

LAG-3在微卫星不稳定性高频结肠癌中的诊断和治疗的进展

李哲¹, 谭云波², 金礼权²

¹大理大学临床医学院, 云南 大理

²大理大学第一附属医院普外一科, 云南 大理

收稿日期: 2022年11月26日; 录用日期: 2022年12月23日; 发布日期: 2022年12月30日

摘要

结肠癌是消化系统最常见的恶性肿瘤, 起源于结肠黏膜上皮细胞, 其受到了各种物理、生化因子及基因突变, 失去了正常细胞的生长机制, 发病率居消化道恶性肿瘤第3位, 预后极差, 5年生存率极低, 大多数诊断已处于中晚期阶段。目前, 结肠癌的治疗仍以手术为主, 辅以新辅助化疗、化疗、放疗、靶向治疗、免疫治疗等综合治疗模式。LAG-3基因的过度表达可能是微卫星不稳定性高频(Microsatellite Instability High frequency, MSI-H)结肠癌发生机制之一。针对MSI-H结肠癌使用免疫检查点抑制剂可取得较好的靶向治疗效果。

关键词

LAG-3, 微卫星不稳定性高频结肠癌, 免疫检查点, 免疫检查点抑制剂

Research Progress of LAG-3 in the Diagnosis and Treatment of Microsatellite Instability High-Frequency Colon Cancer

Zhe Li¹, Yunbo Tan², Liquan Jin²

¹School of Clinical Medicine, Dali University, Dali Yunnan

²Department of General Surgery, The First Affiliated Hospital of Dali University, Dali Yunnan

Received: Nov. 26th, 2022; accepted: Dec. 23rd, 2022; published: Dec. 30th, 2022

Abstract

Colon cancer is the most common malignant tumor of the digestive system, which originates from

文章引用: 李哲, 谭云波, 金礼权. LAG-3 在微卫星不稳定性高频结肠癌中的诊断和治疗的进展[J]. 临床医学进展, 2022, 12(12): 12184-12190. DOI: 10.12677/acm.2022.12121755

the epithelial cells of colon mucosa. It has suffered various physical and biochemical factors and gene mutations, and lost the growth mechanism of normal cells. Its incidence rate ranks the third in malignant tumors of the digestive tract. Its prognosis is extremely poor, and its five-year survival rate is extremely low. Most of the diagnoses are in the middle and late stages. At present, the treatment of colon cancer is still dominated by surgery, supplemented by neoadjuvant chemotherapy, chemotherapy, radiotherapy, targeted therapy, immunotherapy and other comprehensive treatment modes. The overexpression of LAG-3 gene may be one of the mechanisms of Microsatellite instability high frequency (MSI-H) colon cancer. The use of immuncheckpoint inhibitors for MSI-H colon cancer can achieve better targeted therapeutic effect.

Keywords

LAG-3, Microsatellite Instability High Frequency Colon Cancer, Immune Checkpoint, Immuncheckpoint Inhibitor

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

结肠癌是我国乃至全世界最常见的恶性肿瘤之一，其发病率在我国排第3位，死亡率排第5位[1]。微卫星不稳定性高频结肠癌的发病机制尚不明确，主要由于错配修复系统(Mismatch Repair, MMR)功能丧失减弱甚至失去了自身校正功能引起和各种基因突变。有研究表明：LAG-3与MSI-H结肠癌的发生、发展密切相关[2]。MSI-H结肠癌的发生率在所有的结肠癌中仅为15% [2]。近年来，肿瘤微环境已经成为肿瘤界新的研究领域。免疫逃逸与MSI-H结肠癌的发生机理也是近年来分子生物学研究热点之一。有研究结果显示：MSI-H肿瘤免疫治疗效果及预后较好，可用于肿瘤生存评估[3] [4]。笔者围绕LAG-3的一般特征与检测方法、MSI的一般特征与检测方法，MSI-H的临床病理特征及LAG-3在肿瘤免疫治疗中的作用进行综述。

2. LAG-3的一般特征

淋巴细胞激活基因3 (LAG-3)是体内最重要的免疫检查点之一，具有多种生物活性，通过结合配体的胞外结构域负调控T淋巴细胞，从而避免了T细胞过度激活，来维持自身免疫的稳定。然而许多的肿瘤细胞常利用这一机制来发生免疫逃逸。目前LAG-3已被发现在多种类型的肿瘤浸润淋巴细胞中高表达[5]。LAG-3 (即CD223)，位于人12号染色体(20p13.3)，位于小鼠6号染色体上。1990年Triebel [6]团队在一项实验中发现了LAG-3。LAG-3是一种I型跨膜蛋白，由四个IG样结构域构成，分别为结构域IG1-IG4。然而CD4同样也是由4个IG样结构域组成。在氨基酸水平上，LAG-3的胞外区与CD4的氨基酸的同源性仅为20% [7]。在绝大多数生物体中(包括人类和其他动物)，LAG-3基因位于CD4基因周围。由此可猜测，诸如此类基因有可能通过基因复制进化来的[7]。LAG-3和CD4的细胞内区域与细胞外区域没有明显的相似性。LAG-3缺乏与淋巴细胞特异性蛋白酪氨酸激酶(Lck)相关所需的半胱氨酸基序和在CD4中的棕榈酰化位点[7]。因此，CD4和LAG-3在结构上有密切的关系，但在功能上又有所区别。LAG-3的D1由9条 β -链组成，即A、B、C、C'、C''、D、E、F和G链，大约30个氨基酸的附加序列位于C和C'链之间，形成一个闭合环，称为“额外环” [7]。尽管序列相似性很低，但在人和小鼠LAG-3中都可以观

察到这个环,此环还参与了LAG-3和主要组织相容性复合体II类(MHCII)之间的结合[7]。galectin-3已被证明与LAG-3上的聚糖相互作用[7]。Galectin-3属于Galectin家族中的一员,能够与细胞表面和细胞间质中的半乳糖特异性的结合,发挥细胞之间以及细胞与间质之间的信号传递作用。

3. LAG-3的检测方法

随着精准医学和基因检测技术的不断发展,基因检测在恶性肿瘤的早期筛查、诊断治疗及预后复发方面的评估方面独树一帜[8]。目前国内外基因检测的方法日渐多样化,各有其千秋。其一,聚合酶链式反应法(polymerase chain reaction, PCR)主要是可以使基因在短时间内在体外扩增数十万至百万倍,来进一步的分析。这样,少量的单基因通过扩增至百万倍后直接观察到,不仅缩短了观察的时间,也进一步提高了其诊断敏感度。其二,实时荧光定量PCR(Quantitative Real-time, RT-PCR)主要是运用荧光剂显示扩增的基因量,对荧光染色扩增的量进行实时动态检测,从而避免期间发生错误而造成结果的不准确,也避免了多次打开试剂盒而污染标本。随着第二代测序技术的迅猛发展,科学界也开始越来越多地应用第二代测序技术来解决生物学问题。高通量测序技术又称下代测序技术(Next-generation sequencing technology NGS)是对传统测序的一次历史性的改革,一次对几百万乃至几千万DNA分子进行序列测定,在基因学研究领域具有里程碑式的意义。NGS可以对基因组与转录组进行真正的基因学检测,在指导疾病分子的靶向治疗、个体化用药、疾病预后具有指导作用。NGS的出现具有里程碑式的意义。

4. MSI的一般特征

微卫星是遍布于人类基因组中的短串联重复序列(整个基因组有超过100,000个),一般由2~5个核苷酸组成,呈串联重复排列。微卫星不稳定性(MSI)是指DNA甲基化或者基因突变致错配修复(MMR)基因缺失,继而长度改变,而出现新的微卫星等位基因的现象,这种现象与肿瘤的发生密切相关。MSI可用于检测结直肠癌、胃癌、子宫内膜癌和其他癌症的风险恶性肿瘤的分子分型[9],也可用于检测恶性肿瘤的预后、复发以及化疗获益情况预测。MSI还可以诊断Lynch综合征。DNA复制过程中容易出现滑动而出现复制的错误,因此DNA在复制的过程中急需依赖MMR系统进行修复,因此可以推断1个微型卫星的长度变化可以提供信息MSI状态以及MMR功能状态。MMR系统的作用是使核苷酸序列恢复正常的修复方式,MMR的主导蛋白包括MLH1、MSH2、MSH6及PMS2,存在1种或1种以上蛋白表达阴性即为错配修复缺陷(dMMR)。在结肠癌中,15%存在MLH1、MSH2、MSH6、PMS2基因突变,即微卫星不稳定性结肠癌(12%)与Lynch综合征(3%)。

5. MSI的检测方法

目前国内外对MSI的检测标准采用的检测位点的指南共有两套体系。一是,1997年美国国家癌症研究所针对遗传性非息肉病性结肠癌及散发性结直肠癌所提出来的2B3D(即BAT-25、BAT-26、D5S346、D17S250、D2S123),若检测出 ≥ 2 个变位点称为MSI-H;检测出1个突变位点称为MSI-L;未检测出突变位点称MSS。二是,2004年Revised Bethesda指南提出了5个单核苷酸微卫星位点组成的Pentaplex Panel(即BAT-25、BAT-26、NR-21、NR-22、NR-24),出现3个及以上或存在 $\geq 30\%$ 的重复不稳定序列为MSI-H;存在10%~30%的重复不稳定序列为MSI-L;存在 $< 10\%$ 重复序列则为MSS。

临床上常用MSI检测方法主要有免疫组织化学染色法(IHC)、聚合酶链式反应法(PCR)和高通量测序技术(NGS)。IHC主要通过检测错配修复基因MLH1、MSH2、MSH6及PMS2,判断MSI状态,敏感性和特异性都较高。PCR主要检测经荧光标记扩增后的正常组织和肿瘤组织DNA中重复核苷酸序列(BAT-25、BAT-26、D5S346、D17S250、D2S123)的长度,通过检测后的长度来判断MSI的状态,在临床上

称之为“金标准”。测序技术推进科学研究的发展。NGS 一开始主要用于寻找疾病的候选基因上。随着肿瘤种类的多样性, NGS 也逐渐用在肿瘤基因测序上, 发现临床上可治疗疾病的基因以及疾病的预后情况。目前国内外各级医院对 MSI-H 的检测方法不同, 导致对疾病的治疗及预后存在巨大的差异, 因此, 推出国内外公认的检测方法来减小存在的差异, 提高 MSI-H 的治愈率与预后, 是亟待解决的事情。

6. MSI-H 的临床病理特征

MSI 状态与结肠恶性肿瘤的临床分期及预后具有一定的相关性, 具有特殊的临床病理特征。在 II 期结肠癌中, MSI-H 结肠癌患者约占 20%, 在 III 期结直肠癌中约占 12%, 而在 IV 期中最少, 约占 4% [10] [11]。结直肠癌的淋巴转移是主要的转移途径, 也是导致患者术后肿瘤复发或死亡的主要原因。有相关文献报道, MSI 较 MSS 结肠癌患者分期较为更早, 其淋巴转移率也较低 [12], 因此其预后也较 MSS 好。可推测 MSI-H 有可能是结肠癌预后良好的因素。

Sørredie 等 [13] 发现, MSI-H 是 II/III 期结肠癌 ≥ 12 枚淋巴结检出数量的独立影响因素(校正 OR 2.6, 95% CI: 1.1~6.0, $P = 0.026$) [13]。Kang 等 [14] 通过对 603 例 I~III 期结直肠癌患者的资料分析发现, MSI-H 患者具有更多的淋巴结检出数量(中位数: 31 枚 vs. 23 枚, $P < 0.001$) [14]。Belt 等 [15] 发现, 65 例 MSI 型肿瘤患者淋巴结检出 10.1 枚, 267 例 MSS 型肿瘤患者为 8.6 枚($P = 0.03$), 多因素分析显示, MSI 状态是高淋巴结检出数量的最强独立影响因素 [15]。张冬生 [16] 等人通过对 1280 例结直肠癌患者的资料分析发现, MSI-H 组患者 CEA < 4.7 ng/mL/右半结肠癌、低 TNM 分期、高 T 分期、低 N 分期、低分化、黏液成分、肿瘤直径 ≥ 4 cm、无癌结节、无神经侵犯所占比例显著高于 MSS/MSI-L 组患者。综上两部分表明, MSI-H 既存在预后良好的也存在预后不良的临床病理特征。结直肠癌发病机制不同, 相对应的治疗方法也存在巨大差异。

7. LAG-3 在肿瘤免疫治疗中的作用

LAG-3 最初在活化的 T 细胞与 NK 细胞表面被发现, 是 Ig 超家族的一员, 后逐渐在树突状细胞(DC)及 Treg 上发现 LAG-3 的表达 [17]。LAG-3 在多种恶性肿瘤中异常表达, 与肿瘤的发生、发展及预后密切相关。比如, 慢性淋巴细胞性白血病、肝细胞癌、胃癌、黑色素瘤、乳腺癌、卵巢癌、食管鳞状细胞癌、肺癌及结直肠癌均高表达且与疾病预后有一定的关系 [18]。在肿瘤进展期间, 肿瘤浸润性 CD4+ T 细胞与 CD8+ T 细胞会慢慢衰竭, LAG-3 的表达也会升高 [19]。LAG-3 表达于细胞毒性 T 细胞, 与抗原呈递细胞(APC)表面的抗原呈递细胞受体-II (MHC-II)结合, 抑制细胞毒性 T 细胞的增殖与激活 [7], 因此, 阻断 LAG-3, 可以明显增强细胞毒性 T 细胞的增殖与激活, 增强抗感染、抗肿瘤免疫。从而抑制了细胞毒性 T 细胞的增殖与激活 [17]。LAG-3 也表达于末梢血和聚集在肿瘤病灶上的 Treg 细胞。目前针对 LAG-3 的免疫治疗主要开发出两种抑制方法: 靶向 LAG-3 的单克隆抗体和 LAG-3 抗体融合蛋白 [20]。其一, LAG-3 也同 PD-1 一样参与了肿瘤的免疫逃逸机制。也有研究表明: FGL-1 作为 LAG-3 的配体, 在体外和体内以受体-配体相互依赖的方式发挥对 T 细胞的抑制作用, 阻断 FGL-1-LAG-3 的相互作用可以刺激肿瘤微环境中 T 细胞的活化和增殖, 以提高机体对肿瘤的免疫与清除能力 [21] [22]。FGL-1 是一种肝细胞分泌蛋白, 是从人肝恶性肿瘤细胞中克隆得到的。有研究显示, FGL-1 的表达在再生肝脏中升高, 因此有人认为 FGL-1 是肝脏再生因子。然而另有研究发现, FGL-1 对肝恶性肿瘤细胞生长具有抑制作用, 提示其在肝细胞增殖中具有抗增殖作用 [23]。WANG 等 [21] 通过流式细胞术发现了 FGL-1 与 LAG-3 相互作用具有高度特异性。使用 FGL-1-KO 小鼠的肿瘤模型研究发现, FGL-1 对依赖于 LAG-3 的抗肿瘤免疫具有免疫抑制作用, 抗 FGL-1 单克隆抗体的抗肿瘤作用依赖于 LAG-3, 而抗 LAG-3 的作用依赖于 FGL-1 但不依赖于 MHC-II 或其它 LAG-3 配体 [23]。从以上研究可发现, FGL-1 在正常组织中的表达较低, 但在恶性

肿瘤组织中表达较高。FGL-1 的表达与恶性肿瘤的不良预后及疗效不佳有关。可以选择 FGL-1 单克隆抗体靶向治疗高 LAG-3 表达的 MSI-H 结肠癌, 提高化疗的耐药性。其二, 恶性肿瘤的发病机制也是由病毒慢慢侵蚀逐渐失去正常生长增殖能力而不可控性的进一步异常增殖分化。因此恶性肿瘤的治疗也类似于病毒的治疗, 通过被动免疫增强自身免疫力, 通过抑制细胞周期来抑制肿瘤细胞的分化增殖。细胞周期是指从一次细胞分裂形成子细胞开始到下一次细胞分裂形成子细胞为止所经历的过程。有研究表明, 天然染料木素通过抑制细胞周期中的 G2/M 期抑制肿瘤细胞的增殖分裂, 促进肿瘤细胞凋亡。通过上调相关促凋亡基因, 下调相应抗凋亡基因, 来促进肿瘤细胞的凋亡进而预防限制肿瘤的发生。天然染料木素作为肿瘤的化疗药物之一, 是一种广泛分布于大豆、葛根、槐花等豆科植物中的异黄酮化合物[24], 也是大豆中最丰富的异黄酮[25], 其化学结构与内源性雌激素相似[26], 能竞争性结合雌激素受体, 发挥雌激素样作用。Katarzyna Papaj [27]等人发现染料木素作为化疗药物的主要局限性是其对非活性代谢物的快速代谢和从人体中迅速消除。Katarzyna Papaj [27]等人从实验中发现, 天然染料木素衍生物 RAM-3 会比天然染料木素更有效地从肠道通过肠壁运输到血液, 并且它们从血液到肠腔的逆行运输会比天然染料木素更低。天然染料木素的新衍生物由于其较高的亲脂性, 比天然染料木素更容易穿透人工生物膜[27]。从而更容易被人体吸收。Katarzyna Papaj 等人从大鼠实验中证实, 24 小时后仍能从小鼠尿液和血浆中发现天然染料木素衍生物的存留。从这些实验中, Katarzyna Papaj 等人发现糖缀合物比染料木素代谢得更慢, 程度更小。因此, 减缓化合物代谢是获得比天然染料木素更好的生物利用度化合物的关键[27]。

根据 2022 CSCO 结直肠癌诊疗指南[28]。针对不可切除的 MSI-H 结肠癌患者, 姑息治疗一线方案为帕博利珠单抗, 此药在 2021 年 6 月获批我国审批。基于其他国内外已有的临床研究数据及 2022 版 NCCN 指南, 姑息治疗二、三线方案为免疫检查点抑制剂(PD-1/PD-L1 抑制剂), 其中替雷利珠单抗、斯鲁利单抗、纳武利尤单抗和恩沃利单抗于今年(2022 年)3 月也已获批用于不可切除的 MSI-H 结直肠癌成人晚期肿瘤患者的治疗, 包括曾行过标准化治疗失败后的晚期结肠癌患者[28]。

8. 展望

尽管 LAG-3 在多种恶性肿瘤及良性疾病中均有所表达, 但 LAG-3 配体、LAG-3 参与的信号通路以及如何上调通路及通路中明星蛋白基因的表达、LAG-3 与肿瘤免疫逃逸中的关系、新型肿瘤疫苗的研发问题仍都需要进一步研究探索。到目前为止, 还未有相关文献比较辅助化疗药 + 单纯化疗药物与单药单抗 + 辅助化疗药 + 靶向药物治疗晚期 MSI-H 结肠癌, 需要进一步进行前瞻性 RCT 实验进行验证, 得到最终结果, 以便来预防肿瘤的发生、提高肿瘤的治疗效果、减少肿瘤患者的死亡率、提高肿瘤患者的生存率。目前国外曾有报道, LAG-3 单抗(瑞拉利单抗)与 PD-1/PD-L1 (纳武利尤单抗/卡瑞利珠单抗/帕姆单抗/阿替唑单抗/杜伐单抗)治疗 MSI-H 结肠癌, 但其临床疗效报道较少。因此, 迫切需要 LAG-3 相关药物的开发和尽快获批, 为与 LAG-3 基因突变的相关疾病的患者带来福祉。

参考文献

- [1] 郑荣寿, 孙可欣, 张思维, 等. 2015 年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. 中华肿瘤杂志, 2019, 41(1): 19-28.
- [2] Lee, S.J., Jun, S.Y., Lee, I.H., et al. (2018) CD274, LAG3, and IDO1 Expressions in Tumor-Infiltrating Immune Cells as Prognostic Biomarker for Patients with MSI-High Colon Cancer. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, **144**, 1005-1014. <https://doi.org/10.1007/s00432-018-2620-x>
- [3] Oliveira, A.F., Bretes, L. and Furtado, I. (2019) Review of PD-1/PD-L1 Inhibitors in Metastatic dMMR/MSI-H Colorectal Cancer. *Frontiers in Oncology*, **9**, Article 396. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00396>
- [4] Le, D.T., Uram, J.N., Wang, H., Bartlett, B.R., et al. (2015) PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency. *New England Journal of Medicine*, **372**, 2509-2520. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1500596>
- [5] 韩杰, 李晋虎, 刘晓东, 等. 免疫检查点 LAG-3 在肿瘤免疫中的研究进展[J]. 中华神经创伤外科电子杂志, 2021,

- 7(3): 182-186.
- [6] Triebel, F., Jitsukawa, S., Baixeras, E., Roman-Roman, S., Genevee, C., Viegas-Pequignot, E. and Hercend, T. (1990) LAG-3, a Novel Lymphocyte Activation Gene Closely Related to CD4. *Journal of Experimental Medicine*, **171**, 1393-1405. <https://doi.org/10.1084/jem.171.5.1393>
- [7] Maruhashi, T., Sugiura, D., Okazaki, I. and Okazaki, T. (2020) LAG-3: From Molecular Functions to Clinical Applications. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, **8**, e001014. <https://doi.org/10.1136/jitc-2020-001014>
- [8] 王灵芝, 郝明. 基因检测在肿瘤精准医学临床转化中的伦理思考[J]. 医学与哲学, 2021, 42(8): 22-26.
- [9] Trabucco, S.E., Gowen, K., Maund, S.L., Sanford, E., Fabrizio, D.A., Hall, M.J., Yakirevich, E., Gregg, J.P., Stephens, P.J., Frampton, G.M., Hegde, P.S., Miller, V.A., Ross, J.S., Hartmaier, R.J., Huang, S.A. and Sun JX. (2019) A Novel Next-Generation Sequencing Approach to Detecting Microsatellite Instability and Pan-Tumor Characterization of 1000 Microsatellite Instability-High Cases in 67,000 Patient Samples. *The Journal of Molecular Diagnostics*, **21**, 1053-1066. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2019.06.011>
- [10] 王畅. 微卫星状态对结肠癌术后辅助化疗决策的影响[J]. 中华结直肠疾病电子杂志, 2018, 7(3): 207-213.
- [11] Al-Sohaily, S., Biankin, A., Leong, R., Kohonen-Corish, M. and Warusavitarne, J. (2012) Molecular Pathways in Colorectal Cancer. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, **27**, 1423-1431. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2012.07200.x>
- [12] Yan, W.Y., Hu, J., Xie, L., Cheng, L., Yang, M., Li, L., Shi, J., Liu, B.R. and Qian, X.P. (2016) Prediction of Biological Behavior and Prognosis of Colorectal Cancer Patients by Tumor MSI/MMR in the Chinese Population. *Oncotargets and Therapy*, **9**, 7415-7424. <https://doi.org/10.2147/OTT.S117089>
- [13] Søredec, K., Nedrebo, B.S., Søreide, J.A., Slewa, A. and Kørner, H. (2009) Lymph Node Harvest in Colon Cancer: Influence of Microsatellite Instability and Proximal Tumor Location. *World Journal of Surgery*, **33**, 2695-2703. <https://doi.org/10.1007/s00268-009-0255-4>
- [14] Kang, S., Na, Y., Joung, S.Y., Lee, S.I., Oh, S.C. and Min, B.W. (2018) The Significance of Microsatellite Instability in Colorectal Cancer after Controlling for Clinicopathological Factors. *Medicine*, **97**, e0019. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000010019>
- [15] Belt, E.J.T., te Velde, E.A., Krijgsman, O., et al. (2012) High Lymph Node Yield Is Related to Microsatellite Instability in Colon Cancer. *Annals of Surgical Oncology*, **19**, 1222-1230. <https://doi.org/10.1245/s10434-011-2091-7>
- [16] 张冬生, 封益飞, 王勇, 等. 微卫星不稳定状态与结直肠癌患者临床病理特征的相关性研究[J]. 中华结直肠疾病电子杂志, 2021, 10(2): 132-136.
- [17] Yarchoan, M., Xing, D., Luan, L., et al. (2017) Characterization of the Immune Microenvironment in Hepatocellular Carcinoma. *Clinical Cancer Research*, **23**, 7333-7339. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-0950>
- [18] He, Y., Yu, H., Rozeboom, L., et al. (2017) LAG-3 Protein Expression in Non-Small Cell Lung Cancer and Its Relationship with PD-1/PD-L1 and Tumor-Infiltrating Lymphocytes. *Journal of Thoracic Oncology*, **12**, 814-823. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2017.01.019>
- [19] Goding, S.R., Wilson, K.A., Xie, Y., et al. (2013) Restoring Immune Function of Tumorspecific CD4⁺ T Cells during Recurrence of Melanoma. *The Journal of Immunology*, **190**, 4899-4909. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1300271>
- [20] Sharma, P. and Allison, J.P. (2015) Immune Checkpoint Targeting in Cancer Therapy: Toward Combination Strategies with Curative Potential. *Cell*, **161**, 205-214. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.03.030>
- [21] Wang, J., Sanmamed, M.F., Datar, I., et al. (2019) Fibrinogen-Like Protein 1 Is a Major Immune Inhibitory Ligand of LAG-3. *Cell*, **176**, 334-347. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.11.010>
- [22] Jin, H., Kang, G.Y., Jeon, S., et al. (2019) Identification of Molecular Signatures Involved in Radiation-Induced Lung Fibrosis. *Journal of Molecular Medicine*, **97**, 37-47. <https://doi.org/10.1007/s00109-018-1715-9>
- [23] Cemerski, S., Zhao, S., Chenard, M., et al. (2015) T Cell Activation and Anti-Tumor Efficacy of Anti-LAG-3 Antibodies Is Independent of LAG-3-MHCII Blocking Capacity. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, **183**, 435-442. <https://doi.org/10.1186/2051-1426-3-S2-P183>
- [24] 王秋亚, 高锦红. 染料木素结构修饰研究进展[J]. 广州化工, 2010, 38(11): 25-27.
- [25] Li, H.-Q., Ge, H.-M., Chen, Y.-X., et al. (2006) Synthesis and Cytotoxic Evaluation of a Series of Genistein Derivatives. *Chemistry & Biodiversity*, **3**, 463-472. <https://doi.org/10.1002/cbdv.200690049>
- [26] 陈传平, 陈乃东, 葛飞飞. 染料木素结构修饰及其抗氧化活性构效关系的研究[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(16): 7061-7063, 7071.
- [27] Papaj, K., Kasprzycka, A., Góra, A., Grajoszek, A., Rzepecka, G., Stojko, J., Barski, J.-J., Szeja, W. and Rusin, A.

(2020) Structure-Bioavailability Relationship Study of Genistein Derivatives with Antiproliferative Activity on Human Cancer Cell. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **185**, Article ID: 113216.
<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113216>

[28] 袁瑛, 陈功. 新版结直肠癌指南更新要点及解读[C]//中国临床肿瘤学会. 2022 CSCO 指南会: 2022 年卷. 2022.