

高脂饮食诱导高脂血症大鼠及不同器官病理变化

刘超, 何卫保, 朱桐林, 刘粮泽, 高鑫蕊, 高慧婕

(济宁医学院药学院, 山东日照276826)

摘要:通过高脂饮食建立高脂血症大鼠模型,观察高脂血症大鼠体内程序性死亡受体1(PD-1)的表达变化。将40只雄性SD大鼠分为2组,分别饲喂普通饲料和高脂饲料12周,计算大鼠的肝脏、脾脏和胰腺指数,测定大鼠全血血糖,检测大鼠血清中甘油三酯(TG)、总胆固醇(T-CHO)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)的含量,通过HE染色检测大鼠肝脏的病理变化,同时采用RT-qPCR检测PD-1 mRNA在大鼠肝脏、脾脏和胰腺组织内的表达变化。结果表明:高脂饲料组大鼠的肝脏、脾脏和胰腺指数显著高于普通饲料组;高脂饲料组大鼠的血糖显著升高;高脂饲料组大鼠血清中的TG、T-CHO、LDL-C的含量均显著高于普通饲料组,LDL-C/HDL-C的比值也显著高于普通饲料组,高脂血症大鼠造模成功。HE染色显示高脂饲料组大鼠肝脏组织内均出现明显脂肪空泡。与普通饲料组相比,高脂饲料组大鼠肝脏、脾脏和胰腺组织内PD-1 mRNA的表达均显著降低,提示PD-1可能参与了高脂血症的发生和发展。

关键词:高脂饮食;高脂血症;大鼠;PD-1;免疫性炎症

中图分类号:TS201.4;R57

文献标识码:A

文章编号:1003-7969(2020)09-0081-05

Hyperlipidemia induced by high-fat diet in rats and pathological changes in different organs

LIU Chao, HE Weibao, ZHU Tonglin, LIU Liangze, GAO Xinxin, GAO Huijie

(College of Pharmacy, Jining Medical University, Rizhao 276826, Shandong, China)

Abstract: In order to establish hyperlipidemia rats model by high-fat diet and observe expression of PD-1 in hyperlipidemia rats, forty male SD rats were divided into two groups of high-fat diet group and normal diet group and fed for twelve weeks with normal feed and high-fat feed, respectively. The liver index, spleen index and pancreas index were calculated. The blood glucose and serum triglyceride (TG), total cholesterol (T-CHO) and high density lipoprotein (HDL-C) and low density lipoprotein (LDL-C) concentrations were determined. HE staining was used to observe the pathological changes of rat liver, and PD-1 mRNA expressions in rat liver, spleen and pancreas were detected by RT-qPCR. The results showed that the liver index, spleen index and pancreas index in the high-fat diet group were significantly higher than those in the normal diet group. The blood glucose in the high-fat diet group was significantly increased, the serum levels of TG, T-CHO, HDL-C and LDL-C in the high-fat diet group were higher than those in the normal diet group, and the ratio of LDL-C to HDL-C was also significantly higher than that in the normal diet group. HE staining showed that there were obvious fat

vacuoles in the liver tissue of rats fed with high-fat diet. The expressions of PD-1 mRNA in liver, spleen and pancreas tissue of rats fed with high-fat diet were significantly lower than that of rats fed with normal diet, indicating that PD-1 might participate in the occurrence and development of hyperlipidemia.

Key words: high-fat diet; hyperlipidemia; rat; PD-1; immune inflammation

收稿日期:2019-12-15;修回日期:2020-05-25

基金项目:山东省中医药科技发展计划项目(2019-0455);济宁医学院大学生科研项目(JYXS2017KJ022);济宁医学院校级教育科学研究项目(18066);济宁医学院青年教师科研扶持基金(JY2017KJ046)

作者简介:刘超(1981),男,讲师,博士,研究方向为分子生物学及药物药理学(E-mail)lcanatomy@163.com。

通信作者:高慧婕,副教授,博士(E-mail)mianyigao@163.com。

近年来,随着我国人民生活水平的逐渐提高,我国居民的食用油年消费量已经达到 24.8 kg,平均每天摄入量约为 68 g,已经超过推荐用量的 2 倍^[1-2]。高脂、高能量食物的摄入比例增加,血脂异常人群的总体患病率呈快速上升趋势,主要表现为高脂血症^[3]。众所周知,心血管疾病是导致全球人口死亡率上升的重要原因,而高脂血症是引发心血管疾病的首要危险因素^[4-7]。程序性死亡受体 1 (Programmed cell death protein 1, PD-1) 是一种重要的免疫抑制分子。PD-1 与其配体 PD-L1 主要通过协同刺激作用抑制 T 细胞的活化与增殖,下调免疫应答。近年来 PD-1 被认为与移植排斥、自身免疫性疾病、慢病毒感染、肿瘤免疫逃逸等多种疾病密切相关^[8-10]。若阻断 PD-1 与 PD-L1 信号途径,自身反应性 T 细胞的负性调控信号缺失,从而致自身反应性 T 细胞克隆增殖,从而可引发自身免疫炎症反应。现已知高脂血症与免疫炎症反应密切相关,而有关 PD-1 与高脂血症关系的研究,国内外均未见报道。本实验通过高脂饮食诱导高脂血症大鼠,探讨 PD-1 在高脂血症大鼠体内的表达变化。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

40 只清洁级雄性 SD 大鼠,购自济南朋悦实验动物繁育有限公司,合格证号为 SCXK(鲁)2014-0007,6 周龄,体重 160~180 g。

1.1.2 试剂

4% 多聚甲醛通用性组织固定液, Biosharp 公司; Total RNA Extractor (Trizol), 上海生工生物工程有限公司; HiScript II Q Select RT SuperMix for qPCR, AceQ Universal SYBR qPCR Master Mix, 南京诺唯赞生物科技有限公司; 总胆固醇(T-CHO)试剂盒、甘油三酯(TG)试剂盒、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)试剂盒、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)试剂盒, 南京建成生物工程研究所。

1.1.3 仪器与设备

Filter Max 型多功能酶标仪, 美国美谷分子仪器有限公司; T100TMTthermal Cycler PCR 仪、CFX96TMOptics Module 荧光定量 PCR 仪, 美国伯乐生命医学产品有限公司; MIX-1500 型微孔板振荡仪, 杭州米欧仪器有限公司; 可调速旋涡混匀器, 苏州珀西瓦尔实验设备有限公司; HW-SY11-K 型电热恒温水浴箱, 北京长风仪器仪表公司; RM2235 切片机, 德国莱卡。

1.2 实验方法

1.2.1 实验动物处理

将 40 只雄性 SD 大鼠适应性喂养 1 周(温度保持在 20~25℃, 湿度维持在 50%~55%, 每天给普通饲料少量多次, 保证昼夜交替均 12 h)后, 测量大鼠体重并随机分为高脂饲料组和普通饲料组各 20 只。每日早、中、晚分 3 次给予饲料, 普通饲料组每只大鼠日均给料 25 g, 高脂饲料组每只大鼠日均给料 20 g, 共计饲养 12 周^[11-13]。普通饲料配方: 面粉 25%, 麦片 25%, 玉米面 25%, 豆面 10%, 鱼粉 8%, 骨粉 4%, 酵母粉 2%, 精盐 1%。高脂饲料配方: 普通饲料 47.7%, 猪油 15%, 蛋白粉 12%, 全脂奶粉 8%, 白砂糖 8%, 胆固醇 7%, 胆盐 0.3%, 食盐 2%^[8]。

大鼠饲养 12 周后, 禁食 12 h, 逐一称重。腹腔注射 10% 的水合氯醛麻醉大鼠。大鼠采血, 测定血糖后静置 10 min, 2 500 r/min 离心 10 min, 分离获得大鼠血清, 放置在 -80℃ 保存待用。然后解剖大鼠分离肝脏、脾脏和胰腺。选择每只大鼠的部分肝脏, 使用 4% 的多聚甲醛进行固定, 剩余脏器迅速分装至冷冻管中, 置入 -80℃ 保存。

1.2.2 大鼠肝脏指数、脾脏指数和胰腺指数的测定

大鼠解剖后, 分离的肝脏、脾脏和胰腺, 使用生理盐水冲洗表面残留血液, 吸水纸吸干残余液体后, 用精密天平称重, 按下式计算脏器指数。

肝脏(脾脏、胰腺)指数 = 肝脏(脾脏、胰腺)质量/大鼠体重 × 100%

1.2.3 大鼠血清 TG、T-CHO、LDL-C 和 HDL-C 含量的测定

将分离的大鼠血清从 -80℃ 冰箱取出, 按照试剂盒说明书进行操作, 加样后的酶标板放入酶标仪中, 测定各孔吸光度。按照给定的公式计算各生化指标的含量。

1.2.4 RT-qPCR 法检测大鼠肝脏、脾脏和胰腺 PD-1 mRNA 的表达

Trizol 法提取大鼠肝脏、脾脏和胰腺组织的总 RNA, 逆转录为 cDNA。使用 SYBR Green 在 CFX96 扩增仪上进行荧光定量 PCR。PCR 引物序列如表 1 所示。

表 1 引物序列

引物名称	引物序列	目的片段长度/bp
PD-1	上游(F): 5'-TCTCGCTGCCTTCTGCTCAACA-3'	141
	下游(R): 5'-GTCTTCTCTCGTCCCTGAAAGTCCA-3'	
GADPH	上游(F): 5'-GCCACAGTCAAGGCTGAGAATG-3'	143
	下游(R): 5'-ATGGTGGTGAAGACGCCAGTA-3'	

1.2.5 大鼠肝脏 HE 染色

大鼠肝脏组织石蜡包埋,切片机连续切片,厚度 5~6 μm ,在 60 $^{\circ}\text{C}$ 温水中用载玻片进行粘片,高温烤片 90 min,随后脱蜡水化、苏木精-伊红染色,全景扫描仪扫描观察。

1.2.6 数据处理

采用 SPSS 22.0 统计软件,数据以“均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$)”表示,组间差异比较采用 t 检验, $p < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 大鼠体重和脏器质量的变化(见表 2)

表 2 大鼠体重和各脏器质量($n=20$)

组别	体重/g	肝脏		肾脏		胰腺	
		质量/g	指数/%	质量/g	指数/%	质量/g	指数/%
高脂饲料组	386.3 \pm 11.44 ^a	10.88 \pm 1.27 ^a	2.81 \pm 0.24 ^a	2.70 \pm 0.28 ^a	0.69 \pm 0.06 ^a	1.19 \pm 0.09 ^a	0.31 \pm 0.02 ^a
普通饲料组	368.0 \pm 10.75	9.26 \pm 0.14	2.52 \pm 0.05	2.25 \pm 0.11	0.61 \pm 0.03	0.89 \pm 0.05	0.24 \pm 0.02

注:a表示与普通饲料组比较 $p < 0.05$ 。下同。

实验过程中,大鼠均未出现死亡,活动度与摄食情况均未见异常。适应性喂养 1 周(饲喂高脂饲料之前),普通饲料组与高脂饲料组大鼠体重无明显差异($p > 0.05$)。由表 2 可知,饲养 12 周后,高脂饲料组大鼠体重显著高于普通饲料组($p < 0.05$)。与普通饲料组相比,高脂饲料组大鼠的肝脏指数、脾脏

指数和胰腺指数显著增加($p < 0.05$)。提示高脂血症可能造成了大鼠各脏器的免疫炎症反应,尤以胰腺指数增加最为显著。

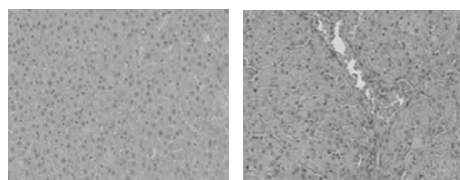
2.2 大鼠血糖和血清 TG、T-CHO、LDL-C 和 HDL-C 的变化(见表 3)

表 3 大鼠生化指标($n=20$)

组别	血糖/(mmol/L)	TG/(mmol/L)	T-CHO/(mmol/L)	HDL-C/(mmol/L)	LDL-C/(mmol/L)	LDL-C/HDL-C
高脂饲料组	7.10 \pm 0.91 ^a	1.06 \pm 0.17 ^a	2.13 \pm 0.44 ^a	1.27 \pm 0.35	9.89 \pm 2.45 ^a	8.34 \pm 2.99 ^a
普通饲料组	5.35 \pm 0.48	0.77 \pm 0.08	1.71 \pm 0.16	1.26 \pm 0.18	6.33 \pm 0.24	5.10 \pm 0.65

由表 3 可知,与普通饲料组相比,高脂饲料组大鼠的血糖和血清中 TG、T-CHO、LDL-C 含量均显著高于普通饲料组($p < 0.05$),高脂饲料组 LDL-C/HDL-C 的比值也显著高于普通饲料组($p < 0.05$),证明此次高脂饮食诱导的高脂血症大鼠造模成功。

2.3 大鼠肝脏 HE 染色(见图 1)



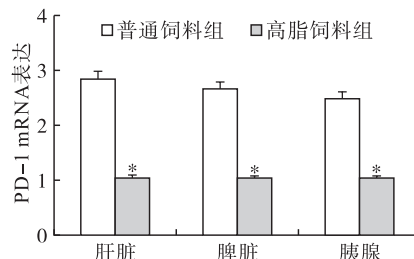
普通饲料组 高脂饲料组

图 1 大鼠肝脏 HE 染色

由图 1 可知:HE 染色后,镜下观察可见普通饲料组大鼠肝脏组织结构正常,染色均匀分布,细胞排列整齐、清晰,细胞核处于细胞中央;高脂饲料组大鼠肝脏组织发生了脂肪变性,出现了大小不等的脂肪空泡,细胞核被挤压于细胞一侧。

2.4 大鼠肝脏、脾脏和胰腺组织中 PD-1 mRNA 的表达(见图 2)

由图 2 可知,与普通饲料组相比,高脂饲料组大鼠的肝脏、脾脏及胰腺组织内 PD-1 mRNA 的表达均呈现下降趋势,差异具有统计学意义($p < 0.05$)。



注:*表示与普通饲料组比较 $p < 0.05$ 。

图 2 大鼠肝脏、脾脏和胰腺组织中 PD-1 mRNA 的表达

2.5 讨论

高脂血症是引发脑卒中、心肌梗死、心源性猝死等心脑血管疾病的危险因素,对身体的损害是隐匿、进行性和全身性的,最终可引发动脉粥样硬化、肾功能衰竭等^[6-7]。大量研究表明,肥胖、高脂高糖饮食、过度饮酒等都是促成高脂血症患病率逐年升高、患病年轻化的危险因素^[14]。实验使用高脂饲料诱导高脂血症大鼠,高脂饮食 12 周后,大鼠血清中 TG、T-CHO、LDL-C 含量及 LDL-C/HDL-C 的比值均显著高于普通饲料组,HE 染色也显示高脂饲料组大鼠肝脏组织发生了脂肪变性,说明长期高脂饮食可诱导大鼠高脂血症的发生。

机体的高脂血症状态必然对机体的免疫系统产生一系列影响,而高脂血症与免疫炎症反应是密切相关的。有研究发现,人体血清中胆固醇的升高会

引起白细胞及单核细胞计数增加,同时高胆固醇血症可以促进中性粒细胞的分化和血小板计数的增加^[15-16]。血脂升高能够导致 T 细胞亚群比例的变化^[17-19],血脂升高可引发 CD8⁺ T 细胞与 CD4⁺ T 细胞的比值升高,而介导免疫抑制作用的调节性 T 细胞(Treg 细胞)减少,创造了一个适合于免疫激活的环境。PD-1/PD-L1 是表达于 T 细胞表面的重要免疫抑制分子,PD-1/PD-L1 的激活使得 Treg 细胞转化,致使免疫功能下降;而阻断 PD-1/PD-L1 通路,可使 CD8⁺ T 细胞的活性升高,增强机体免疫力^[20-21]。有研究发现,PD-L1 在组织纤维化水平较高的地方和具有炎症效应的患者中表达较高,PD-L1 表达量和肝脏的纤维化程度和炎症效应的强弱呈正相关性,PD-L1 高表达有可能诱导机体长时间维持免疫耐受的状态,对肝组织的纤维化进展产生促进效果^[22]。实验结果显示,在高脂血症大鼠体内,其肝脏、脾脏及胰腺内 PD-1 的表达均较正常大鼠显著降低。因此,推测高脂血症大鼠体内 PD-1 的表达降低,PD-1/PD-L1 通路处于抑制状态,提高了机体 CD8⁺ T 细胞的活性,从而使机体处于免疫激活的状态,引发炎症,参与了高脂血症的发生、发展。后续将展开进一步研究,观察高脂血症大鼠体内免疫系统以及炎症与 PD-1 表达变化的相关性,进一步探讨 PD-1 对高脂血症的调节机制。

3 结 论

实验结果表明高脂血症大鼠模型制备成功:高脂饲料组大鼠的肝脏、脾脏和胰腺指数显著高于普通饲料组;高脂饲料组大鼠的血糖和血清中的 TG、T-CHO、LDL-C 含量以及 LDL-C/HDL-C 的比值均显著高于普通饲料组;HE 染色显示高脂饲料组大鼠肝脏组织内均出现明显脂肪空泡。高脂、高能量食物的摄入比例增加,是促成高脂血症的危险因素。另外,与普通饲料组相比,高脂饲料组大鼠的肝脏、胰腺和脾脏组织内 PD-1 mRNA 的表达均显著降低,提示 PD-1 可能参与了高脂血症的发生和发展。

参考文献:

[1] 王佳雅,尚艳娥,王利丹,等. 2014—2016 年北京市市售食用植物油质量调查分析[J]. 中国油脂,2018,43(6): 85-89.
 [2] 蔡天舒,卓佳青,张伟爱,等. 广东消费者对食用油和散装压榨食用油认知与消费行为的调查研究[J]. 中国油脂,2019,44(9):104-108.
 [3] 马武男. 社区居民高脂血症与饮食和生活方式的关系研

究[J]. 临床医药文献杂志(电子版),2017,18(4): 3544-3545.
 [4] FEIG J E, PARATHATH S, RONG J X, et al. Reversal of hyperlipidemia with a genetic switch favorably affects the content and inflammatory state of macrophages in atherosclerotic plaques [J]. *Circulation*, 2011, 123(9): 989-998.
 [5] TIETGE U J. Hyperlipidemia and cardiovascular disease: inflammation, dyslipidemia, and atherosclerosis [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2014, 25(1):94-95.
 [6] BAHMANI M, MIRHOSEINI M, SHIRZAD H, et al. A review on promising natural agents effective on hyperlipidemia [J]. *J Evid Based Complementary Altern Med*, 2015, 20(3):228-238.
 [7] NAVAR -BOGGAN A M, PETERSON E D, D'AGOSTINO R B, et al. Hyperlipidemia in early adulthood increases long-term risk of coronary heart disease [J]. *Circulation*, 2015, 131(5): 451-458.
 [8] IRAVANI -SAADI M, KARIMI M H, YAGHOBI R, et al. Polymorphism of costimulatory molecules (CTLA4, ICOS, PD.1 and CD28)and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in Iranian patients [J]. *Immunol Invest*, 2014, 43(4): 391-404.
 [9] KAMPHORST A O, PILLAI R N, YANG S, et al. Proliferation of PD-1 + CD8 T cells in peripheral blood after PD-1 -targeted therapy in lung cancer patients [J]. *Proc Natl Acad*, 2017, 114(19): 4993-4998.
 [10] MAIMELA N R, LIU S S, ZHANG Y. Fates of CD8⁺ T cell in tumor microenvironment [J]. *Comput Struct Biotechnol J*,2019,17:1-13.
 [11] 胡慧明,朱彦陈,朱巧巧,等. 实验性高脂血症动物模型比较分析[J]. 中国中药杂志,2016,41(20):3709-3714.
 [12] 魏宏,沈涛. 两种高脂血症模型制备方法的比较研究 [J]. 山西中医,2016,32(8):51-53.
 [13] 张强,周姗姗,景东华,等. 大鼠高脂血症模型建立效果评价[J]. 延安大学学报(医学科学版),2016,14(2): 6-8.
 [14] 殷茵,刘志诚,徐斌,等. 1528 例肥胖并发高脂血症中医证型与病因病机的分析[J]. 时珍国医国药,2016, 27(11):2673-2675.
 [15] COLLERR B S. Leukocytosis and ischemic vascular disease morbidity and mortality: is it time to intervene? [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*,2005,25:658-670.
 [16] GOMES A L, CARVALHO T, SERPA J, et al. Hypercholesterolemia promotes bone marrow mobilization by perturbing the SDF-1: CXCR-4 axis [J]. *Blood*, 2010,115: 3886-3894.

分别为吡嗪类化合物、(E,E)-2,4-庚二烯醛和6-甲基-5-庚烯-2-酮。

参考文献:

- [1] 王兴国. 食用油与健康[M]. 北京: 人民军医出版社, 2011.
- [2] HUI Y H. 贝雷: 油脂化学与工艺学[M]. 徐生庚, 裘爱泳, 译. 5版. 北京: 中国轻工业出版社, 2001.
- [3] QIU S, WANG J, GAO L. Qualification and quantisation of processed strawberry juice based on electronic nose and tongue [J]. *LWT - Food Sci Technol*, 2015, 60(1): 115 - 123.
- [4] CHEN H, ZHANG M, BHANDARI B, et al. Evaluation of the freshness of fresh - cut green bell pepper (*Capsicum annuum* var. *grossum*) using electronic nose[J]. *LWT - Food Sci Technol*, 2018, 87: 77 - 84.
- [5] QIN Z, PANG X, CHEN D, et al. Evaluation of Chinese tea by the electronic nose and gas chromatography - mass spectrometry: correlation with sensory properties and classification according to grade level[J]. *Food Res Int*, 2013, 53(2): 864 - 874.
- [6] CAPONE S, TUFARIELLO M, FRANCIOSO L, et al. Aroma analysis by GC/MS and electronic nose dedicated to *Negroamaro* and *Primitivo* typical Italian Apulian wines [J]. *Sensors Actuat B Chem*, 2013, 179: 259 - 269.
- [7] CONTRERAS M D M, ARROYO - MANZANARES N, ARCE C, et al. HS - GC - IMS and chemometric data treatment for food authenticity assessment: olive oil mapping and classification through two different devices as an example[J]. *Food Control*, 2019, 98: 82 - 93.
- [8] ARROYO - MANZANARES N, MARTÍN - GÓMEZ A, JURADO - CAMPOS N, et al. Target vs spectral fingerprint data analysis of Iberian ham samples for avoiding labelling fraud using headspace - gas chromatography - ion mobility spectrometry[J]. *Food Chem*, 2018, 246: 65 - 73.
- [9] JAHOUACH - RABAI W, TRABELSI M, VAN HOED V, et al. Influence of bleaching by ultrasound on fatty acids and minor compounds of olive oil. Qualitative and quantitative analysis of volatile compounds (by SPME coupled to GC/MS)[J]. *Ultrason Sonochem*, 2008, 15(4): 590 - 597.
- [10] 刘登勇, 周光宏, 徐幸莲. 确定食品关键风味化合物的一种新方法: “ROAV”法[J]. *食品科学*, 2008(7): 370 - 374.
- [11] 孙宝国. 食用调香术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2016.
- [12] 姬彦羽, 赵宏亮, 魏静, 等. 采用 HS - SPME - GC - MS 分析棕榈油热处理过程中挥发性成分变化[J]. *中国油脂*, 2017, 42(8): 22 - 27.
- [13] 徐立荣. 食用油贮藏过程自动氧化变化规律研究[D]. 陕西 杨凌: 西北农林科技大学, 2017.
- [14] 姚云平. 油脂指纹图谱在植物性油脂识别中的应用[D]. 天津: 天津科技大学, 2012.
- [15] BAKER G L, CORNELL J A, GORBET D W, et al. Determination of pyrazine and flavor variations in peanut genotypes during roasting[J]. *J Food Sci*, 2003, 68(1): 394 - 400.
- [16] FEUSSNER I, WASTERNAK C. The lipoxygenase pathway [J]. *Ann Rev Plant Biol*, 2002, 53(1): 275 - 297.
- [17] 韩小苗, 吴苏喜, 吴美芳, 等. 不同工艺制取的茶籽油挥发性风味成分分析[J]. *中国油脂*, 2018, 43(1): 39 - 42.
- [18] 李梓铭, 庾庐山, 黄军, 等. 不同加工方式茶籽油挥发性风味成分聚类分析[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(17): 276 - 279.
- [19] 林祥云. 调香术[M]. 3版. 北京: 化学工业出版社, 2013.
- [20] HEDGE P S, KARANIKAS V, EVERS S. The where, the when, and the how of immune monitoring for cancer immunotherapies in the era of checkpoint inhibition[J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(8): 1865 - 1874.
- [21] TANG H, LIANG Y, ANDERS R A, et al. PD - L1 on host cells is essential for PD - L1 blockade - mediated tumor regression[J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(2): 580 - 588.
- [22] 申民强, 孙趁意, 刘占举, 等. B7 - H1 及其受体 PD - 1 分子在原发性肝癌组织中的表达及临床意义[J]. *世界华人消化杂志*, 2008, 16(27): 3110 - 3113.

(上接第 84 页)