

B7-H4 在肝癌组织中的表达及其对肝癌细胞侵袭、迁移的影响

何涛¹, 胡洪¹, 谢楠^{2a}, 钱程^{2a}, 胡明^{2a}, 张楚悦^{2a}, 柯恬恬^{2b}, 李春满^{2a}, 付必莽^{2a}, 苏莹珍³

作者单位:¹玉溪市人民医院胃肠外科, 云南 玉溪 653100; ²昆明医科大学第二附属医院, ^a肝胆胰外科, ^b麻醉科, 云南 昆明 650101; ³昆明学院医学院公共卫生教研室, 云南 昆明 650214

通信作者: 苏莹珍, 女, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为分子流行病学, E-mail: suyingzhen@163.com

基金项目: 云南省教育厅科学研究基金项目(2019J0567); 云南省科学技术厅科技计划项目(2014FZ026);

云南省医疗卫生单位内设研究机构科研项目(2016NS248, 2017NS281); 昆明学院引进人才科研项目(YJL18019)

摘要:目的 探讨新型共刺激分子 B7-H4 在肝癌组织中的表达情况及其对肝癌细胞侵袭和迁移的影响。方法 (1)收集 2013 年 8 月至 2019 年 1 月昆明医科大学第二附属医院肝癌组织 32 例; (2)筛选肝癌细胞系 Hep3B, SMMC-7721, Huh-7, PLC/PRF/5 等细胞的 B7-H4 表达情况; (3)筛选并培养高表达的该基因的肝癌细胞株, 并使用预先制备好的慢病毒载体抑制该基因表达, 将处于对数生长期的 B7-H4 肝癌细胞分为对照组、shRNA-1 抑制组、shRNA-2 抑制组, 采用 Western Blot(WB)法及实时荧光定量 PCR 法检测各组 B7-H4 的相对表达量; 采用 Tranwell 细胞侵袭实验观察各组细胞侵袭能力; 采用细胞划痕实验观察各组细胞迁移能力。结果 在临床样本中, B7-H4 在肝癌组织中的表达明显高于癌旁组织, 且肝癌中 B7-H4 表达越高, 病人越容易复发。HCCLM3 的 Western Blot 相对表达量, 对照组(5.32±1.03)、shRNA-1 组(1.42±0.29)、shRNA-2 组(2.06±0.68), shRNA-1 组、shRNA-2 组均被抑制, shRNA-1 组抑制明显($P < 0.05$)。HCCLM3 对照组的细胞数为(365±21)、shRNA-1 组(128±8); PLC/PRF/5 组的细胞数为(267±44)、shRNA-1 组(79±12)。与对照组相比较, shRNA-1 组可明显抑制 HCCLM3 和 PLC/PRF/5 的细胞侵袭能力($P < 0.01$)。HCCLM3 对照组的细胞迁移率为(82%±13%)、shRNA-1 组(44%±6%); PLC/PRF/5 对照组细胞迁移率为(77%±9%)、shRNA-1 组(41%±6%)。与对照组比较, shRNA-1 组明显抑制 HCCLM3 和 PLC/PRF/5 的细胞迁移能力($P < 0.05$)。转染抑制该基因后其相对表达量、细胞侵袭能力、迁移能力均下降。结论 B7-H4 有望成为新的肝癌预后标志物, 下调肝癌细胞 B7-H4 的表达可以减弱肝癌细胞侵袭和迁移能力。

关键词: 肝癌; 共刺激分子 B7-H4; 病理; 细胞侵袭; 细胞迁移

The expression of B7-H4 in liver cancer and its effect on cell invasion and migration

HE Tao¹, HU Hong¹, XIE Nan^{2a}, QIAN Cheng^{2a}, HU Ming^{2a}, ZHANG Chuyue^{2a}, KE Tiantian^{2b},
LI Chunman^{2a}, FU Bimang^{2a}, SU Yingzhen³

Author Affiliations: ¹Department of Gastrointestinal Surgery, Yuxi People's Hospital, Yuxi, Yunnan 653100, China; ^{2a}Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, ^{2b}Department of Anesthesiology, The Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming, Yunnan 650101, China; ³Department of Laboratory Medicine and Preventive Medicine, Kunming University, Kunming, Yunnan 650214, China

Abstract: Objective To investigate the relationship between the expression of novel co-stimulatory molecule B7-H4 in hepatocellular carcinoma and its pathology, and to explore its effect on the invasion and migration of hepatoma cells. **Methods** (1) Stained liver cancer sections were collected and analyzed. (2) The expression of B7-H4 in hepatoma cell lines Hep3B, SMMC-7721, Huh-7, PLC/PRF/5, HepG2, and HCCLM3 was screened. (3) Culture of a highly expressed B7-H4 hepatoma cell line and inhibition of the gene using a lentiviral vector. The highly expressed B7-H4 hepatoma cells in the logarithmic growth phase were divided into control group, shRNA-1 inhibition group and shRNA-2 inhibition group, and each group was detected by Western Blot (WB) and real-time fluorescence quantitative PCR. The relative expression level of H4; the invasion ability of each group was observed by Tranwell cell invasion assay; which were tested for the cell migration and invasion ability by scratch assay and Transwell migration assay. **Results** The expression of B7-H4 in hepatocellular carcinoma was significantly higher than that of cancer in clinical samples. Peripheral tissue, and the higher expression of B7-H4 in liver cancer, the more likely the patient relapsed. After transfection of the gene, its relative expression, cell invasion, and migration ability all decreased. **Conclusion** B7-H4 is expected to become a new prognos-

tic marker of liver cancer. Down-regulating the expression of B7-H4 in hepatocellular carcinoma can weaken the invasion, migration, and tumorigenic potential of hepatoma cells.

Key words: HCC; Costimulatory molecule B7-H4; Pathology; Cell invasion; Cell migration

肝细胞性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)恶性程度极高,发现较晚,即使手术根治性切除,多数病人预后5年生存率仍不足20%^[1]。B7-H4是免疫共刺激信号通路的关键分子之一,主要功能为负性共刺激分子,可参与细胞的周期调控、细胞增殖与凋亡以及影响细胞侵袭力等肿瘤发生的多个环节。研究发现,B7-H4蛋白在正常组织中不表达或者微量表达,但在多个肿瘤中呈高表达,同时其mRNA可在多个正常组织中被检测到^[1-3]。我们前期在肝内胆管癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC)的研究中,发现B7-H4与ICC的形成和细胞侵袭过程有关,且B7-H4表达与肿瘤分级密切相关,可作为ICC复发早期的诊断靶分子;B7-H4异常表达能够促进ICC细胞的体外肿瘤形成能力^[2]。以上研究结果均提示B7-H4可能具有促癌基因的功能,但其与肝癌的关系尚不明确。因此,本研究结合免疫组织化学染色及细胞慢病毒抑制实验进行研究,为此特别挑选恶性程度较高的肝癌细胞系进行筛选,进行后续细胞实验。经过前期实验,筛选出部分高表达B7-H4细胞株。扩大培养后进行慢病毒转染,以期通过体外抑制B7-H4基因的表达,并分析抑制后对上述肝癌细胞在侵袭、迁移等能力上的可能影响作用。现结合具体实验过程及结果分析并报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料 收集2013年8月至2019年1月昆明医科大学第二附属医院住院的肝癌病人的肝癌组织32例。人肝癌细胞株Hep3B、SMMC-7721、Huh-7购自中科院昆明细胞库;PLC/PRF/5、HepG2、HCCLM3肝癌细胞株购自中国科学院上海细胞库;细胞培养基DMEM、RPMI-1640培养基、胎牛血清及GAPDH单克隆抗体购自昆明贝尔吉生物公司;Trizol试剂和慢病毒转染试剂polybrene购自上海翊圣生物科技有限公司;RNA提取试剂盒和逆转录试剂盒购自大连宝生物工程有限公司;实时荧光定量PCR引物、慢病毒载体设计合成与验证均由北京安必奇生物科技有限公司完成;细胞裂解液(RIPA)、胰酶消化液和BCA蛋白定量试剂盒购自碧云天生物技术有限公司;兔抗单克隆抗体,购自美国BD公司;ECL成像系统,由上海天能科技有限公司提供;Transwell小室购自于美国Corning公司。

1.2 免疫组织化学染色 (1)取材及病理:将32例

肝癌术后肝癌组织标本放入4%多聚甲醛溶液中固定,石蜡包埋,制成蜡块。(2)免疫组化方法:石蜡切片脱蜡和水化,修复抗原,滴加封闭液。加滴B7-H4一抗液,4℃过夜。再PBS冲洗3次,滴加二抗,PBS冲洗3次。DAB显色,苏木素复染,中性树胶封固。每次实验均做阳性与阴性对照,阳性细胞质着色为棕黄色,每例均设有HE切片作对照观察。(3)免疫组化结果判断标准:采用双盲法观察切片,B7-H4免疫组化在细胞膜上染黄色或褐色。实验样本根据细胞染色强度和细胞染色比例独立评分。根据被染色细胞在细胞总数中所占的比例进行评分即1%~25%,25%~50%,50%~75%和>75%分别评分为0、1、2、3和4分。该细胞染色的强度由颜色程度来确定,即无、弱、中、强评分分别为0、1、2和3分。每个病人综合得分为0~7分,将B7-H4低组的分数定为≤3分,B7-H4高组得分>3分。

1.3 肝癌细胞的培养、筛选及沉默 HCCLM3、SMMC-7721、Huh-7三种肝癌细胞使用DMEM高糖培养基培养,余下细胞均使用RPMI-1640培养基培养。分别在适宜条件下培养上述细胞,将培养好的细胞分瓶培养在6孔板中待细胞融合率为70%~80%时,收取蛋白利用WB法,筛选B7-H4各细胞表达量。同时将细胞采用随机数字表法分组转染慢病毒,分别为对照组、shRNA-1抑制组、shRNA-2抑制组。培养筛选后的各组细胞并观察细胞状态,分别实施转染操作。shRNA-1序列:5'-GCTAATGACAGAGAGAGGATC-3',shRNA-2序列:5'-GAACGTCAGTGTAGAGTATGA-3'。shRNA-1组、shRNA-2组分别转染上述对应抑制序列,对照组只加转染试剂。具体过程:(1)培养细胞并计数,以 1×10^5 /孔在24孔板中培养,并最终达到 2×10^5 /孔;(2)配置polybrene转染液,使其终浓度达到6 μg/mL,转染时先用polybrene替换原培养基,加入目的基因病毒悬液,继续培养;(3)6 h后,加入1.5 mL新鲜培养基;(4)继续培养1 d,并用新鲜培养基培养细胞;(5)转染至2 d后进行荧光观察,并收集转染荧光最强时的各组细胞进行后续细胞功能实验。

1.4 WB法及RT-PCR法检测B7-H4抑制效率 取上述各组细胞并提取蛋白,同时行蛋白定量。加蛋白上样缓冲液混匀,沸水加热变性。配置WB胶版并上样,每孔约30 μg,110 V恒压电泳,220 mA恒

流转膜。PVDF膜于TBS-T液漂洗10 s,脱脂牛奶封闭1 h,孵育目的抗体和内参,4℃孵育过夜。第二日TBS洗膜3次,TBS-T洗膜1次,加入二抗,室温孵育1 h,再次分别洗膜,曝光条带分析结果,筛选最适宜细胞HCCLM3进行下步实验,RT-PCR实验结果也与上述实验结果一致。

1.5 细胞侵袭及迁移能力 分别采用Transwell细胞侵袭试验和细胞划痕试验。细胞侵袭试验,Transwell小室放置于预先制备好Matrigel基质胶的24孔板中,按上述条件培养箱中过夜,向Transwell小室下室中加入500 μL含10% FBS的DMEM高糖培养基。用无血清的DMEM高糖培养液重悬各组细胞,取100 μL细胞悬液(细胞总数约 1×10^5 个)加至Transwell的上室。48 h后去除下室中的培养液,将小室置于4%的多聚甲醛中固定15 min,擦去小室内室膜上的细胞,结晶紫溶液(0.1%)染色10 min,PBS缓冲液漂洗后,显微镜下观察,每孔随机选取5个视野拍照,统计并分析。细胞划痕试验,在6孔板中培养前述肝癌细胞,将细胞在无血清中持续饥饿24 h后使用移液枪头进行划伤,再用PBS洗涤,在0、24、48 h使用相差显微镜进行拍照。随后通过手动计数进行细胞抑制率的测定,相关结果用百分比表示,上述所有实验均常规进行3次。

1.6 统计学方法 采用SPSS19.0统计软件分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,两组比较采用成组 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝癌中B7-H4表达与临床病理特征的相关性 32例肝癌组织中,有14例被染色,染色阳性率为43.75%,其中,强阳性8例,中等及弱阳性6例,同时,该研究中有5例肝癌复发病。表1的结果表明,肿瘤的BCLC分期等和B7-H4的表达密切相关($P = 0.013$)。B7-H4在肝癌组织中的表达明显高于癌旁组织,肝癌中B7-H4表达越高,病人术后越容易复发,见图1。

2.2 HCC细胞筛选B7-H4的表达量 上述各组肝癌细胞的B7-H4相对表达量见图2,从结果可见HCCLM3和PLC/PRF/5两株细胞B7-H4表达量较高。

2.3 慢病毒载体抑制细胞B7-H4表达情况 HCCLM3的Western Blot相对表达量:对照组(5.32 ± 1.03)、shRNA-1组(1.42 ± 0.29)、shRNA-2组(2.06 ± 0.68),而PT-PCR结果:对照组(7.21 ± 0.38)、shRNA-1组(1.71 ± 0.25)、shRNA-2组(2.27 ± 0.38)。PLC/PRF/5组与HCCLM3组结果相似。shRNA-1组、shRNA-2组均被抑制,shRNA-1组抑制明显($P < 0.05$)。见图3~6。

表1 32例肝癌中B7-H4表达与临床病理特征的相关性/例

相关变量	B7-H4		χ^2 值	P值
	低	高		
年龄				
≤50岁	3	7	4.073	0.044
>50岁	15	7		
性别				
女	1	2	0.706	0.401
男	17	12		
乙肝表面抗原				
阴性	2	4	1.576	0.209
阳性	16	10		
丙肝				
阴性	12	14	5.744	0.017
阳性	6	0		
肝硬化				
无	1	2	0.706	0.401
有	17	12		
甲胎蛋白				
≤20 ng/mL	6	6	0.305	0.581
>20 ng/mL	12	8		
ALT				
≤75 U/L	10	11	1.849	0.174
>75 U/L	8	3		
肿瘤大小				
≤5 cm	8	2	3.334	0.068
>5 cm	10	12		
肿瘤包膜				
无	9	8	0.161	0.688
有	9	6		
血管侵犯				
无	9	13	4.950	0.026
有	9	2		
肿瘤数量				
单发	12	12	1.524	0.217
多发	6	2		
肿瘤分化				
I/II	9	13	6.732	0.009
III/IV	9	1		
BCLC分期				
0/A	13	12	0.839	0.013
B/C	5	2		
B7-H4	18	14		

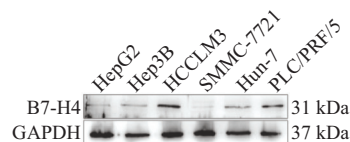


图2 不同肝癌细胞系中的B7-H4表达情况

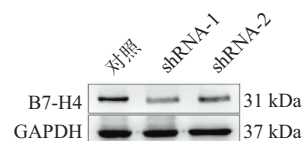


图3 肝癌细胞HCCLM3慢病毒载体抑制(WB)

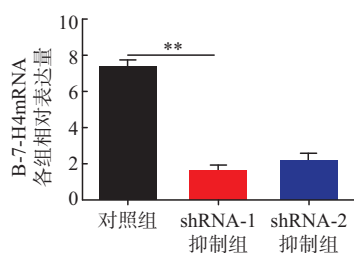


图4 肝癌细胞HCCLM3慢病毒载体抑制(RT-PCR)

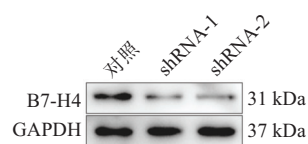


图5 肝癌细胞PLC/PRF/5慢病毒载体抑制(WB)

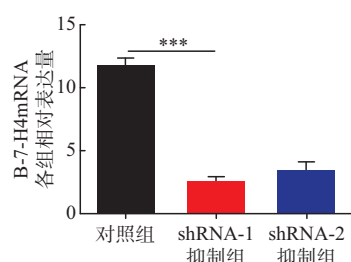


图6 肝癌细胞PLC/PRF/5慢病毒载体抑制(RT-PCR)

2.4 慢病毒载体抑制 B7-H4 表达对 HCCLM3 和 PLC/PRF/5 细胞侵袭能力的影响 HCCLM3 对照组的细胞数为 (365±21)、shRNA-1 组 (128±8); PLC/PRF/5 组的细胞数为 (267±44)、shRNA-1 组 (79±12)。与对照组相比较, shRNA-1 组可明显抑制 HCCLM3 和 PLC/PRF/5 的细胞侵袭能力 ($P < 0.01$)。见图 7, 8。

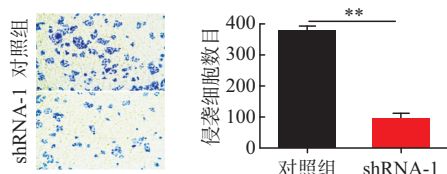


图7 肝癌细胞HCCLM3慢病毒载体抑制后的各组侵袭情况(×200)

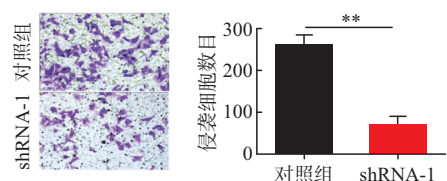


图8 肝癌细胞PLC/PRF/5慢病毒载体抑制后的各组侵袭情况(×200)

2.5 慢病毒载体抑制 B7-H4 表达对 HCCLM3 和 PLC/PRF/5 细胞迁移能力的影响 HCCLM3 对照组的细胞迁移率为 (82%±13%)、shRNA-1 组 (44%±6%); PLC/PRF/5 对照组细胞迁移率为 (77%±9%)、shRNA-1 组 (41%±6%)。与对照组相比较, shRNA-1 组明显

抑制 HCCLM3 和 PLC/PRF/5 的细胞迁移能力 ($P < 0.05$)。见图 9, 10。

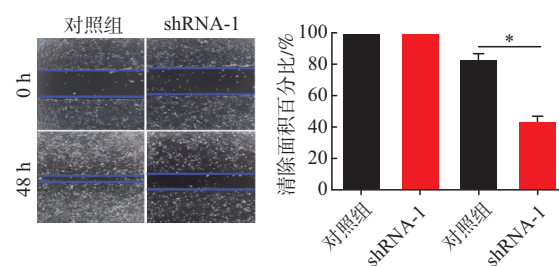


图9 肝癌细胞HCCLM3慢病毒载体抑制后的各组迁移情况图(×100)

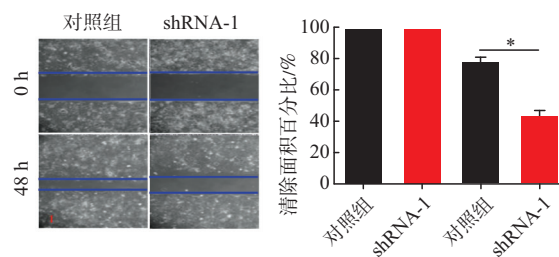


图10 肝癌细胞PLC/PRF/5慢病毒载体抑制后的各组迁移情况(×100)

3 讨论

B7-H4 是 B7 家族近年来最新发现的新型共免疫分子,其主要定位于细胞膜及细胞质。数年来,其研究重点在于共免疫分子机制上,很少关注到该分子在肿瘤发生发展中的详细机制。该分子一般不在组织中表达,但在多数肿瘤中呈现高表达。如结肠癌、ICC 等^[1-2,4]。我们在对结肠癌的研究中,发现该分子可能参与结肠癌的肺转移过程。同时,在 ICC 的研究中,发现其可明显促进肿瘤进展,可参与肿瘤的 EMT 过程及抑制 ICC 细胞的凋亡。过表达 B7-H4 可增加 ICC 细胞的侵袭及转移,同时抑制细胞凋亡过程。该过程与 Bcl-2/bax 的表达失调可能有关^[2-6]。Qian 等^[7]的研究也发现, B7-H4 可增加细胞内 Bax 表达,抑制 Bcl-2 表达,最终使得 caspase-3 表达发生改变并促进凋亡。另有研究指出, B7-H4 可调节激酶 1/2erk 等的表达,影响肿瘤细胞凋亡过程^[2,5-6]。此外, B7-H4 的过表达可能与 Fas/FasL 信号通路相关,对细胞的凋亡同样有一定作用^[8-9]。Jeon 等通过研究发现, B7-H4 可诱导 NF-κB 信号激活。而 NF-κB 通路的抑制可阻止癌细胞侵袭。同时 NF-κB 信号传导也与细胞 EMT 有关。

B7-H4 可参与肿瘤发生的多个过程,如研究发现过表达 B7-H4 可增强细胞增殖。Zhang 等^[9-11]研究认为, B7-H4 可能发生从细胞质-细胞核的穿梭。因其基因包含核定位序列,而核内的 B7-H4

与 Cyclin E/D1 的表达有关,参与细胞周期 G/S 期的调控。还有研究发现,B7-H4 可促使人结肠癌 SW-620 及 RKO 的增殖。同时,体内过表达 B7-H4 可使裸鼠肿瘤生长加速。一些研究指出 B7-H4 可能与 JAK2/STAT3 及缺氧诱导因子 HIF 信号通路有关。

B7-H4 的过表达还可增强肿瘤细胞的侵袭、转移能力。我们的实验发现,过表达 B7-H4 可导致肿瘤细胞侵袭及转移能力增加。我们最终发现该过程可能与细胞的 EMT 转化及 PI3K/AKT 通路激活有关^[1,4,10-12]。同时研究发现,B7-H4 与 CXCL-12 趋化因子及其受体的转录及蛋白表达有关,B7-H4 表达被下调后,细胞侵袭能力也随之下调^[10-13]。Kang 等^[14]的研究认为,B7-H4 的抑制可通过提高 CD107a 颗粒酶 A 颗粒酶 B 穿孔素和 IFN- γ 的表达和分泌水平来帮助 CD8⁺T 恢复抗肿瘤免疫。同时他们在 HCC 的荷瘤小鼠模型中,B7-H4 的过表达可以增加实验组的小鼠平均肿瘤体积。同时另有研究发现,通过酶联免疫吸附试验检测来自 93 例 HCC 病人和 55 名健康志愿者的血液样本中的循环 sB7-H4 水平,并统计分析 sB7-H4 水平与临床病理因素、总生存期(OS)和复发时间的关系,结果表明血清中 sB7-H4 的表达水平可作为诊断或预测 HCC 病人临床结果的独立预测因子^[14-15]。我们最新研究发现,B7-H4 下调的裸鼠其肝内肝癌细胞向肺部转移的倾向也会受抑制。而血清中的 B7-H4 与病人的临床各指标密切相关,血清中 B7-H4 越高,其预后越差,越易复发。同时在后续的研究中,我们发现基于 HCCLM3 的肝癌细胞研究层面上,肿瘤的侵袭和转移过程更容易在裸鼠上进行体内实验,相比其他细胞系来说,可以更好的研究 B7-H4 的远处转移和肿瘤细胞侵袭与迁移的抑制。

本研究发现,B7-H4 在肝癌组织中的表达明显高于癌旁组织,且肝癌中 B7-H4 表达越高,病人越容易复发。同时,抑制 B7-H4 后,HCCLM3 肝癌细胞侵袭及迁移能力均明显减弱,而肿瘤细胞的运动能力对肿瘤的转移至关重要。结果表明,shRNA-1 组抑制效果较为理想,shRNA-2 组抑制效果较差,可能存在脱靶效应。本研究揭示可通过抑制 B7-H4 表达减弱 HCCLM3 肝癌细胞侵袭及迁移能力,这与我们以往多个研究结果基本一致。

综上所述,慢病毒载体抑制 HCCLM3 肝癌细胞 B7-H4 表达可抑制该细胞侵袭及迁移活性,B7-H4 有望成为 HCC 潜在的治疗靶点及肝癌治

疗药物研发新方向。

(本文图 1 见插图 9-3)

参考文献

- [1] 胡明,魏雷,谢楠,等.B7-H4与肿瘤发生,发展关系的研究进展[J].医学综述,2017,23(14):2760-2764.
- [2] XIE N, CAI JB, ZHANG L, et al. Upregulation of B7-H4 promotes tumor progression of intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. Cell Death Dis, 2017, 8(12):3205.
- [3] CAI JB, SHI GM, DONG ZR, et al. Ubiquitin-specific protease 7 accelerates p14 (ARF) degradation by deubiquitinating thyroid hormone receptor-interacting protein 12 and promotes hepatocellular carcinoma progression[J]. Hepatology, 2015, 61(5):1603-1614.
- [4] 何涛,胡洪,谢楠,等.新型共刺激分子B7-H4表达抑制对人肝癌细胞增殖和凋亡的影响[J].山东医药,2018,58(29):33-36
- [5] 查翔远,翟群超,吴建成,等.肝细胞癌组织中IL-18BPc和VEGF的表达及与肿瘤血管形成的关系[J].安徽医药,2016,20(1):82-85.
- [6] ZHANG SA, WU ZX, ZHANG X, et al. Circulating B7-H4 in serum predicts prognosis in patients with hepatocellular carcinoma [J]. Genetics & Molecular Research Gmr, 2015, 14(4):13041.
- [7] QIAN Y, HONG B, SHEN L, et al. B7-H4 enhances oncogenicity and inhibits apoptosis in pancreatic cancer cells [J]. Cell Tissue Res, 2013, 353(1):139-151.
- [8] CHEN YW, GUO GN, GUO S, et al. Intracellular B7-H4 suppresses bile duct epithelial cell apoptosis in human primary biliary cirrhosis [J]. Inflammation, 2011, 34(6):688-697.
- [9] ZHANG L, WU H, LU D, et al. The costimulatory molecule B7-H4 promote tumor progression and cell proliferation through translocating into nucleus [J]. Oncogene, 2013, 32(46):5347-5358.
- [10] JEON YK, PARK SG, CHOI IW, et al. Cancer cell-associated cytoplasmic B7-H4 is induced by hypoxia through hypoxia-inducible factor-1 α and promotes cancer cell proliferation [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 459(2):277-283.
- [11] CUI L, GAO B, CAO Z, et al. Downregulation of B7-H4 in the MHCC97-H hepatocellular carcinoma cell line by Arsenic trioxide [J]. Mol Med Rep, 2016, 13(3):2032-2038.
- [12] PENG HX, WU WQ, YANG DM, et al. Role of B7-H4 siRNA in proliferation, migration, and invasion of LOVO colorectal carcinoma cell line [J]. Biomed Res Int, 2015 (12):326981. DOI: 10.1155/2015/326981.
- [13] CHEN X, WANG L, WANG W, et al. B7-H4 facilitates proliferation of esophageal squamous cell carcinoma cells through promoting IL-6/STAT3 pathway activation [J]. Cancer Sci, 2016, 107(7):944-954.
- [14] KANG FB, WANG L, SUN DX, et al. B7-H4 overexpression is essential for early hepatocellular carcinoma progression and recurrence [J]. Oncotarget, 2017, 8(46):80878-80888.
- [15] ZHANG C, LI Y, WANG Y. Diagnostic value of serum B7-H4 for hepatocellular carcinoma [J]. Journal of Surgical Research, 2015, 197(2):301-306.

(收稿日期:2019-02-28,修回日期:2019-04-10)