

转化生长因子- β 联合 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺T 细胞检测胶质母细胞瘤免疫微环境初探

刘敏婷 戴利军 张振斌 邵媛 赖名耀 张笑坛

【摘要】 目的 分析胶质母细胞瘤免疫微环境中相关免疫细胞及免疫抑制因子的表达。方法 纳入 2020 年 11 月至 2021 年 4 月在暨南大学附属第一医院和广东三九脑科医院行手术切除并保存完整的 30 例胶质瘤标本,均为胶质母细胞瘤, IDH 野生型,免疫组化染色检测胶质母细胞瘤免疫微环境中 T 淋巴细胞(CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺T 细胞)、抑制性免疫细胞[FoxP3⁺调节性 T 细胞(Treg)]、免疫抑制因子[转化生长因子- β (TGF- β)]和免疫抑制信号[细胞程序性死亡蛋白配体(PDL1)]分布和表达。结果 CD4⁺T 细胞在胶质母细胞瘤中占比极低;15 例(50%)CD3⁺T 细胞占比 > 3%,CD8⁺T 细胞分布与 CD3⁺T 细胞相似;仅 2 例(6.67%)检测到极少 FoxP3⁺Treg 细胞。24 例(80%)胶质母细胞瘤胞质强阳性表达 TGF- β ,且其表达与 CD3⁺T 细胞分布存在相关性,TGF- β 高表达区域未见 CD3⁺T 细胞,TGF- β 低表达区域 CD3⁺T 细胞分布较广;无一例检测到 PDL1 表达。结论 TGF- β 蛋白在胶质母细胞瘤中呈高表达,未来针对 TGF- β 为靶点设计的药物或免疫疗法可能有助于胶质母细胞瘤的临床治疗。

【关键词】 胶质母细胞瘤; 肿瘤微环境; 转化生长因子 β ; T 淋巴细胞; 免疫组织化学

A preliminary study on transforming growth factor- β combined with CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ T cells in detecting the immune microenvironment of glioblastoma

LIU Min-ting¹, DAI Li-jun², ZHANG Zhen-bin², SHAO Yuan³, LAI Ming-yao², ZHANG Xiao-tan¹

¹Department of Pathology, The First Affiliated Hospital of Ji'nan University, Guangzhou 510630, Guangdong, China

²Department of Pathology, ³Department of Neuro-oncology, Guangdong Sanjiu Brain Hospital, Guangzhou 510510, Guangdong, China

³Department of Research and Development, Nanjing Legend Biotech, Nanjing 211100, Jiangsu, China

LIU Min-ting and DAI Li-jun contributed equally to the article

Corresponding author: ZHANG Xiao-tan (Email: zhangxiaotan2010@126.com)

【Abstract】 Objective To analyze the expression of immune cells and immunosuppressive factors in the immune microenvironment of glioblastoma. **Methods** A total of 30 glioma specimens, all of which were glioblastoma (IDH-wildtype), were surgically removed and completely preserved in the First Affiliated Hospital of Ji'nan University and Guangdong Sanjiu Brain Hospital from November 2020 to April 2021. T lymphocytes (CD3⁺ T cells, CD4⁺ T cells, CD8⁺ T cells), suppressive immune cells [FoxP3⁺ regulatory T cell (Treg)], immunosuppressive factors [transforming growth factor- β (TGF- β)], immunosuppressive factors [programmed cell death protein ligand 1 (PDL1)] in the immune microenvironment of glioblastoma were detected by immunohistochemistry. **Results** The proportion of CD4⁺ T cells in glioblastoma was very low. CD3⁺ T cells accounted for more than 3% in 15 cases (50%), and CD8⁺ T cells were similar to CD3⁺ T cells. Few FoxP3⁺ Treg cells were detected in only 2 cases (6.67%). The cytoplasm of 24 cases (80%) of glioblastoma showed strong positive expression of TGF- β , and its expression was correlated with the

doi: 10.3969/j.issn.1672-6731.2023.03.015

基金项目:广东省广州市科技计划基础与应用基础研究项目(项目编号:202201011741);广东省医学科学技术研究基金资助项目(项目编号:B2021250)

作者单位:510630 广州,暨南大学附属第一医院病理科(刘敏婷,张笑坛);510510 广州,广东三九脑科医院病理科(戴利军、张振斌),肿瘤科(赖名耀);211100 南京传奇生物科技有限公司研发部(邵媛)

刘敏婷与戴利军对本文有同等贡献

通讯作者:张笑坛,Email:zhangxiaotan2010@126.com

distribution of CD3⁺ T cells. No CD3⁺ T cells were found in the areas with high expression of TGF- β , and CD3⁺ T cells were widely distributed in the areas with low expression of TGF- β . PDL1 expression was non-detected. **Conclusions** TGF- β protein was highly expressed in glioblastoma, and future drugs or immunotherapies designed to target TGF- β may contribute to the clinical treatment of glioblastoma.

【Key words】 Glioblastoma; Tumor microenvironment; Transforming growth factor beta; T-lymphocytes; Immunohistochemistry

This study was supported by Basic and Applied Research of Science and Technology Program in Guangzhou, Guangdong (No. 202201011741), and Medical Science and Technology Research Foundation of Guangdong (No. B2021250).

Conflicts of interest: none declared

胶质母细胞瘤 (GBM) 是最常见且病死率最高的原发性恶性脑肿瘤, 预后差, 病因及发病机制复杂^[1]。治疗以手术切除为主, 辅以术后放疗, 但复发率较高^[2]。肿瘤微环境 (TME) 是肿瘤发展所需的特定环境, 主要由肿瘤细胞、免疫细胞、细胞因子、细胞外基质 (ECM)、肿瘤相关纤维母细胞等构成^[3], 与免疫系统密切联系, 如免疫细胞类型、丰度及免疫负性调节因子是肿瘤免疫治疗的关键因素。通过切断肿瘤微环境与肿瘤细胞之间的联系可以阻止肿瘤发展与转移^[4]。本研究拟重点描述以免疫细胞为主的免疫微环境, 通过描述 T 淋巴细胞 (CD3⁺、CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞)、抑制性免疫细胞 [FoxP3⁺ 调节性 T 细胞 (Treg)]、免疫抑制因子 [转化生长因子- β (TGF- β)] 和免疫抑制信号细胞程序性死亡蛋白配体 (PDL1) 在胶质母细胞瘤中的分布, 初步探究胶质母细胞瘤的抑制性免疫微环境, 为深入探索和夯实免疫治疗潜在理论基础, 以及靶向药物和免疫新疗法的研发提供可能依据。

材料与方 法

一、实验材料

1. 标本来源 随机选取 2020 年 11 月至 2021 年 4 月在暨南大学附属第一医院和广东三九脑科医院神经外科手术切除且保存完整的胶质瘤组织标本共 30 例, 均为胶质母细胞瘤, IDH 野生型。胶质母细胞瘤的诊断参照《2021 年世界卫生组织 (WHO) 中枢神经系统肿瘤分类 (第五版)》分级标准^[5], 并经影像学检查和术后病理学检查证实; 术前均未接受放疗及免疫治疗等; 排除其他恶性肿瘤、复发胶质母细胞瘤。所有患者均知晓其肿瘤组织在满足病理诊断的前提下, 样本可能用于科学研究或保存于医院生物样本库, 并签署知情同意书。30 例胶质母细胞瘤组织标本分别来自 30 例患者, 男性 21 例, 女

性 9 例, 男女比例为 2.33 : 1; 发病年龄 22 ~ 80 岁, 平均为 54.50 岁, 40 ~ 70 岁者 24 例 (80%)、22 ~ 39 岁者 4 例 (13.33%)、71 ~ 80 岁者 2 例 (6.67%); 肿瘤主要位于额叶 (40%, 12/30), 其次依次位于颞叶 (26.67%, 8/30)、顶叶 (20%, 6/30)、枕叶和丘脑 (各 6.67%, 2/30)。

2. 主要试剂与仪器 (1) 主要试剂: CD3 抗体 (规格 3 ml, 即用型) 购自河南赛诺特生物技术有限公司, CD4 抗体 (规格 3 ml, 即用型) 和 CD8 抗体 (规格 3 ml, 即用型) 购自北京中杉金桥生物技术有限公司, PDL1 抗体 (规格 150 μ g/ml, 滴度 1 : 50) 购自丹麦 Dako 公司, TGF- β 抗体 (规格 1 mg/ml, 滴度 1 : 1000) 购自美国 Bio-Rad 公司, FoxP3 抗体 (规格为 10 μ g/ml, 滴度 1 : 100) 购自英国 Abcam 公司, 免疫组化抗原修复缓冲液 (规格 100 ml, EDTA 型, pH 值为 8.0) 和免疫显色试剂-B 系列 [规格 600 人份/盒 (袋)] 均购自广州安必平医药科技股份有限公司, 体积分数为 3% 过氧化氢溶液 (规格 100 ml) 购自广东恒健制药有限公司, 快速免疫染色封闭液 (规格 100 ml) 购自碧云天生物技术公司。(2) 主要仪器: 全自动组织脱水机 (型号 MEDITE TPC-15 Duo)、组织包埋机 (型号 MEDITE TES-99) 购自德国 Medite 公司, 冷冻台 (型号 WEXIS CP380) 购自广州维格斯生物科技有限公司, 自动轮转切片机 (型号 Thermo HM355S) 购自美国 Thermo Scientific 公司, 恒温摊烤片机 (型号 TZR TKP-1) 购自武汉天之瑞医疗科技有限公司, 光学生物显微镜 (型号 Axio Scope A1) 购自蔡司科技 (苏州) 有限公司。

二、实验方法

1. HE 染色 取胶质母细胞瘤标本石蜡块进行连续切片, 厚度 4 μ m, 置于 70 $^{\circ}$ C 烤箱烘烤 20 min。经二甲苯脱蜡 5 min (\times 3 次), 无水乙醇洗涤 1 min (\times 3 次), 体积分数 75% 乙醇洗涤 1 min (\times 2 次), 蒸馏水

洗涤 1 min(×2 次),苏木素染色 5 min,体积分数为 1% 盐酸乙醇分化 15 s,流水冲洗 5 min,饱和碳酸铝溶液返蓝 1 min,蒸馏水冲洗 5 min,伊红染色 5 min,蒸馏水冲洗 5 min,体积分数为 95% 乙醇洗涤 1 min(×3 次),无水乙醇洗涤 1 min(×3 次),以二甲苯透明 5 min(×3 次),中性树胶封片。于光学显微镜下观察胶质母细胞瘤组织学形态。

2. 免疫组化染色 取胶质母细胞瘤标本石蜡块行连续切片,厚度 4 μm,置于 70 °C 烤箱烘烤 20 min。二甲苯脱蜡 15 min(×2 次),依次置于无水乙醇,体积分数 95%、85%、75% 乙醇,蒸馏水洗涤各 5 min,免疫组化抗原修复缓冲液(EDTA 型,pH 值 8.0)高温高压修复抗原 3 min,自然冷却至室温,磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 3 min(×3 次),体积分数为 3% 过氧化氢溶液微波低火 4 min 以阻断内源性过氧化物酶活性,快速免疫染色封闭液室温封闭 30 min。分别以 CD3 抗体、CD4 抗体、CD8 抗体、PDL1 抗体、TGF-β 抗体、FoxP3 抗体 37 °C 孵育 2 h,磷酸盐缓冲液洗涤 3 min(×3 次),免疫显色试剂-B 系列中鼠抗人/兔抗人 II 抗 37 °C 孵育 20 min,磷酸盐缓冲液洗涤 3 min(×3 次),3,3'-二氨基联苯胺四盐酸盐染色,蒸馏水终止反应,苏木素复染及返蓝,中性树胶封片。于光学显微镜下观察免疫组化染色结果。

3. 免疫组化结果判定 (1)CD3⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、FoxP⁺Treg 细胞比例评估:采用综合评分方法^[6]评估阳性细胞比例,综合评分 = 染色评分 × 染色细胞占比评分。染色评分分为 0~3 分,0 分,胞核和(或)胞质内无黄色或棕色染色;1 分,胞核和(或)胞质内有淡黄色染色;2 分,胞核和(或)胞质内有棕色染色;3 分,胞核和(或)胞质内有棕褐色染色。染色细胞占比评分根据人工计数的染色细胞数目占所有肿瘤细胞的比例分为 1~4 分,1 分,染色细胞占比 ≤ 25%;2 分,染色细胞占比 > 25% ~ 50%;3 分,染色细胞占比 > 50% ~ 75%;4 分,染色细胞占比 > 75%。综合评分 < 3 分为免疫组化染色阴性,≥ 3 分为免疫组化染色阳性。本研究仅对综合评分 ≥ 3 分的肿瘤标本进行阳性细胞比例评估并观察其分布。(2)TGF-β 和 PDL1 蛋白免疫组化染色结果判定:免疫组化检测 TGF-β 阳性定位于胶质母细胞瘤胞质内,PDL1 阳性定位于胶质母细胞瘤胞膜上,胶质母细胞瘤胞质呈棕黄色为 TGF-β 和 PDL1 呈强阳性,黄色为阳性,淡黄色为弱阳性,无黄色和棕色为阴性^[6]。

结 果

HE 染色显示,丰富的神经胶质背景中肿瘤细胞密度增加,异形性明显(图 1)。本组 30 例胶质母细胞瘤标本,CD4⁺T 细胞比例极少,其中 14 例(46.67%)未检测到 CD4⁺T 细胞,13 例(43.33%)占比 < 3%,3 例(10%)占比约为 5%(图 2);15 例(50%)CD3⁺T 细胞占比 < 3%,11 例(36.67%)占比为 3% ~ 10%,4 例(13.33%)占比 > 10%(图 3)。连续切片观察显示,胶质母细胞瘤 CD3⁺T 细胞主要为 CD8⁺T 细胞,因此 CD8⁺T 细胞分布与 CD3⁺T 细胞类似,分别有 16 例(53.33%)CD8⁺T 细胞占比 < 3%、10 例(33.33%)占比 3% ~ 10%、4 例(13.33%)占比 > 10%(图 4)。仅 2 例(6.67%)检测到极少 FoxP3⁺Treg 细胞(3~4 个,图 5)。

本组有 24 例(80%)胶质母细胞瘤标本 TGF-β 蛋白呈阳性,6 例(20%)呈阴性,提示大多数胶质母细胞瘤细胞内有免疫抑制因子 TGF-β 蛋白的表达;进一步观察发现,TGF-β 表达与 CD3⁺T 细胞分布之间存在相关性,TGF-β 强阳性区域均无 CD3⁺T 细胞分布,TGF-β 弱阳性区域可见 CD3⁺T 细胞占比 > 3%(图 6)。无一例检测到 PDL1 的表达。

讨 论

近年来,肿瘤免疫疗法为肿瘤治疗带来新变革,但不同类型恶性肿瘤的临床疗效差异较大,实体肿瘤抑制性免疫微环境影响效应 T 淋巴细胞的浸润和功能,是导致疗效欠佳的重要因素。因此,研究胶质母细胞瘤肿瘤微环境有助于阐明疾病的免疫分子机制和潜在的耐药机制,为探索有效的胶质母细胞瘤免疫疗法提供指导,对临床患者获益具有重大意义。

T 淋巴细胞的表型(如 CD4⁺、CD8⁺)和丰度在不同类型的肿瘤微环境中存在差异,这极大地影响对免疫疗法的药物反应^[7]。实体肿瘤存在抑制性肿瘤微环境,这种抑制性来源于多种因素的负性调控,肿瘤间质内 T 淋巴细胞的抗肿瘤功能即受肿瘤微环境中多种因素调节,其中的负性调控因素主要包括抑制性免疫细胞如 FoxP3⁺Treg 细胞、免疫抑制因子如 TGF-β 蛋白、免疫抑制信号(即免疫检查点)如 PD1/PDL1 等。CD8⁺T 细胞承担杀伤肿瘤细胞的主要功能,但本研究发现,CD8⁺T 细胞在胶质母细胞瘤中的分布比例并不高,53.33% 标本(16/30)CD8⁺T 细

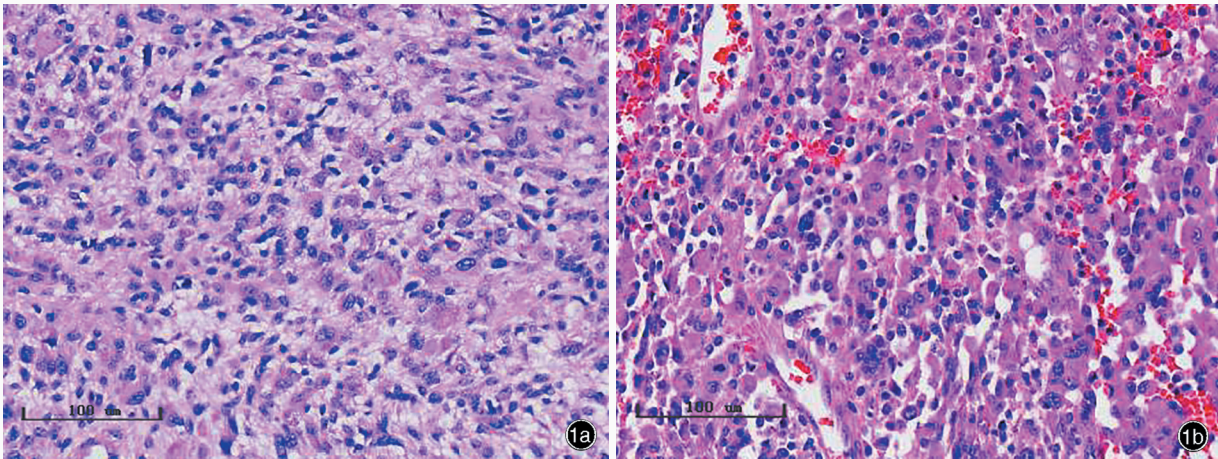


图 1 胶质母细胞瘤组织学形态所见 HE 染色 ×200 1a 丰富的神经胶质背景中肿瘤细胞密度显著增加,核分裂象易见 1b 部分肿瘤细胞间质内可见较多小淋巴细胞

Figure 1 Glioblastoma histomorphology findings HE staining ×200 Tumor cell density was severely increased in the rich glial background, with active mitotic (Panel 1a). There were more small lymphocytes in the interstitium of the tumor cells (Panel 1b).

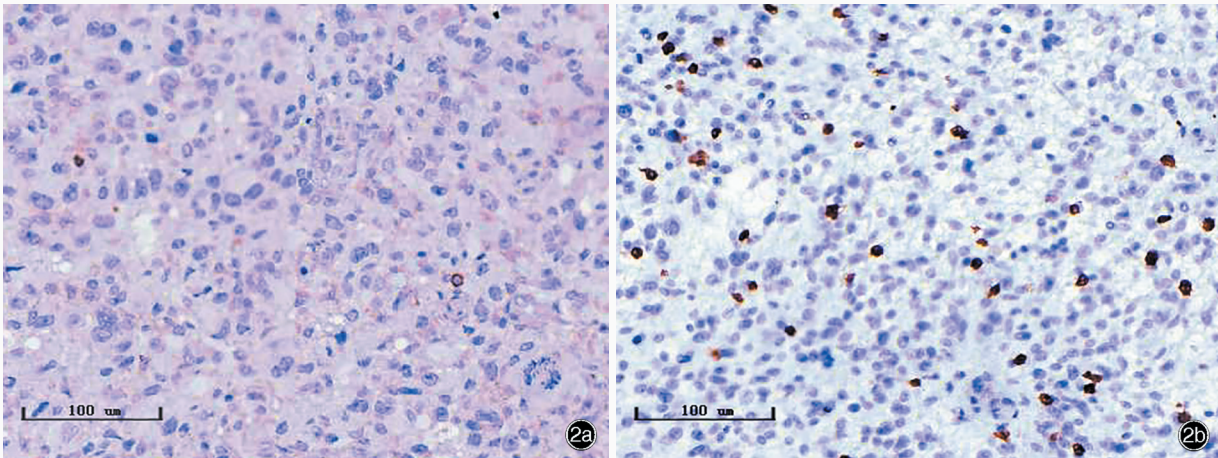


图 2 CD4⁺T 细胞在胶质母细胞瘤中的分布 免疫组化染色(SP 二步法) ×200 2a 胶质母细胞瘤细胞中可见极个别 CD4⁺T 细胞 2b CD4⁺T 细胞在胶质母细胞瘤中占比约为 5%

Figure 2 Distribution of CD4⁺ T cells in glioblastoma Immunohistochemistry staining (SP) ×200 The proportion of CD4⁺ T cells in glioblastoma showed very few cells were positive (Panel 2a), and about 5% (Panel 2b).

胞占比 < 3%, 另仅 13.33% (4/30) CD8⁺T 细胞占比 > 10%, 提示肿瘤抑制性微环境阻碍 CD8⁺T 细胞浸润; 而仅靠自身免疫系统根本无法在术后清除残留的肿瘤细胞; 因血脑屏障的存在, 药物也无法完全到达组织病变处, 且因特殊的肿瘤微环境及肿瘤细胞耐药性等诸多因素, 导致胶质母细胞瘤药物治疗效果欠佳, 患者预后较差, 5 年生存率不足 10%^[8-10]。有研究显示, 低剂量放疗可以对缺乏免疫细胞浸润的肿瘤微环境进行重新编程, 促进多种免疫细胞的浸润, 并与免疫治疗一并促进免疫反应的激活, 协同杀伤肿瘤细胞^[11]。提示对于胶质母细胞瘤这类“冷肿瘤”, 有望采用放疗与免疫疗法联合的治疗手

段以提高疗效。

TGF-β 蛋白是一组能够调节细胞生长和分化功能的多肽, 具有诱导细胞凋亡、抑制细胞增殖的作用。在肿瘤发展早期, 正常细胞通过旁分泌途径产生 TGF-β 蛋白, TGF-β 蛋白主要通过抑制上皮细胞、内皮细胞和造血细胞的增殖, 发挥抑制肿瘤细胞生长的积极作用; 随着肿瘤进一步发展, 肿瘤细胞可自分泌 TGF-β 蛋白, 这时在缺氧状态下, TGF-β 蛋白能够与肿瘤组织中的免疫细胞相互作用, 导致免疫抑制性细胞增多, 同时减少抗肿瘤免疫细胞的浸润, 促进肿瘤组织中血管形成; 肿瘤细胞亦会耐受 TGF-β 蛋白的抑制作用, 形成一个有利于肿瘤细胞

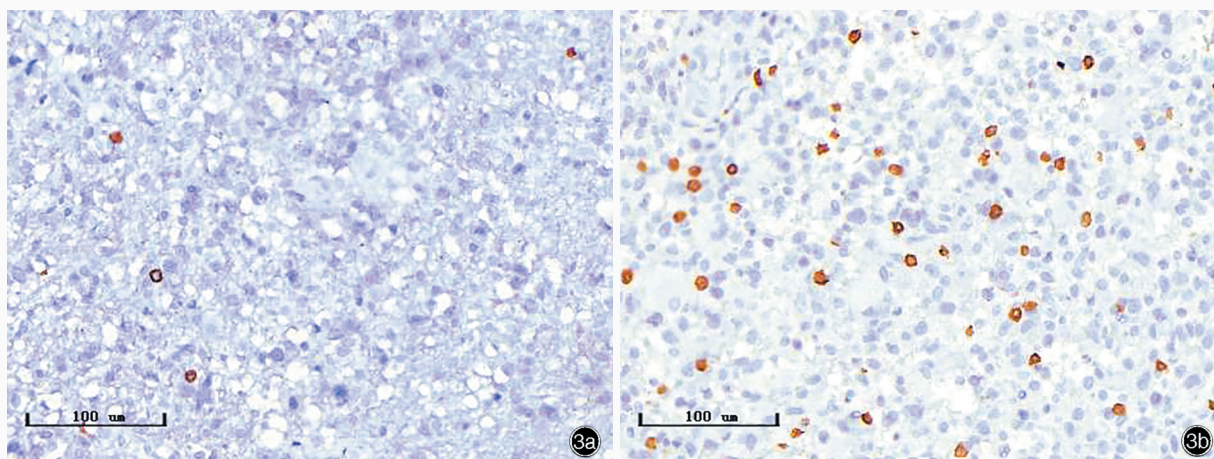


图3 CD3⁺T细胞在胶质母细胞瘤中的分布 免疫组化染色(SP二步法) ×200 3a CD3⁺T细胞在胶质母细胞瘤中占比<3% 3b CD3⁺T细胞在胶质母细胞瘤中占比约10%

Figure 3 Distribution of CD3⁺ T cells in glioblastoma Immunohistochemistry staining (SP) ×200 The proportion of CD3⁺ T cells in glioblastoma was less than 3% (Panel 3a), and about 10% (Panel 3b).

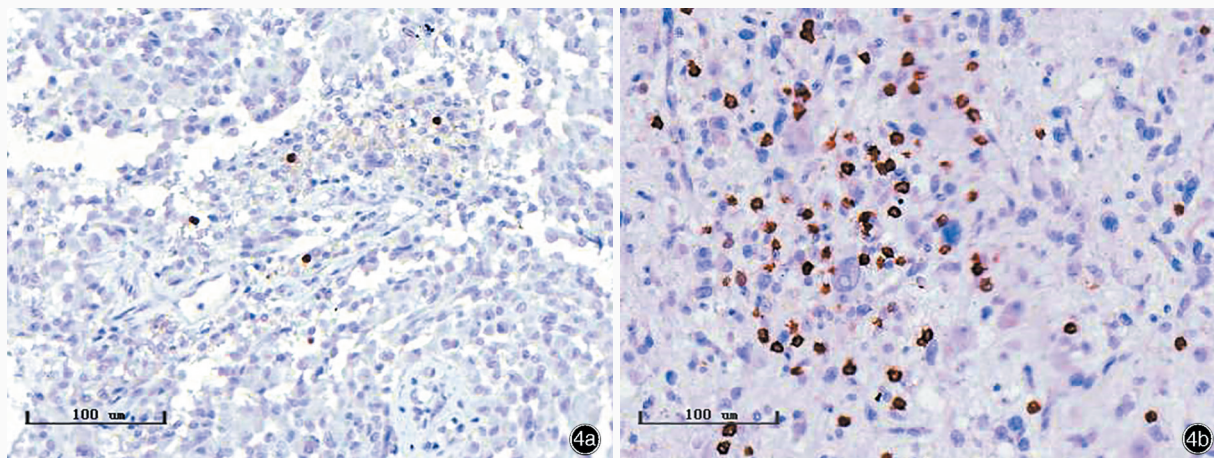


图4 CD8⁺T细胞在胶质母细胞瘤中的分布 免疫组化染色(SP二步法) ×200 4a CD8⁺T细胞在胶质母细胞瘤中占比<3% 4b CD8⁺T细胞在胶质母细胞瘤中占比>10%

Figure 4 Distribution of CD8⁺ T cells in glioblastoma Immunohistochemistry staining (SP) ×200 The proportion of CD8⁺ T cells in glioblastoma was less than 3% (Panel 4a), and more than 10% (Panel 4b).

生长的免疫抑制性肿瘤微环境^[12-15]。此外,TGF-β蛋白可抑制T淋巴细胞、B淋巴细胞的增殖分化,抑制自然杀伤细胞(NK)的杀伤作用,抑制免疫系统发挥作用,使肿瘤细胞发生免疫逃逸^[14-15]。本研究发现,TGF-β蛋白在胶质母细胞瘤标本中表达比例高达80%(24/30),且TGF-β蛋白表达与CD3⁺T细胞分布存在负相关之趋势,提示胶质母细胞瘤免疫抑制性微环境可能主要受免疫抑制因子TGF-β蛋白的调控。可能机制是,脑部发生肿瘤时,星形胶质细胞被激活,并分泌TGF-β蛋白,TGF-β蛋白与其受体结合后使SMAD2/3发生磷酸化,磷酸化的SMAD2/3与SMAD4形成复合物,调控血管生成素样蛋白4

(ANGPTL4)的转录,TGF-β蛋白促使肿瘤细胞分泌更多的ANGPTL4,后者可破坏血管内皮细胞,导致肿瘤细胞发生转移及脑损伤^[16]。此外,本研究仅在2例(6.67%)胶质母细胞瘤检测到FoxP3⁺Treg细胞阳性,表明FoxP3⁺Treg细胞并非是肿瘤具有抑制性微环境的主要原因。表达于活化的T淋巴细胞PD1与其受体PDL1结合后可减弱CD8⁺T细胞介导的细胞杀伤作用,导致免疫耐受的形成^[17-18]。本研究发现,胶质母细胞瘤标本中均无PDL1抑制因子表达,提示基于阻断PD1/PDL1信号转导通路的免疫疗法可能对胶质母细胞瘤疗效甚微。上述研究提示,星形胶质细胞与肿瘤细胞之间可能存在正反馈,从而

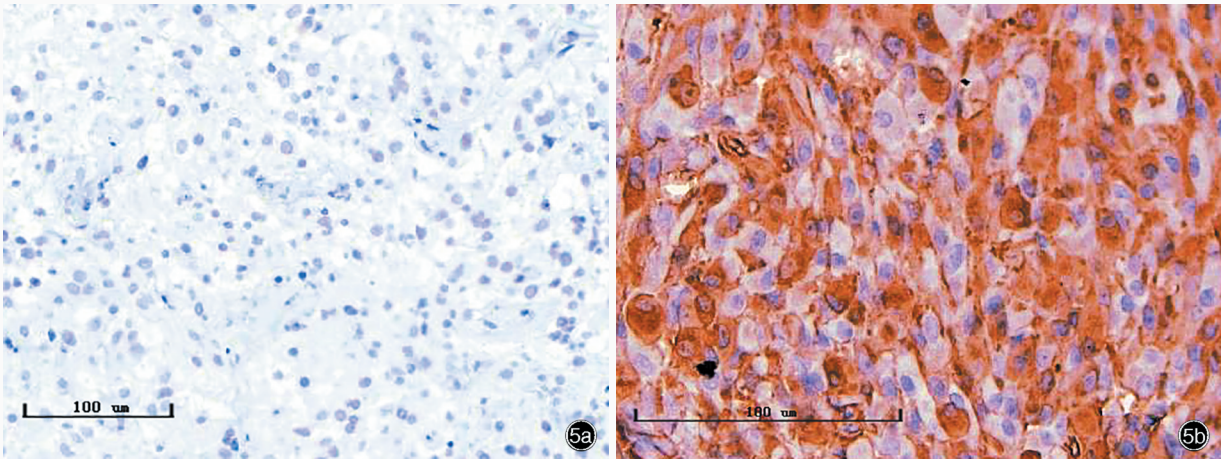


图 5 FoxP3⁺Treg 细胞及 TGF-β 在胶质母细胞瘤中的分布 免疫组化染色(SP 二步法) 5a FoxP3⁺Treg 细胞在胶质母细胞瘤中的分布极低 ×200 5b TGF-β 在胶质母细胞瘤细胞质呈强阳性表达 ×400

Figure 5 Distribution of FoxP3⁺ Treg cells and TGF-β in glioblastoma Immunohistochemistry staining (SP) Infiltration of FoxP3⁺ Treg cells were extremely in glioblastoma (Panel 5a). ×200 TGF-β was strongly positive in glioblastoma (Panel 5b). ×400

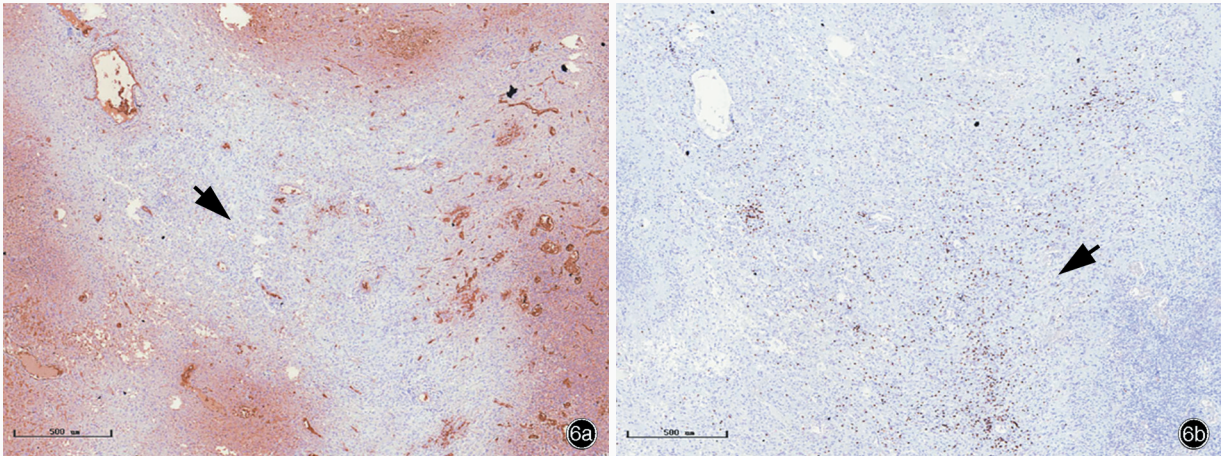


图 6 TGF-β、CD3⁺T 细胞在胶质母细胞瘤中的分布 免疫组化染色(SP 二步法) ×50 6a 肿瘤细胞 TGF-β 弱阳性或阴性区域(箭头所示) 6b 该区域 CD3⁺T 细胞占比明显增加(箭头所示)

Figure 6 Distribution of TGF-β and CD3⁺ T cells in glioblastoma Immunohistochemistry staining (SP) ×50 The area of TGF-β was weakly positive or negative (arrow indicates, Panel 6a). The proportion of CD3⁺ T cells was significantly increased (arrow indicates, Panel 6b).

产生更强的促肿瘤细胞生长作用。未来在针对胶质母细胞瘤以 TGF-β 蛋白为靶点设计药物或免疫疗法,可在一定程度上改善肿瘤抑制性免疫微环境,增强免疫细胞的浸润,极有可能助力胶质母细胞瘤的临床治疗^[19-20]。

综上所述,TGF-β 蛋白在胶质母细胞瘤标本中表达比例高达 80%,提示胶质母细胞瘤的免疫微环境主要受免疫抑制因子 TGF-β 蛋白的调控,有助于阐明胶质母细胞瘤的免疫分子机制和潜在耐药机制。然而遗憾的是,本研究对 TGF-β 蛋白仅进行描述性研究,未进行定量分析及统计学分析。面对复杂的肿瘤免疫微环境,本研究仅为初步探索,未来

将继续扩大样本量,增加研究手段并加大研究深度,为探索有效的胶质母细胞瘤免疫疗法提供理论指导。

利益冲突 无

参 考 文 献

[1] Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, Ohgaki H, Wiestler OD, Kleihues P, Ellison DW. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary[J]. Acta Neuropathol, 2016, 131:803-820.
 [2] Tan AC, Ashley DM, López GY, Malinzak M, Friedman HS, Khasraw M. Management of glioblastoma: state of the art and future directions[J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70:299-312.
 [3] Schulz M, Salamero-Boix A, Niesel K, Alekseeva T, Sevenich L.

- Microenvironmental regulation of tumor progression and therapeutic response in brain metastasis [J]. *Front Immunol*, 2019, 10:1713.
- [4] Chen J, Lee H, Schmitt P, Choy CJ, Miller DM, Williams BJ, Bearer EL, Frieboes HB. Bioengineered models to study microenvironmental regulation of glioblastoma metabolism [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2021, 80:1012-1023.
- [5] Wang L, Pan YW, Qu Y, Gong L. Interpretation on adult-type diffuse gliomas in the 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System (fifth edition) [J]. *Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi*, 2021, 21:783-790. [王樑, 潘亚文, 屈延, 巩丽. 2021 年世界卫生组织中枢神经系统肿瘤分类 (第五版) 成人型弥漫性胶质瘤分类解读 [J]. *中国现代神经疾病杂志*, 2021, 21:783-790.]
- [6] Park JM, Kim DH, Na HK, Surh YJ. Methylseleninic acid induces NAD(P)H: quinone oxidoreductase-1 expression through activation of NF-E2-related factor 2 in Chang liver cells [J]. *Oncotarget*, 2016, 9:3014-3028.
- [7] Zheng L, Qin S, Si W, Wang A, Xing B, Gao R, Ren X, Wang L, Wu X, Zhang J, Wu N, Zhang N, Zheng H, Ouyang H, Chen K, Bu Z, Hu X, Ji J, Zhang Z. Pan-cancer single-cell landscape of tumor-infiltrating T cells [J]. *Science*, 2021, 374:abe6474.
- [8] Tewarie IA, Senders JT, Kremer S, Devi S, Gormley WB, Arnaut O, Smith TR, Broekman MLD. Survival prediction of glioblastoma patients: are we there yet? A systematic review of prognostic modeling for glioblastoma and its clinical potential [J]. *Neurosurg Rev*, 2021, 44:2047-2057.
- [9] Ironside S, Das S, Sahgal A, Moroney C, Mainprize T, Perry JR. Optimal therapies for newly diagnosed elderly patients with glioblastoma [J]. *Curr Treat Options Oncol*, 2017, 18:66.
- [10] Sasmita AO, Wong YP, Ling APK. Biomarkers and therapeutic advances in glioblastoma multiforme [J]. *Asia Pac J Clin Oncol*, 2018, 14:40-51.
- [11] Herrera FG, Ronet C, Ochoa de Olza M, Barras D, Crespo I, Andreatta M, Corria-Osorio J, Spill A, Benedetti F, Genolet R, Oreurto A, Imbimbo M, Ghisoni E, Navarro Rodrigo B, Berthold DR, Sarivalasis A, Zaman K, Duran R, Dromain C, Prior J, Schaefer N, Bourhis J, Dimopoulou G, Tsourtis Z, Messemaker M, Smith T, Warren SE, Foukas P, Rusakiewicz S, Pittet MJ, Zimmermann S, Sempoux C, Dafni U, Harari A, Kandalaft LE, Carmona SJ, Dangaj Laniti D, Irving M, Coukos G. Low-dose radiotherapy reverses tumor immune desertification and resistance to immunotherapy [J]. *Cancer Discov*, 2022, 12:108-133.
- [12] Zhang YF, Jiang SH, Hu LP, Huang PQ, Wang X, Li J, Zhang XL, Nie HZ, Zhang ZG. Targeting the tumor microenvironment for pancreatic ductal adenocarcinoma therapy [J]. *Chin Clin Oncol*, 2019, 8:18.
- [13] Hao Y, Baker D, Ten Dijke P. TGF- β -mediated epithelial-mesenchymal transition and cancer metastasis [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20:2767.
- [14] Derynck R, Budi EH. Specificity, versatility, and control of TGF- β family signaling [J]. *Sci Signal*, 2019, 12:eaav5183.
- [15] Larson C, Oronsky B, Carter CA, Oronsky A, Knox SJ, Sher D, Reid TR. TGF- β : a master immune regulator [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2020, 24:427-438.
- [16] Lu Y, Han S, Zheng H, Ma R, Ping Y, Zou J, Tang H, Zhang Y, Xu X, Li F. A novel RGDyC/PEG co-modified PAMAM dendrimer-loaded arsenic trioxide of glioma targeting delivery system [J]. *Int J Nanomedicine*, 2018, 13:5937-5952.
- [17] Lei Q, Wang D, Sun K, Wang L, Zhang Y. Resistance mechanisms of anti-PD1/PDL1 therapy in solid tumors [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8:672.
- [18] Kornepati AVR, Vadlamudi RK, Curiel TJ. Programmed death ligand 1 signals in cancer cells [J]. *Nat Rev Cancer*, 2022, 22:174-189.
- [19] Senatorov VV Jr, Friedman AR, Milikovsky DZ, Ofer J, Saara-Ashkenazy R, Charbash A, Jahan N, Chin G, Mihaly E, Lin JM, Ramsay HJ, Moghbel A, Preininger MK, Eddings CR, Harrison HV, Patel R, Shen Y, Ghanim H, Sheng H, Veksler R, Sudmant PH, Becker A, Hart B, Rogawski MA, Dillin A, Friedman A, Kaufer D. Blood-brain barrier dysfunction in aging induces hyperactivation of TGF β signaling and chronic yet reversible neural dysfunction [J]. *Sci Transl Med*, 2019, 11:eaaw8283.
- [20] Gong X, Hou Z, Endsley MP, Gronseth EI, Rarick KR, Jorns JM, Yang Q, Du Z, Yan K, Bordas ML, Gershan J, Deepak P, Geethadevi A, Chaluvally-Raghavan P, Fan Y, Harder DR, Ramchandran R, Wang L. Interaction of tumor cells and astrocytes promotes breast cancer brain metastases through TGF- β 2/ANGPTL4 axes [J]. *NPJ Precis Oncol*, 2019, 3:24.

(收稿日期:2023-03-15)

(本文编辑:袁云)

《中国现代神经疾病杂志》关于谨防伪造微信采编中心的声明

《中国现代神经疾病杂志》编辑部近期发现伪造本刊微信采编中心的非法行为,微信号 jiyau1583, 昵称知了, 伪造《中国现代神经疾病杂志》采编中心。该微信号以核对作者信息为由, 请我刊作者添加其为微信好友, 借以窃取相关信息甚至索取审稿费和版面费等, 此举对我刊及广大作者、读者造成严重不良影响。

《中国现代神经疾病杂志》特此郑重声明: 我刊迄今为止并未建立微信平台的采编中心, 作者投稿的唯一途径是登录我刊官方网站 www.xdjb.org, 进入“作者在线投稿”界面, 按照操作提示提交稿件。稿件经外审通过后, 需作者配合修改, 达到发表要求后方可待编、排期和刊出, 这一过程中编辑部人员与作者之间的联系均采用我刊公共邮箱 (xdsjbbzz@263.net.cn) 和公用电话 [(022)59065611, 59065612]。

若遇假冒我刊网站、伪造我刊采编中心、中介、代理等不法事件, 欢迎广大作者和读者向我刊提供相关线索! 对于以我刊名义从事非法活动的个别网站或微信号, 我刊保留通过法律途径解决问题的权利。此声明长期有效, 最终解释权归我刊所有。