

本文引文格式:张博超,浦春,胡蝶,等. 肝细胞癌基因组学免疫分型的鉴定及临床意义[J].  
右江民族医学院学报,2022,44(4):571-578,597.

【论著与临床报道】

## 肝细胞癌基因组学免疫分型的鉴定及临床意义

张博超<sup>1</sup>,浦春<sup>1,2</sup>,胡蝶<sup>1</sup>,张艳珍<sup>1</sup>,朱萍<sup>1</sup>

(1. 皖南医学院第一附属医院检验科,安徽 芜湖 241001;  
2. 皖南医学院检验学院,安徽 芜湖 241002)

**摘要:**目的 基于基因组学分析建立肝细胞癌免疫分型,并进一步探索其临床应用价值。方法 分别从 GEO 和 TCGA 收集基因表达谱和相应的临床信息。cBioPortal 用于可视化和比较基因改变。一致性聚类分析用于确定免疫亚型。结果 肝细胞癌患者被分为两种免疫亚型,具有不同的分子、细胞和临床特征。C1 肿瘤患者的生存率低于 C2 肿瘤患者。此外,C1 免疫亚型中观察到免疫检查点基因和 HLA 的高表达。结论 肝细胞癌免疫分型能够判断患者的预后,C1 型患者的预后较差,并具有较差的免疫原性和抗肿瘤活性。

**关键词:**肝肿瘤;基因组学;免疫亚型;预后;免疫检查点基因

**中图分类号:**R735.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-5817(2022)04-0571-09

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2022.04.019

### Identification and clinical significance of genomic immunotyping in hepatocellular carcinoma

Zhang Bochao<sup>1</sup>, Pu Chun<sup>1,2</sup>, Hu Die<sup>1</sup>, Zhang Yanzhen<sup>1</sup>, Zhu Ping<sup>1</sup>

(1. Department of Medical Laboratory, The First Affiliated Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, Anhui, China; 2. School of Medical Laboratory, Wannan Medical College, Wuhu 241002, Anhui, China)

**Abstract:** **Objective** To establish the immunotyping of hepatocellular carcinoma based on genomic analysis and to further explore its clinical value. **Methods** Gene expression profiles and corresponding clinical information were collected from GEO and TCGA, respectively. cBioPortal was used to visualize the profiles and to compare genetic alterations. Consensus clustering analysis was performed to identify the immune subtypes.

**Results** Patients with hepatocellular carcinoma were divided into two immune subtypes with different molecular, cellular and clinical characteristics. The survival rate of patients with C1 tumor was lower than that of patients with C2 tumor. In addition, the high expression of immune checkpoints and HLA was found in C1 immune subtype. **Conclusion** Hepatocellular carcinoma immunotyping can predict the prognosis of patients. C1 patients have a poor prognosis as well as low immunogenicity and antitumor activity.

**Key words:** liver tumor; genomics; immune subtype; prognosis; immune checkpoint gene

肝癌是世界上第六大癌症,在病情发现时已到中晚期,因此死亡率较高<sup>[1]</sup>。据估计,2012 年度死亡人数已达到 70 万<sup>[2]</sup>。肝细胞癌(HCC)占有原发性肝癌的 90%,由肝脏的慢性炎症引起,是一种典型的免疫原性癌症<sup>[3]</sup>。免疫逃逸在肝癌发生发展中起到重要作用<sup>[4]</sup>。肝癌肿瘤微环境包括众多免疫抑制细胞,如

调节性 T 细胞、肿瘤相关巨噬细胞,可干扰免疫检测,进而导致肿瘤免疫逃逸<sup>[5-6]</sup>。近年来,免疫检查点抑制剂(ICI)疗法可以重新激活人体 T 淋巴细胞的相关调节信号,并恢复肿瘤患者的免疫系统,进而杀死肿瘤细胞,显著延长了患有不同实体瘤患者的预期寿命<sup>[7]</sup>。免疫检查点基因的高表达是预测 ICI 疗法的常用指

**第一作者简介:**张博超(1995—),男,在读硕士研究生,初级检验师,研究方向:肿瘤标志物方面研究,E-mail:1391489058@qq.com

**通讯作者简介:**浦春(1963—),男,硕士,教授,主任检验师,研究方向:免疫学和分子生物学方面研究,E-mail:philipcpcu@163.com

标,如存在高 T 细胞浸润、干扰素- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )信号、检查点基因(如 PD-1 和 PD-L1)表达或高肿瘤突变负荷(TML)可能有利于治疗反应<sup>[8-10]</sup>。但是,关于免疫亚型的分类及基于免疫检查点基因找出最佳疗效的证据却很少。

癌症基因组图谱(TCGA)是一个大型的癌症研究参考数据库,收集整理了癌症相关的各种组学数据。本研究通过 TCGA-HCC 的表达谱获取预后相关基因,并将 HCC 样本分为两个亚型,随后对来自两个外部验证集数据库的肝细胞癌样本的数据集进行了独立验证。结合肿瘤突变负荷、药物敏感性和免疫治疗等多组学数据,进一步研究每个免疫表型的潜在免疫逃逸机制,以及哪些基因组改变可能导致这些不同表型的形成。研究发现这两种免疫亚型具有不同的细胞、分子和临床特征,这可能为肿瘤学家提供有价值的信息。

## 1 材料和方法

1.1 数据获取 TCGA 数据库(<https://portal.gdc.cancer.gov/>)作为目前最大的癌症基因信息数据库,保存包括基因表达数据、miRNA 表达数据、拷贝数变异、DNA 甲基化、SNP 等。本课题组下载了已处理的 HCC 原始的 mRNA 表达数据,包括正常组( $n=50$ )和肿瘤组( $n=373$ )。癌症基因组学 cBioPortal(cBioPortal,<http://www.cbioportal.org>,v3.2.11 版)是一个开放访问的在线工具,集成了来自大规模基因组项目的原始数据,包括但不限于 TCGA 和国际癌症基因组联盟(ICGC)。从 NCBI GEO 公共数据库下载 GSE14520 的 Series Matrix File 数据文件,注释平台为 GPL3921,下载 221 例带有完整表达谱及生存信息的 HCC 患者数据。从 ICGC 数据库下载了 202 例带有完整表达谱及生存信息的 LIHC 患者数据,用于本次分析的免疫基因集(共包含 1 811 个免疫相关基因)通过 `import` 数据库获取。

1.2 免疫亚型的分类 对免疫相关基因的表达谱通过 NMF 包执行无监督 NMF 聚类,使用 R 软件包“`survival`”进行 Cox 回归分析,评估所有候选基因与总生存率(OS)的相关性。使用 NMF 包执行无监督 NMF 聚类方法,并使用相同的候选基因将该方法应用于两个外部验证集。选择相关系数开始下降的 k 值作为最佳聚类数。基于 T-SNE 的方法,利用上述免疫基因的 mRNA 表达数据验证亚型分配。

1.3 药物敏感性分析 基于最大的药物基因组学数据库(GDSC 癌症药物敏感性基因组学数据库,<https://www.cancerrxgene.org/>),使用 R 软件包“`pR-Rophetic`”来预测每个肿瘤样本的化疗敏感性;用回归的方法得到每种特定化疗药物治疗的 IC50 估计值,并

用 GDSC 训练集进行 10 次交叉验证检验回归和预测精度。所有参数都选择了默认值,包括去除批处理效应的“`combat`”以及取重复基因表达的平均值。

1.4 免疫细胞浸润分析 使用 CIBERSORT 算法对不同亚组的 HCC 患者 RNA-seq 数据进行分析,用来推断 22 种免疫浸润细胞的相对比例,并对基因表达量以及免疫细胞含量进行 Spearman 相关性分析, $P < 0.05$  被认为有统计学差异。

1.5 基因集差异分析 基因集变异分析(GSVA)是评估转录组基因集富集情况的一种非参数无监督方法。GSVA 通过对感兴趣的基因集合进行综合打分,将基因水平变化转变为通路水平变化,进而判断样本的生物学功能。本研究将从 Molecular signatures database 数据库(v7.0 版)下载基因集合,采用 GSVA 算法对每个基因集合进行综合打分,评估不同样本潜在的生物学功能变化。

1.6 WGCNA 分析 通过构建加权基因共表达网络,寻找协同表达的基因模块,并探索基因网络与表型之间的关联关系,以及网络中的核心基因。利用 WGCNA-R 包分别构建数据集中所有基因的共表达网络,筛选方差前 5 000 的基因用该算法进行筛选,以便进一步分析,其中软阈值为 3。将加权邻接矩阵转化为拓扑重叠度矩阵(TOM)来估计网络连接度,运用层次聚类的方法来构建 TOM 矩阵的聚类树结构。聚类树的不同分支代表不同的基因模块,不同颜色代表不同的模块。基于基因的加权相关系数,将基因按照表达模式进行分类,将模式相似的基因归为一个模块,将几万个基因通过基因表达模式被分成了多个模块。

1.7 基因本体论(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)功能注释 使用 `clusterProfiler` (R3.6)对关键基因进行功能注释,以全面探讨这些候选基因的功能相关性。GO 和 KEGG 被用来评估相关的功能类别。 $P$  值和  $q$  值均  $< 0.05$  的 GO 和 KEGG 富集通路被认为是显著性类别。

1.8 亚型 GSEA 分析 通过 R 包 GSVA 对 KEGG 通过做 GSEA 分析,最后挑选在亚型间显著性最高的前 50 个结果用于展示。其中基因集来自 MSigDB 数据库(<http://www.gsea-msigdb.org/gsea/downloads.jsp>)。

1.9 肿瘤免疫评估(Timer) tumor immune estimation resource (Timer, <https://cistrome.shinyapps.io/Timer/>)是一个全面的资源,用于系统分析不同癌症类型的免疫浸润。在这项研究中,使用 Timer 观察抗原提呈细胞(APC, antigen-presenting cell)浸润与已鉴定的有效抗原表达之间的关系。

1.10 统计学方法 采用 Cox 比例风险模型进行单

变量和多变量分析。所有统计分析均采用 R 语言 (version 3.6) 进行。所有统计检验均为双侧,  $P < 0.05$  具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 获取预后相关基因及免疫亚型分析 收集 HCC 患者的临床信息, 经 Cox 单因素回归 ( $P < 0.05$ ) 分析共筛选出 267 个预后相关基因, 通过 NMF 共识聚类法根据上述 267 个候选基因的表达谱对包含肝癌样本的 TCGA 数据集进行聚类, 综合考虑后最终选择  $k =$

2 作为最佳聚类数 (见图 1A)。当  $k = 2$  时, 通过 t-SNE 来减小特征的维数, 发现亚型间在很大程度上与二维 t-SNE 分布模式一致 (见图 1B)。在 TCGA 数据集中观察到显著的预后差异, 与 C1 相比, C2 具有更佳生存可能 (见图 1C)。此外, 两个验证集的亚型差异同样也观察到相似的差异, C1 的 OS 时间明显短于 C2 亚型 (见图 1D~1E)。分析了亚型的病理特征, 发现亚型与 HCC 患者的肿瘤分级和分期密切相关 ( $P < 0.05$ ), 见表 1。

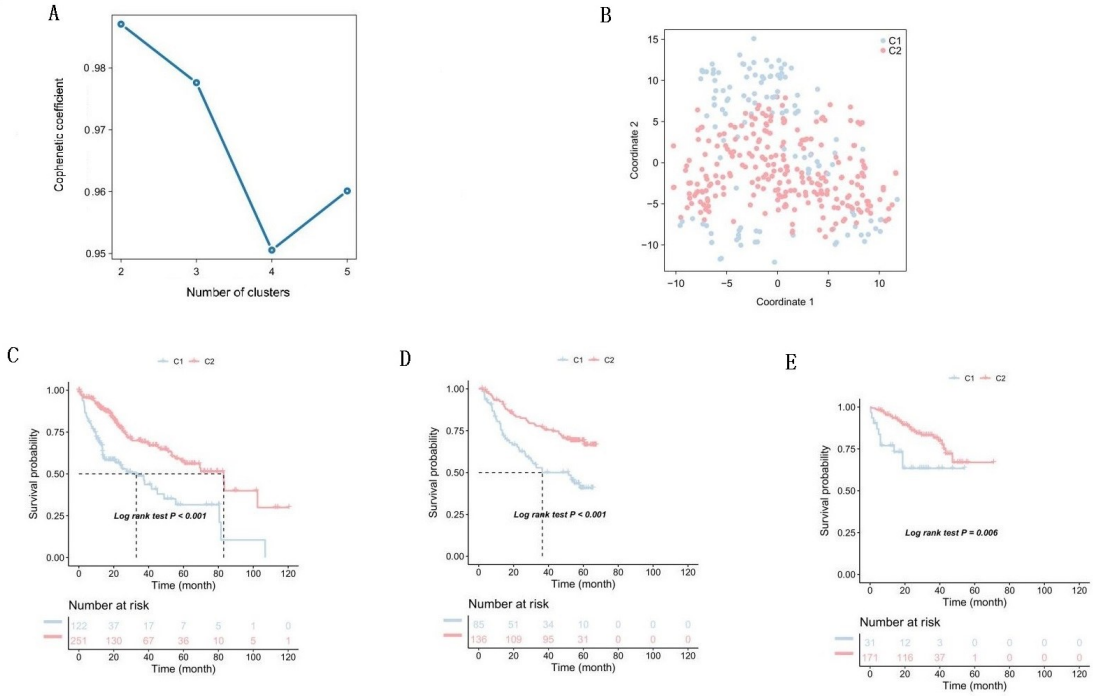


图 1 免疫亚型

表 1 肝癌患者亚型的临床病理特征

项目	C1 亚型	C2 亚型	P
例数	122	251	
年龄/岁	59.22±13.38	59.61±13.54	0.794
性别			0.080
男	75	177	
女	47	74	
分级			<0.001
G1	6	49	
G2	53	125	
G3	56	67	
G4	6	6	
未知	1	4	
stage 分期			0.002
I	42	131	
II	30	56	
III	42	43	
IV	1	2	
未知	7	17	

表 1(续) 肝癌患者亚型的临床病理特征

项目	C1 亚型	C2 亚型	P
TNM 分期			
T/%			0.001
T1	43	140	
T2	36	58	
T3	37	43	
T4	6	7	
TX	0	1	
未知	0	2	
M/%			0.593
M0	92	176	
M1	1	3	
MX	29	72	
N/%			0.295
N0	86	168	
N1	2	2	
NX	33	81	
未知	1	0	

2.2 亚型的免疫特征 分析发现 B cells memory、T cells CD4 memory activated、T cells CD4 memory resting、Macrophages M1、Neutrophils 等肿瘤微环境因子在亚型间存在显著性(见图 2A),C2 亚型免疫细胞浸润程度高于 C1 亚型。免疫检查点基因 CTLA-4

和 PD-L1 及人类白细胞抗原的表达在亚型间存在显著性(见图 2B~图 2D),C1 亚型的表达水平明显高于 C2 亚型,提示两个亚型之间的免疫调节通路的异常扰动是两组患者预后差异的潜在机制。

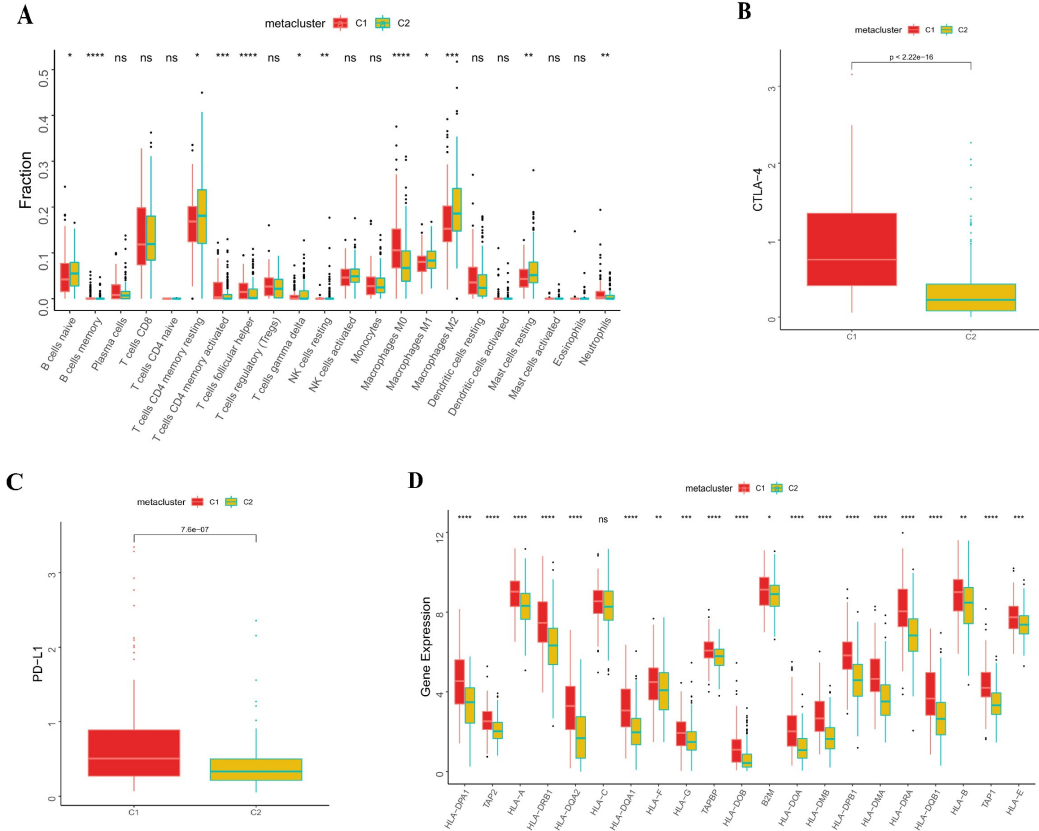


图 2 免疫特征

2.3 免疫亚型与常见化疗药物及免疫治疗的相关性 早期 HCC 手术结合化疗治疗效果明确。研究基于 GDSC 数据库的药物敏感性数据,通过 R 包“pRRophetic”来预测每个肿瘤样本的化疗敏感性,进一步探讨免疫亚型与常见化疗药物的敏感性。研究结果表明,免疫亚型与患者对 Bleomycin、Bosutinib、Cispla-

tin、Cytarabine、Docetaxel、Doxorubicin 的敏感性显著相关(见图 3A)。同时本研究进一步基于黑色素瘤免疫治疗的数据集,预测两个亚组对抗肿瘤免疫治疗的敏感性,结果显示, C1 亚组对免疫治疗更为敏感(见图 3B)。

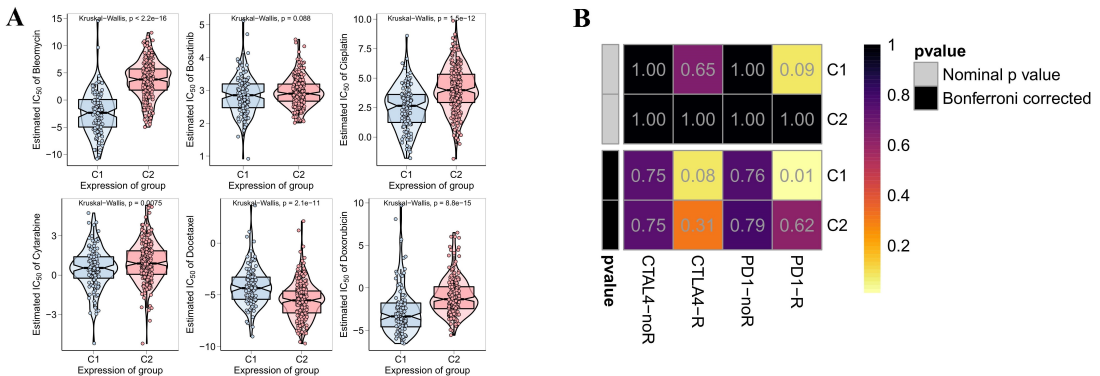


图 3 免疫亚型与常见化疗药物及免疫治疗的相关性

2.4 免疫亚型患者的突变图谱 结果表明,高风险组患者 TP53、CTNNB1、TTN 等多个基因的突变比例在

亚型间显著不同,其中 C1 亚型患者的 TP53 突变比例高于 C2 亚型,见图 4。

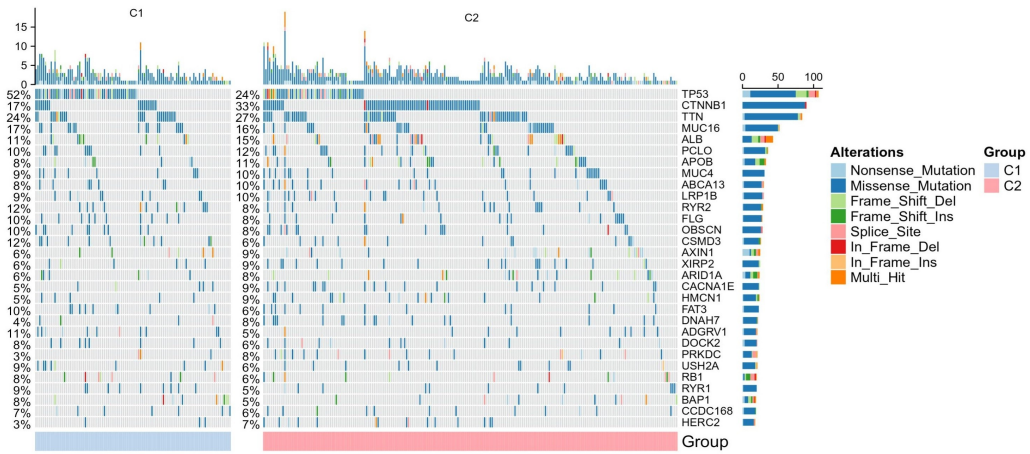


图 4 亚型突变图谱

2.5 HCC 免疫基因共表达模块 为了确定 HCC 队列中免疫相关基因的共表达网络,本课题组进行了 WGCNA 分析。以免疫亚型 C1 和 C2 作为样本的临床性状,进一步用于构建 WGCNA 网络,探讨 LIHC 中的 biomarkers。软阈值  $\beta$  由函数“sft \$ powerEstimate”确定,软阈值设置为 3。然后基于 tom 矩阵检测基因模块,在本次分析中共检测到 3 个基因模块,分别为 blue( $n = 427$ )、turquoise( $n = 568$ )、grey( $n = 66$ )

模块。进一步通过模块与性状之间的分析,发现 MEblue 模块与样本类别(免疫亚型)的相关性最高( $cor = -0.59, p = 6e-36$ ) (见图 5A、图 5B),因此,将选择 MEblue 模块用于后续的相关验证分析。对两种免疫亚型的模块特征基因进行了分析,除 grey 外的两个模块中特征基因的表达在亚型间均具有显著性(见图 5C、图 5D)。

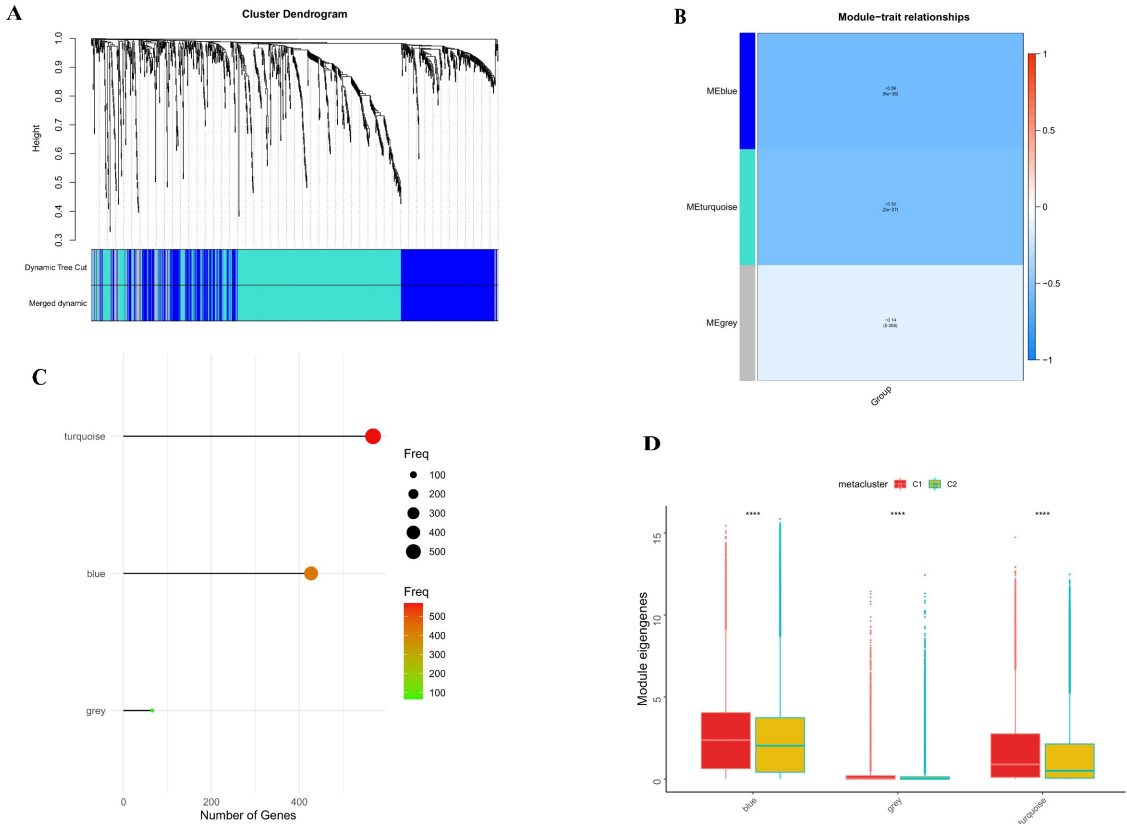


图 5 WGCNA 分析

2.6 免疫基因共表达模块的功能富集以及蛋白互作网络构建 通过 GO 和 KEGG 富集分析发现 MEblue 模块的基因在大量的通路中均显著富集(见图 6A、图 6B)。比如在 GO 富集中有 regulation of innate immune response、proteasome accessory complex、growth factor binding 等通路均有大量基因被富集(见图 7A);比如在 KEGG 富集中有 Cytokine-cytokine receptor interaction、T cell receptor signaling pathway、Lipid and atherosclerosis 等通路均有大量基因被富集(见图 6B)。接下来研究与 MEblue 模块的基因可能相关的具体信号通路,探讨可能影响 HCC 病变及进展的潜在分子机制。GSVA 结果表明,在免疫亚型组间的差异通路主要富集到了 FATTY\_ACID\_METABOLISM、MYC\_TARGETS\_V1、NOTCH\_SIGNALING、COAGULATION、EPITHELIAL\_MESENCHYMAL\_TRANSITION 等信号通路(见图 6C)。此外,通过预后相关分析显示,其中 blue 和 turquoise 模块中的基因表达与 HCC 患者的预后显著相关(见图 7A)。模块 MEblue 和 METurquoise 中的基因表达与 PCA1 均显著相关(见图 7B、图 7C);模块 MEblue 中的基因表达与 PCA2 的相关性最高(见图 7D、图 7E)。

C

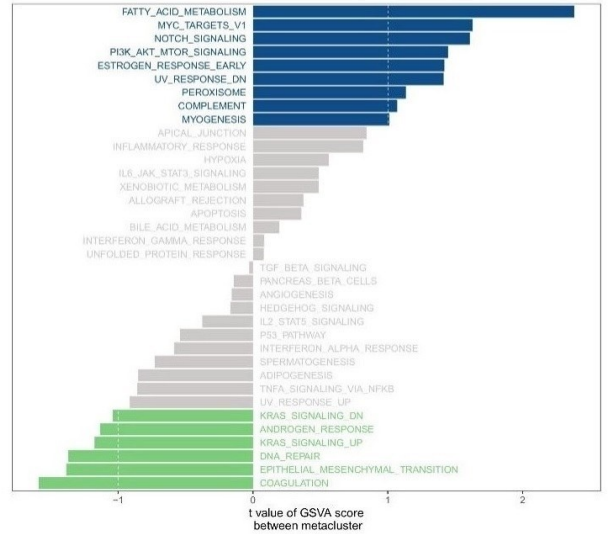
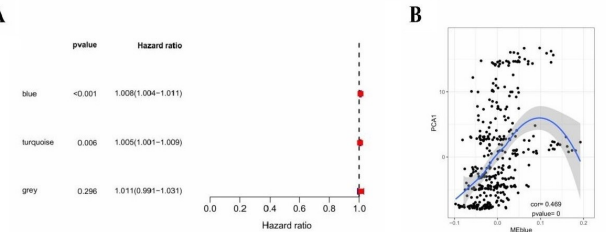
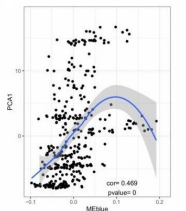


图 6 免疫基因共表达模块的功能富集

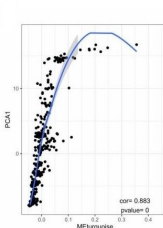
A



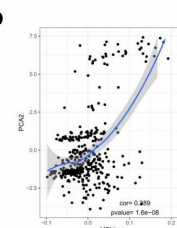
B



C



D



E

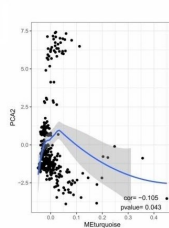
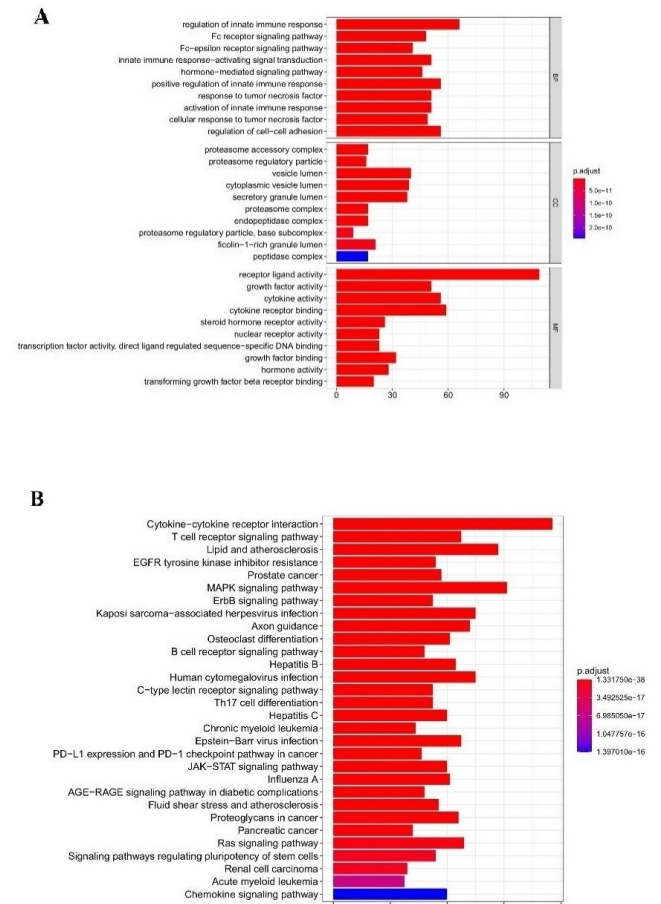


图 7 免疫基因共表达模块的主成分分析



2.7 探讨在 LIHC 队列的表达谱中免疫关键基因 通过在线工具 cBioPortal 获得了 TCGA-HCC 中共有 20 887 个基因发生了拷贝数变异(见图 8A),有 13 640 个基因发生了突变(见图 8B)。有 129 个基因的 OS 生存分析具有高显著性 ( $P < 0.0001$ ),有 169 个基因的 RFS 生存分析具有高显著性 ( $P < 0.0001$ )(见图 8C)。对前 10 位核心基因进行单因素(见图 8D)和多因素(见图 8E)分析,单因素联合多因素分析筛选出 EIF5B 作为肝癌的免疫关键基因。对 EIF5B 进行预后分析和 TIMER 分析,发现 EIF5B 基因高表达与患者不良预后相关,并与免疫细胞高浸润水平相关(见图 8F、图 8G),  $P < 0.05$ 。

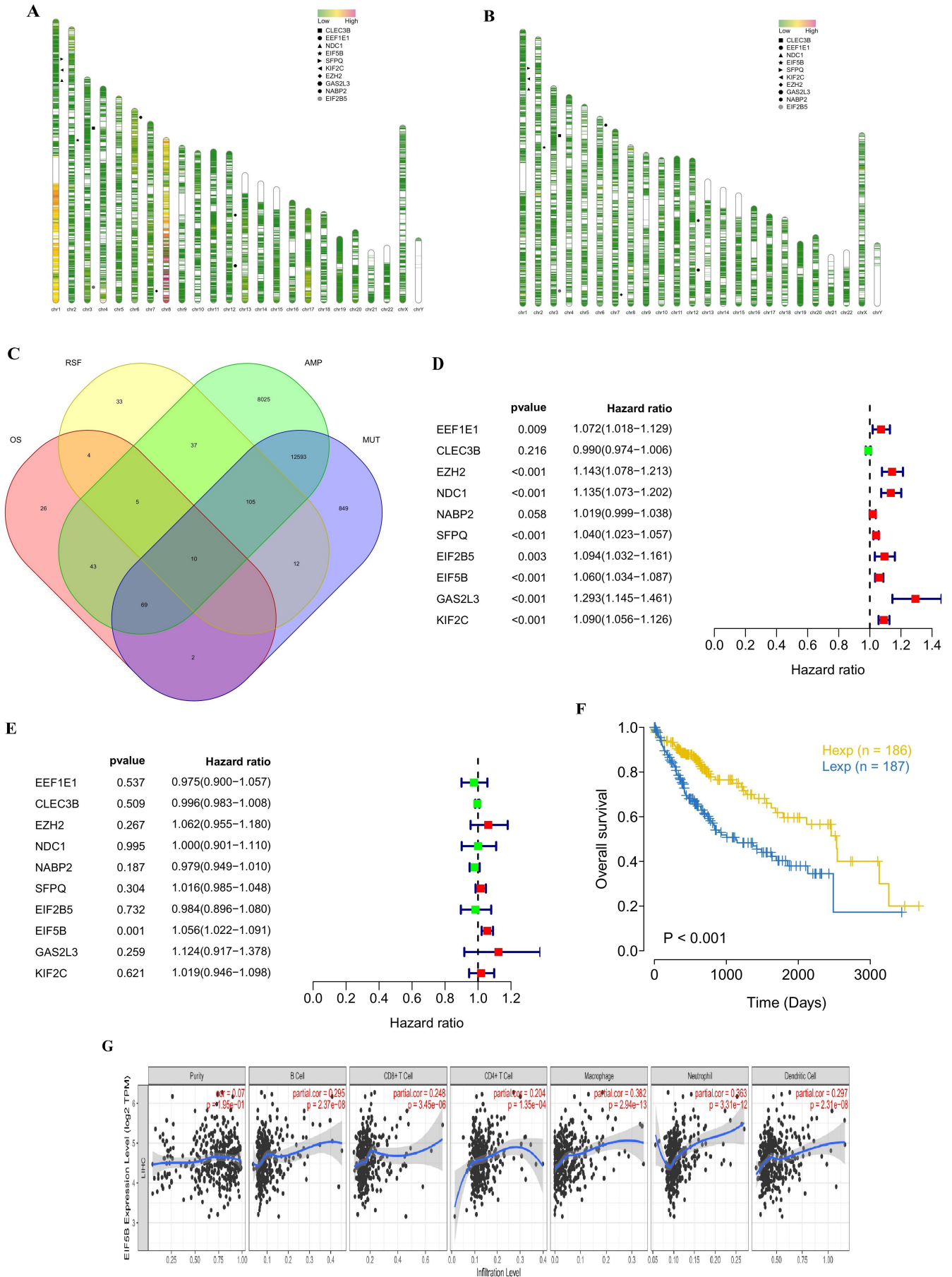


图 8 免疫关键基因

### 3 讨论

肿瘤的发生发展与宿主的免疫系统联系密切,免疫系统可以杀死和清除肿瘤细胞,然而肿瘤细胞可以通过免疫逃逸躲避免疫系统的监视,进而诱发癌症。目前的免疫治疗主要克服肿瘤的免疫耐受及加强效应细胞的杀伤效应。既往研究<sup>[11-14]</sup>发现,在头颈部癌、结肠癌、三阴性乳腺癌中通过对免疫特征进行相应评估从而确定的免疫分型,有助于指导治疗及改善患者的预后。本研究基于从 TCGA、GEO 和 ICGC 数据库筛选的 267 个关键预后相关基因并建立了 HCC 分类,鉴定出 HCC 的两个亚型(C1 和 C2),结果表明,C1 表现出较差的预后特征。C1 和 C2 都与免疫信号相关,C1 具有免疫检查点基因的高表达。众所周知,固有免疫逃逸有两个主要方面,包括免疫原性和免疫检查点分子的表达<sup>[15]</sup>。之前的研究报告里,在 HCC 中,免疫检查点基因通常被激活,并伴随着高免疫应答和基因表达上调<sup>[16]</sup>。研究显示,与 C2 亚型相比,C1 亚型中的检查点基因 CTLA-4 和 PD-L1 及人类白细胞抗原显著过度表达。这些结果表明,C1 亚型可能与 HCC 的固有免疫逃逸密切相关,这可能导致患者的预后较差,并为使用免疫检查点阻断剂进行 HCC 免疫治疗提供新的见解。此外,本课题组分析了亚型的病理特征,发现亚型与 HCC 患者的肿瘤分级和分期密切相关。总的说本研究鉴定了 HCC 的两种免疫亚型。

通过药敏数据库分析发现两种免疫亚型与患者对博来霉素、博苏替尼、顺铂、阿糖胞苷、多烯紫杉醇、阿霉素的敏感性显著相关,并且 C1 亚组对免疫治疗更为敏感,这可能为 HCC 患者的治疗提供思路。通过突变数据库分析,验证了 HCC 亚型中 TP53、CTNNB1 和 TTN 基因的突变,其中 C1 亚型患者的 TP53 突变比例高于 C2 亚型。据报道 TP53 突变与免疫检查点的高表达、活跃的 IFN- $\gamma$  信号和效应 T 细胞信号有关<sup>[17]</sup>。本研究证明 C1 亚型患者具有较高的 TP53 突变率,进一步验证了该亚型在基于免疫检查点的治疗中的预测作用。

本研究还利用 WGCNA 分析探索了 HCC 免疫微环境中两种亚型的潜在靶点和途径。免疫相关基因富集在 3 个不同的模块中,结果显示固有免疫、T 细胞信号调节通路和 T 细胞受体信号通路等免疫相关途径主要富集在蓝色模块中。在所有成对比较模块中,蓝色模块代表最常见的功能富集路径,这表明这个模块中的基因可能在 HCC 免疫微环境中发挥一定的作用。与目前的结果一致,以前的研究报告显示肿瘤免疫微环境在调节 HCC 发生、肿瘤侵袭和转移过程中起着关键作用<sup>[18]</sup>。固有免疫在调节 HCC 的发生和发展中起

着关键作用<sup>[19]</sup>。也有人假设在 HCC 进展过程中可能通过 T 细胞信号通路诱导适应性免疫反应<sup>[20]</sup>。此外,在蓝色模块还显示了 MYC 突变、NOTCH 信号通路、上皮间充质转化等癌变相关信号通路,进一步探明 HCC 发生发展的分子机制。因此,阐明 HCC 免疫微环境的分子机制可能有助于确定 HCC 新的治疗靶点。此外,本课题组还筛选出 EIF5B 作为 HCC 的免疫关键基因,可为 HCC 的 mRNA 疫苗研制提供思路。

目前的研究存在一些局限性。首先,为了全面反映影响 HCC 微环境表型的因素和影响,亚组分析应包括更多 HCC 患者的临床特征。其次,每个亚型的样本量都相对较小,只有 ICGC 和 GEO 队列用于外部验证,这可能导致片面结果和高假阳性率。在内部验证中进行交叉验证,并增加外部验证的样本量,将有助于 HCC 免疫微环境的未来研究。

### 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] HARTKE J, JOHNSON M, GHABRIL M. The diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma[J]. Semin Diagn Pathol, 2017, 34(2): 153-159.
- [3] KOLE C, CHARALAMPAKIS N, TSAKATIKAS S, et al. Immunotherapy for hepatocellular carcinoma: a 2021 update[J]. Cancers (Basel), 2020, 12(10): 2859.
- [4] DONG L Q, PENG L H, MA L J, et al. Heterogeneous immunogenomic features and distinct escape mechanisms in multifocal hepatocellular carcinoma [J]. J Hepatol, 2020, 72(5): 896-908.
- [5] EL-REBEY H S, ABDU A G, SULTAN M M, et al. The Profile and Role of Tumor-infiltrating Lymphocytes in Hepatocellular Carcinoma; An Immunohistochemical Study[J]. Appl Immunohistochem Mol Morphol, 2021, 29(3): 188-200.
- [6] ZAMARRON B F, CHEN W J. Dual roles of immune cells and their factors in cancer development and progression[J]. Int J Biol Sci, 2011, 7(5): 651-658.
- [7] DARVIN P, TOOR S M, SASIDHARAN NAIR V, et al. Immune checkpoint inhibitors: recent progress and potential biomarkers[J]. Exp Mol Med, 2018, 50(12): 1-11.
- [8] Bald T, Landsberg J, Lopez-Ramos D, et al. Immune cell-poor melanomas benefit from PD-1 blockade after targeted type I IFN activation[J]. Cancer Discov, 2014, 4(6): 674-687.

(下转第 597 页)

- cepts: an innovative teaching strategy[J]. Nurse Educ, 2019, 44(5): 284-287.
- [10] 林端阳, 谭涛, 王南, 等. 以器官系统为主线的整合教学模式在骨科临床教学中的探索[J]. 重庆医学, 2018, 47(28): 3723-3725.
- [11] 薄陆敏, 杨俊驰, 陈洁, 等. 基于微视频的翻转课堂教学模式在研究生内镜诊断教学中的应用初探[J]. 中华消化内镜杂志, 2016, 33(11): 800-801.
- [12] 魏伦收, 张祎婕, 索智敏. 慕课结合传统教学在内科学教学中的应用探讨[J]. 中国卫生事业管理, 2017, 34(5): 376-377.
- [13] 邵珠建, 苏薇, 李春鸣, 等. 微型临床演练评估在消化内科实习教学中的应用效能[J]. 重庆医学, 2020, 49(11): 1875-1877.
- [14] 唐阁, 张林. 以 CBL 为基础 PBL 为辅助的教学法在中医肾病内科临床教学中的应用[J]. 右江民族医学院学报, 2019, 41(6): 708-709, 712.
- [15] 张喆, 时飞宇, 胡晨浩, 等. 整合医学结合 OSCE 教学法在普通外科教学中的应用[J]. 医学教育研究与实践, 2020, 28(5): 911-914.
- [16] 宋超, 李莉. 住院医师规范化培训制度对医学生职业生涯规划的影响——以广西医科大学为例[J]. 学园, 2020, 13(24): 55-56.
- [17] 周婧雯, 丁泓帆, 马锋, 等. 医学毕业生临床实习与自身未来规划矛盾性的分析研究[J]. 医学教育研究与实践, 2021, 29(4): 633-636.

收稿日期: 2021-11-10; 修回日期: 2021-11-23

(上接第 578 页)

- [9] JI R R, CHASALOW S D, WANG L S, et al. An immune-active tumor microenvironment favors clinical response to ipilimumab[J]. Cancer Immunol Immunother, 2012, 61(7): 1019-1031.
- [10] LE D T, URAM J N, WANG H, et al. PD-1 Blockade in tumors with mismatch-repair deficiency[J]. N Engl J Med, 2015, 372(26): 2509-20.
- [11] FU H C, ZHU Y, WANG Y W, et al. Identification and validation of stromal immunotype predict survival and benefit from adjuvant chemotherapy in patients with muscle-invasive bladder cancer[J]. Clin Cancer Res, 2018, 24(13): 3069-3078.
- [12] XIAO Y, MA D, ZHAO S, et al. Multi-omics profiling reveals distinct microenvironment characterization and suggests immune escape mechanisms of triple-negative breast cancer[J]. Clin Cancer Res, 2019, 25(16): 5002-5014.
- [13] THORSSON V, GIBBS D L, BROWN S D, et al. The immune landscape of cancer[J]. Immunity, 2018, 48(4): 812-830.
- [14] CHEN Y P, WANG Y Q, LV J W, et al. Identification and validation of novel microenvironment-based immune molecular subgroups of head and neck squamous cell carcinoma: implications for immunotherapy[J]. Ann Oncol, 2019, 30(1): 68-75.
- [15] SCHREIBER R D, OLD L J, SMYTH M J. Cancer immunoeediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion[J]. Science, 2011, 331(6024): 1565-1570.
- [16] HATO T, GOYAL L, GRETEN T F, et al. Immune checkpoint blockade in hepatocellular carcinoma: current progress and future directions[J]. Hepatology, 2014, 60(5): 1776-1782.
- [17] DONG Z Y, ZHONG W Z, ZHANG X C, et al. Potential predictive value of TP53 and KRAS mutation status for response to PD-1 blockade immunotherapy in lung adenocarcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2017, 23(12): 3012-3024.
- [18] SOLINAS G, GERMANO G, MANTOVANI A, et al. Tumor-associated macrophages (TAM) as major players of the cancer-related inflammation[J]. J Leukoc Biol, 2009, 86(5): 1065-1073.
- [19] DOHERTY DG, O'FARRELLY C. Innate and adaptive lymphoid cells in the human liver[J]. Immunol Rev, 2000, 174: 5-20.
- [20] HOSHIDA Y, VILLANUEVA A, KOBAYASHI M, et al. Gene expression in fixed tissues and outcome in hepatocellular carcinoma[J]. N Engl J Med, 2008, 359(19): 1995-2004.

收稿日期: 2022-01-09; 修回日期: 2022-03-07