

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.03.010

· 临床研究 ·

宫颈癌细胞高迁移率族警报素的分泌与肿瘤浸润淋巴细胞的相关性

李晶^{1,2,3,4,5}, 魏枫^{2,3,4,5}, 杨帆^{1,2,3,4,5}, 郑禹^{1,2,3,4,5}, 赵华^{2,3,4,5}, 任秀宝^{1,2,3,4,5} (1. 天津医科大学肿瘤医院 生物治疗科; 2. 国家肿瘤临床医学研究中心; 3. 天津市肿瘤免疫与生物治疗重点实验室; 4. 天津市“肿瘤防治”重点实验室; 5. 天津市恶性肿瘤临床医学研究中心, 天津 300060)

[摘要] **目的:** 探讨高迁移率族蛋白 B1 和 N1 (high mobility group B1 and N1, HMGB1 and HMGN1) 在宫颈癌肿瘤细胞中的表达情况与肿瘤浸润淋巴细胞 (tumor infiltrating lymphocytes, TILs) 的关系。**方法:** 收集 2012 年 4 月至 2015 年 9 月在天津医科大学附属肿瘤医院就诊的 100 例早期宫颈癌患者的术后肿瘤组织蜡块标本, 其中 I 和 II 期各 50 例。免疫组织化学方法检测肿瘤组织中 HMGB1、HMGN1、CD3 和 CD8 的表达。根据总体的染色强度将 HMGB1 和 HMGN1 分别分为高表达组和低表达组; 根据有无胞质表达分别分为有胞质表达组和无胞质表达组。分别比较高、低表达组间及有、无胞质表达组间肿瘤组织内 CD3⁺ 和 CD8⁺ 细胞数。**结果:** 肿瘤组织内 HMGB1 和 HMGN1 的表达强度及有、无胞质表达与患者年龄、FIGO 分期、病理分级均没有明显相关性 ($P > 0.05$); HMGB1 与 HMGN1 两者的胞质表达呈正相关关系 ($P < 0.05$)。HMGB1 和 HMGN1 有胞质表达组的 CD3⁺ 和 CD8⁺ 细胞较无胞质表达组要高 ($P < 0.05$)。**结论:** 宫颈癌细胞 HMGB1 和 HMGN1 的胞质表达与肿瘤组织内高水平 TILs 相关, 这一发现有望为宫颈癌的免疫治疗提供新的策略。

[关键词] 宫颈癌; 高迁移率族蛋白 B1; 高迁移率族蛋白 N1; 肿瘤浸润淋巴细胞; 免疫治疗

[中图分类号] R737.33; R730.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-385X(2017)03-0271-07

Correlation between secretion of high-mobility group proteins and tumor-infiltrating lymphocytes in cervical carcinoma

LI Jing^{1,2,3,4,5}, WEI Feng^{2,3,4,5}, YANG Fan^{1,2,3,4,5}, ZHENG Yu^{1,2,3,4,5}, ZHAO Hua^{2,3,4,5}, REN Xiubao^{1,2,3,4,5} (1. Department of Biotherapy, Cancer Institute and Hospital of Tianjin Medical University; 2. National Clinical Research Center of Cancer; 3. Key Laboratory of Cancer Immunology and Biotherapy of Tianjin; 4. Key Laboratory of Cancer Prevention and Therapy of Tianjin; 5. Tianjin's Clinical Research Center for Cancer, Tianjin 300060, China)

[Abstract] **Objective:** To explore expression status of high mobility group B1 and N1 (HMGB1 and HMGN1) in cervical carcinoma cells and their relationship with tumor infiltrating lymphocytes (TILs). **Methods:** One hundred postoperative tumor tissue specimens from the patients with early cervical carcinoma who were hospitalized in Cancer Hospital of Tianjin Medical University during April 2012 to September 2015 were collected, among them stage I and stage II in each of 50 cases. Immune histochemical assay was used to detect expressions of HMGB1, HMGN1, CD3 and CD8 in the tumor tissues. According to overall staining intensity, HMGB1 and HMGN1 were divided into high expression group and low expression group respectively, and divided into cytoplasmic expression group and no cytoplasmic expression group based on expression of cytoplasm. Number of CD3⁺ and CD8⁺ cells in the tumor tissues were compared between the high expression group and the low expression group as well as between cytoplasmic expression group and no cytoplasmic expression group

[基金项目] 国家科技支撑计划 (No. 2015BAI12B12); 重大新药创新科技专项子课题 (No. 2015ZX09102018); 天津市抗癌重大专项攻关计划 (No. 14ZCKZSY00166); 国家自然科学基金 (No. 81672697)。Project supported by the National Key Technology R&D Program (No. 2015BAI12B12), National Major Scientific and Technological Special Project for “Significant New Drugs Development” (No. 2015ZX09102018), Tianjin Major Scientific and Technological Special Project for anticancer (No. 14ZCKZSY00166), and National Natural Science Foundation of China (No. 81672697)

[作者简介] 李晶 (1990-), 女, 硕士生, 主要从事肿瘤生物治疗的临床与基础研究, E-mail: tjykdslj@126.com

[通信作者] 任秀宝 (REN Xiubao, corresponding author), 教授, 博士生导师, 主要从事肿瘤生物治疗和肿瘤免疫基础与临床方面的研究, E-mail: rwziyi@yahoo.com

[优先发表] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1725.r.20170305.1500.004.html>

respectively. **Results:** Expression intensities of HMGB1 and HMGN1 in the tumor tissues as well as whether or not expression of HMGB1 and HMGN1 in cytoplasm all did not obviously correlate with age, FIGO staging and pathological grade (all $P > 0.05$). Expressions of HMGB1 and HMGN1 in cytoplasm showed a positive correlation ($P < 0.05$). Numbers of CD3⁺ and CD8⁺ cells in cytoplasm with expressions of HMGB1 and HMGN1 groups were significantly higher than those in cytoplasm without expressions of HMGB1 and HMGN1 groups ($P < 0.05$). **Conclusion:** Cytoplasmic expressions of HMGB1 and HMGN1 in cervical carcinoma cells could correlate with high level of TILs in the tumor tissue, and this finding could be expected to provide a novel strategy for immunotherapy of cervical carcinoma.

[**Key words**] cervical carcinoma; high mobility group B1 (HMGB1); high mobility group N1 (HMGN1); tumor infiltrating lymphocyte (TIL); immunotherapy

[Chin J Cancer Biother, 2017, 24(3): 271-277. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.03.010]

宫颈癌是女性最常见的恶性肿瘤之一,随着科学技术的进步,宫颈癌的早期诊断率已有提高,但其发生率及死亡率仍较高^[1]。研究证实肿瘤组织内浸润 T 细胞与肿瘤患者的临床预后密切相关^[2]。然而影响肿瘤微环境中淋巴细胞浸润的因素较多,有报道^[3-4]称在肺癌肿瘤组织微环境中,树突状细胞(dendritic cell, DC)位于肿瘤邻近区域,而肿瘤内浸润的淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocyte, TIL)则位于癌巢的周边区域。据此推测肿瘤组织内 DC 可能是引起外周血 T 细胞向癌巢聚集的主要原因。目前,关于宫颈癌组织中淋巴细胞浸润相关的研究并不多。高迁移率家族(high-mobility group, HMG)由 HMGB(HMGB1、HMGB2、HMGB3 和 HMGB4)、HMGN(HMGN1、HMGN2、HMGN3、HMGN4 和 HMGN5)及 HMGA(HMGA1 和 HMGA2)三大家族组成。到目前该家族中仅有 HMGB1 和 HMGN1 被证实具有警报素功能。警报素是指一群结构多样且进化上并不相关的多功能内源性分子,损伤或坏死的细胞能将其释放到细胞外。一旦被释放到细胞外,警报素即可作为内源性的危险信号活化天然免疫细胞^[5],研究^[6-7]发现 HMGB1 和 HMGN1 具有募集和活化 DC 的功能。HMGB1 在多种肿瘤如肝癌^[8]、结肠癌^[9]、前列腺癌^[10]、膀胱癌^[11]、鼻咽癌^[12]和胃癌^[13]中高表达。研究^[14-15]证实 HMGB1 在宫颈癌中也有表达,而尚无 HMGN1 在宫颈癌中表达以及两者的表达情况与宫颈癌肿瘤微环境内浸润 T 细胞相关性的研究。

1 材料与方法

1.1 临床资料

选取 2012 年 4 月至 2015 年 9 月在天津医科大学附属肿瘤医院就诊的 100 例早期宫颈癌手术患者,包括 I 期 47 例(I A 期 4 例, I B 期 43 例),和 II 期 53 例(II A 期 36 例, II B 期 17 例),年龄 27 ~

70 岁(平均年龄 49 岁),初产年龄 19 ~ 35 岁(平均年龄 24 岁),孕产数 0 ~ 6 胎(平均 3 胎)。所有患者均接受全子宫切除伴或不伴双侧附件切除手术,并经术后病理确诊。所有患者中 31 例接受术前辅助化疗,90 例行术后辅助化疗,化疗方案主要为紫杉醇或多西他赛联合铂类。所有 100 例患者中有 36 例接受术后辅助放疗,其中 16 例行同步放化疗。所有患者均自手术第二日开始随访,最长时间为 59 个月,最短为 15 个月,平均 31.7 个月,随访期间有一人死亡。患者病理组织石蜡切片取自病理组织标本库。所有患者研究前均签署知情同意书,并通过天津医科大学附属肿瘤医院伦理委员会的批准。

1.2 主要试剂

兔源多克隆抗 HMGB1 抗体购于美国 Abcam 公司,兔源多克隆抗 HMGN1 抗体购于美国 Cell Signaling Technology 公司。抗 CD3 抗体购于美国 Invitrogen 公司和抗 CD8 抗体购于北京中杉金桥生物有限公司。DAB 显色试剂盒购于北京中杉金桥生物有限公司;二抗即酶标羊抗鼠/兔 IgG 聚合物购于迈新生物技术开发有限公司。

1.3 免疫组化检测 HMGN1、HMGB1、CD3 和 CD8 在宫颈癌组织中的表达

石蜡切片脱蜡后用枸橼酸盐高温高压修复 3 min,自然晾至室温,3% H₂O₂ 封闭 30 min, PBS 洗 3 遍,一抗 4 度孵育过夜,一抗稀释比例分别为 1:300(HMGN1), 1:400(HMGB1), 1:100(CD3), 1:150(CD8)。PBS 洗 3 遍后,于室温孵育二抗 30 min,加新配制的 DAB 显色液(1 ml 去离子水中加入 ABC 液各 1 滴,混匀)显色 3 ~ 5 min,出现棕色阳性反应。苏木素染色 2 ~ 3 min,梯度脱水,晾干后塑胶封片显微镜下观察。请有经验的病理科医师阅片,随机观察 5 个高倍镜视野,80% 以上肿瘤细胞着色为阳性,本研究所有组织片 HMGB1 和 HMGN1 均为阳性。根据肿瘤细胞胞核染色颜色深浅分为高表达组和低

表达组, 分别用 1 和 0 表示。同时观察肿瘤细胞胞质有无着色分为有胞质染色组(阳性)和无胞质染色组(阴性), 分别用 1 和 0 表示。

1.4 图像采集与评价

采用正置显微成像系统, HMGB1 和 HMG1 染色组织标本选取肿瘤组织视野, 高倍镜(400 倍)下拍摄清晰图片。CD3 和 CD8 染色切片标本在低倍镜下选定肿瘤组织区域, 在该区域随机选取 5 个高倍镜(400 倍)视野, 分别计数每个视野中染色阳性的细胞个数, 最后求 5 个视野的平均值。

1.5 统计学分析

采用 SPSS13.0 统计软件处理。HMGB1 和 HMG1 与临床病理特征相关性分析用 χ^2 检验, 肿瘤细胞 HMGB1 与 HMG1 表达的相关性分析, 及两者与肿瘤浸润 T 细胞数之间的相关性分析用 Pearson 相关分析, 以 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 HMGB1 与 HMG1 表达相关性

HMGB1 和 HMG1 在肿瘤浸润淋巴细胞和间质细胞内只有细胞核的表达, 而在肿瘤细胞内存在细胞核表达和细胞质表达两种情况(图 1, 图 2)。肿瘤细胞 HMGB1 和 HMG1 高表达组比例分别为 38.0%(38 例)和 54.0%(54 例), 低表达组比例分别为 62.0%(62 例)和 46.0%(46 例), 但两者核表达及胞质表达并无统计学差异($P > 0.05$)。肿瘤组织中 HMGB1 与 HMG1 表达强度无明显相关性($P > 0.05$, 表 1), 而 HMGB1 胞质表达与 HMG1 胞质表达呈正相关($P < 0.05$, 表 1)。

2.2 HMGB1 和 HMG1 的表达与 TILs 关系

肿瘤微环境中 CD3 阳性细胞数与 CD8 阳性细胞数呈显著正相关(均 $P < 0.01$, 表 1)。肿瘤细胞 HMGB1 和 HMG1 表达强度与 CD3 和 CD8 阳性细胞数无明显相关性(表 1, 表 2, 均 $P > 0.05$)。HMGB1 胞质表达组 CD3 阳性细胞数较无胞质表达组多(281 vs 200, $P < 0.05$), 表明肿瘤组织中 HMGB1 有胞质表达组与肿瘤内浸润总 T 细胞呈正相关。HMGB1 胞质表达组 CD8 阳性细胞数较无胞质表达组多(119 vs 83, $P < 0.01$), 说明 HMGB1 胞质表达与肿瘤内浸润细胞毒性 T 淋巴细胞呈正相关。HMG1 胞质表达组 CD3 阳性细胞数比无胞质表达组多(263 vs 215, $P < 0.05$), HMG1 胞质表达组比无胞质表达组 CD8 阳性细胞数多(117 vs 85, $P < 0.01$), 说明肿瘤组织中 HMG1 胞质表达与肿

瘤内浸润的总 T 淋巴细胞和细胞毒性 T 淋巴细胞呈正相关。

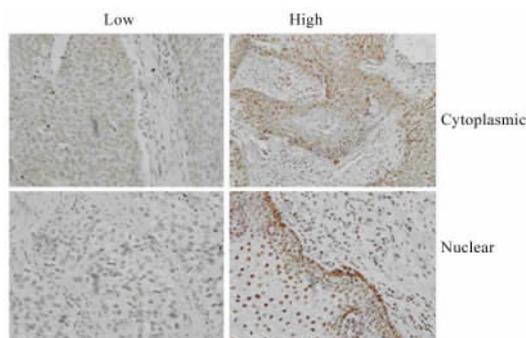


图 1 宫颈癌患者宫颈癌组织中 HMG1 的表达情况(免疫组化法, $\times 400$)

Fig. 1 Expression of HMG1 in the cervical cancer tissue of the patients with cervical carcinoma (immuno histochemistry assay, $\times 400$)

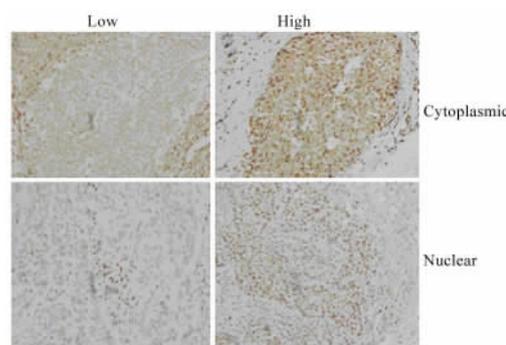


图 2 宫颈癌患者宫颈癌组织中 HMGB1 的表达情况(免疫组化法, $\times 400$)

Fig. 2 Expression of HMGB1 in the cervical cancer tissue of the patients with cervical carcinoma (immuno histochemistry assay, $\times 400$)

2.3 宫颈癌组织中 HMGB1 和 HMG1 表达与临床病理特征的相关性

肿瘤细胞 HMGB1 和 HMG1 胞质表达与临床各病理特征之间的相关性显示(表 2), HMGB1 和 HMG1 胞质表达与患者年龄、病理分期、FIGO 分级、初产年龄、孕产数均无明显相关性($P > 0.05$)。

3 讨论

高迁移率族蛋白是一组非组蛋白核小体结合蛋白, 它们通过与染色体结合调节 DNA 的转录、复制及损伤修复^[16]。肿瘤微环境中由于肿瘤生长过快, 局部通常呈缺氧状态, 缺氧及坏死的细胞将 HMGB1

表1 HMGB1、HMGN1 的表达部位与表达水平的关系[r (P)]

Tab.1 Correlation coefficients among the expression level and position of HMGB1 and HMGN1 [r (P)]

| | Cytoplasmic HMGB1 expression | Nuclear HMGN1 expression | Cytoplasmic HMGN1 expression | CD3 ⁺ TILs | CD8 ⁺ TILs |
|------------------------------|---------------------------------|-----------------------------|---------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| Nuclear HMGB1 expression | -0.071(0.482) | 0.103(0.310) | 0.037(0.713) | -0.157(0.119) | -0.134(0.183) |
| Cytoplasmic HMGB1 expression | | -0.071(0.482) | 0.696(0.000) | 0.347(0.000) | 0.299(0.003) |
| Nuclear HMGN1 expression | -0.093(0.359) | 0.016(0.875) | -0.075(0.460) | | |
| Cytoplasmic HMGN1 expression | | 0.205(0.040) | 0.254(0.011) | | |
| CD3 ⁺ TIL | | | 0.758(0.000) | | |

表2 宫颈癌患者 HMGB1、HMGN1 的胞质表达情况与临床指标的相关性[n (%)]

Tab.2 Correlation between cytoplasmic expression of HMGB1 and HMGN1 and clinical indices of the patients with cervical cancers [n (%)]

| | Cytoplasmic HMGB1 | | | Cytoplasmic HMGN1 | | |
|------------------------|-------------------|-------------|-------|-------------------|-------------|-------|
| | Yes | No | P | Yes | No | P |
| Age(t/a) | | | 0.127 | | | 0.172 |
| < 49 | 24 (54.5) | 23 (41.1) | | 24 (53.3) | 23 (41.8) | |
| ≥ 49 | 20 (45.5) | 33 (58.9) | | 21 (46.7) | 32 (58.2) | |
| Histological grade | | | 0.260 | | | 0.883 |
| High | 2 (4.5) | 8 (14.3) | | 4 (8.90) | 6 (10.9) | |
| Middle | 24(54.5) | 29(51.8) | | 25 (55.6) | 28 (50.9) | |
| Low | 18 (41) | 19(33.9) | | 16 (35.5) | 21 (38.2) | |
| FIGO stage | | | 0.370 | | | 0.293 |
| I | 22 (50) | 25(44.6) | | 23 (51.0) | 24 (43.6) | |
| II | 22 (50) | 31(55.4) | | 22 (49.0) | 31 (56.4) | |
| Primiparity age(t/a) | | | 0.502 | | | 0.442 |
| < 23 | 15(34.1) | 18(32.1) | | 14 (31.1) | 19 (34.5) | |
| ≥ 23 | 29(65.9) | 38(67.9) | | 31 (68.9) | 36 (65.5) | |
| Pregnancy number | | | 0.390 | | | 0.084 |
| < 3 | 17(38.6) | 19(33.9) | | 20 (44.4) | 16 (29.1) | |
| ≥ 3 | 27(61.4) | 37(66.1) | | 25 (55.6) | 39 (70.9) | |
| CD3 ⁺ TILs | | | 0.007 | | | 0.046 |
| < 25% | 8(18.2) | 24(42.9) | | 10(22.2) | 22(40) | |
| ≥ 25% | 36(81.8) | 32(57.1) | | 35(77.8) | 33(60) | |
| CD8 ⁺ TILs | | | 0.037 | | | 0.042 |
| < 50% | 37(84.1) | 54(96.4) | | 38(84.4) | 53(96) | |
| ≥ 50% | 7(15.9) | 2 (3.6) | | 7(15.6) | 2(4) | |

和 HMGN1 释放到细胞外,一旦被释放到细胞外, HMGB1 与其它细胞表面的 TLR4 结合可发挥两方面的作用,一是与 DC 结合进而激活免疫细胞释放免疫调节因子,发挥抗肿瘤作用^[17-18];二是可作用于肿瘤组织血管内皮细胞,促进血管生成、肿瘤生长、浸润和转移^[19-25]。HMGN1 与 DC 相互作用启动 TLR4/MyD88 信号通路,增强 DC 抗原提呈能力,激活 T 细胞,提高抗肿瘤免疫反应^[5]。HMGB1 的释放主要是由于蛋白的核质转位或细胞膜被破坏^[26],而目前没有 HMGN1 分泌机制相关文献报道,有学者研究了肿瘤组织内 HMGB1 和 HMGN1 表达情况^[27-28],同时肿瘤组织内分泌型 HMGB1 和 HMGN1 无法检测,因此可以将胞质中的表达认为是细胞存在向胞外分泌情况。本研究中 HMGB1 和 HMGN1 组化检测结果发现在肿瘤组织周围的间质细胞及淋巴细胞和部分肿瘤细胞中仅有细胞核表达,而部分肿瘤组织中的肿瘤细胞存在胞质表达的情况。HMGN1 能在体外通过与 DC 表面 TLR4 结合活化免疫细胞,促进 Th1 型免疫应答^[29],用带有 HMGN1 基因的质粒接种小鼠后,小鼠腹腔产生的 IFN- γ 和 CD8 阳性 T 细胞较对照组多^[7]。而肿瘤组织内 HMGN1 与 T 细胞的相互作用研究较少,本研究首次探讨了在宫颈癌细胞 HMGB1 和 HMGN1 的表达与 TIL 相关关系。

本实验结果发现在不同宫颈癌患者的肿瘤组织中的浸润 T 细胞不同,说明患者肿瘤微环境中存在引起局部浸润 T 细胞数不同的因素。HMGB1 和 HMGN1 的胞质表达与肿瘤内 CD3 和 CD8 阳性细胞数呈正相关,提示肿瘤组织内两者的分泌可能参与了 TIL 的募集。此外,有报道称 Her-2 阳性的乳腺癌组织中有 HMGB1 和 HMGN1 胞质表达的肿瘤细胞周围淋巴细胞比没有胞质表达肿瘤细胞周围的淋巴细胞多^[28],说明乳腺癌组织中肿瘤细胞分泌的 HMGB1 和 HMGN1 参与了淋巴细胞的聚集,与本实验结果相符。肿瘤细胞内 HMGB1 和 HMGN1 着色深浅即表达强度与肿瘤组织内 CD3 和 CD8 阳性细胞数没有明显相关性,说明细胞内 HMGB1 和 HMGN1 表达量的多少对 TIL 的聚集影响并不明显。

有研究证实,放射或者化疗药物均能使成胶质瘤细胞^[30]和乳腺癌细胞^[31]内的 HMGB1 从胞核向胞质转移。同时,Ladoire 等^[31]发现,乳腺癌组织中存在 50% 以上乳腺癌细胞核 HMGB1 表达阳性率高的患者在接受化疗后的总生存期和无进展生存期均较 HMGB1 阳性率低的患者长,推测原因可能是核表达阳性率低的肿瘤组织在接受化疗后,从肿瘤细

胞释放的 HMGB1 较少。Patrizia 等^[32]使用野生型和 HMGB1 敲低型两种成纤维细胞,利用反复冻融法检测两种细胞释放 HMGB1 的情况以及两种冻融细胞上清液对未成熟的 DC 的作用,结果野生型细胞的细胞坏死液能促未成熟 DC 成熟。敲低型细胞冻融液处理后的 DC 上清未见 DC 成熟相关标志物^[32]。此外,用两种类型的细胞坏死液注射入小鼠体内,结果注射野生型细胞冻融液能长期抵抗小鼠体内淋巴瘤细胞,而 HMGB1 敲低型细胞液的体内抗淋巴瘤细胞弱,说明 HMGB1 可在肿瘤的免疫治疗中发挥抗肿瘤作用^[32]。近年,魏枫博士等^[7]将编码 HMGN1、gp100 或 HMGN1-gp100 融合蛋白的基因分别与胰岛素信号肽重组构建重组质粒。重组 HMGN1 质粒接种小鼠,并同时在小鼠皮下种植黑色素瘤,结果显示, HMGN1 能作为一种佐剂参与抗肿瘤疫苗治疗。本研究自患者手术确诊开始随访,至今仅出现一例死亡,随访时间 15 到 59 个月,平均为 31.7 个月,统计分析各指标的表达与患者预后并没有统计学差异。宫颈癌患者的 5 年生存率较高,因此原因可能是由于随访时间不足,例数少,故本课题将会继续随访,进一步分析 HMGN1 和 HMGB1 的表达情况与宫颈癌患者临床预后之间的关系。

因此,可以将肿瘤内 HMGB1 和 HMGN1 分泌诱导 T 细胞向肿瘤组织聚集,作为宫颈癌治疗的一个新策略。同时,在抗肿瘤疫苗治疗中,两者可以扮演佐剂的角色,增强抗肿瘤免疫反应。本研究结果有望为宫颈癌的免疫治疗提供新的策略。

[参考文献]

- [1] FERLAY J, SOERJOMATARAM I, DIKSHIT R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 [J/OL]. Int J Cancer, 2015, 136 (5): E359-E386 [2016-11-21]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25220842>. DOI: 10.1002/ijc.29210.
- [2] GABRIELSON A, WU Y, WANG H, et al. Intratumoral CD3⁺ and CD8⁺ T-cell densities associated with relapse-free survival in HCC [J]. Cancer Immunol Res, 2016, 4(5): 419-430. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-15-0110.
- [3] KURABAYASHI A, FURIHATA M, MATSUMOTO M, et al. Distribution of tumor-infiltrating dendritic cells in human non-small cell lung carcinoma in relation to apoptosis [J]. Pathol Int, 2004, 54(5): 302-310. DOI: 10.1111/j.1440-1827.2004.01624.
- [4] DA COSTA SOUZA P, PARRA E R, ATANAZIO M J, et al. Different morphology, stage and treatment affect immune cell infiltration and long-term outcome in patients with non-small-cell lung carcinoma [J]. Histopathology, 2012, 61(4): 587-596 DOI:

- 10.1111/j.1365-2559.2012.04318.
- [5] YANG D, BUSTIN M, OPPENHEIM J J. Harnessing the alarmin HMG1 for anticancer therapy[J]. *Immunotherapy*, 2015, 7(11): 1129-1131. DOI: 10.2217/imt.15.76.
- [6] ZOU H, YANG Y, GAO M, et al. HMGB1 is involved in chronic rejection of cardiac allograft via promoting inflammatory-like mDCs [J]. *Am J Transplant*, 2014, 14(8): 1765-1777 DOI: 10.1111/ajt.12781.
- [7] WEI F, YANG D, TEWARY P, et al. The Alarmin HMG1 contributes to antitumor immunity and is a potent immunoadjuvant [J]. *Cancer Res*, 2014, 74(21): 5989-5998. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-2042.
- [8] ZHANG L, HAN J, WU H, et al. The association of HMGB1 expression with clinicopathological significance and prognosis in hepatocellular carcinoma: a meta-analysis and literature review [J/OL]. *PLoS One*, 2014, 9(10): e110626[2016-11-21]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0110626>. DOI: 10.1371/journal.pone.0110626.
- [9] LEE H, SONG M, SHIN N, et al. Diagnostic significance of serum HMGB1 in colorectal carcinomas [J/OL]. *PLoS One*, 2012, 7(4): e34318 [2016-11-21]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0034318>. DOI: 10.1371/journal.pone.0034318.
- [10] ZHAO C B, BAO J M, LU Y J, et al. Co-expression of RAGE and HMGB1 is associated with cancer progression and poor patient outcome of prostate cancer [J]. *Am J Cancer Res*, 2014, 4(4): 369-377.
- [11] YANG G L, ZHANG L H, BO J J, et al. Increased expression of HMGB1 is associated with poor prognosis in human bladder cancer [J]. *J Surg Oncol*, 2012, 106(1): 57-61. DOI: 10.1002/jso.23040.
- [12] WU D, DING Y, WANG S, et al. Increased expression of high mobility group box 1 (HMGB1) is associated with progression and poor prognosis in human nasopharyngeal carcinoma [J]. *J Pathol*, 2008, 216(2): 167-175. DOI: 10.1002/path.2391.
- [13] SONG B, SONG W G, LI Z J, et al. Effect of HMGB1 silencing on cell proliferation, invasion and apoptosis of MGC-803 gastric cancer cells [J]. *Cell Biochem Funct*, 2012, 30(1): 11-17. DOI: 10.1002/cbf.1811.
- [14] 付欣, 杜晓琴, 郝权. 宫颈鳞癌组织高迁移率族蛋白 HMGB1 表达及其临床意义的研究 [J]. *中华肿瘤防治研究杂志*, 2008, 30(4): 292-295.
- [15] XU Y, CHEN Z, ZHANG G, et al. HMGB1 overexpression correlates with poor prognosis in early-stage squamous cervical cancer [J]. *Tumour Bio*, 2015, 36(11): 9039-9047. DOI: 10.1007/s13277-015-3624-7.
- [16] OZTURK N, SINGH I, MEHTA A, et al. HMGA proteins as modulators of chromatin structure during transcriptional activation [J/OL]. *Front Cell Dev Biol*, 2014, 2: 5 [2016-11-21]. <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fcell.2014.00005/full>. DOI: 10.3389/fcell.2014.00005.
- [17] CURTIN J F, LIU N, CANDOLFI M, et al. HMGB1 mediates endogenous TLR2 activation and brain tumor regression [J/OL]. *PLoS Med*, 2009, 6(1): e10[2016-11-21]. <http://journals.plos.org/plosmedicine/article?id=10.1371/journal.pmed.1000010>. DOI: 10.1371/journal.pmed.1000010.
- [18] GUERRIERO J L, DITSWORTH D, CATANZARO J M, et al. DNA alkylating therapy induces tumor regression through an HMGB1-mediated activation of innate immunity [J]. *J Immunol*, 2011, 186(6): 3517-3526. DOI: 10.4049/jimmunol.1003267.
- [19] ELLERMAN J E, BROWN C K, DE VERA M, et al. Masquerader: high mobility group box-1 and cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(10): 2836-2848. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-1953.
- [20] CAMPANA L, BOSURGI L, ROVERE-QUERINI P. HMGB1: a two-headed signal regulating tumor progression and immunity [J]. *Curr Opin Immunol*, 2008, 20(5): 518-523. DOI: 10.1016/j.coi.2008.04.012.
- [21] SRIKRISHNA G, FREEZE H H. Endogenous damage-associated molecular pattern molecules at the crossroads of inflammation and cancer [J]. *Neoplasia*, 2009, 11(7): 615-628.
- [22] SIMS G P, ROWE D C, RIETDIJK S T, et al. HMGB1 and RAGE in inflammation and cancer [J]. *Annu Rev Immunol*, 2010, 28: 367-388. DOI: 10.1146/annurev.immunol.021908.132603.
- [23] TANG D, KANG R, ZEH H J, et al. High-mobility group box 1 and cancer [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1799(1/2): 131-140. DOI: 10.1016/j.bbarm.2009.11.014.
- [24] ROJAS A, FIGUEROA H, MORALES E. Fueling inflammation at tumor microenvironment: the role of multiligand/RAGE axis [J]. *Carcinogenesis*, 2010, 31(3): 334-341. DOI: 10.1093/carcin/bgp322.
- [25] APETOH L, GHIRINGHELLI F, TESNIERE A, et al. Toll-like receptor 4-dependent contribution of the immune system to anticancer chemotherapy and radiotherapy [J]. *Nat Med*, 2007, 13(9): 1050-1059. DOI: 10.1038/nm1622.
- [26] KROEMER G, GALLUZZI L, KEPP O, et al. Immunogenic cell death in cancer therapy [J]. *Annu Rev Immunol*, 2013, 31: 51-72. DOI: 10.1146/annurev-immunol-032712-100008.
- [27] AGUILAR-CAZARES D, MENESES-FLORES M, PRADO-GARCIA H, et al. Relationship of dendritic cell density, HMGB1 expression, and tumor-infiltrating lymphocytes in non-small cell lung carcinomas [J]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2014, 22(2): 105-113. DOI: 10.1097/PAI.0b013e3182849808.
- [28] LEE H J, KIM J Y, SONG I H, et al. High mobility group B1 and N1 (HMGB1 and HMGN1) are associated with tumor-infiltrating lymphocytes in HER2-positive breast cancers [J]. *Virchows Arch*, 2015, 467(6): 701-709. DOI: 10.1007/s00428-015-1861-1.
- [29] YANG D, TEWARY P, DE LA ROSA G, et al. The alarmin functions of high-mobility group proteins [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1799(1/2): 157-163. DOI: 10.1016/j.bbarm.2009.11.002.
- [30] PASI F, PAOLINI A, NANO R, et al. Effects of single or combined treatments with radiation and chemotherapy on survival and danger signals expression in glioblastoma cell lines [J/OL]. *Bio Med Res Int*, 2014, 2014: 453-497 [2016-11-21]. <https://>

www. hindawi. com/journals/bmri/2014/453497/. DOI: 10. 1155/2014/453497.

- [31] LADOIRE S, ENOT D, ANDRE F, et al. Immunogenic cell death-related biomarkers: impact on the survival of breast cancer patients after adjuvant chemotherapy [J/OL]. *Oncoimmunology*, 2016, 5 (2): e1082706 [2016-11-21]. <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/2162402X.2015.1082706>. DOI: 10. 1080/2162402X. 2015. 1082706.

[32] ROVERE-QUERINI P, CAPOBIANCO A, SCAFFIDI P, et al. HMGB1 is an endogenous immune adjuvant released by necrotic cells [J]. *EMBO Rep*, 2004, 5 (8): 825-380. DOI: 10. 1038/sj. embor. 7400205.

[收稿日期] 2016 - 11 - 02

[修回日期] 2017 - 02 - 23

[本文编辑] 韩丹

· 读者 · 作者 · 编者 ·

常见参考文献著录格式示例

1 专著

著录格式:主要责任者. 题名[文献类型标志]. 其他责任者(例如翻译者). 版本项(1 版不著录). 出版地: 出版者, 出版年: 起页-止页.

- [1] ABRAMS W B, BEERS M H, BERKOW R. 默克老年病手册 [M]. 陈灏珠, 王赞舜, 刘厚钰, 等. 译. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 22-25.

2 专著析出文献

著录格式:析出文献主要责任者. 文献题名[文献类型标志]//专著主要责任者. 专著题名. 版本项. 出版地: 出版者, 出版年: 起页-止页.

- [1] WEINSTEIN L, SWARTZ M N. Pathogenic properties of invading microorganisms [M]//SODERMAN W A Jr, SODEMAN W A. *Pathologic physiology: mechanisms of disease*. Philadelphia: Saunders, 1974: 457-472.

3 期刊文献

著录格式:主要责任者. 题名[文献类型标志]. 刊名, 出版年, 卷号(期号): 起页-止页.

- [1] NOBLES K N, GUAN Z, XIAO K, et al. The active conformation of beta-arrestin 1: direct evidence for the phosphate sensor in the N-domain and conformational differences in the active states of beta-arrestins 1 and-2 [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282 (29): 21370-21381. DOI: 10. 1074/jbc. M611483200.

4 专利文献

著录格式:专利申请者或所有者. 专利题名: 专利国别, 专利号[文献类型标志]. 公告日期或公开日期.

- [1] 钱其军, 李琳芳, 吴红平, 等. 一种多功能免疫杀伤转基因细胞(PIK)、其制备方法及应用: 中国, 2010101496839 [P]. 2010-10-14.

5 学位论文

著录格式:责任者. 题名[文献类型标志]. 学位授予单位所在地: 学位授予单位, 年.

- [1] 曹新广. *Cathepsin L 和 Cystatin B 的表达与大肠癌生物学行为的关系* [D]. 郑州, 郑州大学, 2007.

6 电子文献

著录格式:主要责任者. 题名[文献类型标志/文献载体标志]. 刊名, 出版年, 卷号(期号): 起页-止页(更新或修改日期) [引用日期]. 获取和访问路径.

- [1] KALOS M, LEVINE B L, PORTER D L, et al. T cells with chimeric antigen receptors have potent antitumor effects and can establish memory in patients with advanced leukemia [J/OL]. *Sci Transl Med*, 2011, 3: 95ra73 [2016-06-08]. <http://stm.sciencemag.org/content/3/95/95ra73.long>. DOI: 10. 1126/scitranslmed. 3002842.

- [2] HOPKINSON A. UNIMARC and metadata: Dublin core [EB/OL]. [1999-12-08]. <http://www.ifla.org/IV/ifla64/138-161e.htm>.