

• 论 著 •

非小细胞肺癌患者外周血及肿瘤组织中 CD4⁺ T 淋巴细胞上 Tim-3 的表达及其对巨噬细胞活性的影响

魏徵霄¹, 何雪梅^{2△}

(1. 四川金域医学检验中心有限公司实验室, 四川成都 610000; 2. 西南医科大学附属医院实验中心, 四川泸州 646000)

摘要:目的 研究非小细胞肺癌(NSCLC)患者外周血及肿瘤组织中 CD4⁺ T 淋巴细胞上 T 细胞免疫球蛋白黏蛋白结构域分子 3(Tim-3)的表达及其临床意义。方法 收集西南医科大学附属医院 2017 年 1 月至 2018 年 6 月收治住院的 64 例 NSCLC 患者外周血、肺癌组织和癌旁正常肺组织标本,同时选取 40 例健康人群作为对照。采用流式法检测 Tim-3 和程序性死亡蛋白配体(PD-1)在 CD4⁺ T 细胞上的表达,实时荧光定量 PCR(qPCR)测定巨噬细胞诱导型一氧化氮合酶(iNOS)和精氨酸酶 1(Arg1) mRNA 的水平,分析 Tim-3 和 PD-1 与巨噬细胞活性的关系。结果 肺癌患者外周血中 CD4⁺ T 淋巴细胞上 Tim-3、PD-1 表达分别为 4.96% 和 24.13%,均显著高于健康对照人群的 2.05% 及 10.25% ($P<0.05$);且肺癌患者外周血 CD4⁺ T 淋巴细胞上 Tim-3⁺ PD-1⁺ 的表达水平为 4.36%,也明显高于健康对照组的 2.63% ($P<0.05$)。肺癌组织中 CD4⁺ T 淋巴细胞上 Tim-3、PD-1 表达及 Tim-3⁺ PD-1⁺ 共表达均显著高于癌旁正常组织,差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。与癌旁正常组织比较,肺癌组织中 iNOS mRNA 略有降低,而 Arg1 mRNA 水平则显著升高,且肺组织中 Tim-3、PD-1 表达和 Tim-3⁺ PD-1⁺ 共表达与巨噬细胞活性 iNOS/Arg1 比值均呈负相关 ($P<0.05$)。结论 NSCLC 患者外周血及肿瘤组织中 CD4⁺ T 淋巴细胞上 Tim-3 和 PD-1 表达上调,促使 M1 型巨噬细胞转变为 M2 型,具有负性免疫调节作用。

关键词:非小细胞肺癌; CD4⁺ T 淋巴细胞; T 细胞免疫球蛋白黏蛋白结构域分子 3; 巨噬细胞活性
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.06.016 **中图法分类号:**R446.63
文章编号:1673-4130(2020)06-0698-05 **文献标识码:**A

Tim-3 expression of CD4⁺ T lymphocytes in peripheral blood and tumor tissue of patients with NSCLC and its effect on macrophage activity

WEI Zhengxiao¹, HE Xuemei^{2△}

(1. Laboratory Department, Sichuan Medical Laboratory Center of KingMed Co., Ltd., Chengdu, Sichuan 610000, China; 2. Experimental Center of Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China)

Abstract: Objective To investigate the T-cell immunoglobulin and mucin-domain-containing molecule-3 (Tim-3) expression of CD4⁺ T lymphocytes in peripheral and tumor tissue of patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) and its clinical significance. **Methods** Samples of peripheral blood, lung cancer tissue and adjacent normal lung tissue of 64 NSCLC patients admitted and hospitalized in Affiliated Hospital of Southwest Medical University were collected from January 2017 to June 2018. Meanwhile, 40 cases of healthy people were chosen as control. Flow cytometry was used to detect the expression of Tim-3 and PD-1 on CD4⁺ T cells, and the content of iNOS and Arg1 mRNA in macrophages was determined by qPCR to analyze the relationship between Tim-3 and PD-1 and the activity of macrophages. **Results** The percentages of Tim-3 and PD-1 expression on CD4⁺ T lymphocytes in peripheral blood of lung cancer patients were 4.96% and 24.13%, which were significantly higher than those in healthy control groups (2.05% and 10.25%, $P<0.05$). The Tim-3⁺ PD-1⁺ expression level of CD4⁺ T lymphocytes in peripheral blood of lung cancer patients was 4.36%, which was also significantly higher than 2.63% in the healthy control group ($P<0.05$). The percentages of Tim-3, PD-1 and Tim-3⁺ PD-1⁺ expression on CD4⁺ T lymphocytes in lung cancer tissue were significantly higher than that of normal tissue adjacent to carcinoma with statistically significant differences ($P<0.05$). Compared with normal tissue adjacent to carcinoma, iNOS mRNA in lung cancer tissues was slightly lower, but Arg1 mRNA

作者简介:魏徵霄,女,主管技师,主要从事肿瘤免疫学的相关研究。△ 通信作者,E-mail:517226222@qq.com。
本文引用格式:魏徵霄,何雪梅.非小细胞肺癌患者外周血及肿瘤组织中 CD4⁺ T 淋巴细胞上 Tim-3 的表达及其对巨噬细胞活性的影响[J].国际检验医学杂志,2020,41(6):698-701.

levels were significantly increased and Tim-3,PD-1 expression and Tim-3⁺ PD-1⁺ expression in the lung tissue were negatively correlated with the activity of macrophages iNOS/Arg1 ratio ($P<0.05$). **Conclusion** Tim-3 and PD-1 expression of CD4⁺ T cells in the peripheral blood and tumor tissues of NSCLC patients is upregulated, and prompted the M1 to M2 macrophages, which presents negative immune regulating effect.

Key words: non-small cell lung cancer; CD4⁺ T lymphocytes; T-cell immunoglobulin and mucin-domain-containing molecule-3; macrophage activity

非小细胞肺癌(NSCLC)是肺癌中发病率最高的肿瘤疾病,其发病人数占据肺癌总数的80%,也是导致肺癌患者死亡的主要原因^[1-2]。大多数NSCLC患者确诊时已为中晚期,由于免疫系统失调,癌细胞快速增殖并转移到其他部位,导致预后极差,5年生存率约为20%^[3]。有研究指出,免疫系统在肿瘤细胞的增殖、转移过程中发挥了重要作用,尤其是T细胞免疫球蛋白黏蛋白结构域分子3(Tim-3)是T细胞表面重要的信号分子,具有负性免疫调节作用,与相应的配体结合可激活相关信号通路从而抑制Th1细胞功能^[4-5]。程序性死亡蛋白配体-1(PD-1)作为负性调控分子,与T细胞耗竭密切相关^[6-7]。有报道显示,肿瘤疾病中巨噬细胞活化可影响相关生长因子而促进癌细胞的生长、转移、浸润,加剧病情进展^[7-9]。但在NSCLC中,外周血、肺癌组织、正常组织Tim-3和PD-1的表达对巨噬细胞活化有何影响未见报道。本研究旨在探讨NSCLC患者外周血、肿瘤组织及正常组织中CD4⁺T细胞上Tim-3和PD-1的表达及其对巨噬细胞活性的影响,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取西南医科大学附属医院2017年1月至2018年6月收治住院的首次诊断为NSCLC的64例患者作为研究对象。研究对象纳入标准:(1)首次诊断为NSCLC,且病理HE染色确诊者;(2)属原发性肿瘤者;(3)行手术切除术后未进行放疗及化疗者;(4)临床资料完整者。排除标准:(1)合并其他恶性肿瘤者;(2)肝肾功能异常、合并心脑血管疾病者;(3)精神异常不配合者。入选患者中男35例,女29例;年龄51~74岁,平均(64.73±9.28)岁;肺鳞状细胞癌42例,腺癌22例;根据2009年UICC第7版TNM分期,I、II期27例,III期37例。同时,选取40例健康者作为健康对照组,其中男22例,女19例;年龄48~72岁,平均年龄(62.18±8.75)岁,本研究经西南医科大学附属医院医学伦理委员会同意后开展。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 治疗前,清晨采集NSCLC患者空腹静脉血(4 mL),3 000 r/min离心10 min,取上清液-20℃冻存备用。同时,抽取健康对照人群静脉血作为对照。患者签署知情同意书后,收集手术切除的肺癌组织标本,以及癌旁5 cm以上的正常肺组织(HE染色证实无肿瘤浸润)。样品制备:取部分肿瘤组织和对应的正常组织置于含有庆大霉素(900 IU/mL)、青霉素(500 IU/mL)及链霉素(500 μg/mL)的

无血清培养基中,并将组织剪切成1~2 mm³的组织碎块;采用消化酶液体(胶原酶I 1 μg/mL,胶原酶IV 1 μg/mL,DNase 25 μg/mL,2%胎牛血清混合配置)消化30 min,经Percoll组织标本分离液获取单细胞悬液备用。

1.2.2 流式法检测外周血及肺组织Tim-3和PD-1表达 流式法检测在CD4⁺T细胞上Tim-3和PD-1的表达:取外周抗凝血,肿瘤组织及正常组织单细胞悬液各100 μL,然后加入5 μL荧光标记的特异性抗体,包括抗Tim-3-PE、抗PD-1-FITC及抗CD4-PerCP-cy5.5,排除死细胞后混匀置于冰上避光孵育20 min;同时,设定各对照管。反应完毕后,将1 mL红细胞裂解液加至外周血流式管中,振荡混匀,避光放置于37℃恒温箱中反应20 min,肿瘤组织及癌旁组织单细胞悬液管可略过此步骤。将含有5%牛血清清蛋白及0.09%叠氮钠的磷酸盐缓冲液(FACS缓冲液,2 mL)离心后,去除上清液,再用300 μL的FACS缓冲液重悬。最后,采用FACS Aria II流式细胞仪进行数据采集,通过FlowJo软件分析数据,计算阳性细胞比例。

1.2.3 实时荧光定量PCR(qPCR)检测巨噬细胞诱导型一氧化氮合酶(iNOS)和精氨酸酶1(Arg1)mRNA水平 各组肺组织40 mg,根据试剂盒说明书,采用TRizol法提取总RNA,测定水平;然后根据cDNA Kit试剂盒进行反转录。GAPDH、iNOS和Arg1 mRNA水平按照操作说明,在Takara qPCR仪上进行检测。反应体系中总体积10 μL;cDNA模板(50 ng/μL)1 μL,正反向引物(10 μmol/L)各0.5 μL。反应条件:95℃预热3 min,95℃变性10 s,60℃退火20 s,72℃延伸20 s;循环40次。每个样品设置3个重复,并以GAPDH作为内参测定iNOS和Arg1 mRNA水平;定量PCR特异产物通过熔解曲线分析,以2^{-ΔΔCt}表示相对基因表达变化。PCR引物序列见表1。

表1 引物序列

基因	引物序列
GAPDH	F:5'-GGG CAT CTT GGG CTA CAC-3'
	R:5'-GGT CCA GGG TTT CTT ACT CC-3'
iNOS	F:5'-CAG GAG GAG AGA GAT CCG ATT TA-3'
	R:5'-GCA TTA GCA TGG AAG CAA AGA-3'
Arg-1	F:5'-GAA CAC GGC AGT GGC TTT AAC-3'
	R:5'-TGC TTA GCT CTG TCT GCT TTT GC-3'

1.3 统计学处理 采用 SPSS 21.0 统计软件对数据进行处理,先进行数据的正态分布检验,符合正态分布的计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异采用独立样本 t 检验分析;偏态分布的数据以 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 表示,组间比较采用 Mann-Whitney U 检验。采用 Pearson 相关分析探讨肺组织 Tim-3 和 PD-1 表达与巨噬细胞活性的相关性, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 外周血中 Tim-3 和 PD-1 的阳性表达比较 见图 1,肺癌患者外周血中 CD4⁺ T 淋巴细胞上 Tim-3 表达百分比为 4.96% (0.94%~28.46%),PD-1 表达百分比为 24.13% (12.05%~33.64%),均显著高于健康对照组的 Tim-3 和 PD-1 表达水平 [2.05% (0.54%~7.04%) 及 10.25% (3.12%~20.68%)],差异均有统计学意义 ($P = 0.021, P = 0.005$)。且肺

癌患者外周血 CD4⁺ T 淋巴细胞上 Tim-3⁺ PD-1⁺ 的表达水平为 4.36% (2.73%~27.94%),明显高于其在健康对照组外周血中的表达 [2.63% (1.27%~25.08%)],差异有统计学意义 ($P = 0.008$)。

2.2 肺组织中 Tim-3 和 PD-1 的阳性表达比较 见图 2,肺癌组织中 CD4⁺ T 淋巴细胞上 Tim-3 表达明显高于癌旁正常组织 (28.52% vs. 11.59%),差异有统计学意义 ($P = 0.016$);同时肺癌组织中 CD4⁺ T 淋巴细胞上 PD-1 表达水平也显著高于正常组织 (41.73% vs. 20.26%),差异有统计学意义 ($P = 0.007$)。进一步分析肺组织中 CD4⁺ T 淋巴细胞上 Tim-3 和 PD-1 的共表达情况,肺癌组织中 CD4⁺ T 淋巴细胞上 Tim-3⁺ PD-1⁺ 共表达明显高于正常组织 (36.72% vs. 16.28%),差异有统计学意义 ($P = 0.011$)。

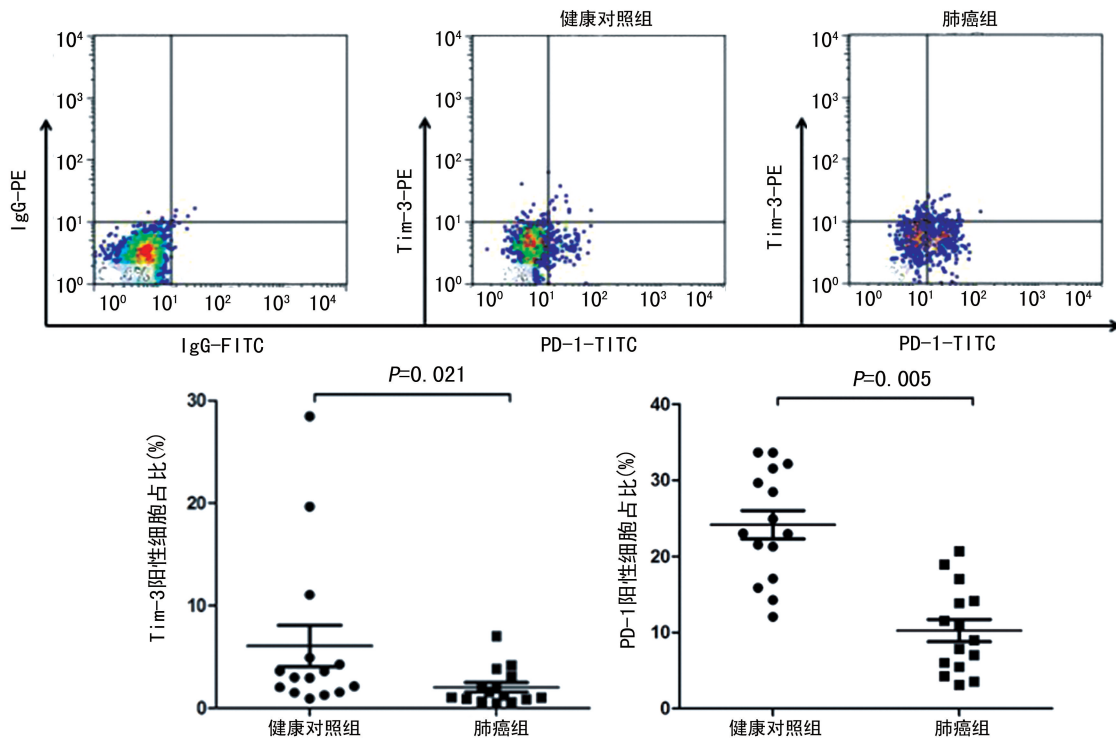


图 1 外周血 CD4⁺ 阳性细胞上 Tim-3 和 PD-1 表达水平比较

2.3 肺组织中巨噬细胞活性物质 iNOS 和 Arg1 mRNA 水平比较 与癌旁正常组织比较,肺癌组织中 iNOS mRNA 略有降低 ($P > 0.05$),而 Arg1 mRNA 水平则显著升高,差异有统计学意义 ($t = 3.953, P = 0.012$)。见表 2。

表 2 肺组织中巨噬细胞活性物质 iNOS 和 Arg1 mRNA 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)		
分组	iNOS mRNA	Arg1 mRNA
肺癌组织	0.83 ± 0.29	1.87 ± 0.18
正常组织	1.02 ± 0.34	0.98 ± 0.33
t	1.173	3.953
P	0.086	0.012

2.4 肺组织中 Tim-3 和 PD-1 表达与巨噬细胞活性的相关性 采用 Pearson 相关分析统计发现,肺组织中 Tim-3、PD-1 表达和 Tim-3⁺ PD-1⁺ 共表达与巨噬细胞活性 iNOS/Arg1 比值均呈负相关 ($P < 0.05$),见表 3。

表 3 肺组织中 Tim-3 和 PD-1 表达与巨噬细胞活性的相关性		
指标	iNOS/Arg1 比值	
	r	P
Tim-3	-0.735	0.010
PD-1	-0.814	0.005
Tim-3 ⁺ PD-1 ⁺	-0.796	0.008

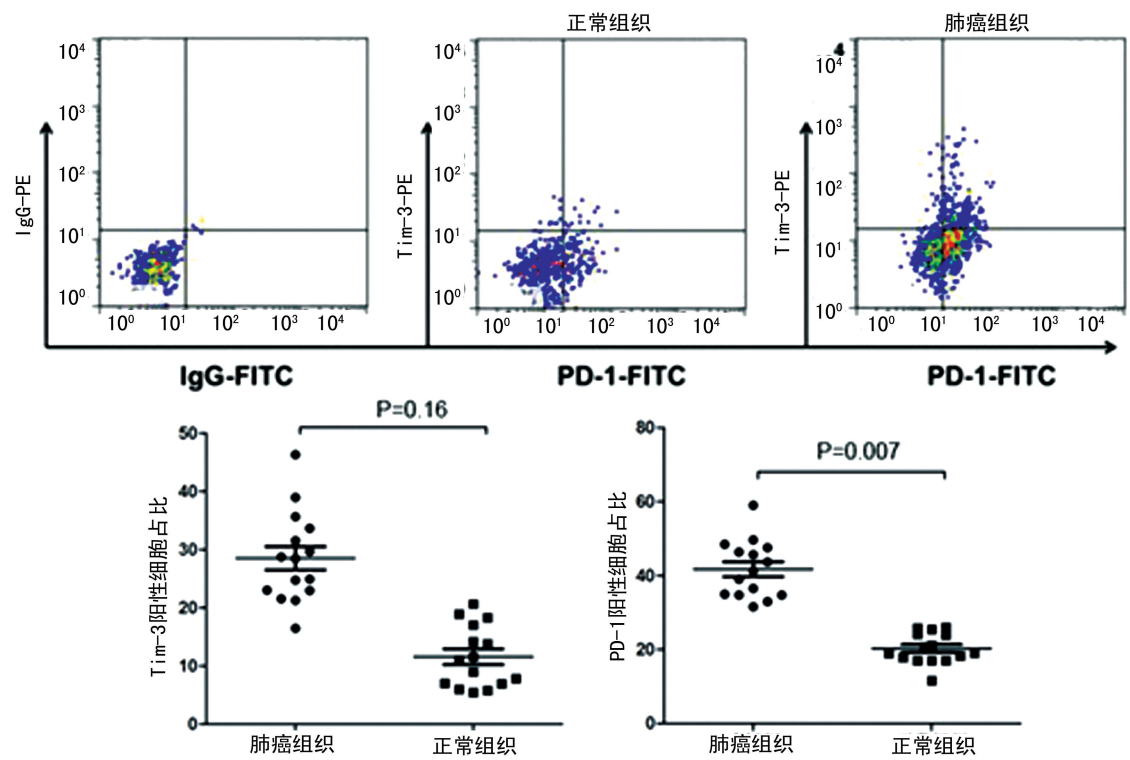


图 2 肺组织 CD4⁺ 阳性细胞上 Tim-3 和 PD-1 表达水平比较

3 讨 论

肿瘤细胞增殖、转移、浸润及扩散过程中,巨噬细胞及其炎症因子对促进肿瘤血管生长起着重要作用,巨噬细胞活化可加速机体代谢,通过免疫系统介导相关信号通路促使肿瘤细胞增殖、扩散及转移,导致疾病恶化^[10-11]。有研究发现,Tim-3 和 PD-1 等负性调控因子,在恶性肿瘤中 CD4⁺ T 淋巴细胞上大量表达,与相应的配体结合可激活相关信号通路从而抑制 Th1 细胞功能,其增高导致负性免疫调节,加快了肿瘤细胞的侵袭、增殖及转移环节,正常细胞更易发生凋亡,预后极差^[12]。

本研究得到了类似的结果,肺癌患者外周血中 CD4⁺ T 淋巴细胞上 Tim-3、PD-1 表达百分比为 4.96% 和 24.13%,均显著高于健康对照组的 2.05% 及 10.25% ($P<0.05$);且肺癌患者外周血 CD4⁺ T 淋巴细胞上 Tim-3⁺ PD-1⁺ 的表达水平为 4.36%,也明显高于健康对照组的 2.63%,这一结果提示,NSCLC 患者肺癌组织中 CD4⁺ T 淋巴细胞上 Tim-3 和 PD-1 高表达是肿瘤发生、发展的重要因素。此外,本研究还发现肺癌组织中 CD4⁺ T 淋巴细胞上 Tim-3 表达明显高于癌旁正常组织,同时肺癌组织中 CD4⁺ T 淋巴细胞上 PD-1 表达水平也显著高于正常组织。为进一步分析肺组织中 CD4⁺ T 淋巴细胞上 Tim-3 和 PD-1 的共表达情况,检测得到肺癌组织中 CD4⁺ T 淋巴细胞上 Tim-3⁺ PD-1⁺ 共表达明显高于正常组织。这证实 Tim-3 通过提高调节性 T 细胞扩增,再介导 PD-1 信号通路负性调控 T 细胞的免疫应答,形成负性的肿瘤微环境导致肿瘤免疫逃逸。

前期研究证实,肿瘤疾病中巨噬细胞活化,例如促使 M1 型巨噬细胞转变为 M2 型巨噬细胞可分泌相关生长因子而促进癌细胞的生长、转移、浸润,加剧病情进展^[6-7]。本研究结果显示,与癌旁正常组织比较,肺癌组织中 M1 巨噬细胞标志物 iNOS mRNA 略有降低 ($P>0.05$),而 M2 巨噬细胞标志物 Arg1 mRNA 水平则显著升高,说明巨噬细胞活性发生变化。为探讨肺癌组织中 Tim-3 和 PD-1 表达与巨噬细胞活性的相关性,本研究采用了 Pearson 相关分析,发现肺组织中 Tim-3、PD-1 表达和 Tim-3⁺ PD-1⁺ 共表达与巨噬细胞活性 iNOS/Arg1 比值均呈负相关,Tim-3、PD-1 表达越高,Arg1 mRNA 水平越高,iNOS/Arg1 比值越低,这和张娟等^[6]的报道一致。

4 结 论

NSCLC 患者外周血及肿瘤组织中 CD4⁺ T 淋巴细胞上 Tim-3 和 PD-1 表达上调,促使 M1 型巨噬细胞转变为 M2 型,具有负性免疫调节作用。

参考文献

- [1] 王昂,鄢文,殷胜松,等.晚期非小细胞肺癌患者循环 IL-27 与组织中 Tim-3 表达的相关性分析[J]. 现代医院, 2017,17(9):1343-1345.
- [2] 高锋,钱文霞,冯一中.非小细胞肺癌中 TIM-3,PD-1,PD-L1 的表达与临床意义[J]. 海南医学,2019,30(2):154-158.
- [3] 李永峰.非小细胞肺癌患者腺苷 A2A 受体和 TIM3 的表达及其与患者预后的关系分析[J]. 中华保健医学杂志, 2015,17(5):384-385.
- [4] 朱文良,李靖,梁新强,等. Tim3 水平对(下转第 706 页)

motes myocardial apoptosis caused by myocardial ischemia-reperfusion by down-regulating PTEN[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(9):3967-3975.

[8] GAO S H, LIU J, ZHANG H J, et al. Low miR-133 aexpression is a predictor of outcome in patients with esophagealsquamous cell cancer[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20(18):3788-3792.

[9] GAO L, LI S H, TIAN Y X, et al. Role of downregulated miR-133a-3p expression in bladder cancer: a bioinformatics study[J]. *Onco Targets Ther*, 2017, 10 (23): 3667-3683.

[10] 张同, 施承民, 徐玉, 等. 结直肠癌患者血浆中 miR-141-3p 及其靶基因的表达变化及相关性分析[J]. *重庆医学*, 2019, 48(1):76-79.

[11] LI C, LI X, GAO S, et al. MicroRNA-133a inhibits proliferation of gastric cancer cells by downregulating ERBB2 expression[J]. *Onco Res*, 2017, 25(7):1169-1176.

[12] 周欣亮, 吴昊, 李丹, 等. miR-133a-3p 在胃癌组织和血浆中的表达及其对胃癌细胞增殖的影响[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(6):613-619.

[13] SAND M, SKRYGAN M, SAND D, et al. Comparative microarray analysis of microRNA expression profiles in primary cutaneous malignant melanoma, cutaneous malignant melanoma metastases, and benign melanocytic nevi[J]. *Cell Tissue Res*, 2013, 351(1):85-98.

[14] HE X, CHEN S Y, YANG Z, et al. miR-4317 suppresses non-small cell lung cancer (NSCLC) by targeting fibroblast growth factor 9 (FGF9) and cyclin D2 (CCND2) [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1):230.

[15] HU X, ZHANG M, MIAO J, et al. miRNA-4317 suppresses human gastric cancer cell proliferation by targeting ZNF322[J]. *Cell Biol Int*, 2018, 42(8):923-930.

[16] 龚玉竹, 庞学利, 杨松柏, 等. 淋巴结转移阴性的胃癌患者临床病理特征及生存探讨[J]. *现代生物医学进展*, 2016, 16(3):466-469.

[17] SANDOVAL-BORQUEZ A, POLAKOVICOVA I, CAR RASCO-VELIZ N, et al. MicroRNA-335-5p is a potential suppressor of metastasis and invasion in gastric cancer[J]. *Clin Epigenetics*, 2017, 9(1):114.

[18] ZHENG L, JIAO W, SONG H, et al. miRNA-558 promotes gastric cancer progression through attenuating Smad4-mediated repression of heparanase expression[J]. *Cell Death Dis*, 2016, 7(9):e2382.

[19] ZHANG Y, WEN X, HU X L, et al. Downregulation of miR-145-5p correlates with poor prognosis in gastric cancer[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20 (14): 3026-3030.

[20] 鄢俊, 钟志宏, 施华球, 等. miRNA-520a-3p 调控 MAP3K2 表达对肺癌干细胞凋亡的影响[J]. *中国组织工程研究*, 2018, 22(13):2051-2056.

[21] MULRANE L, KLINGER R, MCGEE S F, et al. microRNAs: a new class of breast cancer biomarkers[J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2014, 14(3):347-363.

[22] ERDMANN K, KAULKE K, THOMAE C, et al. Elevated expression of prostate cancer-associated genes is linked to down-regulation of microRNAs [J]. *BMC Cancer*, 2014, 14(1):82.

[23] WANG Q, LI Z, LU Y, et al. microRNA-133: expression, function and therapeutic potential in muscle diseases and cancer[J]. *Curr Drug Targets*, 2014, 15(9):817-828.

[24] LIU Y, ZHANG X, ZHANG Y, et al. Identification of miRNomes in human stomach and gastric carcinoma reveals miR-133b/a-3p as therapeutic target for gastric cancer[J]. *Cancer Lett*, 2015, 369(1):58-66.

[25] 邵娟, 张蕾, 王继军, 等. MiR-133a-3p 抑制人胃癌细胞的增殖、迁移及侵袭研究[J]. *扬州大学学报(农业与生命科学版)*, 2017, 38(1):30-34.

(收稿日期:2019-06-08 修回日期:2019-10-25)

(上接第 701 页)

非小细胞肺癌临床进展及预后的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2018, 28(17):104-108.

[5] 张秦畅. Pembrolizumab 在 PD-L1 阳性晚期 NSCLC 患者的疗效观察及其与外周血 T 细胞 PD-1, TIM-3 表达的相关性研究[D]. 扬州:扬州大学, 2017.

[6] 张娟, 张正昊, 庞楠楠, 等. Tim-3 在恶性肿瘤中的表达及机制的研究进展[J]. *实用医学杂志*, 2017, 33(21):3667-3670.

[7] 申学杰, 潘娜, 魏枫, 等. 探讨 Tim-3 在非小细胞肺癌浸润巨噬细胞上的表达及其对预后的影响[J]. *中国癌症杂志*, 2017, 27(7):559-568.

[8] 吉芑, 陈迪康, 卞建叶, 等. TIM-3 在人非小细胞肺癌 CD4⁺ 肿瘤浸润淋巴细胞的表达增强提示预后不良[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2015, 31(6):808-811.

[9] 徐本玲, 袁鹏, 陈广玉, 等. 三阴性乳腺癌患者外周血及肿瘤组织中 CD4⁺ T 淋巴细胞上 Tim-3 和 PD-1 的表达及其临床意义[J]. *河南医学研究*, 2017, 26(7):1173-1176.

[10] 徐本玲, 袁龙, 袁鹏, 等. 胃癌患者外周及肿瘤组织中 CD4⁺ T 淋巴细胞上 Tim-3 的表达及其临床意义[J]. *实用医学杂志*, 2017, 33(1):108-112.

[11] 李晓莉, 吴小津, 吴德沛. TIM-3/Galectin-9 通路在器官移植后 T 细胞免疫应答中的作用研究进展[J]. *免疫学杂志*, 2015, 31(12):1097-1100.

[12] 周笑, 李佳鸿, 王秀楠. 奥沙利铂、顺铂和卡铂抗膀胱癌作用体外对比性研究[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2016, 21(2):160-164.

(收稿日期:2019-05-28 修回日期:2019-10-11)