

肿瘤药学专题

• 基础研究与进展 •

## 芦可替尼对骨髓增殖性肿瘤患者 PD-1/PD-L1 及 Treg 细胞水平的影响\*

成志勇, 付建珠, 张丽军, 齐林, 张朝, 王亚丽, 王素云<sup>△</sup>

071000 河北保定, 保定市第一医院 血液内科 (成志勇、付建珠、张丽军、张朝、王亚丽); 067000 河北承德, 承德医学院 研究生院 (张丽军、齐林); 518000 广东深圳, 深圳市龙华区中心医院 血液科 (王素云)

**[摘要]** 目的: 探讨芦可替尼对 JAK2 V617F 阳性骨髓增殖性肿瘤(myeloproliferative neoplasms, MPN) 患者程序性死亡受体-1(programmed cell death-1, PD-1)、程序性死亡配体-1(programmed cell death-ligand 1, PD-L1) 及调节性 T 细胞(regulatory cells, Treg) 的影响及临床意义。方法: 纳入 2016 年 10 月至 2018 年 5 月保定市第一医院收治的 JAK2 V617F 阳性 MPN 患者 46 例, 包括初治组 41 例、芦可替尼治疗组 5 例, 另纳入 20 例健康志愿者作为正常对照组。应用荧光定量 PCR 检测 JAK2 V617F 突变量, 应用流式细胞术检测 PD-1、PD-L1 及 Treg 细胞水平。另选取 12 例患者行体外细胞培养, 应用 250 nmol/L 芦可替尼干预 48h 后检测 PD-1、PD-L1 及 Treg 水平。结果: JAK2 V617F 阳性 MPN 初治组患者骨髓髓系细胞高表达 PD-1、PD-L1, 外周血 Treg 细胞水平升高, 明显高于对照组及芦可替尼治疗组(均  $P < 0.05$ )。250 nmol/L 芦可替尼体外干预 48 h 后 MPN 原代细胞 PD-1、PD-L1 及 Treg 的水平明显低于干预前水平(均  $P < 0.05$ )。结论: PD-1、PD-L1 及 Treg 参与了 MPN 的发病, 芦可替尼能够抑制 MPN JAK2 V617F 突变量、PD-1、PD-L1 及 Treg 水平, 进而抑制 MPN 的进展。

**[关键词]** 程序性死亡受体-1; 程序性死亡配体-1; 调节性 T 细胞; 骨髓增殖性肿瘤; 芦可替尼

**[中图分类号]** R733.3; R967 **[文献标志码]** A doi:10.3969/j.issn.1674-0904.2021.10.007

**引文格式:** Cheng ZY, Fu JZ, Zhang LJ, et al. Effects of ruxolitinib on PD-1/PD-L1 and Treg levels in JAK2 V617F positive myeloproliferative neoplasms[J]. J Cancer Control Treat, 2021, 34(10): 926-931. [成志勇, 付建珠, 张丽军, 等. 芦可替尼对骨髓增殖性肿瘤患者 PD-1/PD-L1 及 Treg 细胞水平的影响[J]. 肿瘤预防与治疗, 2021, 34(10): 926-931.]

### Effects of Ruxolitinib on PD-1/PD-L1 and Treg Levels in JAK2 V617F Positive Myeloproliferative Neoplasms

Cheng Zhiyong, Fu Jianzhu, Zhang Lijun, Qi Lin, Zhang Zhao, Wang Yali, Wang Suyun

Department of Hematology, Baoding No. 1 Hospital, Baoding 071000, Hebei, China (Cheng Zhiyong, Fu Jianzhu, Zhang Lijun, Zhang Zhao, Wang Yali); Graduate School, Chengde Medical University, Chengde 067000, Hebei, China (Zhang Lijun, Qi Lin); Department of Hematology, Central Hospital of Longhua District, Shenzhen 518000, Guangdong, China (Wang Suyun)

**Corresponding author:** Wang Suyun, E-mail: suyunwcn@163.com

This study was supported by grants from Hebei Provincial Department of Science and Technology (No. 162777120D) and Health Bureau of Longhua District, Shenzhen (No. 2020034).

**[收稿日期]** 2021-03-07 **[修回日期]** 2021-07-17

**[基金项目]** \* 河北省科技重点研发科技项目(编号:162777120D); 广东省深圳市龙华区医疗卫生机构科研项目(编号:2020034)

**[通讯作者]** <sup>△</sup>王素云, E-mail: suyunwcn@163.com

**[Abstract]** **Objective:** To explore the effects of Ruxolitinib on expressions of programmed death receptor-1 (PD-1), programmed death ligand-1 (PD-L1) and regulatory T cells (Treg) in JAK2 V617F positive myeloproliferative neoplasms (MPN) and its clinical significance. **Methods:** 46 cases of JAK2 V617F positive MPN patients in Baoding No. 1 Hospital

were researched, including 41 cases in the initial treatment group, 5 cases in the Ruxolitinib group, and 20 healthy volunteers in the control group. The JAK2 V617F to JAK2 ratio was detected by fluorescence quantitative polymerase chain reaction. Bone marrow and peripheral blood samples from 12 patients were treated with Ruxolitinib of 250 nmol/L. PD-1, PD-L1 and Treg expressions were detected by flow cytometry before and 48 h after treated with Ruxolitinib. **Results:** PD-1, PD-L1 and Treg expressions in JAK2 V617F positive MPN patients were significantly higher in the initial treatment group than in other two group ( $P < 0.05$ ); PD-1, PD-L1 and Treg expressions in primary MPN cells decreased significantly 48 h after the intervention with Ruxolitinib of 250 nmol/L ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** PD-1, PD-L1 and Treg participate in the onset of MPN. Ruxolitinib can inhibit the progress of MPN via inhibiting the expressions of JAK2 V617F, PD-1, PD-L1 and Treg.

[ **Key words** ] Programmed death receptor-1; Programmed death ligand-1; Regulatory T cells; Myeloproliferative; Ruxolitinib

骨髓增殖性肿瘤(myeloproliferative neoplasms, MPNs)是一组起源于骨髓造血干细胞的恶性血液系统克隆性疾病,表现为骨髓存在一系或多系造血细胞异常增殖,主要包括真性红细胞增多症、原发性骨髓纤维化(primary myelofibrosis, PMF)及原发性血小板增多症(essential thrombocythemia, ET)等。大部分 MPN 患者都携带有 *JAK2*、*MPL*、钙网蛋白等基因突变<sup>[1-2]</sup>。

程序性死亡受体-1(programmed death-1, PD-1),又称 CD279,主要表达于活化的 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、自然性杀伤细胞,其介导的抑制信号在肿瘤免疫、移植免疫、自身免疫及感染免疫等多方面发挥重要的负性调节作用<sup>[3]</sup>。程序性死亡配体-1(programmed death-ligand 1, PD-L1)又称 CD274,作为 PD-1 的配体,其主要表达于抗原递呈细胞及肿瘤细胞<sup>[4]</sup>。在生理条件下 PD-1 通过 T 细胞受体 TCR (T cell receptor)识别抗原,调控机体的免疫应答,同时调节外周组织 T 细胞的功能。PD-1 与其配体 PD-L1 相互结合后,通过招募蛋白酪氨酸磷酸酶(src homology region 2 domain-containing phosphatase, SHP) 1 和 SHP-2,产生抑制信号,进而抑制 PI3K/Akt 通路的磷酸化及雷帕霉素靶蛋白和细胞外信号调节激酶 2 的活化,促进 CD4<sup>+</sup> Foxp3<sup>-</sup> T 细胞向 CD4<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> T 细胞分化<sup>[5]</sup>。调节性 T 细胞(regulatory T cells, Treg)是具有免疫抑制功能的 T 淋巴细胞,CD4<sup>+</sup> Treg 主要通过抑制自身反应性 T 细胞发挥负性调控免疫系统作用<sup>[6]</sup>。

作为一种选择性 JAK1/2 抑制剂,芦可替尼(ruxolitinib)目前临床用于治疗中高危骨髓纤维化以及部分对羟基脲不能耐受或耐药的真正红细胞增多症患者,尤其是伴有脾肿大及疾病相关症状患者<sup>[7]</sup>。研究表明,芦可替尼通过调控 JAK2 信号通路,从而抑制 VEGF、HIF-1 $\alpha$ 、MMP-2、MMP-9 表达而抑制 MPN 血管新生及细胞迁移能力,从而发挥其抗

肿瘤、抗血管新生作用<sup>[8-9]</sup>。然而,目前尚无芦可替尼对 PD-1/PD-L1 信号通路影响的相关报道。因此本文初步探讨了芦可替尼治疗前后及体内、体外对 JAK2 V617F 阳性 MPN 细胞 PD-1、PD-L1 及 Treg 表达的影响,试为 MPN 的诊疗提供新的思路及理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 研究对象

收集在 2016 年 10 月至 2018 年 5 月保定市第一医院住院及门诊收治的 MPN 患者总计 46 例,同时经定量 PCR 检测,存在 JAK2 V617F 突变阳性,并排除其他 MPN 相关基因突变(包括 *BCR-ABL*、*MPL*、*CALR*、*ASXL1*、*TET2* 等),所有患者均符合 2016 年 WHO 诊断标准。上述患者分为尚未接受治疗的初治组 41 例(其中男 23 例,女 18 例,年龄 27~82 岁,中位年龄 60 岁。其中真性红细胞增多症 11 例;原发性血小板增多症 18 例;原发性骨髓纤维化 12 例),接受芦可替尼治疗的治疗组 5 例,其中男 4 例,女 1 例,年龄 37~78 岁,中位年龄 61 岁。包括 ET 继发骨髓纤维化 2 例;PMF 3 例;另收集 20 例健康志愿者作为对照组,其中男 10 例,女 10 例,年龄 25~66 岁,中位年龄 59 岁,所有对象均签署知情同意书。芦可替尼治疗组均依据血小板情况给予相应起始剂量(5~20 mg, 2 次/日)的磷酸芦可替尼,治疗 3 个月以上。本研究已通过保定市第一人民医院医学伦理委员会审批。

### 1.2 试剂

磷酸芦可替尼片购自瑞士诺华制药有限公司诺华公司,人外周血淋巴细胞分离液购自天津灏洋华科生物科技有限公司, FITC 标记的 CD3、CD4、CD8 单抗, PE 标记的 CD25 单抗及 APC 标记的 Foxp3 单抗购自美国 BD 公司, PD-1 (FITC Mouse Anti-Human CD279), 及 PD-L1 (PE Mouse Anti-Human CD274) 抗

体购自 BD Pharmingen™, 血液基因组 DNA 提取试剂盒购自北京博迈德生化科技有限公司, 引物由北京赛百盛公司合成, TaqMan Gene Expression Master-Mix 购自 ABI 公司。

### 1.3 试验方法

1.3.1 应用荧光定量 PCR 检测 JAK2 V617F 突变量 分别采集上述各组的新鲜骨髓液 2mL, 均应用 100 U/mL 肝素抗凝, 提取标本 DNA, 终浓度 50 ~ 100 ng/ $\mu$ L, qRT-PCR 反应体系共 25  $\mu$ L, 反应条件如下: 50°C 2 min, 95°C 10 min 1 循环, 95°C 15s, 60°C 1 min, 共 40 循环, 同时设置标准品及空白对照。计算 JAK2 及 JAK2 V617F 的绝对拷贝值, 同时计算 JAK2 V617F 与 JAK2 的比值, 即为 JAK2 V617F 突变率。引物及探针如下: JAK2 上游引物: 5'-CAG CAA GTA TGA TGA GCA AGC TTT-3', 下游引物: 5'-TGA ACC AGA ATA TTC TCG TCT CCAC-3'; 探针序列: 5'-FAM-TCA CAA GCA TTT GGT TTT-MGB-3'; JAK2 V617F 下游引物: 5'-CCA GAA TAT TCT CGT CTC CAC TGA A-3'。

1.3.2 流式细胞术检测 PD-1、PD-L1 的表达 采集上述各组新鲜骨髓标本, 分别加入 0.8  $\mu$ L PD-1 抗体、1  $\mu$ L PD-L1 抗体, 并充分混匀, 避光孵育 15 min。然后加入溶血素 (1:1 000) 低速涡流混匀, 避光静置 10 min, 离心后弃上清并 PBS 洗涤, 重悬后上机检测。收集约  $10^6$  个细胞, 检测各组髓系细胞及淋巴细胞表面 PD-1、PD-L1 的表达。

1.3.3 流式细胞术检测 Treg 细胞表达 采集上述

各组外周血单个核细胞, 同时加入荧光素标记的下列单克隆抗体 CD25、CD3、CD4、CD8。PBS 洗涤后离心弃上清。然后加 1mL Foxp3 Fixation/permeabilization 工作液。避光孵育约 40 min。PBS 洗涤后重悬细胞, 加入二抗 FOXP3, 再避光孵育 20 min。PBS 洗涤后重悬上机检测 Treg 细胞。

1.3.4 原代细胞培养 无菌条件下共选取 12 例初治 MPN 患者抗凝骨髓液及外周血 4 mL, 应用淋巴细胞分离液分离单个核细胞, 取含 10% 新生牛血清的 RPMI 1640 培养液重悬细胞, 置于培养瓶中, 加入磷酸芦可替尼至终浓度 250 nmol/L, 在 37°C、5% 的 CO<sub>2</sub> 环境培养 48 h, 然后选取培养后细胞检测各系细胞 PD-1、PD-L1 及外周血 Treg 的水平。

### 1.4 统计学分析

选用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析, 多组间比较采用方差分析, 组间两两比较选用 *q* 检验或 *t* 检验, 芦可替尼体外干预数据采用 Wilcoxon 秩和检验分析,  $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 不同组之间 JAK2 V617F、PD-1、PD-L1 及 Treg 细胞水平分析

结果表明初治组髓系细胞 PD-1、髓系细胞 PD-L1 及 Treg 水平高于治疗组及对照组 (均  $P < 0.05$ )。初治组淋巴细胞 PD-1、PD-L1 表达水平虽然高于对照组, 但表达量低, 差异无统计学意义 (均  $P > 0.05$ ) (表 1, 图 1、2)

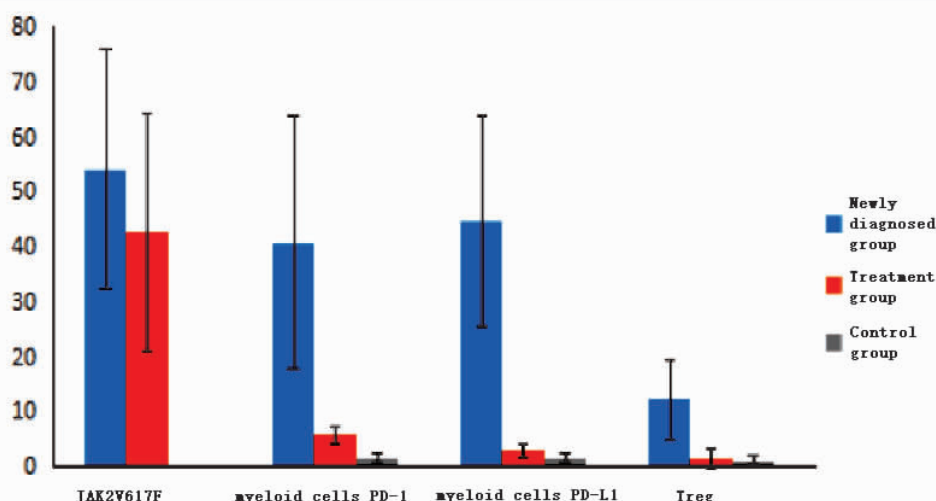


图 1 不同组 JAK2 V617F、PD-1、PD-L1 及 Treg 水平

Figure 1. Expressions of JAK2 V617F, PD-1, PD-L1 and Treg in Each Group

PD-1: Programmed death receptor-1; PD-L1: Programmed death ligand-1; Treg: Regulatory T cells.

表 1 不同组 JAK2 V617F、PD-1、PD-L1 及 Treg 水平关系

Table 1. Expressions of JAK2 V617F, PD-1, PD-L1 and Treg in Each Group

Group	JAK2 V617F/ JAK2 ratio (%)	PD-1 in myeloid cells (%)	PD-L1 in myeloid cells (%)	PD-1 in lym- phocytes (%)	PD-L1 in lym- phocytes (%)	Treg (%)
Initial treatment group	54.12 ± 24.86	40.87 ± 23.11*#	44.79 ± 19.15*#	3.26 ± 3.92	5.30 ± 7.95	12.24 ± 7.41*#
Ruxolitinib group	42.69 ± 21.71	5.79 ± 1.64	2.99 ± 1.28	2.98 ± 2.04	3.88 ± 13.6	1.57 ± 1.79
Control group	0	1.62 ± 0.78	1.63 ± 0.84	0.21 ± 0.31	0.16 ± 0.21	1.24 ± 0.83
F	59.34	33.87	61.26	6.36	4.418	26.42
P	0.191	0.000	0.000	0.848	0.639	<0.001

\* Compared with the Ruxolitinib group ( $P < 0.05$ ); # compared with the control group ( $P < 0.05$ ).

Abbreviations as indicated in Figure 1.

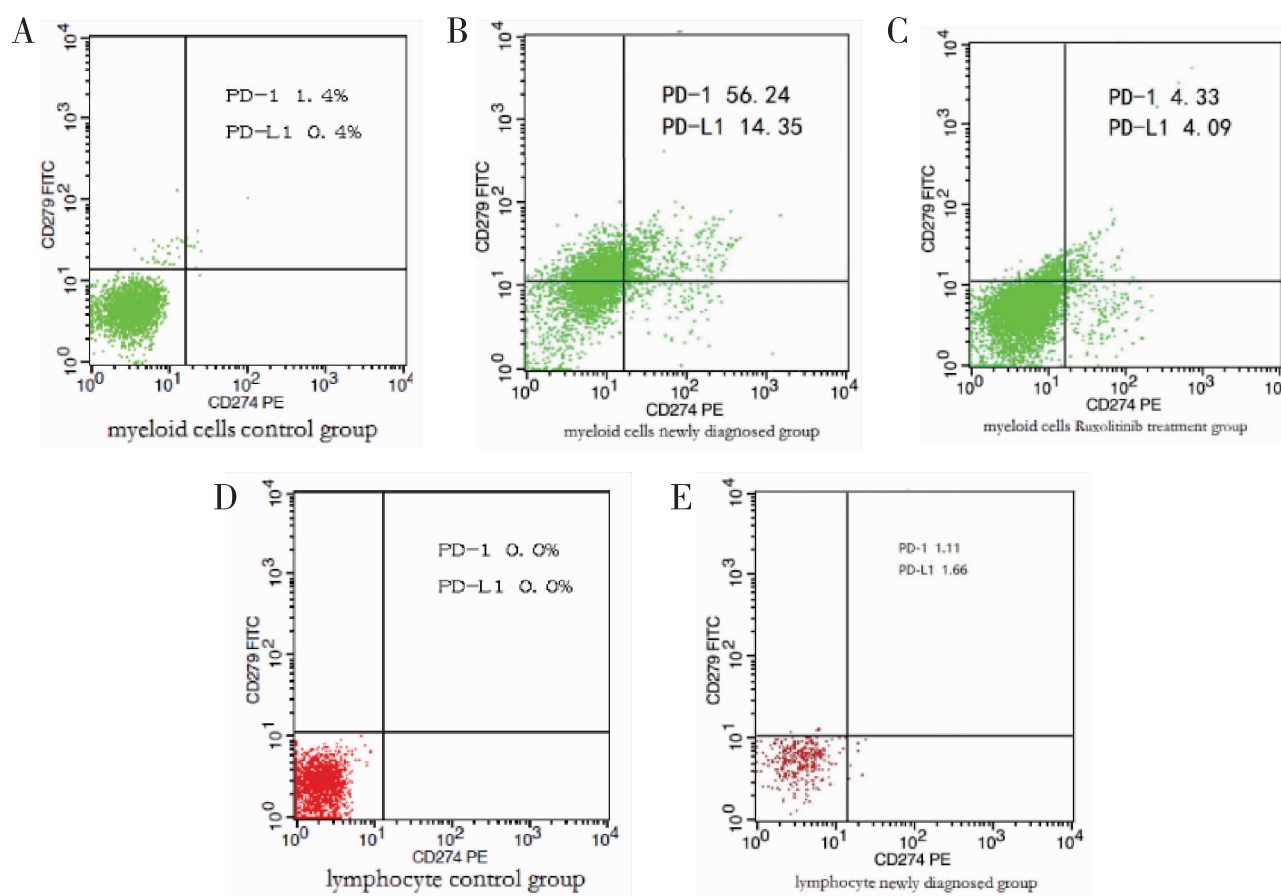


图 2 PD-1、PD-L1 在不同组表达情况流式图

Figure 2. Expressions of PD-1 and PD-L1 in Each Group

A. Myeloid cells, the control group; B. Myeloid cells, the initial treatment group; C. Myeloid cells, the Ruxolitinib group; D. Lymphocytes, the control group; E. Lymphocytes, the initial treatment group.

Abbreviations as indicated in Figure 1.

## 2.2 芦可替尼对体外培养细胞 PD-1、PD-L1 及 Treg 水平的影响

250 nmol/L 芦可替尼体外干预原代细胞后,髓系细胞 PD-1、PD-L1 及 Treg 细胞的水平降低,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ),淋巴细胞 PD-1 表达差

异无统计学意义( $P > 0.05$ )(表 2)。

## 2.3 芦可替尼对 JAK2 V617F、PD-1、PD-L1 及 Treg 水平的影响

5 例患者应用芦可替尼后 JAK2 V617F、PD-1、PD-L1 及 Treg 水平均较治疗前降低(表 3)。

表 2 芦可替尼对原代 MPN 细胞作用前后髓系细胞 PD-1、PD-L1, 淋巴细胞 PD-1 及外周血 Treg 水平的影响

Table 2. Expression Levels of PD-1 and PD-L1 in Bone Marrow, PD-1 in Lymphocytes, and Treg in Peripheral Blood after Treated with Ruxolitinib

Group	N	PD-1 in myeloid cells (%)	PD-L1 in myeloid cells (%)	PD-1 in lymphocytes (%)	Treg (%)
Before intervention	12	42.88 ± 24.92 *	46.73 ± 21.76 *	2.65 ± 2.82	10.14 ± 10.92 *
After intervention	12	25.54 ± 19.70	34.68 ± 23.51	1.40 ± 1.47	5.16 ± 7.52
Z		3.061	3.061	1.837	2.981
P		0.002	0.002	0.066	0.003

\* Compared with results after the intervention with Ruxolitinib,  $P < 0.05$ .

Abbreviations as indicated in Figure 1.

表 3 5 例患者应用芦可替尼前后 JAK2 V617F、髓系细胞 PD-1、PD-L1, 淋巴细胞 PD-1、Treg 的水平比较

Table 3. Expressions of JAK2 V617F, PD-1 and PD-L1 in Bone Marrow, PD-1 in Lymphocytes, and Treg in Peripheral Blood in 5 Patients before and after Ruxolitinib Treatment

No.	Disease	V617F/JAK2 ratio (%)		PD-1 in myeloid cells (%)		PD-L1 in myeloid cells (%)		Treg (%)	
		Before	After	Before	After	Before	After	Before	After
1	MF	91.11	70.10	13.60	6.33	47.5	4.09	42.06	1.00
2	MF	78.90	52.87	68.80	8.27	7.21	11.4	32.86	0.79
3	MF	74.87	49.48	56.24	4.33	14.35	4.09	35.12	2.69
4	ET	35.11	21.09	9.17	4.14	2.09	1.13	24.45	1.32
5	ET	45.38	19.93	20.06	5.89	10.334	2.25	30.04	2.07

MF: Myelofibrosis; ET: Essential thrombocythemia; other abbreviations as indicated in Figure 1.

### 3 讨论

PD-1/PD-L1 信号通路及免疫检查点分子作为负性免疫调控分子参与了肿瘤的发生。PD-L1 可表达于多种肿瘤细胞的表面,其高表达能够增强癌细胞抵抗机体免疫攻击能力<sup>[10]</sup>。肿瘤细胞 PD-L1 与淋巴细胞表面 T 细胞受体 PD-1 结合后可诱导抗肿瘤 T 细胞耗竭、失活及凋亡<sup>[11]</sup>,从而形成免疫抑制的肿瘤微环境,进而导致肿瘤发生免疫逃逸。目前研究表明,在多种实体肿瘤如肺癌、肝癌中存在 PD-L1 和或 PD-1 过表达的现象,从而引起外周血 Treg 细胞活性增强及抗肿瘤 T 细胞的无能,同时与不良预后密切相关<sup>[12-13]</sup>。研究显示,在血液肿瘤患者中亦存在 PD-1 及 PD-L1 过表达,PD-1 抑制剂纳武利尤单抗 (nivolumab) 在经典霍奇金淋巴瘤的治疗上已经取得成功<sup>[14]</sup>。有研究表明,胰腺癌 JAK-STAT 信号通路的活化能够上调 PD-L1 的表达<sup>[15]</sup>。而通过本研究检测表明 JAK2 V617F 阳性 MPN 患者中存在 JAK2-STAT5 信号通路的自发性激活,同时存在 PD-1、PD-L1 的高表达。

细胞因子受体 JAK-STAT 通路是一条重要的细胞增殖信号转导通路,该信号通路的活化对促进细

胞增殖,抑制细胞凋亡具有重要作用<sup>[16]</sup>。目前有多个研究显示肿瘤的 JAK2-STAT3 通路能够上调 PD-L1<sup>[17-18]</sup>,导致肿瘤微环境产生,而抑制 JAK2 通路,可有效下调 PD-L1 表达。多数 MPN 患者由于 JAK2-STAT5 信号通路的自发性激活,导致疾病产生与进展,而其 PD-1 与 PD-L1 表达升高提示可能存在 JAK2-STAT3 通路的激活。而芦可替尼作为一种选择性 JAK1/2 抑制剂,目前用于 MPN 的靶向治疗,并且成功应用于临床<sup>[9]</sup>。本研究中 MPN 患者应用芦可替尼后 JAK2 V617F 突变量减低,同时 PD-1、PD-L1 表达量亦明显减低。同时体外研究表明芦可替尼能够下调体外培养的原代 MPN 细胞 PD-1、PD-L1 的表达。表明芦可替尼能够通过抑制 JAK2 信号通路进一步参与抑制 PD-1/PD-L1 信号通路,从而达到抑制肿瘤的作用。本研究结果也与上述研究一致。

Treg 细胞在肿瘤患者的 T 淋巴细胞中所占比例明显升高,抑制效应 T 淋巴细胞的抗肿瘤活性<sup>[19]</sup>。有研究表明,PD-1/PD-L1 信号通路可能是 Treg 发挥抑制作用的机制之一。Treg 细胞高度表达免疫检查点受体细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4,该分子能够抑制抗原呈递细胞 (antigen-presenting cells, APC) 的激活,还可以上调 APC 表面的游离

PD-L1,从而双重抑制效应 T 细胞<sup>[20]</sup>。此外有研究显示激活 JAK2-STAT3 通路能够上调 Treg 细胞水平<sup>[21]</sup>。本研究表明在 MPN 患者中,Treg 细胞水平明显上调,芦可替尼治疗后 Treg 细胞明显受到抑制,该类细胞水平明显下调。而原代细胞培养结果亦支持该结论。这提示芦可替尼能够通过抑制 JAK2 信号通路参与调控了 MPN 患者免疫微环境。

本研究初步探讨了 JAK2 V617F 阳性 MPN 患者 JAK2 V617F、PD-1、PD-L1 及 Treg 的表达及各表达量之间的相互关系,以及芦可替尼对 MPN 患者 JAK2 V617F、PD-1、PD-L1 及 Treg 表达的抑制作用。为 PD-1/PD-L1 通路在 MPN 中的作用提供一定的理论依据。

**作者声明:**本文全部作者对于研究和撰写的论文出现的不端行为承担相应责任;并承诺论文中涉及的原始图片、数据资料等已按照有关规定保存,可接受核查。

**学术不端:**本文在初审、返修及出版前均通过中国知网(CNKI)科技期刊学术不端文献检测系统的学术不端检测。

**同行评议:**经同行专家双盲外审,达到刊发要求。

**利益冲突:**所有作者均声明不存在利益冲突。

**文章版权:**本文出版前已与全体作者签署了论文授权书等协议。

#### [参考文献]

- [1] Patel AA, Odenike O. Genomics of MPN progression[J]. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2020, 2020 :440-449.
- [2] 付建珠,徐倩,赵亚玲,等. 干扰素抑制 JAK2 V617F 阳性骨髓增殖性肿瘤血管新生的机制[J]. 中华医学杂志,2015,95(46) : 3727-3732.
- [3] Wang M, Zhen HC, Jiang XY, et al. Clinical observation of the efficacy of PD-1/PD-L1 inhibitors in the treatment of patients with advanced solid tumors[J]. Immun Inflamm Dis, 2021. doi:10.1002/iid3.511.
- [4] Dieterich LC, Ikenberg K, Cetintas T, et al. Tumor-associated lymphatic vessels upregulate PD-L1 to inhibit T-cell activation[J]. Front Immunol, 2017, 8 :66.
- [5] Kraus EE, Kakuk-Atkins L, Farinas MF, et al. Regulation of autoreactive CD4 T cells by FoxO1 signaling in CNS autoimmunity[J]. J Neuroimmunol, 2021, 359 :577675.
- [6] Bauer V, Ahmetlić F, Hömberg N, et al. Immune checkpoint blockade impairs immunosuppressive mechanisms of regulatory T cells in B-cell lymphoma[J]. Transl Oncol, 2021, 14 :101170.
- [7] Altomare I, Parasuraman S, Paranagama D, et al. Real-world dosing patterns of ruxolitinib in patients with polycythemia vera who are resistant to or intolerant of hydroxyurea[J]. Clin Lymphoma Myeloma Leuk, 2021. doi:10.1016/j.clml.2021.06.023.
- [8] 刘贵敏,张丽军,付建珠,等. Ruxolitinib 对 JAK2V617F 阳性骨髓增殖性肿瘤细胞基质金属蛋白酶调控的研究[J]. 中华血液学杂志, 2017,38(2) :140-145.
- [9] 徐倩,刘贵敏,王风云,等. Ruxolitinib 对人红白血病 HEL 细胞 VEGF、HIF-1 $\alpha$  表达的影响[J]. 四川大学学报(医学版), 2016,47(5) :669-673.
- [10] Ma GF, Li C, Zhang ZL, et al. Targeted glucose or glutamine metabolic therapy combined with PD-1/PD-L1 checkpoint blockade immunotherapy for the treatment of tumors-mechanisms and strategies[J]. Front Oncol, 2021, 11 :697894.
- [11] Clarke E, Eriksen JG, Barrett S. The effects of PD-1/PD-L1 checkpoint inhibitors on recurrent/metastatic head and neck squamous cell carcinoma: A critical review of the literature and meta-analysis[J]. Acta Oncol, 2021, 19 :1-9.
- [12] Jomrich G, Kollmann D, Ramazanov D, et al. Expression of programmed cell death protein 1 (PD-1) and programmed cell death 1 ligand (PD-L1) in adenocarcinomas of the gastroesophageal junction change significantly after neoadjuvant treatment[J]. Eur J Surg Oncol, 2021. doi:10.1016/j.ejso.2021.08.016.
- [13] Lei QY, Wang D, Sun K, et al. Resistance mechanisms of anti-PD1/PDL1 therapy in solid tumors[J]. Front Cell Dev Biol, 2020, 8 :672.
- [14] Pianko MJ, Liu Y, Bagchi S, et al. Immune checkpoint blockade for hematologic malignancies: A review [J]. Stem Cell Investig, 2017,4 :32.
- [15] Doi T, Ishikawa T, Okayama T, et al. The JAK/STAT pathway is involved in the upregulation of PD-L1 expression in pancreatic cancer cell lines[J]. Oncol Rep, 2017, 37(3) :1545-1554.
- [16] 成志勇,黄月华,梁文同,等. 骨髓增殖性肿瘤中 JAK2 V617F 突变与 I 型细胞因子受体相关性研究[J]. 中国全科杂志, 2012,15(9) :1019-1022.
- [17] Rugamba A, Kang DY, Nipin S, et al. Silibinin regulates tumor progression and tumorsphere formation by suppressing PD-L1 expression in non-small cell lung cancer (NSCLC) cells[J]. Cells, 2021, 10(7) :1632.
- [18] Chen Y, Li FX, Li D, et al. Atezolizumab and blockade of lncRNA PVT1 attenuate cisplatin resistant ovarian cancer cells progression synergistically via JAK2/STAT3/PD-L1 pathway[J]. Clin Immunol, 2021, 227 :108728.
- [19] Downs-Canner S, Berkey S, Delgoffe GM, et al. Suppressive IL-17A + Foxp3 + and ex-Th17 IL-17AnegFoxp3 + Treg cells are a source of tumour-associated Treg cells[J]. Nat Commun, 2017,8 :14649.
- [20] Tekguc M, Wing JB, Osaki M, et al. Treg-expressed CTLA-4 depletes CD80/CD86 by trogocytosis, releasing free PD-L1 on antigen-presenting cells[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2021, 118(30) :e2023739118.
- [21] Guo J, Wang LY, Wu J, et al. The JAK2 inhibitor AG490 regulates the Treg/Th17 balance and alleviates DSS-induced intestinal damage in IBD rats[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2020, 47 : 1374-1381.