转移和肿瘤分化程度显著相关($P<0.05$),而与年龄、性别及肿瘤直径大小等无关。OSCC 组织中 B7-H1 和 B7-H4 的高表达呈显著性正相关性($\chi^2=5.613$, $P<0.05$),60 例组织中 B7-H1 和 B7-H4 共表达现象有 11 例(18.3%),NOM 中未发现两者共表达现象。**结论:**B7-H1 和 B7-H4 过表达与 OSCC 发生、发展及预后有关,可以作为预后指标。

关键词:口腔鳞状细胞癌;B7-H1;B7-H4;免疫组织化学

中图分类号:R-33;R739.8 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2018)19-3623-05

Expression and Clinical Significance of B7-H1 and B7-H4 in Oral Squamous Cell Carcinoma Tissues*

WANG Hai-tao, JING Guang-ping, TIAN Bing, YU Qing, ZHONG Ke-tao, HU Teng-long[△]

(Department of Oral Surgery Affiliated Stomatology Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT Objective: To explore the expression of B7-H1 and B7-H4 in Oral Squamous Cell Carcinoma (OSCC) and its clinical significance, and provide the basis for clinical diagnosis, treatment, prognosis and prevention of OSCC. **Methods:** Using immunohistochemical S - P method to detect B7 - H1 and B7 - H4 in 60 patients with OSCC and 20 cases of tumor expression innormal oral mucosa tissues (NOM), and the correlation with clinical pathological characteristics of OSCC are analyzed. **Results:** The expression of B7-H1 in OSCC was significantly higher than that in the NOM group (29 cases, 48.3% v 4, 20%, $\chi^2=4.969$, $P<0.05$). The expression of B7-H4 in OSCC was also significantly higher than that in the NOM group (31 cases, 51.7% v 5, 25%, $\chi^2=4.310$, $P<0.05$). The expression of B7-H1 and B7-H4 in OSCC was significantly correlated with TNM staging, lymph node metastasis and tumor differentiation($P<0.05$), regardless of age, sex and tumor diameter. The high expression of B7-H1 and B7-H4 in OSCC tissues showed significant positive correlation ($\chi^2=5.613$, $P<0.05$). There were 11 cases (18.3%) in the total expression of B7-H1 and B7-H4 in the 60 cases, and no common expression was found in NOM. **Conclusion:** B7-H1 and B7-H4 overexpression are associated with the occurrence, development and prognosis of OSCC, which can be used as prognostic indicators.

Key words: Oral squamous cell carcinoma; B7 - H1; B7 - H4; Immunohistochemistry

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R739.8 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)19-3623-05

前言

头颈部鳞状细胞癌(Head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC)发病率在全身恶性肿瘤中位居第六,其中 80%以上的口腔颌面部恶性肿瘤为口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)^[1]。近年来 OSCC 的诊断、治疗与发病机制研究方面取得了一定的进步,但是每年确诊为 OSSS 的病例

患者死亡率约 50%,生存率仍没有明显提高。寻找与 OSCC 发生发展的相关基因,对 OSCC 进行早期的诊断、治疗及预防具有重要意义。

肿瘤的发生和转移与肿瘤细胞所处的内外环境有着密切关系。肿瘤微环境(tumor microenvironment)^[2]是肿瘤在其发生和发展过程中所处的内环境,其中浸润的免疫细胞如 T 淋巴细胞是机体识别与攻击肿瘤细胞发挥免疫防御的效应细胞^[3]。近

* 基金项目:黑龙江省应用技术与开发计划项目(GA14C101-10)

作者简介:王海涛(1990-),硕士研究生,住院医师,研究方向:口腔肿瘤的发生发展机制及临床治疗,电话:0454-85553927, E-mail: 1286956757@qq.com

[△] 通讯作者:胡腾龙(1963-),硕士生导师,教授,主要研究方向:口腔肿瘤的发生发展机制及临床治疗, E-mail: flylong_26@sina.com

(收稿日期:2018-02-28 接受日期:2018-03-23)

年来研究表明,在肿瘤逃逸过程中协同刺激分子作为 T 淋巴细胞活化的第二信号起着非常重要的作用。B7-H1 与 B7-H4 作协同刺激分子 B7 家族中的负性刺激分子在抑制 T 淋巴细胞活化,导致肿瘤细胞逃逸过程中起着重要作用^[4]。B7-H1 与其受体 PD-1、CD-28 结合,降低肿瘤细胞免疫原性,诱导 CTL 凋亡,从而促使免疫细胞发生逃逸^[5]。B7-H4 作为 B7 家族中第一个 GPI 偶联蛋白,是 B7 家族最新的成员,可以通过抑制 T 细胞增殖、T 细胞活性和细胞因子如 IL-2 分泌等途径达到抑制免疫应答作用^[6]。

1 材料与方法

1.1 临床资料

参考 WHO 组织学分类标准,以病理诊断为依据,收集哈尔滨医科大学附属口腔医院 2015 至 2017 年住院的 OSCC 患者共 60 例,所有患者此前均无手术、放疗及其他抗肿瘤治疗史,剔除伴有出血、坏死严重或蜡块偏小连续切片易漏出肿瘤影响免疫组化者。60 例 OSCC 标本中,男性 16 例,女性 44 例,中位年龄 61 岁;肿瘤直径 >4 cm 27 例,≤ 4 cm 33 例;T1 期 18 例,T2 期 26 例,T3-T4 期 16 例;高分化鳞癌 34 例,中-低分化鳞癌 26 例;淋巴结转移 28 例,无转移 32 例。非肿瘤患者的正常口腔黏膜组织标本 20 例。

1.2 主要试剂

兔抗人 B7-H1 抗体 (bs-10159R),兔抗人 B7-H4 抗体 (bs-0673R)、S-P 试剂盒及 DAB 显色试剂盒均购于哈尔滨博士德生物技术有限公司。

1.3 实验方法

组织标本离体后均经 10% 中性福尔马林固定,常规石蜡

包埋,4 μm 厚连续切片,常规 HE 染色观察并确认病理学分型;免疫组织化学 S-P 法染色,操作步骤按 S-P 试剂盒说明书进行,DAB 显色,以磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗作为阴性对照,以已知 OSCC 切片为阳性对照。

1.4 结果判定

阳性细胞表现为细胞膜或细胞质上出现棕褐色或棕黄色颗粒。结果评价参照 Pluot,杨军^[4]等半定量积分方法,按阳性细胞百分比及染色程度分级评分:每张切片随机选取 5 个不重叠的肿瘤组织区域,高倍镜下(× 400)计数每一百个细胞中癌细胞所占百分比,取 5 个区域癌细胞所占百分比的平均数作为阳性肿瘤比,以此进行分级:≤ 10% 为 1,11%-50% 为 2,51%-75% 为 3,>75% 为 4 分,阴性则为 0;按染色强度分级:棕褐色为 3,棕黄色为 2,浅黄色为 1,无着色为 0。将两分级乘积作为总积分,0-1(-),2-3(±),4-5(+),6-7(++),≥ 8(+++)。((+)和(++))在本实验中定义为阳性,(-)、(±)与(+)定义为阴性。

1.5 统计学处理

采用 SPSS17.0 软件,分组数据进行 χ^2 检验,相关分析采用 Spearman 方法,差异性检验标准为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 B7-H1 与 B7-H4 在 OSCC 中的表达

B7-H1、B7-H4 主要表达于细胞膜与细胞质。B7-H1 在 OSCC 中的阳性表达率为 48.3%(29/60),在 NOM 中低表达 20%(4/20),两组间表达具有显著性差异 ($\chi^2=4.969, P < 0.05$) (表 1,图 A、B);B7-H4 在 OSCC 中的阳性表达率为 51.7%(31/60),在 NOM 中低表达 25%(5/20) (表 1,图 C、D),两组间表达亦具有显著性差异($\chi^2=4.310, P < 0.05$)。

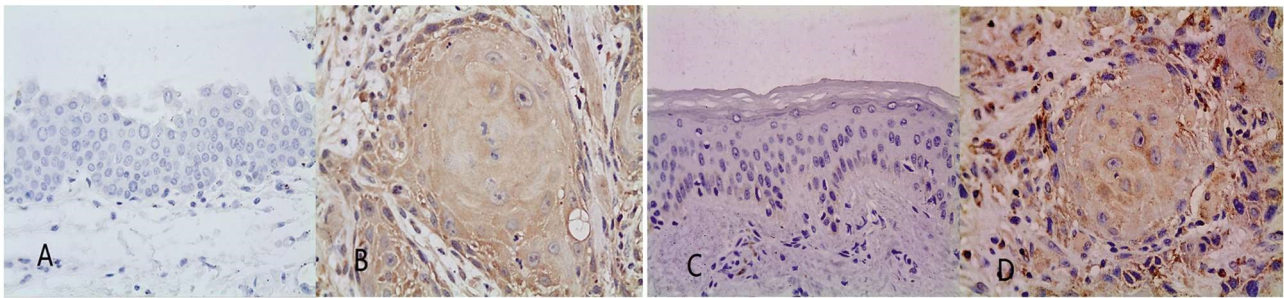


图 1 B7-H1、B7-H4 在正常黏膜与 OSCC 组织中的表达

Fig.1 The expression of B7-H1, B7-H4 in normal mucosal and OSCC tissues

图 A B7-H1 在正常口腔黏膜组织中的表达 (SP 法 × 400); 图 B B7-H1 在 OSCC 组织中的表达 (SP 法 × 400); 图 C B7-H4 在正常口腔黏膜组织中的表达 (SP 法 × 400); 图 D B7-H4 在 OSCC 组织中的表达 (SP 法 × 400)。

Fig A expression of B7-H1 in normal oral mucosa (SP × 400); Fig B expression of B7-H1 in OSCC (SP × 400); Fig C expression of B7-H4 in normal oral mucosa (SP × 400); Fig D expression of B7-H4 in OSCC (SP × 400).

2.2 B7-H1 与 B7-H4 的表达与 OSCC 临床病理特征的关系

OSCC 组织中 B7-H1 的表达在患者年龄、性别、肿瘤大小等组间的差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 与 TNM 分期 ($\chi^2=7.651, P < 0.05$)、病理分化程度 ($\chi^2=4.310, P < 0.05$)、有无淋巴结转移 ($\chi^2=11.214, P < 0.05$) 有关。B7-H4 的表达在患者年龄、性别、肿瘤大小等组间的差异亦无统计学意义 ($P > 0.05$); 与 TNM 分期 ($\chi^2=7.921, P < 0.05$)、病理分化程度 ($\chi^2=6.612, P < 0.05$)、

有无淋巴结转移 ($\chi^2=11.446, P < 0.05$) 有关。B7-H1 与 B7-H4 阳性表达组中 IRS ≤ 3 组与 > 3 组差异无统计学意义 ($P > 0.05$) (表 2)。

2.3 B7H1 与 B7H4 表达的相关性

在 OSCC 患者中,B7-H1 和 B7-H4 蛋白同时表达阳性的有 11 例,同时表达阴性的 11 例,Spearman 相关性分析显示,OSCC 中 B7-H1 和 B7-H4 的表达呈正相关 ($r=0.933, P < 0.05$) (表 3)。

表 1 B7-H1 和 B7-H4 在正常口腔黏膜组织及口腔鳞状细胞癌中的表达

Table 1 Expression of B7-H1 and B7-H4 in normal oral mucosa and oral squamous cell carcinoma

	B7-H1		χ^2	P value	B7-H4		χ^2	P value
	-	+			-	+		
NOM	16(80.0%)	4(20.0%)	4.969	<0.05	15(75.0%)	5(25.0%)	4.310	<0.05
OSCC	31(51.7%)	29(48.3%)			29(48.3%)	31(51.7%)		

表 2 60 例 OSCC 患者中 B7-H1 和 B7-H4 的表达与临床病理特征的关系

Table 2 Association of Clinicopathological Factors with B7-H1 and B7-H4 Expression from 60 Patients

Variable	B7-H1				P value	B7-H4		x ²	P value
	-	+	-	+					
Gender									
male	16	7	9	0.548	0.563	7	9	0.184	0.774
female	44	24	20			22	22		
Age (yrs.)									
≥ 60	26	15	11	0.667	0.446	14	12	0.558	0.603
<60	34	16	18			15	19		
tumor size(cm)									
>4	27	15	12	0.297	0.614	16	11	2.347	0.194
≤ 4	33	16	17			13	20		
Clinical stage									
I	18	13	5	7.561	0.022	12	6	7.921	0.019
II	26	14	12			13	13		
III-IV	16	4	12			4	12		
Tumor differentiation									
Well	34	15	19	4.310	<0.001	11	23	6.612	0.001
Moderate-ly/Poorly	26	16	10			18	8		
Lymph node metastasis									
No	32	23	9	11.214	0.002	22	10	11.446	0.001
Yes	28	8	20			7	21		

表 3 口腔鳞状细胞癌中 B7-H1 与 B7-H4 表达的相关性

Table 3 Correlation between B7-H1 and B7-H4 expression in OSCC

B7-H1	B7-H4		R	P value
	+	-		
+	11	18	0.933	<0.001
-	20	11		

3 讨论

肿瘤细胞所在的内外环境对肿瘤的发生、发展以及转移有着重要的影响。浸润在肿瘤内外环境中的免疫细胞是机体识别与攻击肿瘤细胞并发挥免疫防御的效应细胞,其中最重要的免

疫效应细胞是内外环境中浸润的大量抗肿瘤免疫 T 细胞,这些 T 淋巴细胞最主要的功能是免疫监视作用,可以早期清除肿瘤细胞。然而,恶性程度高的肿瘤细胞却可以通过抑制细胞免疫反应来逃避这种免疫监视^[7]。

协同刺激分子(costimulatory molecules)是淋巴细胞激活过

程中除需 MHC 限制的抗原特异性第一信号外,还需要的第二个信号,包括如 CD28 和 B7 家族等一些可溶性分子或细胞表面分子,T 淋巴细胞的活化需要第一信号 TCR 与第二信号协同刺激分子共同作用^[8]。协同刺激分子不仅可以通过辅助激活 T 淋巴细胞,上调免疫反应,还可以通过负性刺激分子抑制 T 淋巴细胞活化,下调免疫反应,从而达到精准调控免疫反应的效果。TNF 家族、细胞因子家族和 B7 家族是组成协同刺激分子的 3 个家族,其中 B7 家族作为唯一从 APC 传递信号给 T 细胞的协同刺激分子在 T 淋巴细胞活化以及抑制过程起着非常重要的作用^[9]。B7 家族成员与其相应配体在癌症的发生、发展以及转移中都起着一定的作用,目前作为负性协同刺激分子的 B7-H1 和 B7-H4 在口腔鳞癌组织中表达的研究并不多,这两个分子在口腔鳞癌发生和发展以及转移中的生物学作用机制仍需要进一步研究。

B7-H1 和 B7-H4 是包括胞浆区、胞外区和跨膜区的大小为 50~70 kDa 的 I 型跨膜糖蛋白免疫球蛋白超家族。本实验数据显示,在 OSCC 中 B7-H1 阳性表达率为 48.3%(29/60),高于 NOM 组织的 20%(4/20),差异具有统计学差异 ($P<0.05$)。B7-H1 阳性表达率均与 OSCC 分化程度、TNM 分期及有无淋巴结转移相关($P<0.05$),且阳性率随肿瘤分化程度增高、TNM 分期的进展及淋巴结转移的出现而升高。B7-H1 介导肿瘤免疫逃逸最主要的途径是与其受体 PD-1、CD80 相互作用,通过抑制活化性细胞因子的分泌的同时促进抑制性细胞因子的分泌,抑制 T 细胞的增殖,抑制细胞毒性 T 细胞的杀伤活性,最终达到使肿瘤抗原特异性 T 细胞凋亡的结果。B7-H1 不仅能与 PD-1 结合抑制 Th 细胞、B 细胞的增殖分化及细胞因子的分泌,而且还能与非 PD-1 受体结合,在 T 细胞效应阶段诱导特异性的细胞毒性 T 细胞发生凋亡,在控制 T 细胞的激活、增殖、反应和细胞凋亡中起着非常关键的作用,在此同时减弱机体的体液免疫应答和细胞免疫应答,使肿瘤患者整体免疫力下降^[4]。B7-H1 与 CD80 相互作用,促进 Tcon 细胞的增殖、IL-2 的分泌和 PD-1 的表达,从而引发了肿瘤细胞通过 B7H1/PD-1 通路介导的免疫逃逸,而 IL-10 等抑制性细胞因子分泌增加,可以使 Th1 细胞亚群的分化受抑制,从而抑制体液免疫和细胞免疫^[5]。Zhao H 等人研究发现,在小鼠胸腺淋巴瘤模型中,mir-143 和 B7-H1 蛋白的表达之间存在负相关,可以通过增加 mir-143 对 B7H1 的抑制,来成为一种新的 B7-H1 高表达肿瘤的治疗方法,例如用于治疗放射诱导的胸腺淋巴瘤^[6]。Zhi Y 等研究表明,在结直肠癌中 B7-H1 可能与 CD133+ 共同作用,导致肿瘤细胞逃逸^[11]。Shen JK 等在骨源性肉瘤的研究中证明,在人类的骨源性肉瘤样本中,B7-H1 表达与 TILs 是正相关的,可以通过抑制细胞毒性 CD8 (+)T 细胞的活化来介导免疫反应。针对 PD1/B7-L1 通路的多种药物的开发可能是骨源性肉瘤临床试验的一种最新的免疫治疗策略^[12]。Cunha LL 等人研究表明 B7-H1 可能与甲状腺癌的转移有关^[13]。更多文献表明,B7-H1 在肺癌^[14]、原发性神经系统淋巴瘤^[15]、胰腺癌^[16]等多种肿瘤细胞高表达,并与其发生、发展以及转移密切相关。通过抑制 PD1 通路,或者抑制因子沉默 B7-H1 表达,可能将为肿瘤治疗提供一个新的免疫治疗策略^[17]。

B7-H4 是 B7 家族另一个重要的负性调控分子,是家族中第一个 GPI 偶联蛋白。在肺、肌肉、胃、肝脏及心脏等多种组织中都能检测到 B7-H4 的 mRNA,但只能在少数组织中检测到 B7-H4 蛋白^[18]。本实验数据显示,在 OSCC 中 B7-H4 阳性表达率为 51.7%(31/60),高于 NOM 组织的 25%(5/20),差异具有统计学差异($P<0.05$)。B7-H4 阳性表达率与 OSCC 分化程度、TNM 分期及有无淋巴结转移相关($P<0.05$),且阳性率随肿瘤分化程度增高、TNM 分期的进展及淋巴结转移的出现而升高。B7-H4 阳性表达水平与患者的性别、年龄及肿瘤直径的大小无关($P>0.05$)。B7-H4 可以通过抑制 T 细胞增殖、抑制 T 细胞活性、抑制细胞因子如 IL-2 分泌等途径达到抑制免疫应答作用。Yuan L 等人采用了反向转录酶链反应和流式细胞仪技术,从患者和小鼠肿瘤模型中提取的 HCC 组织中,采用免疫组织化学方法对 B7-H4 蛋白表达水平进行了分析,发现了 B7-H4 对 HCC 的发生、发展与转移起着重要的作用^[19]。Liu L 等人实验表明,在导管癌中,B7-H4 可能通过释放 IL-6 与 IL-10,介导肿瘤细胞免疫逃逸^[20]。Hong B,Qian Y 等人通过研究 HBV 感染肝癌患者发现,B7-H4 可能与 HBV 相关肝癌进展相关,B7-H4 可能参与 HBV 相关肝癌的发生^[21]。同时有文献表明 B7-H4 在肺癌^[22]、卵巢癌^[23]、乳腺癌^[24]、肾癌^[25]、恶性黑色素瘤^[26]中均高表达,是胰腺癌^[27]、宫颈癌^[28]中是独立的预后因素,B7-H4 在炎症反应中同样起着重要的作用^[29]。

结合以上数据,表明 B7-H1 和 B7-H4 的高表达对 OSCC 的发生、发展、侵袭转移及不良预后密切相关,并且 B7-H1 与 B7-H4 正相关 ($r=0.933, P<0.05$),但是具体关系暂不明确,B7-H1 和 B7-H4 表达的相关机制尚需进一步研究和探讨。通过沉默 B7-H1 和 B7-H4 的表达,为口腔鳞状细胞癌的基因诊断及靶向治疗提供一个新思路。

参考文献(References)

- [1] Qiu Y, Li C, Wang Q, et al. Tanshinone IIA induces cell death via Beclin-1-dependent autophagy in oral squamous cell carcinoma SCC-9 cell line[J]. Cancer medicine, 2018[Epub ahead of print]
- [2] Abadjian, MZ, Edwards, et al. Imaging, the Tumor Microenvironment [J]. Advances in experimental medicine and biology, 2017, 1036: 229-257
- [3] Gee MH, Han A, Lofgren SM, et al. Antigen Identification for Orphan T Cell Receptors Expressed on Tumor-Infiltrating Lymphocytes [J]. Cell, 2017
- [4] Luo Q, Ye J, Zeng L, et al. Elevated expression of PD-1 on T cells correlates with disease activity in rheumatoid arthritis [J]. Molecular medicine reports, 2018, 17(2): 3297- 3305
- [5] Ohaegbulam KC, Liu W, Jeon H, et al. Tumor-expressed immune checkpoint B7x promotes cancer progression and antigen-specific CD8 T cell exhaustion and suppressive innate immune cells[J]. Oncotarget, 2017, 8(47): 82740-82753
- [6] Knutson SK, Warholik NM, Wigle TJ, et al. Durable tumor regression in genetically altered malignant rhabdoid tumors by inhibition of methyltransferase EZH2[J]. PNAS, 2013, 110(19): 7922-7927
- [7] Wang Q, Hu B, Hu X, et al. Tumor Evolution of Glioma-Intrinsic Gene Expression Subtypes Associates with Immunological Changes in the Microenvironment[J]. Cancer cell, 2018, 33(1): 152

- [8] Hansen JD, Du Pasquier L, Lefranc MP, et al. The B7 family of immunoregulatory receptors: a comparative and evolutionary perspective[J]. *Molecular immunology*, 2009, 46(3): 457-472
- [9] Huang BY, Zhan YP, Zong WJ, et al. The PD-1/B7-H1 pathway modulates the natural killer cells versus mouse glioma stem cells [J]. *PloS one*, 2015, 10(8): e0134715
- [10] Zhao H, Cheng Y, Dong S, et al. Down regulation of miR-143 promotes radiation - Induced thymic lymphoma by targeting B7H1 [J]. *Toxicology letters*, 2017, 280: 116-124
- [11] Zhi Y, Mou Z, Chen J, et al. B7H1 Expression and Epithelial-To-Mesenchymal Transition Phenotypes on Colorectal Cancer Stem-Like Cells[J]. *PloS one*, 2015, 10(8): e0135528
- [12] Shen JK, Cote GM, Choy E, et al. Programmed cell death ligand 1 expression in osteosarcoma [J]. *Cancer immunology research*, 2014, 2(7): 690- 698
- [13] Cunha LL, Marcello MA, Morari EC, et al. Differentiated thyroid carcinomas may elude the immune system by B7H1 upregulation[J]. *Endocrine-related cancer*, 2013, 20(1): 103-110
- [14] Du W, Zhu J, Chen Y, et al. Variant SNPs at the microRNA complementary site in the B7-H1 3'-untranslated region increase the risk of non-small cell lung cancer [J]. *Molecular medicine reports*, 2017, 16(3): 2682-2690
- [15] Berghoff AS, Ricken G, Widhalm G, et al. PD1 (CD279) and PD-L1 (CD274, B7H1) expression in primary central nervous system lymphomas (PCNSL)[J]. *Clinical neuropathology*, 2014, 33(1): 42-49
- [16] Wang F, Ma J, Liu J, et al. Synthetic small peptides acting on B7H1 enhance apoptosis in pancreatic cancer cells [J]. *Molecular medicine reports*, 2012, 6(3): 553-557
- [17] Kline J. Clinical development of mAbs to block the PD1 pathway as an immunotherapy for cancer [J]. *Current opinion in investigational drugs (London, England: 2000)*, 2010, 11(12): 1354-1359
- [18] Tsiaousidou A, Lambropoulou M, Chatzitheoklitos E, et al. B7H4, HSP27 and DJ-1 molecular markers as prognostic factors in pancreatic cancer[J]. *Pancreatology : official journal of the International Association of Pancreatology (IAP)*, 2013, 13(6): 564-569
- [19] Yuan L, Dong L, Yu G, et al. Aberrant expression of B7-H4 may contribute to the development of hepatocellular carcinoma [J]. *Molecular medicine reports*, 2016, 14(6): 5015-5024
- [20] Liu L, Li D, Chen S, et al. B7-H4 expression in human infiltrating ductal carcinoma-associated macrophages [J]. *Molecular medicine reports*, 2016, 14(3): 2135-2142
- [21] Hong B, Qian Y, Zhang H, et al. Expression of B7-H4 and hepatitis B virus X in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma [J]. *World journal of gastroenterology*, 2016, 22(18): 4538-4546
- [22] Choi H, 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): 4650-4655
- [23] Storniolo AM, Enas NH, Brown CA, et al. An investigational new drug treatment program for patients with gemcitabine: results for over 3000 patients with pancreatic carcinoma [J]. *Cancer*, 1999, 85: 1261-1268
- [24] Mugler, KC, Singh, M, Tringler, B, et al. B7-h4 expression in a range of breast pathology: correlation with tumor T-cell infiltration[J]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2007, 15: 363-370
- [25] Sun YP, Wang YS, Zhao JQ, et al. B7-H3 and B7-H4 expression in non-small-cell lung cancer[J]. *Lung Cancer*, 2006, 53: 143-151
- [26] 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 USA*, 2006, 103: 10391-10396
- [27] Tsiaousidou A, Tsaroucha AK, Lambropoulou M, et al. Increased B7H4 tissue expression correlates with high CA199 serum levels and a worse prognosis of pancreatic adenocarcinoma [J]. *Clinical and experimental medicine*, 2016, 16(3): 351-356
- [28] Galazka K, Opławski M, Windorbska W, et al. The immunohistochemical analysis of antigens such as RCAS1 and B7H4 in the cervical cancer nest and within the fibroblasts and macrophages infiltrating the cancer microenvironment [J]. *American journal of reproductive immunology (New York, N.Y.: 1989)*, 2012, 68(1): 85-93
- [29] Sun Q, Li F, Li H, et al. Amniotic fluid stem cells provide considerable advantages in epidermal regeneration: B7H4 creates a moderate inflammation microenvironment to promote wound repair [J]. *Scientific reports*, 2015, 5: 11560