

• 综 述 •

程序性死亡受体 1 的检测方法及其在乳腺癌中表达的研究进展

孙诗雨, 张淑群*, 张寅斌, 靳耀锋, 赵茜茜, 吕 伟

西安交通大学第二附属医院 肿瘤病院, 陕西 西安 710004

摘 要: 近年来, 肿瘤的免疫治疗已成为继传统手术、放疗、化疗、内分泌治疗和靶向药物治疗手段之后新的治疗方法, 尤其以程序性死亡受体 1 (PD-1) /程序性死亡配体 1 (PD-L1) 位靶点的免疫检查点抑制治疗使得非小细胞肺癌、黑色素瘤等恶性实体肿瘤患者获得了有效持久的临床获益。PD-L1 的检测是免疫检查点抑制剂治疗的关键环节, 但在乳腺癌中的其检测方法和判定标准尚未统一。就 PD-L1 的检测方法以及其在乳腺癌各分子分型中的表达进行综述。

关键词: 程序性死亡受体 1; 程序性死亡配体 1; 乳腺癌; 免疫治疗; 分子分型

中图分类号: R966 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2021)03-0621-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2021.03.041

Advance of detection of PD-L1 and its expression in breast cancer

SUN Shi-yu, ZHANG Shu-qun, ZHANG Yin-bin, JIN Yao-feng, ZHAO Xi-xi, LÜ Wei

Cancer Hospital, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, China

Abstract: In recent years, tumor immunotherapy has become a new anti-tumor therapy after surgery, radiotherapy, chemotherapy, endocrinotherapy, and targeted drug therapy. In particular, many of patients with non-small cell lung cancer, melanoma and other malignant solid tumors have gained effective and lasting clinical benefits from the immune-checkpoint inhibition therapy which targeting for PD-1/PD-L1. The detection of PD-L1 is a key link in the treatment of immune checkpoint inhibitors, but its detection methods and criteria in breast cancer have not been unified. This paper reviewed the detection methods of PD-L1 and its expression in subtypes of breast cancer.

Key words: PD-L1; PD-L1; breast cancer; immunotherapy; subtypes

乳腺癌是目前女性最常见的恶性肿瘤, 严重威胁女性健康, 尤其对于晚期乳腺癌、恶性程度高的三阴性乳腺癌, 亟需探索除传统综合治疗方法外新的治疗手段。近年来, 免疫检查点的发现开启了恶性肿瘤治疗的新纪元^[1-2], 以程序性死亡受体 1 (PD-1) /程序性死亡配体 1 (PD-L1) 为靶点的免疫检查点抑制治疗临床上已经应用于非小细胞肺癌、黑色素瘤等多种实体肿瘤中, 明显提高了患者的总生存。根据其他瘤种使用 PD-1/PD-L1 抑制剂的临床经验发现, PD-L1 的检测是免疫检查点抑制剂治疗的关键环节, 但在乳腺癌中的检测方法、判定标准尚未统一。本文通过对 PD-L1 的检测方法以及其在乳

腺癌各分子分型中的表达与临床疗效进展进行阐述, 为乳腺癌获益人群的筛选提供思路和指导。

1 PD-1/PD-L1 通路

1.1 PD-1/PD-L1 的生物学功能

PD-1 (又称 CD279) 是一种免疫抑制性受体, 属于 CD28 家族成员, 是由 268 个氨基酸组成的 I 型跨膜蛋白, 胞内区的 C 端和 N 端氨基酸残基有 2 个独立的磷酸化作用位点, 分别为免疫受体酪氨酸抑制基序 (ITIM) 和免疫受体酪氨酸转换基序 (ITSM)^[3-4]。ITSM 是 PD-1 发挥免疫抑制效应的重要结构位点。PD-1 在静息的 T 细胞上低表达或不表达, 主要表达于活化的 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞以

收稿日期: 2020-11-11

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81903856)

作者简介: 孙诗雨, 女, 医师, 硕士。E-mail: 347920275@qq.com

*通信作者: 张淑群 E-mail: shuqun_zhang1971@163.com

及 B 细胞、髓细胞和 NK 细胞上^[5], 同时也表达于调节性 T 细胞, 并能促进调节性 T 细胞的增殖, 抑制免疫应答^[6]。PD-L1 是 PD-1 的主要配体, 属于 1 型跨膜蛋白, 全长 290 个氨基酸, 包含 1 个 IgV 样区、1 个 IgC 样区、1 个跨膜疏水区和 1 个由 30 个氨基酸组成的胞内区^[7]。不同于其他 B7 家族分子, PD-L1 具有负向调节免疫应答的作用。PD-L1 主要表达于多种实体肿瘤细胞表面, 如肺癌、恶性黑色素瘤、卵巢癌、前列腺癌、乳腺癌等^[8], 除在肿瘤细胞表面表达外, PD-L1 也可以表达于肿瘤微环境中的其他细胞, 如肿瘤浸润淋巴细胞 (TILs)、巨噬细胞等^[9]。

PD-1/PD-L1 信号通路是负性免疫检查点, 传达共抑制性信号, 抑制生长因子生成和细胞增殖, 对 T 细胞的活化、负向免疫应答起重要作用。正常机体中, PD-1/PD-L1 信号通路的激活可减少免疫反应对周围组织的损伤, 避免发生自身免疫疾病^[5,10-11]。另一方面, 该通路的激活又可降低肿瘤局部微环境 T 细胞的免疫效应, 从而介导肿瘤免疫逃逸, 促进癌症的进展^[12]。过去认为乳腺癌的免疫原性不如黑色素瘤、肾细胞肿瘤, 传统过继性免疫治疗对其效果不佳^[13], 但随着近年对肿瘤微环境研究的深入, 发现在乳腺肿瘤中, 存在高表达 PD-L1 的 TILs, 显示乳腺癌可能存在以 PD-1/PD-L1 信号通路介导的肿瘤免疫逃逸, 并且促进乳腺肿瘤的生长和侵袭。

1.2 PD-L1 表达与乳腺癌

PD-L1 在乳腺癌中的表达异质性极大, 其表达程度通常与 TILs 的数量和预后不良的临床病理特征 (如年轻患者、导管型、肿瘤肿块较大、ER-、PR-、HER2+、高增殖率和侵袭性分子亚型) 呈正相关。Muenst 等^[14]研究发现 PD-L1 在乳腺癌组织中的表达与 Ki67、HER2 表达呈正相关, 与 ER 表达负相关, 而与 PR 表达无显著相关性。与提示肿瘤细胞增殖活跃 (Ki67) 等指标相关可能是由于高增殖肿瘤细胞的突变率较高, 新抗原的快速出现导致了较高的免疫原性。

在众多临床研究中, PD-L1 的表达也被研究者作为乳腺癌生存预后的指标, 但目前仍存在许多争论。其中一些研究表示 PD-L1 的表达程度与生存率无关^[15], 而 Qin 等^[16]对 870 例患者进行研究发现, PD-L1 高表达的患者无病生存期、无转移存活期、总生存期较无 PD-L1 表达的患者均有所下降, 提示 PD-L1 表达是乳腺癌患者预后不良的一个指标。相

反, 一项对 636 例 I~III 期乳腺癌的研究表明 PD-L1 mRNA 表达与无复发生存期的改善有关^[17]。然而, 鉴于 PD-L1 自身的免疫抑制功能和其与预后不良临床病理特征的相关性, 考虑矛盾可能来源于分子亚型, 当未进行分子亚型分层时, PD-L1 表达在多变量分析中可能会失去其预后预测价值。一项包括了 19 项临床研究的 meta 分析对固有亚型分层后分析, 证实 PD-L1 表达的不良预后影响存在于 luminal A、luminal B 和 HER2 亚型中^[18], 而在一系列限制分子分型为三阴性或基底样型的研究中发现, PD-L1 的表达预测结果具有一致性, 即预示着更长的存活率^[19-21]。在几项新辅助治疗的临床研究中, 无论在 mRNA 水平或蛋白质水平, PD-L1 的高表达都是较好病理反应的独立预测因素^[22-23]。

PD-L1 的免疫抑制功能与其对于三阴性或基底样型患者的良性预后及其新辅助治疗的反应存在着一定的矛盾性, 从生物学上的解释可能是 PD-L1 的表达是强细胞毒性局部免疫反应的标志, 而局部免疫反应本身就是一个良好的预后特征^[24]。事实上, 通过比对“PD-L1 上调”和“非 PD-L1 上调”乳腺肿瘤的基因表达谱, 发现在“PD-L1 上调”组中免疫信号表达更显著^[25], 是强细胞毒性的特征表现, 包括 CD8⁺ T 细胞和其他抗肿瘤免疫分子 ($\gamma\delta$ -T 细胞, NKG2D⁺细胞、树突状细胞、B 细胞等), 虽然这些免疫信号特征与其他免疫抑制分子 (如 IDO、CTLA4) 可能也具有相关性, 但这一特征提示分化的 T 细胞激活方向明显偏向于 TH1 (IL12、IFN 诱导的通路), 使其具有细胞毒性效应功能。而乳腺癌组织中活性 TILs 产生的 IFN γ 可上调 PD-L1 的表达, 尤其是在三阴性或基底样型中, 进一步明确了 PD-L1 对于这两种型患者的良性预测价值。

结合以上临床研究, 无论是判断乳腺癌患者是否可以从 PD-1/PD-L1 免疫治疗中获益, 或是判断乳腺癌患者的预后情况, PD-L1 都是其密切相关的生物标志物, 而进一步明确乳腺癌不同分子分型 PD-L1 的表达情况有助于临床初步筛选免疫治疗的获益人群。

2 PD-L1 的检测方法

2.1 免疫组化

PD-L1 主要以膜性形式 (mPD-L1) 广泛存在于肿瘤细胞和免疫相关细胞, 部分以可溶性形式 (sPD-L1) 存在于血液和胸腔积液^[26]。PD-L1 检测方法包括免疫组织化学技术 (IHC)、酶联免疫吸附

测定 (ELISA)、定量免疫荧光 (IF) 和流式细胞术 (FC) 等, 其中 IHC 以其高效快速的特点在 mPD-L1 检测应用最广泛, 而 ELISA 作为稳定便捷的检测方法在 sPD-L1 占据主要地位^[27]。

目前 PD-L1 的检测以 IHC 为主要方法。美国食品药品监督管理局(FDA)批准了 4 种抗体用于 PD-L1 的非小细胞肺癌相关的标准化检测 (表 1)。这 4 种

检测抗体分别为 DAKO 检测平台的 28-8、22C3 抗体以及 Ventana 检测平台的 SP263、SP142 抗体^[28], 28-8、22C3 抗体主要通过评估肿瘤细胞的染色程度来判断 PD-L1 的表达, 而 SP263、SP142 抗体评估 PD-L1 表达是需要同时鉴定肿瘤细胞、免疫细胞的染色程度。目前已有的常用于乳腺癌病理 PD-L1 表达的抗体包括 SP142、22C3、E1L3N。

表 1 非小细胞肺癌中 PD-L1 检测方法
Table 1 Detection methods of PD-L1 in non-small cell lung cancer

项目	Clone	22C3	28-8	SP263	SP142
Performance	Developer	Dako	Dako	Ventana	Ventana
	Platform	Link 48 Autostainer	Link 48 Autostainer	Benchmark Ultra	Benchmark Ultra
	Detection kit	Envision FLEX	Envision FLEX	Optiview	Optiview
	Amplification	No	No	No	Yes
Interpretation	Scoring	TC	TC	TC	TC and IC
	Staining pattern for positivity	membranous	membranous	membranous ± cytoplasmic	membranous ± cytoplasmic
	Minimum TC number	100	100	100	50 with associated stroma
	Cut-off (proven survival benefit)		≥1%、5%、10%	≥25% (德瓦鲁单抗)、 ≥0% (纳武单抗)	TC≥5%或 IC≥5%
Pharma	免疫检查点抑制剂	派姆单抗	纳武单抗	德瓦鲁单抗	阿特珠单抗
	FDA approval	companion	complementary	complementary	complementary

2.1.1 SP142 SP142 单克隆兔抗用于阿特珠单抗伴随诊断检测, 是目前在文献中观察到使用较多的用于检测乳腺癌组织中 PD-L1 表达水平的抗体。在评估乳腺癌组织中 PD-L1 的表达水平时, 尚未有统一的阳性标准, 如 Guo 等^[29]在使用 SP142 抗体检测三阴性乳腺癌组织 PD-L1 的表达水平时定义阳性标准为肿瘤细胞或免疫细胞染色≥10%, 在 183 例三阴性乳腺癌患者中阳性检出率为 13.7%; Botti 等^[20]在使用 SP142 抗体检测三阴性乳腺癌组织 PD-L1 的表达水平时定义阳性标准为肿瘤细胞膜染色≥10%或 TILs 染色≥10%, 在 238 例三阴性乳腺癌患者中检测发现在病理型为导管癌的患者中 37.1%高表达 PD-L1, 而非导管癌患者中有 21.4%高表达 PD-L1; Dill 等^[30]在使用 SP142 抗体检测不同乳腺癌不同分子分型 PD-L1 表达水平时定义阳性标准为肿瘤细胞膜染色≥1%或间质细胞间质染色>5%, 在 245 例患者肿瘤组织中检测发现 PD-L1 在肿瘤细胞中阳性表达率为 12.2%, 在间质细胞中

为 29%。由此可以发现即便使用同一抗体, 不同的阳性标准仍然会引起 PD-L1 阳性检出率的差异。

2.1.2 22C3 单克隆鼠抗 22C3 是目前各瘤种中最常用的 PD-L1 试剂盒, 主要用于派姆单抗的伴随诊断。目前 FDA 批准使用范围包括非小细胞肺癌、胃或食管交界腺癌、宫颈癌、尿路上皮癌等组织^[31]。22C3 在不同瘤种中 PD-L1 阳性判断标准不同, 在非小细胞肺癌中采用肿瘤比例评分 (TPS) 作为 PD-L1 阳性的判断标准, “即在任何强度下显示部分或完全膜染色的存活肿瘤细胞的百分比, 如果 TPS≥为 1%, 则为 PD-L1 表达; 如果 TPS≥为 50%, 则为 PD-L1 高表达”。在其他癌症 (胃腺癌或胃食管交界腺癌、宫颈癌和泌尿系上皮癌) 中, 需要联合阳性记分 (CPS), “即 PD-L1 染色细胞 (肿瘤细胞、淋巴细胞、巨噬细胞) 除以活肿瘤细胞总数, 乘以 100”。结合目前文献, 22C3 抗体在乳腺癌检测中使用的阳性标准相对较为统一, 即肿瘤细胞或间质细胞染色≥1%即为阳性。

2.1.3 E1L3N E1L3N 兔单克隆抗体是以上提到的抗体中唯一一种非 FDA 批准、非平台依赖,不与特定药理学药物相联系的抗体,但它是最常用的细胞实验抗体之一,其阳性对照组常使用 PD-L1 阳性的 MCF-7 细胞系和 PD-L1 阴性的 NCI-H226 细胞系。综合目前文献, E1L3N 抗体在乳腺癌中使用的阳性标准:肿瘤细胞或免疫细胞染色 $\geq 1\%$ 即为阳性, $1\% \sim 49\%$ 为低表达, $\geq 50\%$ 为高表达。在一项对比使用 22C3、SP263 检测乳腺癌中 PD-L1 表达的研究中显示,总体来说,这 2 种抗体的检测结果是一致的^[32]。Sun 等^[33]在对比 SP142、28-8、E1L3N 抗体检测三阴性乳腺癌中 PD-L1 的表达差异的研究中发现,在 TC 中,当截断值取 1% 时,3 种抗体阳性解读一致性最高,而当截断值取 10% 时,一致性最低。在 IC 中,PD-L1 (E1L3N) 的阳性总表达率最高,而 PD-L1 (SP142) 的阳性总表达率最低。该研究中,PD-L1 (28-8) 与 PD-L1 (E1L3N) 在 TC、IC 中的表达一致率均比 PD-L1 (SP142) 高。

目前在几项比较乳腺癌中免疫组化 PD-L1 抗体的研究发现,SP263、28-8 和 22C3 之间的一致性较高^[34],SP142 一致性较低,无论是评估肿瘤细胞还是免疫细胞,敏感度均低,但因目前阿特珠单抗联合白蛋白紫杉醇方案已被 FDA 批准用于 PD-L1 阳性的晚期三阴性乳腺癌患者,各项关于阿特珠单抗用于乳腺癌的临床研究不断开展,因此推测未来使用 SP142 抗体检测 PD-L1 或成为主流方向,同时 E1L3N 抗体因其非平台依赖,非特定药物联系的优势也被多项临床研究采用。

2.1.4 关于 PD-L1 免疫组化检测的进展 多项临床研究数据均体现了无论是判断乳腺癌患者是否可以从 PD-1/PD-L1 免疫治疗中获益,或是判断乳腺癌患者的预后情况,PD-L1 都是其密切相关的生物标志物。然而,从 2014 年开始,存在一些临床前和临床研究数据表明,患者肿瘤组织中 PD-L1 水平与抗 PD-1/PD-L1 治疗效果不完全一致^[35-38]。根据目前的 PD-L1 检测方法,在许多试验中,PD-L1 阳性(PD-L1+)与 PD-L1 阴性的患者均有可能从免疫治疗中获益^[39-41]。

有学者认为,预测结果的差异可能来源于细胞表面 PD-L1 蛋白的糖基化,糖基化可以通过影响蛋白质的结构及其与其他分子的相互作用,调节许多重要的细胞过程,包括蛋白质的生物合成、定位和功能。PD-L1 的糖基化可能使其多肽抗原无法被

PD-L1 抗体识别,影响样本免疫组化读数,导致出现相互矛盾的预测结果,并且值引起注意的是,细胞表面 N-糖基化 PD-L1 蛋白占观察到的 PD-L1 蛋白相对分子质量的约 52% (17 kD)^[42],因此 Lee 等^[43]推测去除 PD-L1 上的聚糖分子以暴露其多肽抗原有可能提高检测阳性率,提高其作为诊断性生物标志物来预测其对抗 PD-1/PD-L1 疗法的准确性。并且通过大量实验数据证明了 PD-L1 的糖基化阻碍了抗 PD-L1 抗体对其的检测,并可能导致从各种生物测定中出现的差异性结果。通过消化酶去除组织样本中 PD-L1 蛋白的 N-糖基化,可以更精确地评估 PD-L1 水平,以防止临床设置中的假阴性读数。由于细胞表面蛋白经常发生不同程度的 N-糖基化,这种脱糖基化方法可以作为抗体检测前消除结构障碍的一种通用方法。

2.2 RNAscope 技术

RNAscope 技术是一项新型原位杂交技术,可检测完整细胞中的 RNA 分子,不仅可以将信号特异性放大,还使 RNA 分子标志物呈现可视化,其阳性信号呈点状分布,进而可实现定量分析。李莹莹等^[44]通过实验对比了免疫组化和 RNAscope 技术检测非特殊型浸润性乳腺癌中 PD-1、PD-L1 的表达,结果显示两种方法一致性接近 100% ,这一结果为今后临床筛选用药患者的检测方法提供了基础的临床数据。

3 PD-L1 在乳腺癌不同分子分型中的表达

国内外关于分析 PD-L1 在治疗前原发性浸润性乳腺癌样本中的表达情况至今已十余年,但其结果因以下差异而难以比较:(1)不同研究乳腺癌组织样本来源于不同的人群,且样本量差异大,由数十例到上千例样本量不等;(2)不同的分析水平(蛋白质、mRNA);(3)不同的检测技术(IHC、原位杂交、DNA 微阵列),针对 IHC 的不同抗体,使用不同的评分系统评估不同的染色细胞类型(癌细胞、免疫细胞),并使用不同的阳性截止值以及不同的评分系统进行分析。所有这些差异可能解释 PD-L1 在不同研究中阳性率差异及预后价值方面观察到的不同^[45]。然而通过大量的文献分析仍可以发现 PD-L1 在乳腺癌组织中相似的表达特点。

一项关于 PD-L1 在乳腺癌不同分子亚型中表达的 Meta 分析显示 PD-L1 在所有亚型中的表达波动为 $0 \sim 83\%$,大多数研究发现阳性表达率低于 50% ,结果波动较大考虑与上述差异因素相关^[46]。

在乳腺癌患者中, 激素受体阳性是最常见的分子亚型, 由于 TILs 的数量较低, 且突变负担较轻, 主要是一种免疫冷性肿瘤, 因此 PD-L1 表达阳性率相对较低, PD-L1 在 luminal A 型中的表达波动为 2.3%~37%, 对于 luminal B 亚型, PD-L1 阳性表达率为 9%~46%。HER2 扩增型患者对 HER2 靶向治疗反应良好, 有研究认为这种作用部分是由免疫效

应机制介导, 因此相较于 luminal 型, HER2 扩增型 PD-L1 表达程度稍高, 波动于 0~58%。三阴性一直被认为是乳腺癌中最具免疫原性的分子亚型, 且 TILs 数量较多, 因此 PD-L1 表达阳性率相对其他分子分型较高, 波动为 5%~80%, 一项研究区分了三阴性非基底样乳腺癌和基底样乳腺癌, 发现 PD-L1 阳性率分别为 31%、23%^[32], 见表 2。

表 2 部分文献中 PD-L1 在乳腺癌不同分子分型中的表达

Table2 Expression of PD-L1 in different subtypes of breast cancer in some references

取样形式	方法	n/例	PD-L1 表达/%						
			lumA	lumB			HER-2+	三阴性	
				—	HER-2+	HER-2-		—	非基底样
TMA ^[47]	IHC, clone SP 142, ≥1%肿瘤细胞和基质 TILs 中的膜染色	440	2.3	13.3			0	16.2	
TMA ^[48]	IHC, rabbit PD-L1 monoclonal Ab, clone E1L3N; 肿瘤细胞膜+细胞质染色	465	3				29	30	
TMA ^[30]	IHC, clone SP 142, 膜染色≥1% 肿瘤细胞	245	5	15			50	31.6	
整个组织部分, FFPE ^[16]	IHC, rabbit PD-L1 Ab; PD-L1 阳性定义: 肿瘤细胞膜染色>5%, 或者不含细胞质染色	870	12		8	9		56	
TMA ^[32]	IHC, PD-L1 Ab, clone SP 142。阳性细胞百分比由染色强度决定	443	12	21			9	31	23
TMA ^[14]	IHC, 兔抗人类 PD-L1 多克隆抗体; 膜和/或细胞质染色	650	12.1		29	20	34		31
TMA ^[30]	IHC, clone SP 142, 肿瘤细胞膜染色≥1%或间质细胞间质染色>5%	245	16.1	35			50	61.4	
整个组织部分, FFPE ^[49]	IHC, PD-L1 Ab, clone 58810; 细胞质和/或膜染色	501	37	46			58		58

可见 PD-L1 在三阴性乳腺癌、HER2 扩增分子分型中表达较高, 以三阴性乳腺癌为著, 同时发现 PD-L1 更有可能表达于三阴性乳腺癌、HER2 扩增分子分型的肿瘤微环境细胞中, 考虑与该两种分子分型肿瘤微环境中富含 TILs 且肿瘤突变负荷较高相关, 提示该两种分子分型乳腺癌患者可能在 PD-1/PD-L1 抑制剂免疫治疗中具有更高的获益。

4 结语

PD-1/PD-L1 免疫检查点抑制剂已经成为肿瘤治疗领域不可或缺的重要治疗方法, 许多实体瘤病人从中获得了持久的临床获益。目前国际上报道的

用于预测 PD-1/PD-L1 免疫治疗疗效的标记物主要为 PD-L1、肿瘤突变负荷、TILs 等, 而临床研究中多以检测 PD-L1 表达为主, PD-L1 的表达高低是目前患者是否能从中获益的重要参考之一, 然而目前 PD-L1 的检测尚未达成统一的标准, 以 IHC 为主要检测方法, 不同抗体各有其优势及限制, 同时研究发现脱糖基化方法或许可以作为抗体检测前消除结构障碍的一种通用方法, 对于 PD-L1 定量检测的金标准, 规范的、普遍适用的检测方法尚需更多的临床数据分析和积累。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Wei S C, Duffy C R, Allison J P. Fundamental mechanisms of immune checkpoint blockade therapy [J]. *Cancer Discov*, 2018, 8: 1069-1086.
- [2] Ishida Y, Agata Y, Shibahara K, et al. Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death [J]. *EMBO J*, 1992, 11: 3887-3895.
- [3] Okazaki T, Honjo T. PD-1 and PD-1 ligands: from discovery to clinical application [J]. *Int Immunol*, 2007, 19(7): 875-904.
- [4] Sidorenko S P, Clark E A. The dual-function CD150 receptor subfamily: the viral attraction [J]. *Nat Immunol*, 2003, 4(1): 19-24.
- [5] Keir M E, Butte M J, Freeman G J, et al. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity [J]. *Ann Rev Immunol*, 2008, 26: 677-704.
- [6] Francisco L M, Salinas V H, Brown K E, et al. PD-L1 regulates the development, maintenance, and function of induced regulatory T cells [J]. *J Exp Med*, 2009, 206(13): 3015-3029.
- [7] Pedoeem A, Azoulay-Alfaguter I, Strazza M, et al. Programmed death-1 pathway in cancer and autoimmunity [J]. *Clin Immunol*, 2014, 153(1): 145-152.
- [8] Pardoll D M. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12(4): 252-264.
- [9] Cimino-Mathews A, Thompson E, Taube J M, et al. PD-L1 (B7-H1) expression and the immune tumor microenvironment in primary and metastatic breast carcinomas [J]. *Hum Pathol*, 2016, 47: 52-63.
- [10] Saresella M, Rainone V, Al-Daghri N M, et al. The PD-1/PD-L1 pathway in human pathology [J]. *Curr Mol Med*, 2012, 12(3): 259-267.
- [11] Keir M E, Liang S C, Guleria I, et al. Tissue expression of PD-L1 mediates peripheral T cell tolerance [J]. *J Exp Med*, 2006, 203(4): 883-895.
- [12] Pardoll D M. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12(4): 252-264.
- [13] Pardoll D M. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12(4): 252-264.
- [14] Muenst S, Schaerli A R, Gao F, et al. Expression of programmed death ligand 1 (PD-L1) is associated with poor prognosis in human breast cancer [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2014, 146: 15-24.
- [15] Tsang J Y, Au W L, Lo K Y, et al. PD-L1 expression and tumor infiltrating PD-1+ lymphocytes associated with outcome in HER2+ breast cancer patients [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2017, 162(1): 19-30.
- [16] Qin T, Zeng Y D, Qin G, et al. High PD-L1 expression was associated with poor prognosis in 870 Chinese patients with breast cancer [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(32): 33972-33981.
- [17] Schalper K A, Velcheti V, Carvajal D, et al. In situ tumor PD-L1 mRNA expression is associated with increased TILs and better outcome in breast carcinomas [J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20: 2773-2782.
- [18] Li S, Chen L, Jiang J. Role of programmed cell death ligand-1 expression on prognostic and overall survival of breast cancer: A systematic review and meta-analysis [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(16): e15201.
- [19] Beckers R K, Selinger C I, Vilain R, et al. Programmed death ligand 1 expression in triple-negative breast cancer is associated with tumour-infiltrating lymphocytes and improved outcome [J]. *Histopathology*, 2016, 69(1): 25-34.
- [20] Botti G, Collina F, Scognamiglio G, et al. Programmed death ligand 1 (PD-L1) tumor expression is associated with a better prognosis and diabetic disease in triple negative breast cancer patients [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(2): 459.
- [21] Li X, Wetherilt C S, Krishnamurti U, et al. Stromal PD-L1 expression is associated with better disease-free survival in triple-negative breast cancer [J]. *Am J Clin Pathol*, 2016, 146(4): 496-502.
- [22] Bertucci F, Finetti P, Colpaert C, et al. PDL1 expression in inflammatory breast cancer is frequent and predicts for the pathological response to chemotherapy [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(15): 13506-13519.
- [23] Wimberly H, Brown J R, Schalper K, et al. PD-L1 expression correlates with tumor-infiltrating lymphocytes and response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer [J]. *Cancer Immunol Res*, 2015, 3(4): 326-332.
- [24] Loi S, Michiels S, Salgado R, et al. Tumor infiltrating lymphocytes are prognostic in triple negative breast cancer and predictive for trastuzumab benefit in early breast cancer: results from the FinHER trial [J]. *Ann Oncol*, 2014, 25(8): 1544-1550.
- [25] Sabatier R, Finetti P, Mamessier E, et al. Prognostic and predictive value of PDL1 expression in breast cancer [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(7): 5449-5464.
- [26] 冀玉珍, 刘晓良, 淼 侯. 可溶性程序性死亡分子配体在肺癌胸腔积液中的水平及临床意义 [J]. 检验医学,

- 2017, 32(2): 99-103.
- [27] 郭雪晶, 曹 赫, 周建娅, 等. PD-L1 检测方法在非小细胞肺癌的研究进展 [J]. 中国肺癌杂志, 2019, 22(1): 40-44.
- [28] Phillips T, Simmons P, Inzunza H D, *et al.* Development of an automated PD-L1 immunohistochemistry (IHC) assay for non-small cell lung cancer [J]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2015, 23(8): 541-549.
- [29] Guo L, Li W, Zhu X, *et al.* PD-L1 expression and CD274 gene alteration in triple-negative breast cancer: implication for prognostic biomarker [J]. *Springerplus*, 2016, 5(1): 805.
- [30] Dill E A, Gru A A, Atkins K A, *et al.* PD-L1 Expression and intratumoral heterogeneity across breast cancer subtypes and stages: An assessment of 245 primary and 40 metastatic tumors [J]. *Am J Surg Pathol*, 2017, 41(3): 334-342.
- [31] U.S. Food and Drug Administration. List of cleared or approved companion diagnostic devices (in vitro and imaging tools) [DB/OL]. (2018-09-23) [2021-02-04]. <https://www.fda.gov/MedicalDevices/ProductsandMedicalProcedures/InVitroDiagnostics/ucm301431.htm>
- [32] Wang Z Q, Milne K, Derocher H, *et al.* PD-L1 and intratumoral immune response in breast cancer [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(31): 51641-51651.
- [33] Sun W Y, Y Lee Y K, Koo J S. Expression of PD-L1 in triple-negative breast cancer based on different immunohistochemical antibodies [J]. *J Transl Med*, 2016, 14(1): 173.
- [34] Karnik T, Kimler B F, Fan F, *et al.* PD-L1 in breast cancer: comparative analysis of 3 different antibodies [J]. *Hum Pathol*, 2018, 72: 28-34.
- [35] Gubin, M M, Zhang X, Schuster H, *et al.* Checkpoint blockade cancer immunotherapy targets tumour-specific mutant antigens [J]. *Nature*, 2014, 515(7528): 577-581.
- [36] Herbst R S, Soria J C, Kowanetz M, *et al.* Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients [J]. *Nature*, 2014, 515(7528): 563-567.
- [37] Powles T, Eder J P, Fine G D, *et al.* MPDL3280A (anti-PD-L1) treatment leads to clinical activity in metastatic bladder cancer [J]. *Nature*, 2014, 515(7528): 558-562.
- [38] Tumeh P C, Harview C L, Yearley J H, *et al.* PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance [J]. *Nature*, 2014, 515(7528): 568-571.
- [39] Eggermont A M M, Blank C U, Mandala M, *et al.* Adjuvant Pembrolizumab versus Placebo in Resected Stage III Melanoma [J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(19): 1789-1801.
- [40] Forde P M, Chaft J E, Smith K N, *et al.* Neoadjuvant PD-1 blockade in resectable lung cancer [J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(21): 1976-1986.
- [41] Socinski M A, Jotte R M, Cappuzzo F, *et al.* Atezolizumab for first-line treatment of metastatic nonsquamous NSCLC [J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(24): 2288-2301.
- [42] Li C, Lim S, Chung E M, *et al.* Eradication of triple-negative breast cancer cells by targeting glycosylated PD-L1 [J]. *Cancer Cell*, 2018, 33(2): 187-201.e10.
- [43] Lee H H, Wang Y N, Xia W, *et al.* Removal of N-linked glycosylation enhances PD-L1 detection and predicts anti-PD-1/PD-L1 therapeutic efficacy [J]. *Cancer Cell*, 2019, 36(2): 168-178.e4.
- [44] 李莹莹, 董丽儒, 王 欣, 等. RNAscope 技术对非特殊型浸润性乳腺癌中 PD-1、PD-L1 表达分析的应用 [J]. 临床与实验病理学杂志, 2018, 34(8): 918-921.
- [45] Bertucci F, Gonçalves A. Immunotherapy in Breast Cancer: The Emerging Role of PD-1 and PD-L1 [J]. *Curr Oncol Rep*, 2017, 19(10): 64.
- [46] Stovgaard E S, Dyhl-Polk A, Roslind A. PD-L1 expression in breast cancer: expression in subtypes and prognostic significance: a systematic review [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2019, 174(3): 571-584.
- [47] Polónia A, Pinto R, Cameselle-Teijeiro J F, *et al.* Prognostic value of stromal tumour infiltrating lymphocytes and programmed cell death-ligand 1 expression in breast cancer [J]. *J Clin Pathol*, 2017, 70(10): 860-867.
- [48] Bae S B, Cho H D, Oh M, *et al.* Expression of programmed death receptor ligand 1 with high tumor-infiltrating lymphocytes is associated with better prognosis in breast cancer [J]. *J Breast Cancer*, 2016, 19(3): 242-251.
- [49] Li Z, Dong P, Ren M, *et al.* PD-L1 Expression is associated with tumor FOXP3(+) regulatory T-cell infiltration of breast cancer and poor prognosis of patient [J]. *J Cancer*, 2016, 7(7): 784-793.

[责任编辑 解学星]