

基于 Notch1 信号活化探讨胃癌细胞诱导肿瘤免疫逃逸机制研究

周春娥^{1*}, 栾梅²

1. 盘锦辽油宝石花医院 全科医学科, 辽宁 盘锦 124010

2. 锦州医科大学附属第三医院 全科医学科, 辽宁 锦州 121000

【摘要】 目的 探讨胃癌标本中 Notch1 表达与程序性死亡配体 1(PD-L1)表达的相关性,并通过体外实验探讨了这种关系在胃癌细胞对 T 细胞介导的杀伤敏感性中的作用。方法 2020 年 5 月至 2021 年 5 月,95 例胃癌组织标本(男 55 例和女 40 例)取自盘锦辽油宝石花医院和锦州医科大学附属第三医院病理科。采用免疫组织化学方法检测标本中 PD-L1 和 Notch1 的表达。体外实验中,采用 sgRNA-慢病毒处理敲低 MGC-803 细胞中 Notch1 的表达,并分为 MGC-803 对照组(Con 组)或 MGC-803 Notch1 敲低组(KD 组)。流式细胞仪细胞分选法(FACS)分析细胞表面 PD-L1 表达。通过免疫沉淀分析 PD-L1 和 Notch1 相互作用,以及 PD-L1 泛素化情况,免疫荧光测定 PD-L1/程序性死亡 1(PD-1)结合情况。将慢病毒处理的 MGC-803 细胞与活化的外周血单个核细胞(PBMC)(1:1)共培养 72 h 以考察胃癌细胞对 T 细胞介导的杀伤敏感性。结果 胃癌组织中 PD-L1 与 Notch1 表达之间存在高度相关性,PD-L1 阳性胃癌组织标本中 Notch1 高表达的比例高于 PD-L1 阴性胃癌组织标本($P<0.05$)。胃癌细胞系中 Notch1 表达量均高于人胃黏膜细胞(GES-1)。KD 组细胞中和细胞表面 PD-L1 表达较 Con 组细胞显著降低($P<0.05$)。免疫沉淀证实 Notch1 与 PD-L1 可以相互作用并使 PD-L1 去泛素化。敲低 Notch1 导致 PD-1 与 MGC-803 细胞表面上的 PD-1 结合降低。与 Con 组细胞相比,KD 组细胞与活化的 PBMC 细胞(1:1)共培养 72 h 的细胞计数显著降低($P<0.001$)。结论 胃癌组织中 Notch1 与 PD-L1 呈正相关,并且 Notch1 在胃癌组织中可充当 PD-L1 的上游去泛素化酶,其敲低通过下调 PD-L1 相关的免疫抑制来抑制肿瘤生长。

【关键词】 Notch1; 胃癌; 免疫逃逸; T 细胞

Study on the mechanism of gastric cancer cells inducing tumor immune escape based on Notch1 signal activation

Zhou Chun'e^{1*}, Luan Mei²

1. Department of General Practice, Liaoyou Baoshihua Hospital, Panjin 124010, Liaoning, China

2. Department of General Practice, The Third Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University, Jinzhou 121000, Liaoning, China

Corresponding author: Zhou Chun'e, E-mail: echunzhou2@163.com

【Abstract】 Objective To explore the correlation between Notch1 expression and PD-L1 expression in gastric cancer (GC) specimens, and to explore the role of this relationship in the sensitivity of GC cells to T cell-mediated killing through in vitro experiments. **Method** From May 2020 to May 2021, 95 gastric cancer tissue specimens (55 males and 40 females) were collected from Panjin Liaoyou Baoshihua Hospital and the Department of Pathology of the Third Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University. The expressions of PD-L1 and Notch1 in 95 cases of gastric cancer were detected by immunohistochemistry. In vitro, sgRNA lentivirus treatment was used to knock down Notch1 expression in MGC-803 cells, and they were divided into MGC-803 control group (Con) or MGC-803 Notch1 knockdown group (KD). FACS was used to analyze PD-L1 expression on cell surface. The interaction between PD-L1 and Notch1 and the ubiquitination of PD-

基金项目:辽宁省自然科学基金研究计划项目(20190768)

*通信作者:周春娥, E-mail: echunzhou2@163.com

L1 were analyzed by immunoprecipitation, and the binding of PD-L1/PD-1 was determined by immunofluorescence. The lentivirus treated MGC-803 cells were co cultured with activated PBMC cells (1:1) for 72 h to investigate the sensitivity of GC cells to T cell-mediated cytotoxicity. **Result** There was a high correlation between the expression of PD-L1 and Notch-1 in gastric cancer tissues, and the proportion of high expression of Notch-1 cells in PD-L1-positive GC samples was much higher than that in PD-L1-negative GC samples ($P<0.05$). The expression of Notch1 in GC cells was higher than that in human gastric mucosal cells (GES-1) cells. When Notch1 was knocked down in KD group cells, the expression of PD-L1 in cell and cell surface was significantly reduced compared to Con group cells ($P<0.05$). Immunoprecipitation confirmed that Notch1 interacted with PD-L1 and deubiquitinates PD-L1. Notch1 knockdown resulted in decreased PD-1 binding to MGC-803 cells. In addition, compared with Con group cells, the cell count of KD group cells co cultured with activated PBMC cells (1:1) for 72 h was significantly lower ($P<0.001$). **Conclusion** Notch1 can act as an upstream deubiquitinase of PD-L1 in GC, and its knockdown inhibits tumor growth by down-regulating PD-L1-associated immunosuppression.

【Key words】 Notch1; Gastric cancer; Immune escape; T cell

胃癌是世界上第二大致死性肿瘤,预后较差^[1]。胃癌的免疫抑制微环境有利于肿瘤的发生和发展,也降低了抗癌治疗的效果^[2]。目前,免疫检查点抑制剂 (immune-checkpoint inhibitors, ICI) 如程序性死亡 1/程序性死亡配体 1 (programmed death 1/programmed cell death-ligand 1, PD-1/PD-L1) 激活免疫细胞杀伤癌细胞,被广泛用作免疫治疗的靶点^[3]。研究表明,PD-1/PD-L1 相关的治疗在各种癌症中都取得了良好的效果,包括非小细胞肺癌和肝癌^[4,5]。然而,只有一小部分胃癌患者对 PD1/PD-L1 免疫治疗有反应^[6]。因此,深入了解 PD-L1 表达的调控机制,对胃癌临床治疗具有指导意义。Notch 信号是造血、免疫细胞分化和炎症的关键调节因子之一,与各种自身免疫性疾病、癌变(白血病)和肿瘤诱导的免疫抑制有关^[7]。其中,Notch1 可以调控各种类型的 T 细胞分化,包括 Th1、Th2 和调节性 T 细胞 (Tregs),这些细胞在支持肿瘤细胞和逃避免疫应答中起着重要作用^[8]。然而,尚不清楚 Notch1 是否通过 PD-L1 介导肿瘤免疫逃逸。本研究旨在探讨胃癌组织标本中 Notch1 表达与 PD-L1 表达的相关性,并通过体外实验探讨了这种关系在胃癌细胞对 T 细胞介导的杀伤敏感性中的作用。

1 材料与方法

1.1 细胞系 人胃癌细胞系 AGS、NCI-N87、SGC-7901、BGC-823、MGC-803、HGC-27、MKN45 和 MFC 以及人胚胎肾细胞 HEK293 均购自中国科学院生物化学与细胞生物学研究所,并在含 10%胎

牛血清和 Pen/Strep(美国 Gibco 公司)的 RPMI 1640 培养基中生长。

1.2 免疫组织化学 2020 年 5 月至 2021 年 5 月,95 例胃癌组织标本(男 55 例和女 40 例)取自盘锦辽油宝石花医院和锦州医科大学附属第三医院病理科。用二甲苯和不同浓度 (70%、90%、95%、100%) 的乙醇对含有组织学标本的载玻片进行脱蜡,并用磷酸缓冲盐溶液 (phosphate buffered saline, PBS) 洗涤 3 次。室温下在 5%胎牛血清中封闭 30 min 后,将切片与 PD-L1 抗体 (1:200 稀释度) (武汉 Proteintech 公司) 和 Notch1 (1:200 稀释度) (英国 Abcam 公司) 在 4 °C 下培养过夜。然后用抗兔 IgG (武汉 BOSTER 公司) 和 DAB 检测试剂盒 (北京 ZSGB-BIO 公司) 检测信号。最后,加入 1 滴 DAPI (美国 Thermo Fisher 公司) 安装盖玻片。将 PD-L1 在肿瘤细胞中的表达分为:0 (无染色)、1 (弱染色)、2 (中-强染色),其中 0 为阴性,1~2 为阳性。Notch1 表达得分为 1 分 (<1%)、2 分 (1%~9%)、3 分 (10%~20%) 或 4 分 (>20%),其中 1~2 分为低表达和 3~4 分为高表达。

1.3 蛋白质印迹法 细胞在含有蛋白酶抑制剂的 RIPA 缓冲液中提取总蛋白,然后在 4 °C 下 12 000 ×g 离心 10 min,收集上清液。通过蛋白质分析试剂盒 (南京 Vazyme 公司) 测量蛋白质浓度。蛋白质提取物在 100 °C 变性 10 min 后,用 SDS-PAGE 转移到 0.22 μm 印迹膜。然后用 5%脱脂牛奶在室温孵育 2 h,进行膜封隔。在 4 °C 下将膜与一级抗体 PD-L1 (1:500, 武汉 Proteintech 公司), Notch1 (1:1000, 美国 Abcam 公司) 或 GAPDH

(1:2000,美国 Cell Signaling 公司)在 4℃下孵育过夜。然后,将膜洗涤并与结合辣根过氧化物酶的二抗(1:2000,美国 Thermo fisher 公司)在室温下孵育 1 h。使用凝胶成像分析系统检测条带。

1.4 sgRNA-慢病毒和质粒 在 sgRNA-慢病毒处理之前,将细胞以 20%~30%的汇合度接种在 96 孔板中孵育 24 h。转染后,培养 12 h 后更换培养基。使用以下序列:Notch1 sgRNA,5'-GAGTGAT GACACAACACCG-3'; mNotch1 sgRNA,5'-AGAC CACACCAAAAAAGCGT-3'。用于 Notch1 敲除的慢病毒的生产 and 包装由上海基康生物技术有限公司完成。对于质粒,Flag-PD-L1、HA-Notch1 和 pCMV3 标记阴性对照载体的全长表达 cDNA 购自北京义翘神州生物技术有限公司。pCDNA-HA-His-Ub 由苏州金唯智生物科技有限公司生产。

1.5 流式细胞术检测细胞表面 PD-L1 制备 100 μl 含有人 PE-PD-L1 抗体(美国 BD Biosciences 公司)的染色缓冲液并将细胞悬浮在其中,然后在室温下孵育混合物 30 min,用染色缓冲液洗涤细胞并使用 BD FACSCanto 流式细胞仪(BD Biosciences)进行 FACS 分析。

1.6 免疫沉淀 蛋白质提取:将 HEK293 细胞接种到 60 mm 板中并用 2.5 μg Flag-PD-L1 和 2.5 μg HA-Notch1 瞬时转染。在转染后 48 h,收集细胞用于蛋白质提取和蛋白质印迹法分析。针对 Flag 的抗体购自美国 Cell Signaling Technology 公司和针对 HA 的抗体购自南京金斯瑞生物科技有限公司。

免疫沉淀:HEK293 细胞用指定的质粒转染并在转染后 48 h 收集。细胞在 IP 裂解缓冲液(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)中裂解,并与 1 μg 抗 Flag-M2 亲和凝胶(FLAGIPT1,美国 Sigma-Aldrich 公司)或抗 HA 磁性凝胶珠子(Thermo Fisher Scientific)在 4℃孵育过夜。然后用裂解缓冲液洗涤珠子并用洗脱缓冲液洗脱。使用 SDS-PAGE 分析免疫沉淀的蛋白质复合物。

1.7 PD-L1/PD-1 结合测定 细胞在 25℃下用 20 μg/ml 重组人 PD-1 Fc 蛋白(上海基康生物技术有限公司)处理 2 h。然后用染色缓冲液洗涤细胞,并在 25℃下用抗人 Alexa Fluor 488 染料偶联抗体(Thermo Fisher Scientific)染色 30 min。随后通过染色缓冲液洗涤细胞并在 25℃下用 DAPI(合肥志宏生物技术有限公司)染色 10 min,通过 C2 Plus 共聚焦显微镜(日本 Nikon 公司)检查。

1.8 T 细胞杀伤试验 MGC-803 Con 和 MGC-803 Notch1 KD 细胞接种在 96 孔板中并放入实时细胞分析仪(美国 Agilent 公司)。人外周血单核细胞(PBMC,来自健康供体)与 Dynabeads Human T-Activator CD3/CD28 珠一起孵育,然后与 MGC-803 对照组(Con 组)或 MGC-803 Notch1 敲低组(KD 组)细胞以 1:1 比例(PBMC:肿瘤细胞)共培养。72 h 后,细胞被固定,用 DAPI 染色 10 min。通过 ArrayScan XTI 高内涵筛选系统(Thermo Fisher Scientific)测量和分析细胞计数。

1.9 统计分析 采用 SPSS22.0 软件进行数据处理。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用学生 *t* 检验。计数资料以例(%)表示,组间比较采用 Pearson 卡方检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GC 组织中 Notch1 与 PD-L1 呈正相关 免疫组织化学检测结果表明,胃癌组织中 PD-L1 与 Notch1 表达之间存在高度相关性(图 1)。PD-L1 阳性胃癌组织样本中 Notch1 高表达的比例高于 PD-L1 阴性胃癌组织样本($P < 0.05$)(表 1)。

表 1 胃癌中 PD-L1 表达和 Notch1 表达情况[例(%)]

项目	Notch1		χ^2 值	P 值
	低表达	高表达		
PD-L1 阴性	42(81)	18(42)	15.313	<0.001
PD-L1 阳性	10(19)	25(58)		

2.2 抑制 Notch1 降低了胃癌细胞中的 PD-L1 表达 Notch1 在所有供试细胞系中均广泛表达,6 个胃癌细胞系的 Notch1 表达量均高于正常胃上皮细胞系或 GES-1 细胞系。此外,BGC-823、MGC-803、NCI-N87 和 SGC-7901 细胞系的 PD-L1 表达水平高于其他胃癌细胞系。而 PD-L1 在 MKN45 细胞中不表达。KD 组细胞中 PD-L1 表达较 Con 组细胞显著降低。通过 FACS 分析细胞表面 PD-L1 表达显示,当 Notch1 敲低后,MGC-803 细胞膜中 PD-L1 的数量低于亲代细胞(图 2)。

2.3 Notch1 直接与 PD-L1 相互作用并促进其去泛素化 采用 Flag-PD-L1 和 HA-Notch1 共转染 HEK293 细胞,结果表明它们可以相互作用。在 HEK293 细胞中存在或不存在 HA-Notch1 的情况下,Flag-PD-L1 与 HA-His-Ub 共转染。在蛋白酶体抑制剂 MG132 存在但没有 HA-Notch1 的情况下,PD-L1 强烈泛素化(泳道 2),而 HA-Notch1 消

除了PD-L1 泛素化(泳道3)(图3)。

2.4 抑制 Notch1 提高癌细胞对 T 细胞杀伤的敏感性 用 Notch1 sgRNA-慢病毒处理 MGC-803 细胞, 然后与重组人 PD-1 蛋白孵育, 使能荧光标记和可

视化。结果显示, Notch1 敲低导致 PD-1 与 MGC-803 细胞表面上的 PD-1 结合降低。此外, 与 Con 组细胞相比, KD 组细胞与活化的 PBMC 细胞 (1:1) 共培养 72 h 的细胞计数显著降低 ($P < 0.001$) (图 4)。

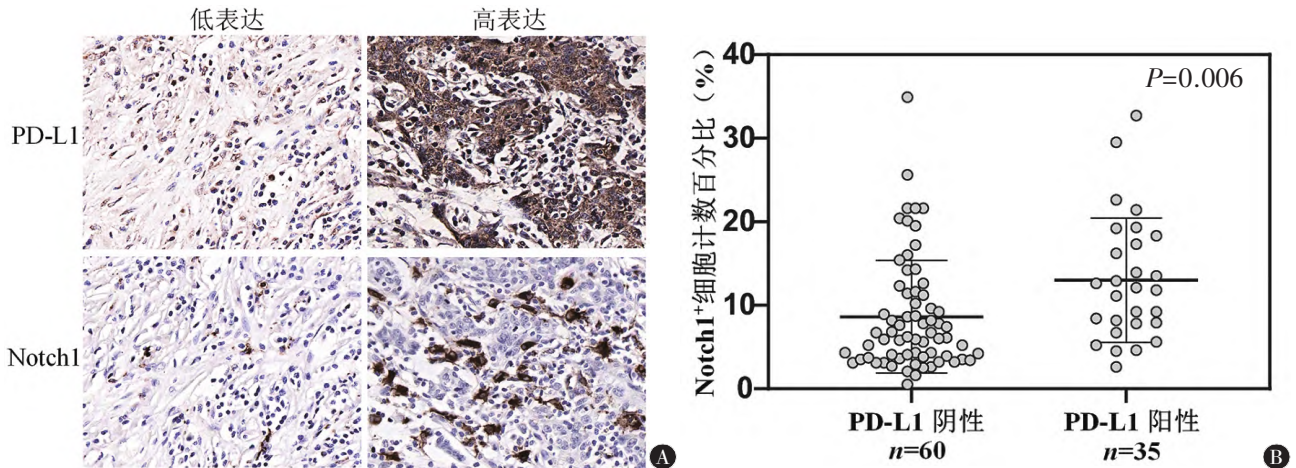


图 1 胃癌组织中 Notch1 与 PD-L1 的表达情况

注: A, 免疫组织化学检测胃癌组织中 PD-L1 和 Notch1 表达情况 (SP 法, 扩大倍数: 100 倍)。B, 胃癌组织中 Notch1 表达与 PD-L1 表达情况。

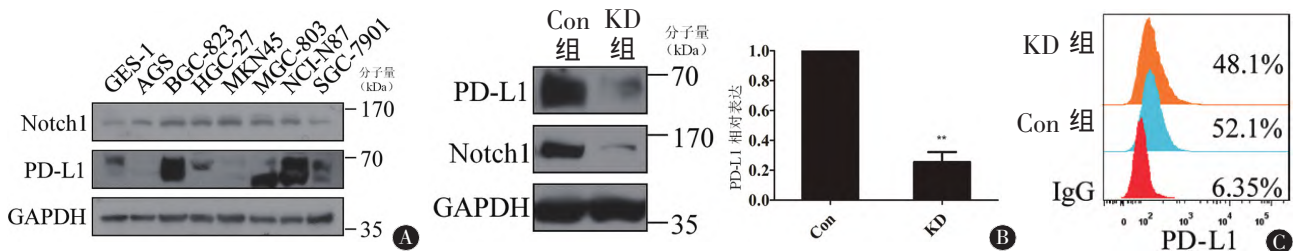


图 2 Notch1 敲低对 GC 细胞中的 PD-L1 表达影响

注: A, 8 种胃细胞系中的 Notch1 和 PD-L1 表达。B, 蛋白质印迹法分析 Notch1 敲低对 MGC-803 细胞中 PD-L1 表达的影响。C, FACS 分析 Notch1 敲低对 MGC-803 细胞表面 PD-L1 表达的影响。* $P < 0.01$ 。

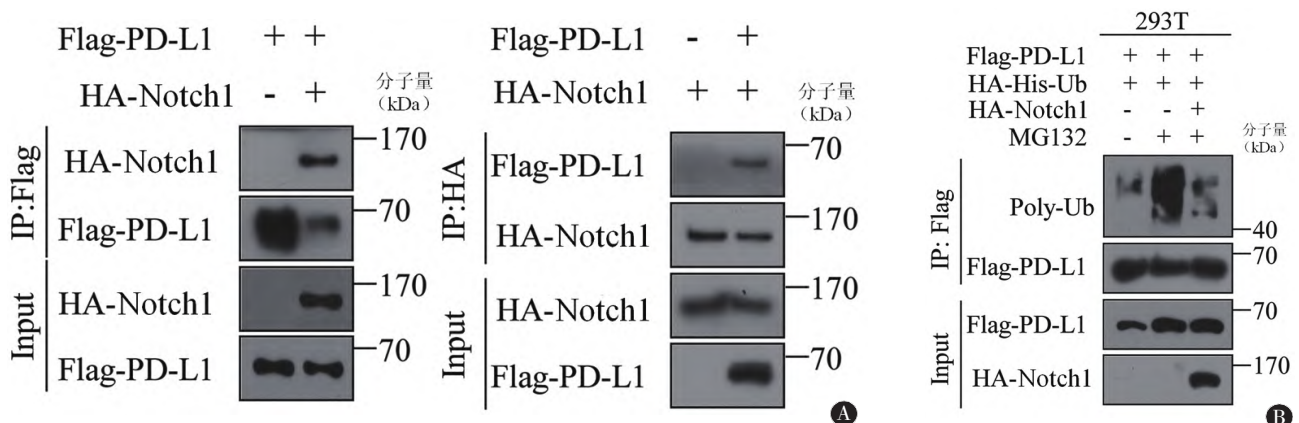


图 3 抑制 Notch1 通过增加 PD-L1 泛素化来下调 PD-L1 表达

注: A, 免疫沉淀分析 Flag-PD-L1 和 HA-Notch1 之间的相互作用。HEK293 细胞用指定的质粒 Flag-PD-L1 (左) 和 HA-Notch1 (右) 瞬时转染, 免疫沉淀并用 HA-tag (左) 和 Flag-tag 抗体 (右) 进行蛋白质印迹法分析。B, 当 Flag-PD-L1 和人源泛素化质粒 (HA-His-Ub) 与 HA-Notch1 共转染或未转染时, HEK293 细胞中 PD-L1 聚泛素化; 在泛素化分析前 6 h, 细胞用 MG132 (10 $\mu\text{mol/L}$) 处理或不处理。IP, 免疫共沉淀; Flag, HA, 蛋白标签; Input, 阳性对照。

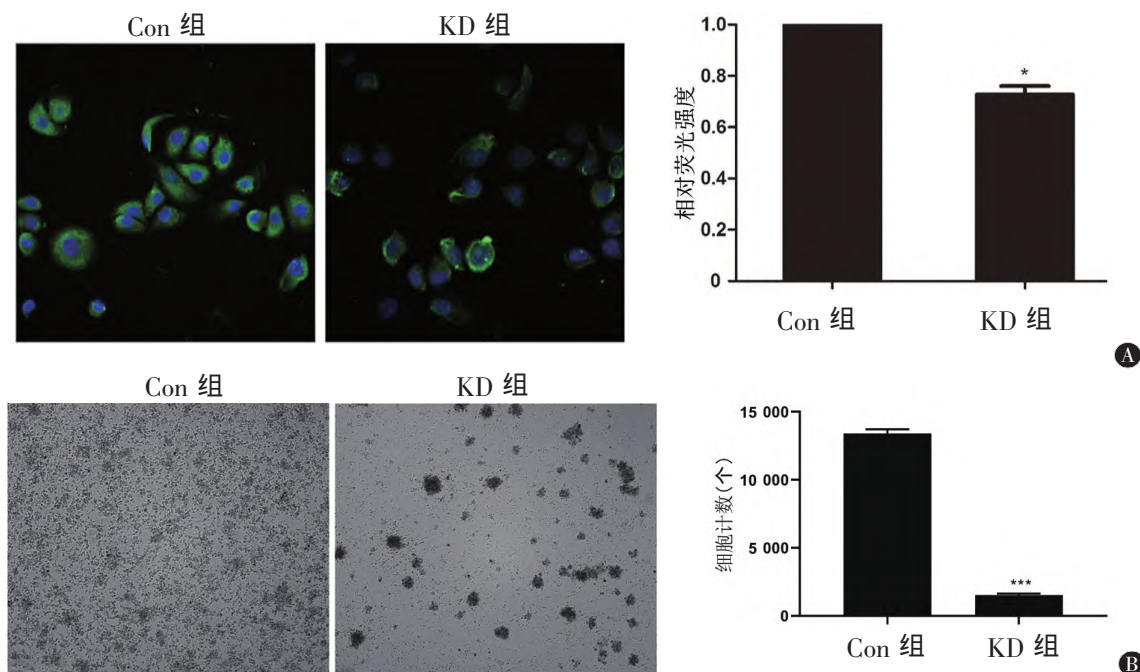


图4 抑制 Notch1 使胃癌细胞对 T 细胞杀伤敏感

注:A,免疫荧光检测 Notch1 敲低对 PD-1 与 MGC-803 细胞表面 PD-L1 结合的影响,放大倍数 200 \times ;B,Con 组和 KD 组细胞与活化的 PBMC 细胞(1:1)共培养 72 h 的细胞计数。* $P<0.05$,*** $P<0.001$ 。

3 讨论

肿瘤微环境中肿瘤细胞和免疫细胞之间的相互作用决定了整体免疫监视和对治疗的反应,以及随后的临床结果和患者存活率^[9]。Notch 调节肿瘤微环境的许多组成部分,包括免疫细胞以及成纤维细胞、内皮细胞和间充质细胞,其失调导致各种实体瘤的发展^[10]。研究发现,Notch1 在临床胃癌组织中上调,与 Notch1 水平低的患者相比,Notch1 高表达的分化差患者的总生存率更差^[11]。此外,抑制 Notch1 通过促进 P53 在胃癌中的稳定性来抑制肿瘤增殖,并在 G2-M 期阻止细胞周期^[12]。本研究发现,胃癌组织样本中 Notch1 表达与 PD-L1 表达高度相关。然而,本研究中只有 36.8% 的患者样本显示 PD-L1 表达,这与以前的报道略有不同^[13]。这种差异可能是由于使用不同的 PD-L1 抗体或患者样本的异质性造成的。

最近,免疫疗法,例如 PD-1/PD-L1 靶向疗法和嵌合抗原受体 T 细胞疗法,已被证明是临床肿瘤学中的有效疗法。然而,PD-L1 抑制剂帕博利珠单抗在胃癌的临床治疗上仅达 22% 的反应^[14]。为了解决这个问题,包括肿瘤突变负荷、浸润性 CD8⁺T 细胞强度和 PD-L1 表达水平在内的多因素

生物标志物已被提议作为抗 PD-L1 治疗反应的生物标志物^[15]。然而,无论 PD-L1 状态如何,胃和食管交界处癌的总体反应率为 30%^[16]。此外,PD-L1 表达的变化和肿瘤突变负荷是大多数癌症中的独立生物标志物^[17]。由于 PD-L1 表达状态不足以确定哪些患者可能受益于 PD-1/PD-L1 靶向治疗,因此迫切需要新药或联合治疗方法来调节肿瘤微环境以促进抗肿瘤免疫^[18]。在这项研究中,Notch1 敲低降低了胃癌细胞中 PD-L1 的表达,表明 Notch1 可能与 PD-L1 相互作用并稳定 PD-L1。进一步分析显示,Notch1 敲低增加了 PD-L1 泛素化,降低了 PD-1/PD-L1 相互作用并使胃癌细胞对 T 细胞介导的杀伤敏感。泛素化作为可以被去泛素化酶清除的可逆过程,在多个细胞过程中发挥着重要作用,例如涉及胚胎发育、细胞周期的推进、肿瘤的发展和进程以及细胞信号转导^[19,20]。因此,Notch1 在胃癌中可充当 PD-L1 的上游去泛素化酶,并且 Notch1 敲低通过下调 PD-L1 相关的免疫抑制来抑制肿瘤生长。

总之,Notch1 对 PD-L1 的稳定支持 Notch1 在抗肿瘤免疫中的作用。因此,Notch1 抑制剂可用作肿瘤免疫反应的新型启动子,从而扩大临床胃癌治疗中对 PD-L1/PD-1 靶向疗法有反应的患者群体。

参考文献

- [1] 周薇薇, 雷海科, 李小升, 等. 2187例胃癌患者生存随访调查及预后影响因素研究 [J/CD]. 消化肿瘤杂志(电子版), 2020, 12(2): 105-111.
- [2] 徐睿涵, 吴坚, 陈敏, 等. 胃癌细胞免疫临床研究进展 [J]. 中华肿瘤杂志, 2019, 41(5): 321-325.
- [3] 谭嘉蓉, 胡成平. 免疫检查点抑制剂相关致命性不良反应及管理策略 [J]. 中国实用内科杂志, 2020, 40(4): 82-86.
- [4] 张姝阳, 王燕. 程序性死亡受体1及程序性死亡受体配体1抑制剂在小细胞肺癌治疗中的进展 [J]. 中华肿瘤杂志, 2021, 43(1): 98-103.
- [5] 肖子龙, 王芃, 雷丽萍, 等. 程序性死亡蛋白1及其配体抑制剂在晚期肝癌治疗中的研究进展 [J]. 中华肝脏病杂志, 2019, 27(9): 732-736.
- [6] MISHIMA S, KAWAZOE A, SHITARA K. Safety of pembrolizumab in recurrent or advanced gastric cancer expressing PD-L1 refractory to platinum and fluoropyrimidine [J]. Expert Opin Drug Saf, 2020, 19(9): 1063-1068.
- [7] 高玉亭, 李振, 赵彩虹, 等. Notch信号通路调控风湿免疫性疾病研究进展 [J]. 中华风湿病学杂志, 2020, 24(8): 553-557.
- [8] SHAN H, LI X, XIAO X, et al. USP7 deubiquitinates and stabilizes NOTCH1 in T-cell acute lymphoblastic leukemia [J]. Signal Transduct Target Ther, 2018, 3(1): 29-38.
- [9] 赵薇, 季国忠. 微环境中肿瘤细胞与免疫细胞之间的代谢对话及对免疫治疗的影响 [J]. 南京医科大学学报: 自然科学版, 2020, 40(6): 779-782.
- [10] STEINBUCK MP, WINANDY S. A review of notch processing with new insights into ligand-independent notch signaling in T-cells [J]. Front Immunol, 2018, 9: 1230.
- [11] XIANG S, ZHAO Z, ZHANG T, et al. Triptonide effectively suppresses gastric tumor growth and metastasis through inhibition of the oncogenic Notch1 and NF- κ B signaling pathways [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2020, 388: 114870.
- [12] ZHOU W, TAN W, HUANG X, et al. Doxorubicin combined with Notch1-targeting siRNA for the treatment of gastric cancer [J]. Oncol Lett, 2018, 16(3): 2805-2812.
- [13] GU L, CHEN M, GUO D, et al. PD-L1 and gastric cancer prognosis: A systematic review and meta-analysis [J]. PLoS One, 2017, 12(8): e0182692.
- [14] BRAR G, SHAH MA. The role of pembrolizumab in the treatment of PD-L1 expressing gastric and gastroesophageal junction adenocarcinoma [J]. Therap Adv Gastroenterol, 2019, 12: 1756284819869767.
- [15] DARVIN P, TOOR SM, NAIR VS, et al. Immune checkpoint inhibitors: recent progress and potential biomarkers [J]. Exp Mol Med, 2018, 50(12): 1-11.
- [16] KANG YK, BOKU N, SATOH T, et al. Nivolumab in patients with advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer refractory to, or intolerant of, at least two previous chemotherapy regimens (ONO-4538-12, ATTRACTION-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial [J]. Lancet, 2017, 390(10111): 2461-2471.
- [17] YARCHOAN M, ALBACKER LA, HOPKINS AC, et al. PD-L1 expression and tumor mutational burden are independent biomarkers in most cancers [J]. JCI insight, 2019, 4(6): e126908.
- [18] SHEN X, ZHAO B. Efficacy of PD-1 or PD-L1 inhibitors and PD-L1 expression status in cancer: meta-analysis [J]. BMJ, 2018, 362: k3529.
- [19] 贾雪冰, 李琦. 去泛素化酶在肝癌发生发展中的研究进展 [J]. 中国肿瘤临床, 2020, 47(5): 260-264.
- [20] 程中玉, 谢嘉豪, 蒋耀萱, 等. 去泛素化酶与伴侣分子互作的病理生理及研究进展 [J]. 生理科学进展, 2019, 50(3): 167-174.