

临床研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.002698

皮肤黑色素瘤免疫细胞浸润模式及其与预后的相关性分析

孟 燕¹, 蒋明东², 张献全¹

(1. 重庆医科大学附属第二医院肿瘤科, 重庆 400010; 2. 重庆市第九人民医院肿瘤血液科, 重庆 400799)

【摘要】目的:研究皮肤黑色素瘤的免疫细胞浸润模式,以及免疫细胞浸润与患者预后的关系。**方法:**从癌症基因组图谱(the cancer genome atlas, TCGA)数据库下载皮肤黑色素瘤转录本数据及相关临床数据,使用 Cibersort 软件的反卷积法计算 22 种免疫细胞的占比,采用 R 编程语言计算免疫细胞占比与性别的相关性,采用 K-M 生存分析 log-rank 法计算每种免疫细胞占比与总生存期(overall survival, OS)的相关性。**结果:**从 TCGA 数据库中得到 472 例基因转录本数据,包含黑色素瘤组织 470 例,正常皮肤组织 2 例。每个样本检测基因位点 60 483 个,提取 mRNA 19 658 个。数据校正后使用 Cibersort 软件的反卷积法得到 22 种免疫细胞的占比数据,采用 $P < 0.05$ 筛选样本,得到黑色素瘤组织 219 例,正常组织 1 例。M0 巨噬细胞、CD8⁺ T 细胞、M2 巨噬细胞在黑色素瘤中浸润水平较高;CD8⁺ T 细胞与 M0 巨噬细胞(-0.62)、未活化的记忆性 CD4⁺ T 细胞与 CD8⁺ T 细胞(-0.53)的占比相关性较强;K-M 生存分析显示未活化的肥大细胞($P=0.015$)、未活化的 NK 细胞($P=0.025$)组成比例高者患者预后差, $\gamma\delta$ T 细胞($P=0.043$)组成比例高者预后更好。女性黑色素瘤患者中未活化的肥大细胞占比较男性黑色素瘤患者少($P=0.028$)。**结论:**皮肤黑色素瘤中浸润的免疫细胞组成存在差异,浸润的免疫细胞可能是决定预后的重要因素。这有助于开发有效的免疫疗法。

【关键词】黑色素瘤;免疫细胞浸润;预后**【中图分类号】**R739.5**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2019-12-20

Infiltration patterns of immune cells in cutaneous melanoma and its correlation with prognosis

Meng Yan¹, Jiang Mingdong², Zhang Xianquan¹

(1. Department of Oncology, The Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University;

2. Department of Oncology and Hematology, Chongqing Ninth People's Hospital)

【Abstract】Objective: To study the infiltration patterns of immune cells in cutaneous melanoma and to explore the relationship between immune cells infiltration and clinical prognosis. **Methods:** Transcripts and related clinical data of cutaneous melanoma were downloaded from the cancer genome atlas (TCGA) database. The proportion of 22 kinds of immune cells were calculated by deconvolution method with Cibersort software. The correlation between immune cells proportion and gender was calculated by R programming language, and K-M survival analysis with log-rank method was used to determine the correlation between each kind of immune cells and overall survival (OS). **Results:** A total of 472 gene transcripts were obtained from the TCGA database, including 470 cases of cutaneous melanoma and 2 cases of normal tissues. Each sample detected 60,483 genetic loci and extracted 19,658 mRNAs. After data correction, the proportion of 22 kinds of immune cells was obtained by deconvolution method with Cibersort software. Totally 219 cases of cutaneous melanoma and 1 case of normal skin tissue were obtained by screening samples with the criteria $P < 0.05$. M0 macrophages, CD8⁺ T cells, and M2 macrophages were the types of immune cells with higher levels of infiltration in melanoma tissues. The strongly correlated immune cells included CD8⁺ T cells and M0 macrophages (-0.62), and inactivated CD4⁺ T cells and CD8⁺ T cells (-0.53). K-M survival analysis showed that patients with the higher proportion of inactivated mast cells ($P=0.015$) and inactivated NK cells ($P=0.025$) had worse prognosis, and patients with the higher proportion of $\gamma\delta$ T cells ($P=0.043$) had better prognosis. The proportion of inactive mast cells in female with melanoma was less than that in male ($P=0.028$). **Conclusion:** There are differences in the composition of infiltrated immune cells in cutaneous melanoma. These cells are likely to be important determinants of

prognosis, which helps us develop effective immunotherapy.

【Key words】melanoma; immune cells infiltration; prognosis

作者介绍: 孟 燕, Email: 1414655105@qq.com,

研究方向: 恶性肿瘤诊断与治疗。

通信作者: 张献全, Email: xqzhng@126.com。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20201112.1729.002.html>

(2020-11-13)

皮肤黑色素瘤是一种来源于黑素细胞的高度恶性肿瘤。其发病率低,容易早期转移,死亡率极高。2018 年全球统计显示,每年黑色素瘤新发病例 287 723 例,死亡人数 60 712 例^[1]。我国黑色素瘤的发病率及死亡率逐年增长^[2]。传统达卡巴嗪、干扰素等治疗效果欠佳。近年来,免疫检查点抑制剂、过继性细胞治疗、肿瘤细胞疫苗等方法在临床试验中取得成功,为黑色素瘤患者带来新的希望。肿瘤浸润免疫细胞在黑色素瘤免疫治疗中发挥重要作用,其组成及分布特点也成为研究热点。既往针对免疫细胞组成的研究多是通过流式细胞术或免疫组化完成。流式细胞术需要将组织分解成单细胞悬液,过程中可能导致重要样本丢失,且其步骤较多,操作条件较高,都可能影响分析结果;免疫组化则易受到抗体孵育时间、抗体浓度等因素的影响。Cibersort 软件是利用反卷积算法从复杂组织的基因表达谱中预测免疫细胞组成的方法,已经在非小细胞肺癌和淋巴瘤中通过与流式细胞术结果对比得到验证^[3]。本研究从癌症基因组图谱(the cancer genome atlas,TCGA)获得黑色素瘤的基因表达数据,通过 Cibersort 软件、R 语言和 Perl 语言计算黑色素瘤及正常组织样本中各种免疫细胞组成,并分析其与黑色素瘤预后的相关性。

1 材料与方法

1.1 下载数据

从 TCGA 数据库下载皮肤黑色素瘤的基因表达数据共计 472 例,包括黑色素瘤组织 470 例,正常皮肤组织样本 2 例。其中,每个样本检测基因位点 60 483 个,提取 mRNA 19 658 个。同时下载黑色素瘤样本的临床数据,包括年龄、性别、生存时间、生存状态、肿瘤分期、TNM 分期。

1.2 评估黑色素瘤中免疫细胞的构成

从 472 例黑色素瘤及正常组织的基因表达数据中提取 mRNA 表达数据,用 R 软件 limma 包进行数据校正,使用 Cibersort 软件及 Perl 语言评估每个样本中 22 种免疫细胞的占比。这些免疫细胞包括:幼稚 B 淋巴细胞、记忆性 B 细胞、浆细胞、单核细胞、M1 巨噬细胞、M2 巨噬细胞、M0 巨噬细胞、滤泡辅助性 T 淋巴细胞、未活化的 CD4⁺ 记忆性 T 淋巴细胞、活化的 CD4⁺ 记忆性 T 淋巴细胞、 $\gamma\delta$ T 淋巴细胞、CD8⁺T 淋巴细胞、调节性 T 淋巴细胞、幼稚 CD4⁺T 淋巴细胞、未活化的自然杀伤细胞、活化的自然杀伤细胞、未活化的肥大细胞、活化的肥大细胞、静息态树突状细胞、活化的树突状细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞。根据 $P<0.05$ 筛选样本。

1.3 计算免疫细胞的构成比与生存时间的相关性分析

使用 R 编程语言,将每种免疫细胞在所有样品中的构成比进行排序,按照中位值分组,免疫细胞占比高的样本分为

高浸润组,免疫细胞占比低的样本分为低浸润组,用 K-M 生存分析法评估免疫细胞的浸润程度与生存时间的相关性。

2 结果

2.1 皮肤黑色素瘤的临床样本信息

从 TCGA 数据库下载皮肤黑色素瘤样本的临床病理信息 470 例,具体见表 1。

表 1 黑色素瘤样本的病理特征

变量	例数	百分比/%
年龄/岁		
< 60	241	51.3
≥ 60	221	47.0
未知	8	1.7
性别		
男	290	62
女	180	38
肿瘤分期		
0 期	7	1.5
I 期	77	16.4
II 期	140	29.8
I / II 分期不明	14	3.0
III 期	171	36.4
IV 期	23	4.9
未知分期	38	8.1
淋巴结转移		
是	235	50.0
否	178	37.9
未知	57	12.1

2.2 黑色素瘤中免疫细胞浸润情况

从 TCGA 数据库共获得 472 例基因转录本数据,包含黑色素瘤组织 470 例,正常皮肤组织 2 例。用 Cibersort 软件及 Perl 语言筛选 $P<0.05$ 的样本,得到黑色素瘤组织 219 例,正常组织 1 例,利用 R 软件绘制如下图形:①黑色素瘤及正常的皮肤组织中免疫细胞的占比柱状图(图 1),分析所有样本中 22 种免疫细胞的相对占比,并绘图,可见 M0 巨噬细胞、CD8⁺ T 细胞、M2 巨噬细胞在样本中分布比例较大;②黑色素瘤及正常组织中免疫细胞占比小提琴图(图 2),分析所有样本中 22 种免疫细胞的占比,并比较该免疫细胞在黑色素瘤组织及正常组织中的占比是否存在差异,结果显示 M0 巨噬细胞、CD8⁺ T 细胞、M2 巨噬细胞在样本中分布比例较大,但所有免疫细胞在肿瘤组织及正常组织中差异均无统计学意义(均 $P>0.05$);③黑色素瘤及正常组织中免疫细胞分布热图(图 3),分析 22 种免疫细胞在所有样本中的占比,并用颜色深浅代表浸润程度,可见肿瘤组织及正常组织中的分布最密集的免疫细胞包括 M0 巨噬细胞、CD8⁺T 细胞、M2 巨噬细胞,分布较稀疏的免疫细胞包括活化的肥大细胞、中性粒细胞、活化的树突状细胞、嗜酸性细胞、幼稚 CD4⁺ T 细胞等;④黑色素瘤组织中免疫细胞占比相关图(图 4),计算 22 种免疫细胞占比的相关系数,用颜色深浅代表相关性的强弱性,正相关系数较大的免疫细胞为中性粒细胞与活化的肥大

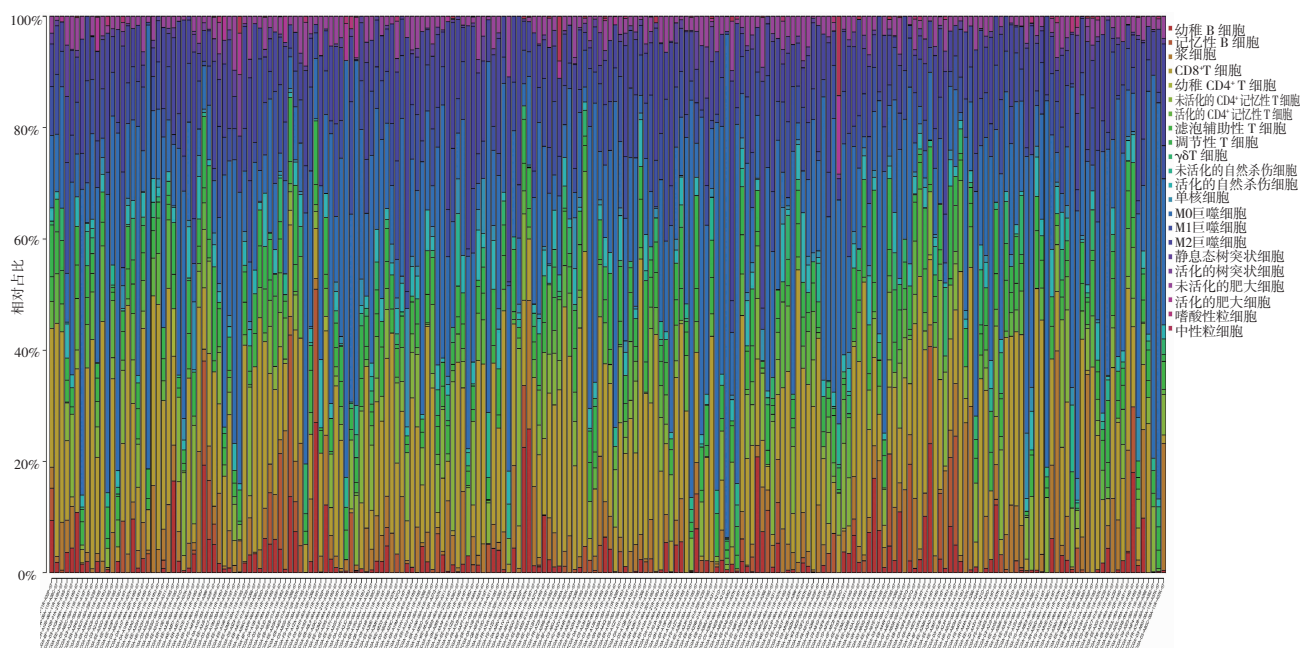


图 1 黑色素瘤及正常的皮肤组织中免疫细胞的占比柱状图

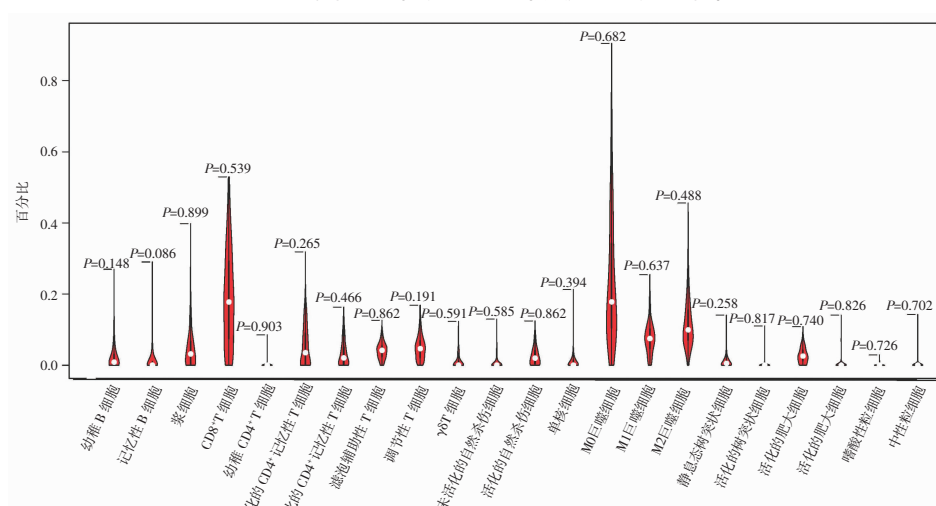
注:分析 22 种免疫细胞在黑色素瘤组织及正常组织中的占比, P 值均大于 0.05

图 2 黑色素瘤与正常皮肤样本中免疫细胞占比小提琴图

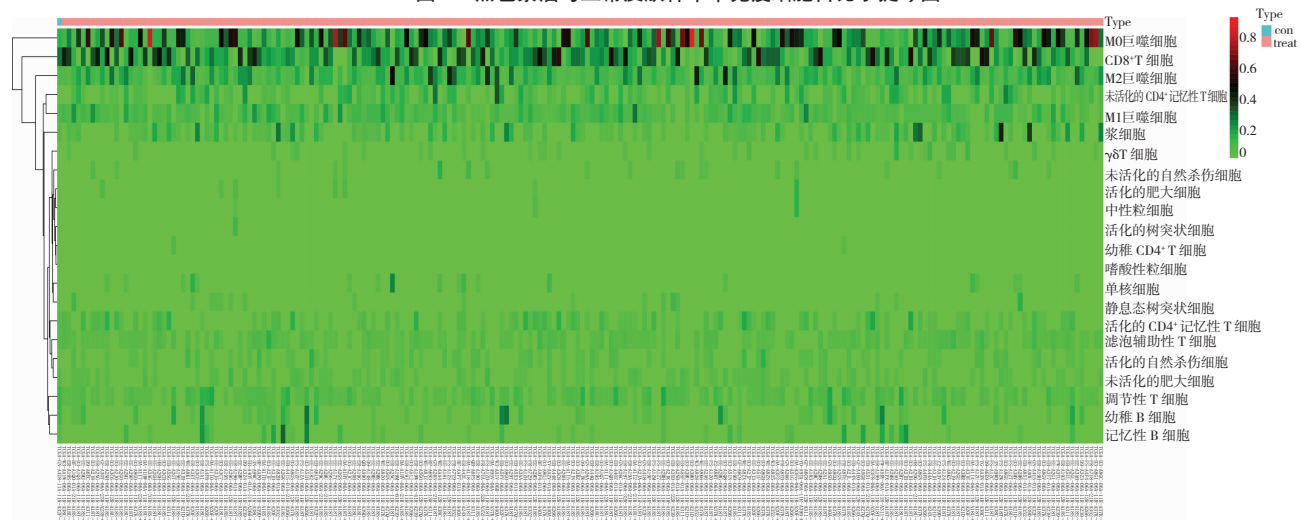


图 3 黑色素瘤及正常组织中免疫细胞分布热图

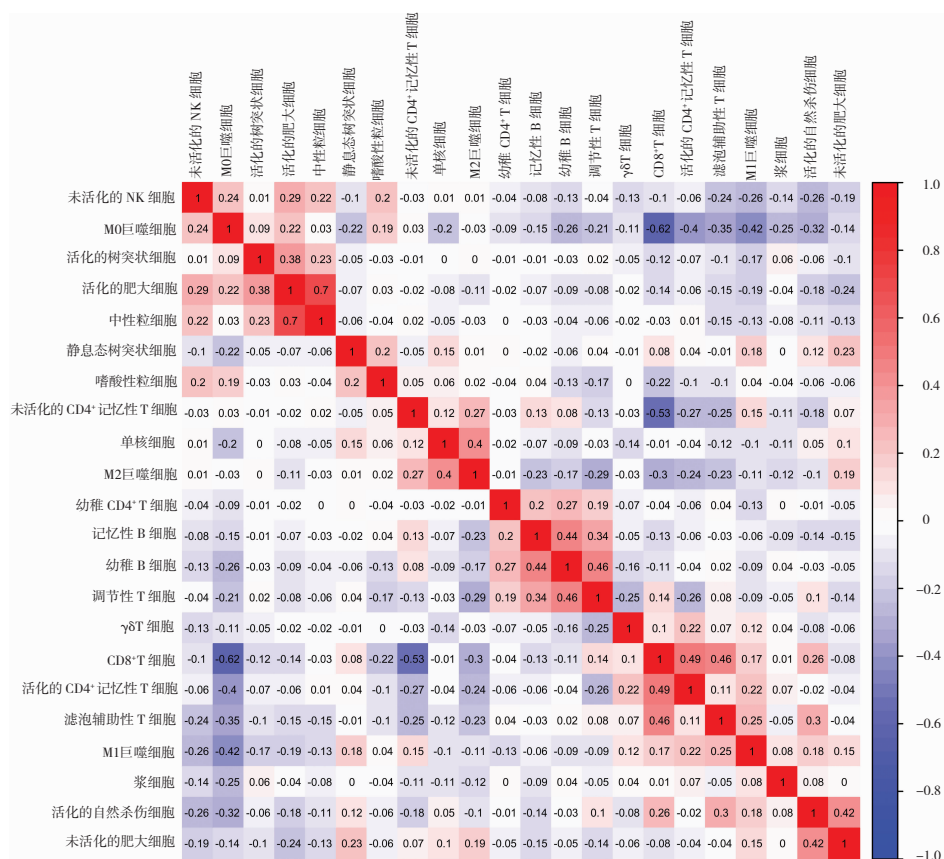


图 4 黑色素瘤组织中每种免疫细胞占比相关图

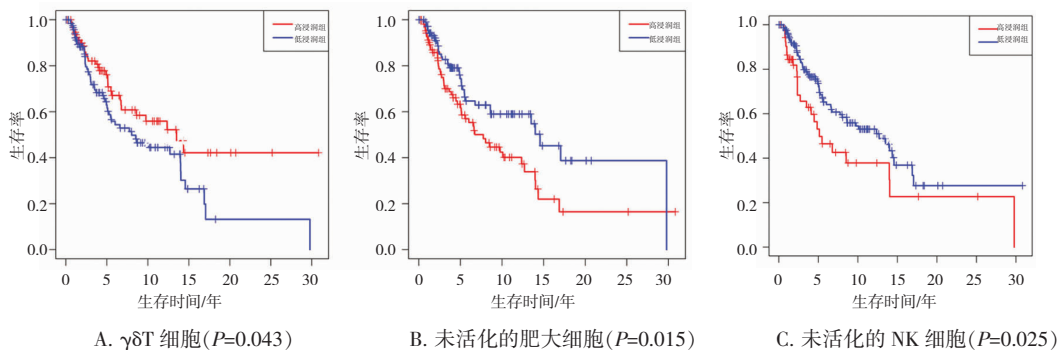


图 5 免疫细胞构成水平的 K-M 生存曲线

细胞(+0.7),负相关系数较大的免疫细胞包括 CD8⁺ T 细胞和 M0 巨噬细胞(-0.62)、未活化的记忆 CD4⁺ T 细胞和 CD8⁺ T 细胞(-0.53)。

2.3 黑色素瘤免疫细胞类型与生存时间及性别的关系

利用 R 软件,根据黑色素瘤样本中免疫细胞占比,将样本分为高、低浸润组,采用 K-M 分析方法估算每种免疫细胞的浸润程度与预后的相关性。结果如图 5 所示,与黑色素瘤预后分析有统计学意义的免疫细胞为未活化的肥大细胞 ($P=0.015$)、未活化的 NK 细胞 ($P=0.025$)、 $\gamma\delta$ T 细胞 ($P=0.043$)。在黑色素瘤组织中,未活化的肥大细胞及未活化的 NK 细胞占比越高,生存时间越短, $\gamma\delta$ T 细胞占比越高则生存时间越长,其余免疫细胞占比高低与预后之间无统计学差异(均 $P>0.05$)。

不同性别黑色素瘤患者的免疫细胞类型存在差异。结果如图 6 所示,黑色素瘤样本中浸润的未活化肥大细胞在女性中占比较男性少,差异具有统计学意义 ($P=0.028$),其余 21 种免疫细胞均未发现有统计学差异。

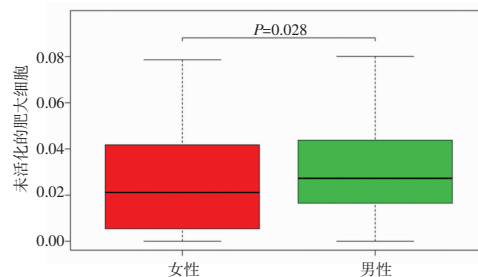


图 6 黑色素瘤免疫细胞占比与性别的关系

3 讨论

本研究从 TCGA 数据库中下载基因表达数据,利用 Cibersort 软件计算黑色素瘤组织及正常皮肤组织中浸润的免疫细胞占比,探讨皮肤黑色素瘤中每种免疫细胞的分布特点,再分析 22 种免疫细胞的表达谱。根据每种免疫细胞的表达特征,可以在复杂组织中区分这些免疫细胞的类型,最后通过复杂组织表达谱估计免疫细胞亚群的相对比例。

免疫细胞在不同的微环境中发挥不同的作用。血液循环中成熟的单核细胞进入组织后成为巨噬细胞,初始型巨噬细胞(M0)可以根据不同的环境刺激进一步分化为 M1 型巨噬细胞(经典激活的巨噬细胞)或 M2 型巨噬细胞(替代激活巨噬细胞)。其中 M1 型巨噬细胞促进 Th1 细胞进行免疫反应,与感染或肿瘤患者良好的预后相关;M2 型巨噬细胞则参与受损组织的修复,促进肿瘤的生长^[4]。渗透到肿瘤微环境中的巨噬细胞被称为肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAM),经微环境中不同因子的募集和极化,进一步在肿瘤发展中起重要作用^[5]。有研究显示,TAM 表达程序性细胞死亡 1(programmed cell death 1, PD-1),PD-1 的表达随时间及疾病进展而增加^[6]。TAM 表达 PD-1 与抗肿瘤细胞的吞噬能力呈负相关,阻断 PD-1/PD-L1 会增加巨噬细胞的吞噬作用,减慢肿瘤的生长,并在小鼠癌症模型中发现以巨噬细胞依赖的方式延长小鼠存活时间。这表明抑制免疫检查点也可能通过对巨噬细胞的直接作用而起作用。本研究数据分析结果显示,M0 巨噬细胞、M2 巨噬细胞占比较高,提示巨噬细胞在黑色素瘤的发展中发挥重要作用,提示在以后的研究中可以着眼于改变 M0 巨噬细胞的分化方向,通过减少 M2 型巨噬细胞的产生,进而弱化免疫抑制微环境。同时,研究如何去除黑色素瘤微环境中 TAM 细胞等免疫抑制性细胞的作用以提高其他抗免疫治疗在抗肿瘤治疗中的优势。本研究中,黑色素瘤与正常皮肤组织样本并未发现有统计学差异的免疫细胞,这可能是由于样本量的局限所导致。本研究中仅 2 例正常组织,经筛选后可供分析的正常组织仅 1 例,这可能影响数据分析结果。研究中可以通过增加肿瘤组织及正常组织的样本量、增加正常组织的比例来减少研究误差,提高数据分析结果的准确性。

未活化的记忆性 CD4⁺ T 细胞与 CD8⁺ T 细胞的负相关系数较大,提示 2 种细胞可能相互抑制。既

往有研究提出,未活化的记忆性 CD4⁺ T 淋巴细胞作为 T 细胞的一个亚群,可以进一步分化并具有多种功能,包括抑制 CD8⁺ T 淋巴细胞的活化^[7-9],这与本研究结果相符合。中性粒细胞与活化的肥大细胞在黑色素瘤组织中正相关性最强,暗示在黑色素瘤中这 2 种免疫细胞可能存在相互辅助作用。既往有研究提出,肥大细胞可以通过趋化因子、黏附分子共同作用募集中性粒细胞^[10-11]。未来的研究中需要进一步关注免疫细胞的相互作用,利用这些潜在的相关性发挥抗感染、抗肿瘤的目的。

皮肤中 $\gamma\delta$ T 细胞通过平衡角质形成细胞的分化和增殖,清除被感染或恶变的细胞来维持皮肤稳态^[12]。活化的 $\gamma\delta$ T 细胞利用死亡受体/配体(如 Fas/Fas-L)依赖性途径和穿孔素/粒酶或颗粒溶素依赖性途径对多种肿瘤细胞表现出细胞毒性作用,也可以分泌各种细胞因子和趋化因子,发挥抗肿瘤作用^[13]。本研究结果显示, $\gamma\delta$ T 细胞组成比例高者预后更好,提示 $\gamma\delta$ T 细胞在黑色素瘤治疗中的重要作用,且 $\gamma\delta$ T 细胞无 MHC 限制性,可能成为过继性细胞治疗、细胞疫苗等方法的潜在靶点,这需要更多研究共同探索提高黑色素瘤中 $\gamma\delta$ T 细胞浸润、增强 $\gamma\delta$ T 细胞抗肿瘤效应的方法。

未活化的 NK 细胞需要经过激活和触发 2 个过程才能形成活化的 NK 细胞^[14],通过抗体依赖细胞介导的细胞毒作用与自然杀伤毒性发挥抗肿瘤作用,活化的 NK 细胞通过分泌 γ 干扰素(interferon- γ , IFN- γ)和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等细胞因子增强免疫。本研究结果显示,未活化的 NK 细胞组成比例越高,患者预后越差。这暗示未活化的 NK 细胞如果不能被激活和触发成为活化的 NK 细胞,则可能影响其抗肿瘤的能力。未来需要更多的关于未活化的 NK 细胞激活和触发机制的研究,以期发挥 NK 细胞的抗肿瘤作用。

肥大细胞广泛分布于皮肤及黏膜下的微血管周围,在组织的慢性炎症中发挥重要作用,可通过促进微血管生成使黑色素瘤进展,且肥大细胞数量越多,提示患者预后越差^[15]。另有研究显示,肥大细胞对恶性黑色素瘤的进展具有抑制作用^[16]。本研究结果则提示未活化的肥大细胞占比越多,预后越差。肥大细胞在黑色素瘤中的具体作用是不明确的。这需要更多的研究来说明肥大细胞与肿瘤微环境的关系,以及肥大细胞在皮肤恶性黑色素瘤中的具体作用及作用机制。本研究发现黑色素瘤中浸润的未活化肥大细胞具有男女分布差异,这可能是由于肥大细胞表面具有雌激素及雄激素受体,刺激雌激素

受体可降低肥大细胞的增殖^[17]。

既往也有许多关于免疫细胞与黑色素瘤预后的研究。黑色素瘤组织及周围正常皮肤组织中淋巴细胞比例增高,患者的无病生存期可能延长,这有可能成为皮肤黑色素瘤的有效预后因素^[18]。众所周知,黑色素瘤中活化的 CD8⁺T 淋巴细胞浸润可能与患者较好的预后相关^[19],但肿瘤免疫抑制微环境可通过免疫检查点抑制 CD8⁺T 的抗肿瘤作用。目前,利用针对 PD-1 蛋白的免疫检查点抑制剂 (immune checkpoint inhibitor, ICI) 可以逆转受抑制的 CD8⁺T 淋巴细胞,已显著改善恶性黑色素瘤患者的预后,但只有部分患者对 ICI 有效。有研究显示,肿瘤内缺乏 CD8⁺T 细胞浸润者可能对 PD-1 抑制剂无反应^[20]。因此,如何提高肿瘤内 CD8⁺T 细胞浸润水平成为新的研究目标。Ribas A 等^[21]发现,利用溶瘤病毒可以提高黑色素瘤内 T 淋巴细胞的浸润,并增强 PD-1 抑制剂的抗肿瘤作用,这可能成为恶性皮肤黑色素瘤新的治疗策略。本研究未发现上述免疫细胞与肿瘤预后统计学关联,同时每种免疫细胞与黑色素瘤的分期也未发现有统计学意义,这可能受限于原始标本采集和录入、下载样本总量、肿瘤组织与正常组织的比例等因素,未来需要更多且更准确的病理与临床信息,也期待更科学的研究方法。

黑色素瘤因其高突变负荷,被认为是最具有免疫原性的肿瘤之一,并有大量的免疫细胞浸润。免疫细胞浸润是机体重要的保护机制,形成了过继性细胞疗法、细胞疫苗在癌症治疗中的基础。本研究利用 Cibersort 软件推测皮肤黑色素瘤的免疫细胞浸润模式及其预后价值,为黑色素瘤免疫疗法的进展提供新的线索,有利于推动该领域的进展。

参 考 文 献

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394–424.
- [2] 刘杰, 朱丽萍, 杨旭丽, 等. 2014 年中国皮肤黑色素瘤发病与死亡分析[J]. 中国肿瘤, 2018, 27(4): 241–245.
- [3] Newman AM, Liu CL, Green MR, et al. Robust enumeration of cell subsets from tissue expression profiles[J]. Nat Methods, 2015, 12(5): 453–457.
- [4] Sica A, Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization; *in vivo* veritas[J]. J Clin Invest, 2012, 122(3): 787–795.
- [5] Zhu J, Zhi Q, Zhou BP, et al. The role of tumor associated macrophages in the tumor microenvironment: mechanism and functions[J]. Anticancer Agents Med Chem, 2016, 16(9): 1133–1141.
- [6] Gordon SR, Maute RL, Dulken BW, et al. PD-1 expression by tumour-associated macrophages inhibits phagocytosis and tumour immunity[J]. Nature, 2017, 545(7655): 495–499.
- [7] Crouse J, Xu HC, Lang PA, et al. NK cells regulating T cell responses: mechanisms and outcome[J]. Trends Immunol, 2015, 36(1): 49–58.
- [8] Rosenberg J, Huang J. CD8⁺ T cells and NK cells: parallel and complementary soldiers of immunotherapy[J]. Curr Opin Chem Eng, 2018, 19: 9–20.
- [9] Crouse J, Xu HC, Lang PA, et al. NK cells regulating T cell responses: mechanisms and outcome[J]. Trends Immunol, 2015, 36(1): 49–58.
- [10] Schramm R, Schaefer T, Menger MD, et al. Acute mast cell-dependent neutrophil recruitment in the skin is mediated by KC and LFA-1: inhibitory mechanisms of dexamethasone[J]. J Leukoc Biol, 2002, 72(6): 1122–1132.
- [11] Schramm R, Thorlacius H. Neutrophil recruitment in mast cell-dependent inflammation: inhibitory mechanisms of glucocorticoids[J]. Inflamm Res, 2004, 53(12): 644–652.
- [12] Cruz MS, Diamond A, Russell A, et al. Human $\alpha\beta$ and $\gamma\delta$ T cells in skin immunity and disease[J]. Front Immunol, 2018, 9: 1304.
- [13] Wu YL, Ding YP, Tanaka Y, et al. $\gamma\delta$ T cells and their potential for immunotherapy[J]. Int J Biol Sci, 2014, 10(2): 119–135.
- [14] Bryceon YT, March ME, Ljunggren HG, et al. Synergy among receptors on resting NK cells for the activation of natural cytotoxicity and cytokine secretion[J]. Blood, 2006, 107(1): 159–166.
- [15] Ribatti D, Ennas MG, Vacca A, et al. Tumor vascularity and tryptase-positive mast cells correlate with a poor prognosis in melanoma[J]. Eur J Clin Invest, 2003, 33(5): 420–425.
- [16] Rajabi P, Bagheri A, Hani M. Intratumoral and peritumoral mast cells in malignant melanoma: an immunohistochemical study[J]. Adv Biomed Res, 2017, 6: 39.
- [17] Zhang J, Knapton A, Lipshultz SE, et al. Sex-related differences in mast cell activity and doxorubicin toxicity: a study in spontaneously hypertensive rats[J]. Toxicol Pathol, 2014, 42(2): 361–375.
- [18] Park CK, Kim SK. Clinicopathological significance of intratumoral and peritumoral lymphocytes and lymphocyte score based on the histologic subtypes of cutaneous melanoma[J]. Oncotarget, 2017, 8(9): 14759–14769.
- [19] Ladányi A, Somlai B, Gilde K, et al. T-cell activation marker expression on tumor-infiltrating lymphocytes as prognostic factor in cutaneous malignant melanoma[J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(2): 521–530.
- [20] Tumeh PC, Harview CL, Yearley JH, et al. PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance[J]. Nature, 2014, 515(7528): 568–571.
- [21] Ribas A, Dummer R, Puzanov I, et al. Oncolytic virotherapy promotes intratumoral T cell infiltration and improves anti-PD-1 immunotherapy[J]. Cell, 2017, 170(6): 1109–1119.e10.

(责任编辑:唐秋姗)