DOI:10.16016/j.1000-5404.201609157

PD-L1 基因多态性与肝癌易感性以及预后之间的关系

程仕光,李 清,彭 宇,李梦侠,张 亮,段 威,梁 伟,彭 扬,杨宇馨,王 东 (400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所肿瘤中心)

[摘要] **目的** 研究 PD-L1 基因多态性与肝癌易感性以及患者预后之间的关系。**方法** 收集我院 123 例原发性肝癌患者和 141 例健康体检者的外周血淋巴细胞,应用直接测序法和 PCR-SSCP 检测 PD-L1 基因 rs4143185,rs2890658 和 rs17718883 三个位点的单核苷酸多态性。**结果** rs2890658 位点的 AC 基因型及 rs17718883 的 CG 基因型可以显著降低肝癌的发病风险($OR=0.43$,$P=0.035$;$OR=0.01$,$P<0.001$);而 rs4143185 的 GG 基因型可能增加肝癌的发病风险($OR=2.80$,$P=0.057$)。rs2890658 位点 AC+CC 和 AA 的中位生存时间分别为 20 个月和 17 个月($P=0.042$);rs4143185 位点的 GC+GG 和 CC 中位生存时间分别为 21 个月和 15 个月,差异有统计学意义($P<0.001$);COX 回归分析显示 rs4143185 位点的突变基因型都可以获得好的预后,差异有统计学意义(HR<1;且 $P<0.05$)。**结论** PD-L1 基因 rs2890658 和 rs17718883 两个位点的 SNP 与肝癌的易感性有关,而 rs2890658 和 rs4143185 位点的 SNP 可能与肝癌的预后有关。

[关键词] PD-L1;单核苷酸多态性;肝癌;预后

[中图法分类号] R195.4; R394.5; R735.7 [文献标志码] A

Association of single nucleotide polymorphisms of programmed death-ligand 1 with liver cancer susceptibility and prognosis

Cheng Shiguang, Li Qing, Peng Yu, Li Mengxia, Zhang Liang, Duan Wei, Liang Wei, Peng Yang, Yang Yuxin, Wang Dong (Cancer Center, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the relationship of the single nucleotide polymorphisms (SNPs) of programmed death-ligand 1 (PD-L1) gene with the susceptibility and prognoses of liver cancer. **Methods** Liver tissue samples from 123 patients pathologically diagnosed with primary hepatic carcinoma and 141 healthy individuals were collected in our hospital from February 2008 to May 2014. Direct sequencing and polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP) were used to detect the SNPs of PD-L1 gene in 3 loci, rs4143185, rs2890658 and rs17718883. **Results** The heterozygous mutation of AC genotype in PD-L1 rs2890658 and CG genotype in rs17718883 reduced the risk of hepatocellular carcinoma ($OR=0.43$, $P=0.035$; $OR=0.01$, $P<0.001$), while the GG genotype in rs4143185 increased the risk ($OR=2.80$, $P=0.057$). The median survival time was 20 and 17 months respectively in the patients carrying AC+CC and AA genotypes in rs2890658 locus ($P=0.042$), and 21 and 15 months separately in those carrying GC+GG and CC genotypes at rs4143185 locus ($P<0.01$). Cox regression analysis suggested that the mutation genotypes of rs4143185 resulted in good prognosis (HR<1, $P<0.05$). **Conclusion** PD-L1 SNPs in the loci of rs2890658 and rs17718883 are associated with susceptibility to hepatocellular carcinoma, and those of rs2890658 and rs4143185 loci are related with the prognosis.

[通信作者] 王 东,E-mail:dongwang64@hotmail.com

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20170223.1602.002.html

[**Key words**] programmed death-ligand 1; single nucleotide polymorphism; hepatic carcinoma; prognosis

Corresponding author: Wang Dong, E-mail: dongwang64@hotmail.com

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma,HCC)是最常见的肝脏恶性肿瘤,在全球范围内以及西方国家的发病率逐年上升[1]。在过去的十年中,肝癌分期主要根据巴塞罗那(BCLC)标准进行临床分期,依赖于成像技术和肝细胞癌肿瘤大小以及结节的数量定义肝癌的进展情况[2]。根据目前欧洲肝脏研究协会(EASL)和美国肝病研究协会(AASLD)的指南,现有的治疗方法仅局限于针对早期肝癌患者[3]。经过这些治疗包括肝切除或移植以及局部的射频消融术(RFA)后患者5年生存率高达70%[4]。然而,大多数诊断为HCC晚期的患者预后较差,化疗、放疗、分子靶向治疗效果有限,主要以姑息治疗为主,导致中位生存时间<1年[5-6]。因此,早期阶段更准确的检测肝细胞癌,了解肝癌的易感基因,尤其是高危人群,如肝硬化、肝炎患者是非常重要的。

免疫治疗在肝癌的治疗过程中崭露头角,程序性死亡配体-1(programmed death-ligand 1,PD-L1)也成为重要的免疫治疗新靶点,但是目前针对肝癌患者免疫治疗效果,仍然缺乏精准预测及分层指标。PD-L1作为共刺激分子B7家族的一个成员,是由抗原呈递细胞表达,其功能是抑制T淋巴细胞的激活。研究显示,PD-L1通过与其受体结合,诱导T淋巴细胞无反应性和/或凋亡[7-11]。研究表明PD-L1能增加人抗原特异性T细胞克隆的凋亡并抑制CD4和CD8 T细胞的体外活化[7,12]。最新研究表明,PD-1或PD-L1的抗体可缓解PD-L1对细胞毒性T细胞的抑制作用,从而促进与激活细胞毒性T细胞消灭肿瘤细胞的能力[13-14]。PD-L1的抑制剂是有效的黑色素瘤免疫治疗方法[15]。

因此,为了探索预测针对肝癌免疫治疗效果的指标,结合近期国内外对PD-L1多态性的研究成果;本研究选取了PD-L1分别位于启动子区、编码区以及非编码区的3个SNP位点(rs4143185、rs17718883和rs2890658),观察并分析了其单核苷酸多态性与肝癌易感性及预后的关系;为肝癌免疫治疗疗效的精准预测进行了初步探索。

1 材料与方法

1.1 临床资料

收集2008年2月至2014年5月第三军医大学大坪医院野战外科研究所经过病理确诊的样本264例,分为2组。病例组:原发性肝癌样本123例,其中男性82例,女性41例,年龄(59.7±10.9)岁,7例有肿瘤家族史;对照组:健康体检样本141例,其中男性104例,女性37例,年龄(60.2±11.2)岁,5例有肿瘤家族史。对照组人群三代以内没有胃肠道疾病或其他癌症史,其外周血淋巴细胞样本是在体检中收集获得的。病例组的临床病例资料包括肿瘤浸润深度、淋巴结转移、远处转移、TNM分期以及医疗记录。患者在取标本前均未接受过放化疗。本课题经大坪医院野战外科研究所伦理委员会审查通过。

1.2 单核苷酸多态性位点的选取

检索GenBank数据库与相关文献中报道的(rs4143185、rs2890658和rs17718883)基因序列,应用Oligo6.0软件设计引物并通过Prime Premie 5.0软件验证,最终确定3个SNPs位点的6条引物(表1),rs4143185位点由重庆志达生物科技公司采用测序技术进行分析。所有引物由上海Invitrogen公司合成。

表1 基因引物序列

目的基因	引物序列
rs4143185	上游:5′-GATACACATTTGGAGGAGACG-3′
	下游:5′-CAAATACTCCATGTTTTACTAG-3′
rs17718883	上游:5′-TACGTAGTTCTGTGCTCAG-3′
	下游:5′-GTTGATTCTCAGTGTGCTG-3′
rs2890658	上游:5′-AATGGCTTGTTGTCCAGAGATG-3′
	下游:5′-GTACCACATGGAGTGGCTGC-3′

1.3 PCR扩增

PCR反应体系配制(25 μL),将下列试剂依次加入0.5 mL的EP管中,5×buffer(5 μL),$MgCl_2$(2 μL),模板DNA(2 μL),dNTP(2 μL),上游引物(1 μL),下游引物(1 μL),*Taq* DNA聚合酶(0.2 μL),ddH2O(9.8 μL)。振荡混匀,然后在4℃离心机中瞬离30 s,再将EP管放入PCR仪中扩增,反应条件如下。rs2890658:预变性(95 ℃,10 min)→变性(95 ℃,30 s)→退火(60 ℃,30 s),延伸(72 ℃,3 min),37个循环→延伸(72 ℃,10 min);rs17718883:预变性(95 ℃,3 min)→变性(94 ℃,1 min)→5个循环→退火(55 ℃,1 min),延伸(72 ℃,1 min),30个循环→延伸

(72 ℃,1 min);rs4143185:预变性(94 ℃,5 min)→变性(94 ℃,20 s)→5 个循环→退火(55 ℃,30 s),延伸(72 ℃,1 min),35 个循环→延伸(72 ℃,7 min)。

1.4 DNA 测序分析

由上海 Invitrogen 生物公司运用 AI377 型测序仪对随机抽取 5% 的 DNA 样本进行 DNA 测序,测序与 PCR 重合率 100%。

1.5 随访

采用电话随访方式或者门诊方式对 123 例患者进行随访。总生存时间定义为自确诊肝癌之日起至出现与肝癌相关的死亡的时间。死于其他原因或在随访期内生存的病例则作为截尾事件处理。全部患者随访 10~48 个月,中位随访时间 20 个月,随访截止时间为:2016 年 5 月 1 日。

1.6 统计学分析

采用 SPSS 19 统计软件。使用拟合优度皮尔森卡方(χ^2)检验对照组和病例组基因型分布是否符合哈迪-温伯格(Hardy-Weinberg)平衡。比值比(*OR*)和 95% 置信区间(*CI*)使用 logistic regression 分析。使用 Kaplan-Meier 方法和 Log-rank 检验测定生存曲线 PFS 和 OS。采用多变量 Cox 比例风险模型(前进逐步:似然比)估计调整后的危险比(HR)与 95% 置信区间。多变量回归分析年龄、性别、病理分级和治疗方法。$P<0.05$ 被认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 人口统计学特征

共纳入 264 例受试者,其中病例组 123 例,对照组 141 例,两组年龄、性别和肿瘤家族史相匹配。病例组手术治疗 34 例,介入治疗 75 例,介入合并射频治疗 14 例。

2.2 单个基因的单核苷酸多态性与肝癌易感性之间的关系

对照组的基因型频率遵循 Hardy-Weinberg 平衡定律(表 2),该群体遗传基因平衡,具有群体代表性。分析显示位点 rs17718883 与肝癌易感性相关($P<0.001$)。运用 Logistic 回归分析显示,在对年龄、性别以及家族史进行校正后,rs2890658 的 AC 杂合突变基因型可以降低肝癌的发病风险($OR=0.43$;95% *CI*:0.20~0.94;$P=0.035$);rs4143185 纯合突变型(GG)可能会增加肝癌的患病风险($OR=2.80$),但是差异无统计学意义($P=0.057$)。rs17718883 的 CG 杂合突变基因型可以降低发病风险($P<0.001$),但是例数太少可能存在数据偏倚;其余基因型与肝癌的易感性之间无相关性($P>0.05$,表 3)。

表 2 对照组 3 个 SNP 基因型频率观察值和预期值比较

SNP	基因型	观察值(%)	期望值(%)	P(HWE)
rs2890658	AA	98(69.5)	97.9(69.4)	0.960
	AC	39(27.7)	39.2(27.8)	
	CC	4(2.8)	3.9(2.8)	
rs17718883	CC	77(54.6)	72.3(51.3)	0.054
	CG	48(34.0)	57.3(40.6)	
	GG	16(11.4)	11.4(8.1)	
rs4143185	CC	49(34.8)	53.7(38.1)	0.095
	CG	76(53.9)	66.6(47.2)	
	GG	16(11.4)	20.7(14.7)	

HWE:Hardy-Weinberg 平衡

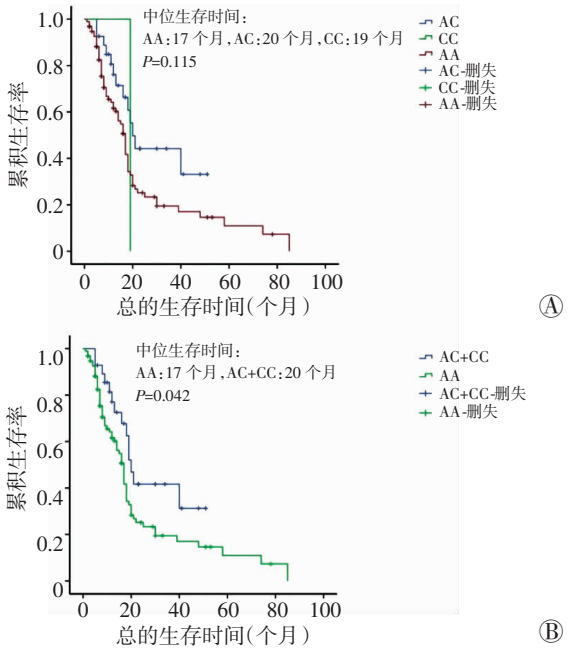
表 3 两组人群 SNPs 基因型的分布以及风险评估

SNP	基因型	病例组[例(%)]	对照组[例(%)]	*P* 值	校正 *OR*(95% *CI*)	*P* 值
rs2890658	AA	95(77.2)	98(69.5)		1(参考值)	
	AC	27(21.9)	39(27.7)	0.243	0.43(0.20-0.94)	0.035
	CC	1(0.8)	4(2.8)	0.370	0.14(0.01-1.93)	0.142
	A allele	217(88.2)	235(83.3)		1(参考值)	
	C allele	29(11.8)	47(16.7)	0.111	0.67(0.41-1.10)	0.142
rs17718883	CC	122(99.2)	77(54.6)	0.000	1(参考值)	
	CG	1(0.8)	48(34.0)	0.000	0.01(0.00-0.05)	0.000
	GG	0(0)	16(11.4)	0.000	-	
	C allele	245(99.6)	204(72.3)		1(参考值)	
	G allele	1(0.4)	78(27.7)	0.000	0.01(0.00-0.08)	0.000
rs4143185	CC	50(40.7)	49(34.8)		1(参考值)	
	CG	50(40.7)	76(53.9)	0.105	0.66(0.32-1.36)	0.255
	GG	23(18.6)	16(11.4)	0.369	2.80(0.97-8.06)	0.057
	C allele	150(61.0)	174(61.7)		1(参考值)	
	G allele	96(39.0)	108(38.3)	0.864	0.97(0.68-1.38)	0.935

2.3 PD-L1 SNP 与肝癌患者预后情况相关性分析

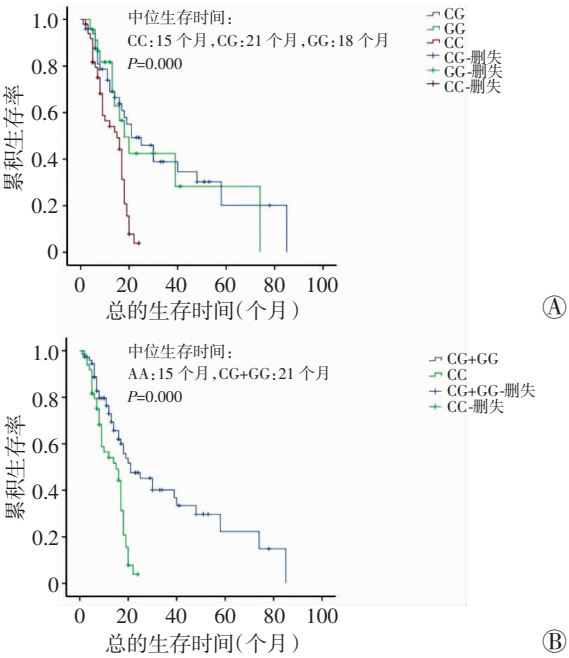
在对 PD-L1 SNP 与肝癌患者预后情况相关性分析后,本研究发现 rs4143185、rs2890658 和 rs17718883 位点突变型都能不同程度的增加患者的中位生存时间;其中 rs2890658 位点的 3 个基因型 AA、AC 和 CC 的中位生存时间分别为:17、20、19 个月,差异无统计学意义($P=0.115$),但是合并突变基因型 AC 与 CC 后,中位生存时间为 20 个月,与 AA 比较差异有统计学意义($P=0.042$,图 1);rs4143185 位点的三个基因型 CC、GC 和 GG 的中位生存时间分别为:15、21、18 个月,,差异有统计学($P<0.001$),合并突变基因型 GC 与 CC 后,发现 GC+GG 和 CC 的中位生存时间为:21 个月和 15 个月,差异有统计学意义($P<0.001$);并且经

过 Bonferroni-Holm 法校正后仍有统计学意义(图 2)。COX 回归模型分析 rs4143185 和 rs2890658 位点,显示 rs4143185 的突变基因型都可以获得好的预后,差异有统计学意义(HR < 1,P < 0.05),rs17718883 各基因型的差异未发现统计学差异(表 4)。



A:AC、CC、AA 基因型;B:AC + CC 合并突变基因型及 AA 基因型

图 1 rs2890658 位点基因型的生存曲线



A:CG、GG、CC 基因型;B:CG + GG 合并突变基因型及 CC 基因型

图 2 rs4143185 位点基因型的生存曲线

表 4 PD-L1 SNP 与总生存时间的关系

SNP	基因型	n	总的生存时间(月)			
			中位生存时间	P 值	HR(95% CI)	P 值
rs2890658	AA	95	17		1(参考值)	
	AC	27	20	0.042	0.68(0.32 - 1.45)	0.322
	CC	1	19	0.583	1.17(0.31 - 4.38)	0.822
	AC + CC	28	20	0.036	0.56(0.31 - 1.00)	0.051
rs17718883	CC	122	17		1(参考值)	
	CG	1	14	0.466	1.43(0.53 - 3.85)	0.480
	GG	0	-	-	-	-
	CG + GG	1	14	0.466	1.43(0.53 - 3.85)	0.480
rs4143185	CC	50	15		1(参考值)	
	CG	50	21	0.000	0.37(0.22 - 0.63)	0.000
	GG	23	18	0.005	0.40(0.21 - 0.78)	0.007
	CG + GG	73	21	0.001	0.38(0.23 - 0.61)	0.000

3 讨论

肝癌是一种在中国比较常见的恶性肿瘤,发病率较高,预后差。肝癌的病因非常复杂,生物化学危险因素和遗传异常等多因素的相互作用可能会导致肝癌的发生。到现在为止,其机制还没有被完全阐明。随着免疫治疗的兴起与发展,免疫治疗也被逐步应用到肝癌的治疗中。近来的研究也证实以 PD-L1 为检查点的免疫治疗在肝癌的治疗中起重要作用。

最近国内外研究表明 PD-L1 的多态性可能与多种肿瘤与自身免疫性疾病发病风险有关[16-18]。几项研究表明 PD-L1 的多态性与类风湿、系统性红斑狼疮等自身免疫性疾病有关[10,19]。Wang 等[20]研究证实位点 rs17718883(6777 G)与类风湿结节的患病率相关联,PD-L16777 G(+)的类风湿结节的患病率显著高于 PD-L16777 G(-)的患者(P = 0.005,OR = 4.0,95% CI = 1.5 - 10.9)。Wang 等[21]证实了 PD-L1 基因 3′UTR 上的 miRSNPs 可能会增加胃癌发病风险,SNP 可能是通过 miR-570 对 B7-H1mRNA 的调控作用影响 B7-H1 蛋白质的表达,从而影响胃癌易感。

本研究结果显示,rs17718883 位点与肝癌易感性有关,运用 logistic 回归分析后发现位点 rs2890658(AC 突变型)可能降低肝癌发病风险,差异有统计学意义(OR = 0.43,P = 0.035);rs4143185 纯合突变型(GG)可能会增加肝癌的患病风险,差异无统计学意义(OR =

2.80,$P=0.057$)。而位点 rs17718883 在肝癌里面基本不发生突变,突变率为 0.84%,该位点可能是肝癌的一个保护因素该结果与 Wang 等[20]研究类风湿结节的患病率相关联的结论相反。结合两者结果与疾病的免疫状态,本研究推测 rs17718883 突变型可能影响或抑制 PD-L1 的功能,导致以 PD-L1 为检查点的 T 细胞免疫抑制作用减弱,防止肝癌细胞的免疫逃逸,但是却增加了免疫性疾病的发病风险。由于本研究例数较少尚需在今后的实验中进一步证实。

对这 3 个位点与肝癌患者预后情况单因素相关性分析,发现 rs4143185、rs2890658 两个位点突变型都能不同程度的延长患者的中位生存时间;且差异有统计学意义,但在运用 COX 回归进行分析后,仅发现位点 rs4143185 有统计学差异。rs4143185 位于 PD-L1 基因的 3′UTR 上,其 SNP 可能会在 mRNA 水平影响 PD-L1 蛋白质的表达,导致 PD-L1 蛋白水平降低,从而引起 PD-L1/PD-1 受体与配体结合量减少,激活 T 细胞对肝癌细胞的免疫攻击,肝癌细胞的转移得到控制,患者的生存时间相应延长,该结果与 Wang 等[21]在 2013 年的研究成果一致。rs2890658 位于内含子区,其对 PD-L1 的表达以及功能可能不存在显著的影响。rs17718883 由于突变型例数太少统计学意义不明显。

因此,在今后的抗 PD-L1 的肝癌免疫治疗过程中,rs4143185、rs17718883 和 rs2890658 位点的基因型状态的测定可能与肝癌患者的免疫治疗效果有关,突变型在抗 PD-L1 免疫治疗后能获得更好预后。但是本研究还存在一定局限性:由于条件限制,只纳入了 264 例样本,例数偏少,导致本研究结果意义有限,结论较初步。本研究回顾性分析得出的初步结论可作为进一步前瞻性关联研究的起点,所得相关结论的可靠性还需要更大样本量的实验来验证,3 个位点的具体功能以及对肝癌的影响方式还需今后的细胞和动物实验进行证实。

综上所述,本研究发现 PD-L1 SNP rs4143185 和 rs2890658 位点与肝癌易感性和预后的关系。为今后针对肝癌患者以 PD-L1 为靶点的免疫治疗提供新的思路。

参考文献:

[1] Ferlay J, Shin H R, Bray F, *et al*. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008[J]. Int J Cancer, 2010, 127(12): 2893-2917. DOI:10.1002/ijc.25516

[2] Llovet J M, Brú C, Bruix J. Prognosis of hepatocellular carcinoma: the BCLC staging classification[J]. Semin Liver Dis, 1999, 19(3): 329-338. DOI:10.1055/s-2007-1007122

[3] Borzio M, Fornari F, De Sio I, *et al*. Adherence to American Association for the Study of Liver Diseases guidelines for the management of hepatocellular carcinoma: results of an Italian field practice multicenter study[J]. Future Oncol, 2013, 9(2): 283-294. DOI:10.2217/fon.12.183

[4] El-Serag H B, Marrero J A, Rudolph L, *et al*. Diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma[J]. Gastroenterology, 2008, 134(6): 1752-1763. DOI:10.1053/j.gastro.2008.02.090

[5] Altekruse S F, McGlynn K A, Reichman M E. Hepatocellular Carcinoma Incidence, Mortality, and Survival Trends in the United States From 1975 to 2005[J]. Journal of Clinical Oncology, 2009, 27(9): 1485-1491. DOI:10.1200/jco.2008.20.7753

[6] Llovet J M, Bustamante J, Castells A, *et al*. Natural history of untreated nonsurgical hepatocellular carcinoma: rationale for the design and evaluation of therapeutic trials[J]. Hepatology, 1999, 29(1): 62-67. DOI: 10.1002/hep.510290145

[7] Keir M E, Liang S C, Guleria I, *et al*. Tissue expression of PD-L1 mediates peripheral T cell tolerance[J]. The Journal of Experimental Medicine, 2006, 203(4): 883-895. DOI: 10.1084/jem.20051776

[8] Dong H, Zhu G, Tamada K, *et al*. B7-H1, a third member of the B7 family, co-stimulates T-cell proliferation and interleukin-10 secretion[J]. Nat Med, 1999, 5(12): 1365-1369. DOI:10.1038/70932

[9] Dong H, Strome S E, Salomao D R, *et al*. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion[J]. Nat Med, 2002, 8(8): 793-800. DOI:10.1038/nm730

[10] Selenko-Gebauer N, Majdic O, Szekeres A, *et al*. B7-H1 (Programmed Death-1 Ligand) on Dendritic Cells Is Involved in the Induction and Maintenance of T Cell Anergy[J]. The Journal of Immunology, 2003, 170(7): 3637-3644. DOI:10.4049/jimmunol.170.7.3637

[11] Haspot F, Fehr T, Gibbons C, *et al*. Peripheral deletional tolerance of alloreactive CD8 but not CD4 T cells is dependent on the PD-1/PD-L1 pathway[J]. Blood, 2008, 112(5): 2149-2155. DOI:10.1182/blood-2007-12-127449

[12] Ghebeh H, Tulbah A, Mohammed S, *et al*. Expression of B7-H1 in breast cancer patients is strongly associated with

high proliferative Ki-67-expressing tumor cells[J]. Int J Cancer, 2007, 121(4): 751 - 758. DOI:10.1002/ijc.22703

[13] Dinesh R K, Hahn B H, Singh R P. PD-1, gender, and autoimmunity[J]. Autoimmun Rev, 2010, 9(8): 583 - 587. DOI:10.1016/j.autrev.2010.04.003

[14] Thompson R H, Kuntz S M, Leibovich BC, *et al*. Tumor B7-H1 is associated with poor prognosis in renal cell carcinoma patients with long-term follow-up[J]. Cancer Res, 2006, 66(7): 3381 - 3385. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-05-4303

[15] Mamalis A, Garcha M, Jagdeo J. Targeting the PD-1 pathway: a promising future for the treatment of melanoma[J]. Arch Dermatol Res, 2014, 306(6): 511 - 519. DOI:10.1007/s00403-014-1457-7

[16] Hayashi M, Kouki T, Takasu N, *et al*. Association of an A/C single nucleotide polymorphism in programmed cell death-ligand 1 gene with Graves′ disease in Japanese patients[J]. Eur J Endocrinol, 2008, 158(6): 817 - 822. DOI:10.1530/EJE-07-0649

[17] Chen Y B, Mu C Y, Chen C, *et al*. Association between single nucleotide polymorphism of PD-L1 gene and non-small cell lung cancer susceptibility in a Chinese population[J]. Asia Pac J Clin Oncol, 2014, 10(2): e1 - e6. DOI:10.1111/ajco.12037

[18] George J, Saito M, Tsuta K, *et al*. Genomic Amplification of CD274(PD-L1) in Small-Cell Lung Cancer[J]. Clinical Cancer Research, 2016. DOI:10.1158/1078-0432.ccr-16-1069

[19] Prokunina L, Castillejo-López C, Oberg F, *et al*. A regulatory polymorphism in PDCD1 is associated with susceptibility to systemic lupus erythematosus in humans[J]. Nat Genet, 2002, 32(4): 666 - 669. DOI:10.1038/ng1020

[20] Wang S C, Lin C H, Li R N, *et al*. Polymorphisms of genes for programmed cell death 1 ligands in patients with rheumatoid arthritis[J]. J Clin Immunol, 2007, 27(6): 563 - 567. DOI:10.1007/s10875-007-9113-z

[21] Wang W, Li F, Mao Y, *et al*. A miR-570 binding site polymorphism in the B7-H1 gene is associated with the risk of gastric adenocarcinoma[J]. Hum Genet, 2013, 132(6): 641 - 648. DOI:10.1007/s00439-013-1275-6

(**收稿**:2016-09-24;**修回**:2016-11-22)

(编辑 汪勤俭)