胶质母细胞瘤铜死亡相关免疫检查点基因特征及潜在候选药物分析

施晓艳，黄珊，杨佳，李海涛*
重庆两江新区第一人民医院 神经外科，重庆 401121

摘 要：目的 综合运用生物信息学方法进行胶质母细胞瘤铜死亡相关免疫检查点基因（ICGs）特征分析及潜在候选药物预测。**方法** 从癌症基因组图谱（TCGA）数据库下载胶质母细胞瘤患者 mRNA 表达和临床信息。采用 Cox 回归、Lasso 回归及交叉验证筛选预后相关的 ICGs，构建风险模型并对胶质母细胞瘤患者进行风险评分。利用风险评分及临床特征构建列线图预测模型，通过校准曲线及受试者特征曲线（ROC）曲线进行验证。利用 Kaplan-Meier 曲线对高、低风险组进行预后分析。利用 DSigDB 数据库筛选 ICGs 相关的潜在候选药物，并对高、低风险组药物敏感性进行分析。**结果** 共得到 36 个铜死亡相关的 ICGs。通过 Cox 回归、Lasso 回归筛选出 4 个预后相关 ICGs，分别是 CD276、TNFSF14、CD40、TNFSF9。多因素 Cox 回归结果示，风险评分是胶质母细胞瘤患者的独立预后因子。ROC 曲线图预测 1、3 年生存率的 ROC 曲线下面积分别为 0.726（95% CI：0.637～0.816）、0.731（95% CI：0.593～0.870）。GSEA 分析结果显示，DNA 复制、间隙连接、糖胺聚糖生物合成等癌症通路主要富集在高风险组。高风险组患者中 $CD4^+$ T 细胞、中性粒细胞、巨噬细胞、髓样树突状细胞免疫浸润水平较低风险组升高，达沙替尼、二甲基乙二酰氨基乙酸的半数抑制浓度（IC_{50}）较低风险组减小。从 DSigDB 数据库得到 8 种可能对胶质母细胞瘤患者有益的小分子药物。**结论** 筛选出 4 个预后有关的铜死亡相关 ICGs，以此构建的风险模型具有较好的预后价值，并确定了 8 种 ICGs 相关治疗胶质母细胞瘤患者的潜在候选药物。

关键词：胶质母细胞瘤；铜死亡；免疫检查点；癌症基因组图谱；达沙替尼；二甲基乙二酰氨基乙酸
中图分类号：R965 **文献标志码：**A **文章编号：**1674 - 5515(2023)02 - 0280 - 09
DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.02.005

Gene signature of copper death-related immune checkpoints in glioblastoma and analysis of potential drug candidates

SHI Xiao-yan, HUANG Shan, YANG Jia, LI Hai-tao
Department of Neurosurgery, The First People's Hospital of Chongqing Liang Jiang New District, Chongqing 401121, China

Abstract: Objective To comprehensively use bioinformatics methods to analyze the characteristics of copper death-related immune checkpoint genes (ICGs) and predict potential drug candidates in glioblastoma. **Methods** The mRNA expression and clinical information of glioblastoma patients were obtained from The Cancer Genome Atlas (TCGA) database. The Cox regression, Lasso regression and cross-validation were used to screen out the ICGs related to prognosis, then construct a risk model and score the risk of glioblastoma patients. A nomogram prediction model was constructed using risk scores and clinical characteristics, and verified by calibration curve and ROC curve. Prognostic analysis of high and low risk groups was performed using Kaplan-Meier curves. The DSigDB database was used to screen potential drug candidates related to ICGs, and the drug sensitivity of high and low risk groups was analyzed. **Results** A total of 36 copper death-related ICGs were obtained. Four prognosis-related ICGs were screened by Cox regression and Lasso regression, namely CD276, TNFSF14, CD40, and TNFSF9. Multivariate Cox regression results showed that risk score was an independent prognostic factor for glioblastoma patients. The results of the ROC curve showed that the area under the ROC curve of the nomogram to predict the 1-year and 3-year survival rates was 0.726 (95% CI: 0.637 — 0.816) and 0.731 (95% CI: 0.593 — 0.870), respectively. The results of GSEA analysis showed that cancer pathways such as DNA replication, gap junctions, and glycosaminoglycan biosynthesis were mainly enriched in high-risk groups. The immune infiltration levels of $CD4^+$ T cells, neutrophils, macrophages, and myeloid dendritic cells in the high-risk group were significantly increased, while the IC_{50}s of dasatinib and dimethyloxalylglycine were significantly decreased. Eight small-molecule drugs that may benefit glioblastoma patients were obtained

收稿日期：2022-09-16
作者简介：施晓艳，女，本科，研究方向为神经肿瘤。E-mail: shixiaoyan_2018@163.com
***通信作者：**李海涛，男，副主任医师。E-mail: 1151037328@qq.com

from the DSigDB database. **Conclusion** In this study, 4 prognostic copper death-related ICGs were screened, and the risk model constructed by these ICGs had good prognostic value, and 8 potential drug candidates related to ICGs were identified for the treatment of glioblastoma patients.

Key words: glioblastoma; copper death; immune checkpoints; TCGA; dasatinib; dimethyloxalylaminoacetic acid

胶质母细胞瘤是恶性程度最高的胶质瘤类型，具有增殖快和侵袭性强的特点，约占原发性恶性脑肿瘤的 48.6%[1]。目前，手术切除联合放化疗仍是胶质瘤治疗的主要手段[2]。尽管大量研究都集中在改进治疗策略上，但胶质母细胞瘤患者的预后仍然很差，中位生存时间约为 14 个月[3]。因此，探索胶质母细胞瘤潜在的治疗靶点具有重要的临床意义。免疫检查点是免疫刺激和抑制途径的调节剂，对自身免疫耐受及外周免疫反应的调节都非常重要[4]。研究表明，肿瘤可能会通过激活免疫检查点通路从而避免被免疫系统识别来抑制免疫反应[5]。因此，免疫检查点阻断疗法已成为癌症免疫治疗的潜在策略[6]。免疫检查点基因（ICGs），如细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原-4（CTLA-4）和抗程序性死亡蛋白 1（PD-1）/程序性死亡受体-配体-1（PD-L1）能参与免疫共刺激和抑制途径，可能作为免疫检查点阻断治疗的潜在靶点[7]。Lim 等[8]研究发现，PD-1 抑制剂可能改善胶质母细胞瘤患者总体生存率。Tsvetkov 等[9]研究发现，铜可以与脂酰化的三羧酸循环细胞周期蛋白结合并聚集，从而引发铁硫簇蛋白的丢失以及蛋白质毒性应激，导致细胞死亡，这是一种新的细胞死亡机制。目前，有关铜死亡相关 ICGs 与胶质母细胞瘤之间关系的研究报道较少。本研究综合运用生物信息学方法，通过癌症基因组图谱（TCGA）数据库获取胶质母细胞瘤患者 mRNA 表达和临床信息，筛选出预后相关的 ICGs 并构建风险模型，分析风险模型的生存预后价值及 ICGs 的免疫浸润特征，筛选出 ICGs 潜在候选药物，旨在为 ICGs 治疗胶质母细胞瘤的策略提供了理论依据。

1　资料与方法

1.1　资料来源

从 TCGA 数据库获取胶质母细胞瘤样本 RNA 数据矩阵和临床资料，剔除生存时间＜30 d 的样本，最后获得胶质母细胞瘤样本 169 例，对照样本 5 例。铜死亡相关基因来自 Tsvetkov 等[9]的报道，ICGs 来自 Hu 等[10]的报道。

1.2　铜死亡相关 ICGs 的筛选

从胶质母细胞瘤样本的 mRNA 矩阵中分别提取出铜死亡相关基因及 ICGs 的表达矩阵。利用“limma”包进行相关性分析，得到铜死亡相关 ICGs，其中代表相关系数（cor）＞0.3，P＜0.05 为正相关，cor＜−0.3，P＜0.05 为负相关，并利用 Cytoscape 3.8.2 软件进行可视化。

1.3　风险模型的构建与评估

利用 Cox 回归、Lasso 回归及交叉验证对 ICGs 中预后相关的 ICGs 进行筛选，然后利用公式：风险评分 $=\sum_{i=1}^{n}\beta_i \times E_i$对筛选出的预后相关 ICGs 进行风险评分，将评分大于中位数的患者分为高风险组，评分小于中位数的患者分为低风险组。最后，再利用风险模型热图及 Kaplan-Meier 生存分析图对风险模型进行评估。

1.4　列线图的构建与评估

利用“rms”包对预后相关的临床因素和 ICGs 进行列线图预测模型的构建，并且利用校准曲线和 ROC 曲线对预测模型的校准度和准确性进行评估。

1.5　基因集富集分析（GSEA）

利用“clusterProfiler”包进行 GSEA，再利用“enrichplot”包进行特定通路做图。

1.6　免疫浸润分析

分别利用 TIMER、CIBERSORT、CIBERSORTABS、QUANTISEQ、MCPCOUNTER、XCELL、EPIC 等方法进行免疫细胞浸润分析。并利用“pheatmap”包对分析结果进行可视化。

1.7　潜在小分子药物的筛选

利用 DSigDB 数据库（https://maayanlab.cloud/Enrichr/）对筛选的 ICGs 相关的潜在小分子药物进行分析，然后根据综合评分进行排序，选取排名前 8 位的药物作为筛选药物。

1.8　药物敏感性分析

利用“pRRophetic”R 包分析高、低风险组中预测药物的半数抑制浓度（IC_{50}），并进行药物敏感性分析。

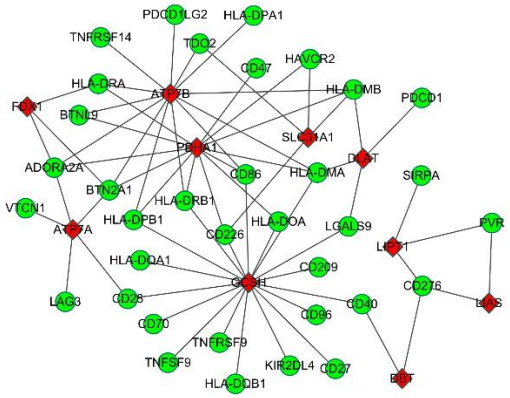
1.9　统计学分析

数据采用 R 4.1.3 软件进行统计分析。两组间比较采用两独立样本 Wilcoxon 秩和检验，P＜0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 铜死亡相关的 ICGs 的筛选

共筛选出 36 个铜死亡相关的 ICGs，其中正相关 ICGs 10 个，负相关 ICGs 26 个，见图 1。



菱形代表铜死亡相关基因，圆形代表 ICGs

diamonds represent copper death-related genes, circles represent ICGs

图 1 铜死亡相关 ICGs 网络图

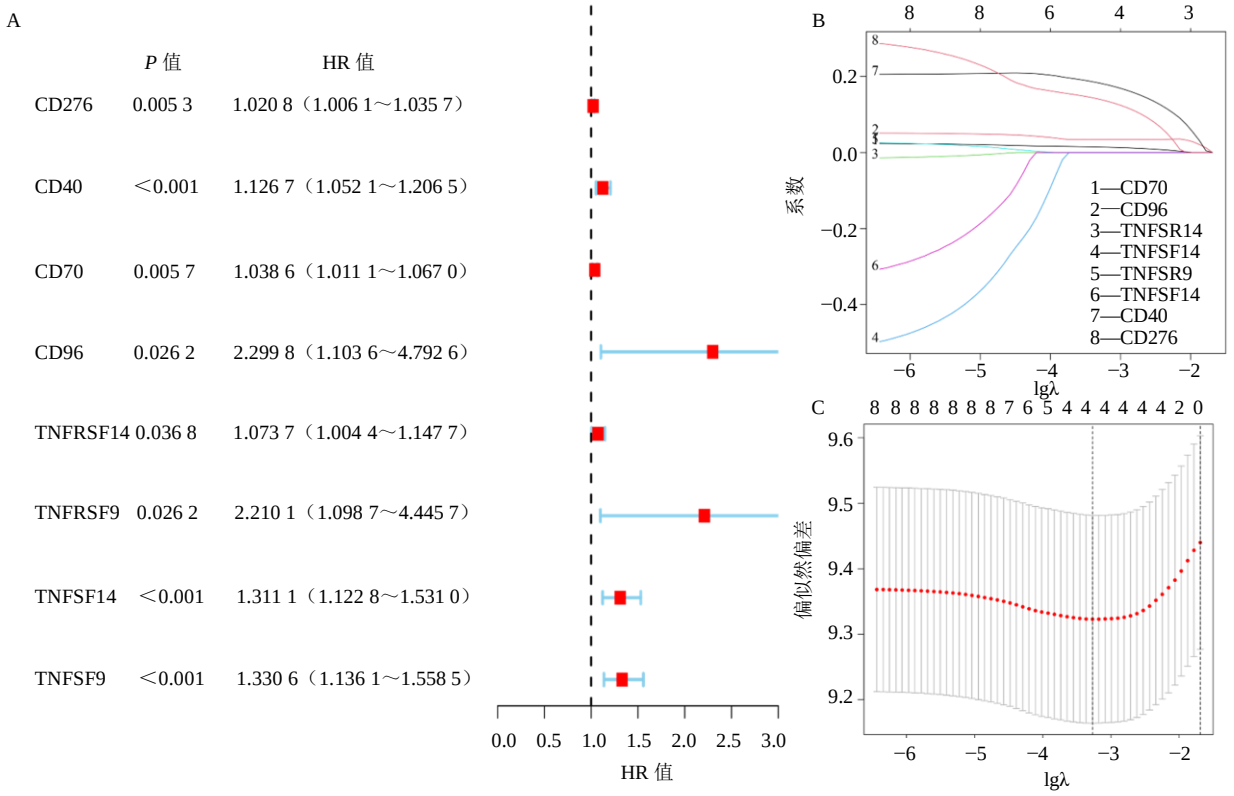
Fig. 1 Network diagram of ICGs related to copper death

2.2 预后相关 ICGs 的筛选及风险模型构建与评估

单因素 Cox 回归共筛选出 8 个预后相关的 ICGs（图 2A），进一步通过 Lasso 回归分析（图 2B、C）筛选出 4 个 ICGs。与低风险组比较，高风险组患者 CD276、TNFSF14、CD40、TNFSF9 升高，生存时间减小（图 3A、B）。表明 CD276、TNFSF14、CD40、TNFSF9 构建的风险模型具有较好的预后价值。

2.3 风险评分独立预后价值及与临床特征的关系

Cox 回归结果示，风险评分是胶质母细胞瘤患者的独立预后因子（图 4A、B）。性别、年龄等临床特征在高、低风险组间呈差异分布（图 4C）。在年龄≥60 岁胶质母细胞瘤患者中，高风险组生存时间与低风险组无显著差异（图 4D）。在年龄＜60 岁胶质母细胞瘤患者中，高风险组生存时间较低风险组减小（P＜0.05）（图 4E）。表明年龄是风险评分预后评估中的混杂因素，分层后风险评分在年龄＜60 岁胶质母细胞瘤患者中具有更高的预后价值。

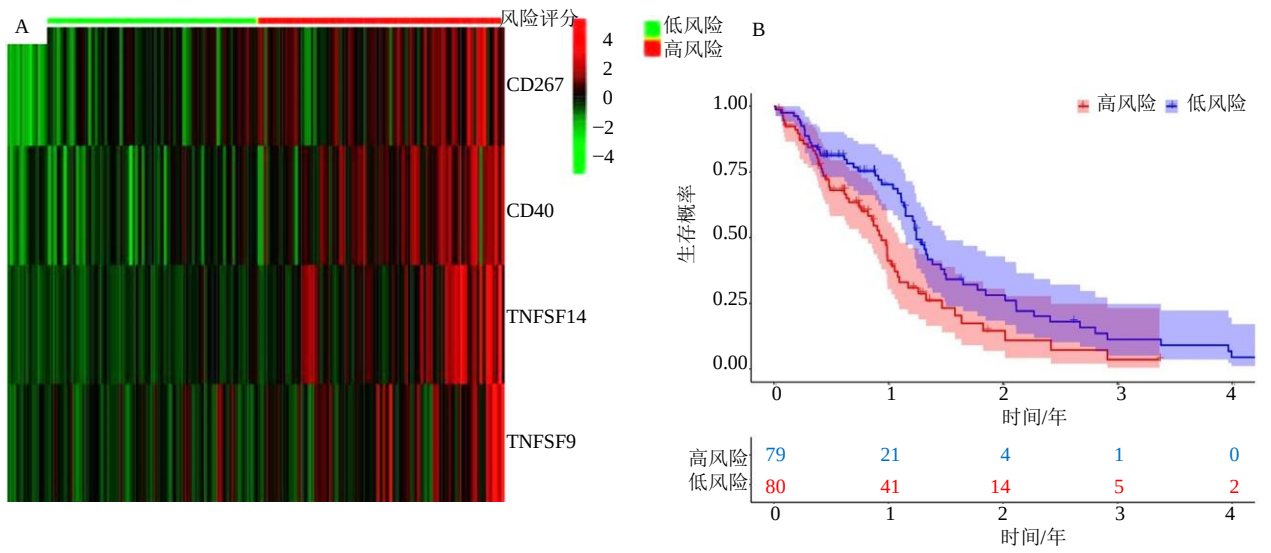


A-单因素 Cox 回归 B-Lasso 回归算法变量筛选 C-交叉验证参数 λ 选择

A-single factor Cox regression B-screening of Lasso regression algorithm variables C-selection of cross-validation parameter λ

图 2 预后相关 ICGs 的筛选

Fig. 2 Screening of prognostic-related ICGs



A-热图　B-Kaplan-Meier 生存分析

A-heat map　B-Kaplan-Meier survival analysis

图 3　风险模型评估

Fig. 3　Evaluation of risk model

2.4　基于风险评分和临床特征列线图的构建与评估

基于风险评分和临床特征构建的列线图如图 5A 所示。校准曲线结果显示列线图具有较好的校准度（图 5B），ROC 曲线结果显示列线图预测 1 年生存率和 3 年生存率的 ROC 曲线下面积分别为 0.726（95% CI：0.637～0.816）、0.731（95% CI：0.593～0.870）（图 5C）。表明列线图预测的 1 年生存率和 3 年生存率具有较高的准确度。

2.5　GSEA 分析

GSEA 分析结果示，DNA 复制、间隙连接、糖胺聚糖生物合成－硫酸软骨素/硫酸皮肤素、利什曼病、脂肪细胞中脂解的调节主要富集在高风险组（图 6A），内分泌和其他因子对钙重吸收的调节、叶啉代谢、肾素－血管紧张素系统、RNA 降解主要富集在低风险组（图 6B）。

2.6　免疫浸润水平分析

分别利用 TIMER、CIBERSORT、CIBERSORTABS、QUANTISEQ、MCPCOUNTER、XCELL、EPIC 等方法进行免疫细胞浸润分析，得到风险评分和免疫浸润之间的关系热图（图 7）。其中，TIMER 分析结果显示，与低风险组比较，高风险组患者中 $CD4^+$ T 细胞、中性粒细胞、巨噬细胞、髓样树突状细胞水平升高。表明高风险评分与免疫浸润程度密切相关。

2.7　基于铜死亡相关 ICGs 的小分子药物鉴定

本研究从 DSigDB 数据库中筛选出 ICGs 相关的前 8 位候选小分子药物依次是倍他米松戊酸酯、氟化物、替米利芬、胞壁酰二肽、U-73122、卡巴胆碱、聚肌胞苷酸、恩替司他，见表 1。表明高风险组患者可能受益于上述小分子药物。

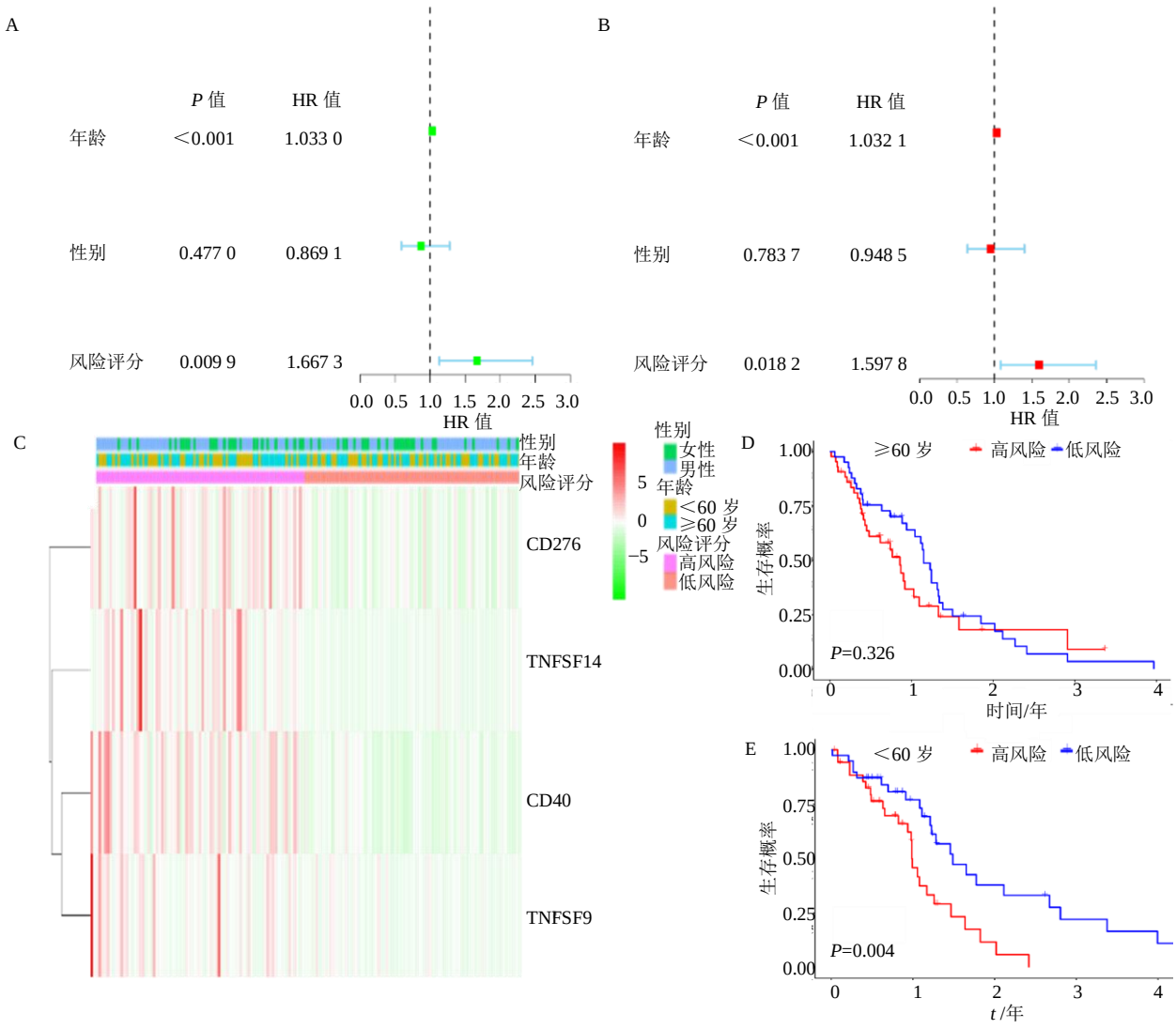
2.8　药物敏感性分析

与低风险组比较，高风险组患者中达沙替尼、二甲基乙二酰氨基乙酸 IC_{50} 减小，差异有统计学意义（$P<0.05$）（图 8）。表明高风险组患者对达沙替尼、二甲基乙二酰氨基乙酸更为敏感。

3　讨论

本研究通过 TCGA 数据库获得 169 例胶质母细胞瘤样本的 mRNA 及临床信息，并从 mRNA 矩阵中分别提取出铜死亡相关基因及 ICGs 的表达矩阵，通过相关性分析得到 36 个铜死亡相关的 ICGs。然后通过 Cox 回归及 Lasso 回归筛选出 CD276、TNFSF14、CD40、TNFSF9 等 4 个预后相关 ICGs，并以此建立风险模型。生存曲线及 ROC 曲线表明模型具有较好的预测价值，且多因素 Cox 回归表明风险评分是胶质母细胞瘤患者的独立预后指标。

近年来，肿瘤免疫治疗已成为手术、放化疗等常规治疗手段之外最有前景的治疗手段之一，尤其是免疫检查点抑制剂的研究进展迅速[11]。目前，美国食品药品监督管理局（FDA）已批准 PD-1/PD-L1 和 CTLA-4 等免疫检查点抑制剂用于黑色素瘤、非小细胞肺癌、乳腺癌等实体瘤，并表现出较好的治疗效果[12]。但免疫检查点抑制剂对于胶质母细胞瘤



A-单因素 Cox 回归 B-多因素 Cox 回归 C-热图 D-≥60 岁组 Kaplan－Meier 生存曲线 E-<60 岁组 Kaplan－Meier 生存曲线

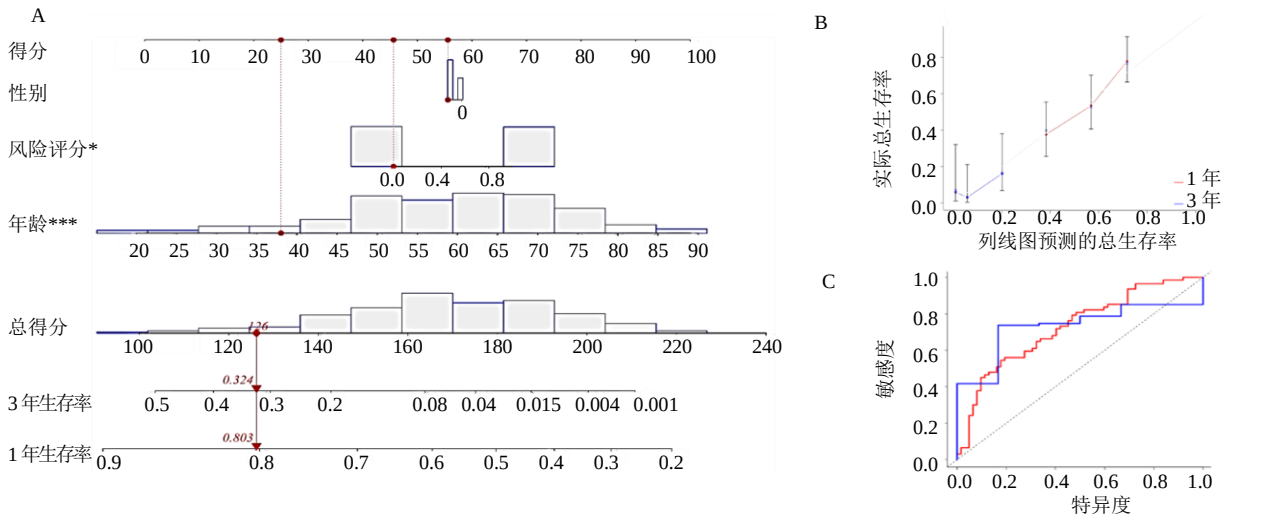
A-univariate Cox regression B-multivariate Cox regression C-heat map D-Kaplan－Meier survival curve for the ≥ 60-year-old group E-Kaplan-Meier survival curve for the < 60-year-old group

图 4 风险评分的独立预后价值及与临床特征的关系

Fig. 4 Independent prognostic value of risk score and its relationship with clinical features

的治疗仍处于临床研究阶段，这可能与胶质母细胞瘤的异质性高、肿瘤微环境的免疫抑制以及低肿瘤突变负荷等特征有关[13]。因此，开发研究新的免疫检查点分子，可能提供不同机制的抑制途径，具有重要的临床意义。

CD276 是 B7 免疫共刺激和共抑制家族成员，在胶质瘤的 T 细胞抑制中起关键作用[14]。Takashima 等[15]发现由 CD276、GATA3、LGALS3 组成的基因特征能够预测胶质母细胞瘤的预后。Wang 等[16]研究表明，异柠檬酸脱氢酶（IDH）突变高级别胶质瘤中 CD276 下调，可能与 2-HG 积累诱导的自噬有关。CD40 是肿瘤坏死因子受体超家族的成员编码蛋白。CD40、CD276 等免疫检查点分子与 PD-1 显著相关，PD-1 高表达与弥漫性胶质瘤患者的不良预后有关[17]。Yang 等[18]发现，白细胞介素（IL）-6 抑制与 CD40 刺激相结合可逆转巨噬细胞介导的肿瘤免疫抑制，使胶质母细胞瘤对免疫检查点抑制剂敏感。Lee-Chang 等[19]研究表明，通过 CD40 激动剂和 γ 干扰素（IFNγ）刺激激活 4-1BBL+ B 细胞能诱导胶质母细胞瘤有效的免疫反应。肿瘤坏死因子（TNF）是迄今为止发现的抗肿瘤作用最强的细胞因子，可在诱导肿瘤细胞凋亡的同时，刺激 T 细胞的

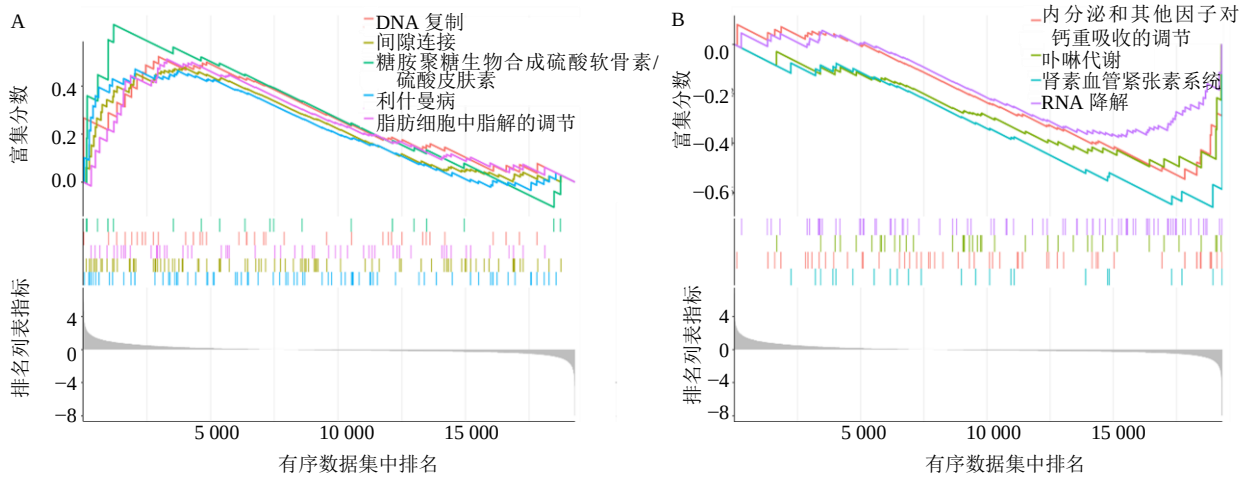


A-基于风险评分和临床特征列线图　B-校准曲线　C-ROC 曲线

A-nomogram based on risk score and clinical characteristics　B-calibration curve　C-ROC curve

图 5　列线图的构建与评估

Fig. 5　Construction and evaluation of nomograms



A-高风险组基因富集分析结果　B-低风险组基因富集分析结果

A-gene enrichment analysis results of high-risk group　B-gene enrichment analysis results of low-risk group

图 6　GSEA 基因富集分析

Fig. 6　GSEA gene enrichment analysis

生长、活化，并在 T 细胞应答与免疫调节中起重要作用[20]。TNFSF14 是 TNF 配体超家族成员，在活化的 T 细胞和未成熟树突状细胞中呈现高表达[21]。He 等[22]发现，TNFSF14 与血管靶向肽的结合体可将脑肿瘤血管转化为高内皮微静脉，从而减少血管渗漏并增强免疫治疗效果。研究表明，TNFSF9 具有诱导单核细胞活化、迁移及分化的能力，并参与 NK 细胞介导的抗肿瘤免疫[23]。Wu 等[24]发现，TNFSF9 可能通过 Src 蛋白/黏着斑激酶/磷酸化蛋白激酶 B/白介素-1β（Src/FAK/p-Akt/IL-1β）信号诱导巨噬细胞 M2 极化，从而促进胰腺癌细胞的转移。

本研究发现，铜死亡相关 ICGs 参与 DNA 复制、间隙连接、糖胺聚糖生物合成－硫酸软骨素/硫酸皮肤素、卟啉代谢、RNA 降解等癌症和代谢相关通路，而这些通路与恶性肿瘤的表型密切相关[10]。TIMER 分析显示，4 个预后相关的 ICGs 与免疫细胞浸润有关，这表明铜死亡相关 ICGs 可能通过影响免疫浸润水平来调节癌症进展。此外，高风险组

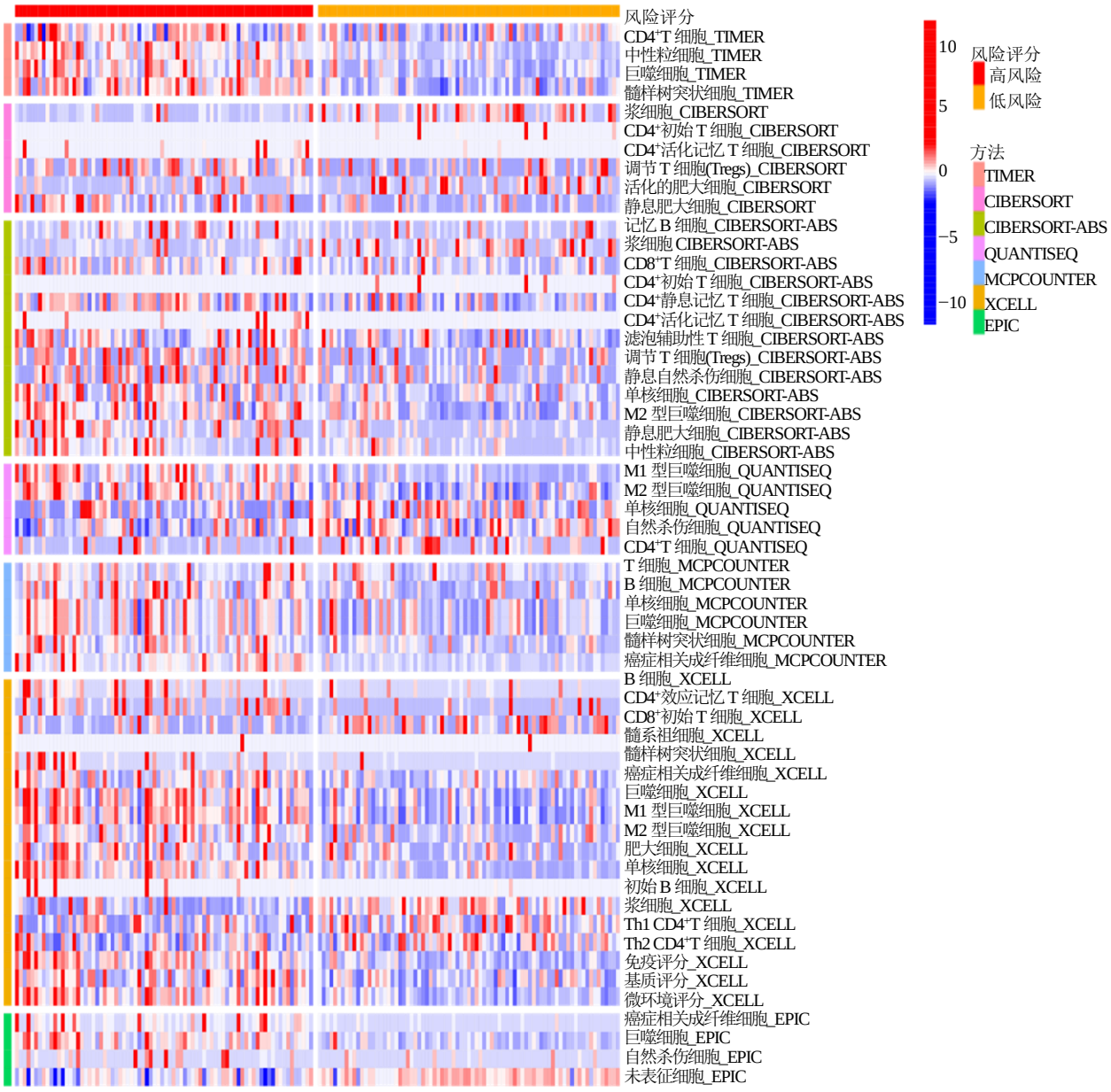


图 7　免疫细胞浸润分析

Fig. 7　Analysis of immune cell infiltration

表 1　DSigDB 数据库中 ICGs 相关的候选小分子药物

Table 1　Candidate small molecule drugs related to ICGs in DSigDB database

药物名称	OR 值	*P* 值	综合评分
倍他米松戊酸酯 CTD00005505	666.20	0.002	4 077.19
氟化物 CTD00005982	376.28	＜0.001	3 771.27
替米利芬 CTD00001953	555.11	0.003	3 304.67
胞壁酰二肽 CTD00005307	317.06	0.004	1 720.94
U-73122 CTD00002498	302.64	0.005	1 629.20
卡巴胆碱 CTD00005572	266.28	0.005	1 400.90
聚肌胞苷酸 CTD00006579	201.65	0.007	1 006.89
恩替司他 CTD00003662	195.71	0.007	971.56

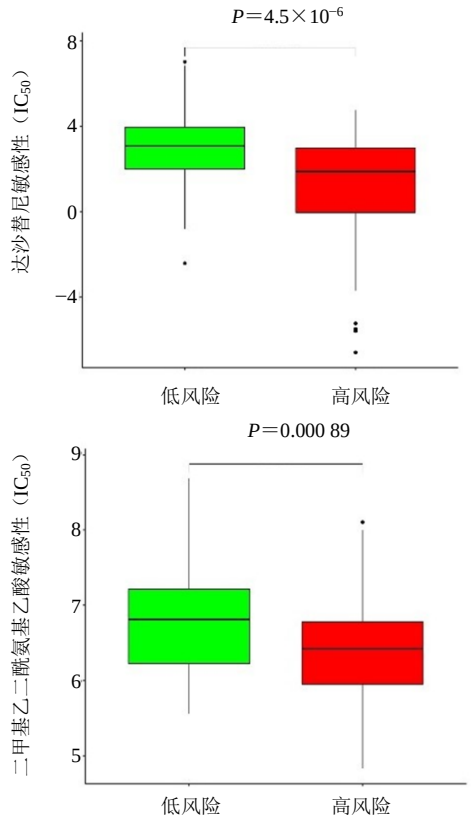


图 8　药物敏感性分析

Fig. 8　Drug sensitivity analysis

胶质母细胞瘤患者可能受益于倍他米松戊酸酯、氟化物、替米利芬、胞壁酰二肽、U-73122、卡巴胆碱、聚肌胞苷酸、恩替司他等 ICGs 相关药物的治疗。

综上所述，本研究共筛选出 CD276、TNFSF14、CD40、TNFSF9 4 个铜死亡相关的 ICGs，以此构建的风险模型具有较好的预后价值，且风险模型中的高风险组与免疫细胞的浸润有关。因此，这些铜死亡相关的 ICGs 可能作为胶质母细胞瘤免疫治疗的潜在靶点。此外，本研究发现高风险组患者对达沙替尼及二甲基乙二酰氨基乙酸等药物敏感性较高，并确定了 8 种 ICGs 相关的潜在候选药物。

利益冲突　所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Jin Y, Wang Z, Xiang K, *et al*. Comprehensive development and validation of gene signature for predicting survival in patients with glioblastoma [J]. *Front Genet*, 2022, 13: 900911.

[2] Breen W G, Youland R S, Giri S, *et al*. Initial results of a phase II trial of 18F-DOPA PET-guided re-irradiation for recurrent high-grade glioma [J]. *J Neurooncol*, 2022, 158(3): 323-330.

[3] König L, Jäkel C, von Knebel Doeberitz N, *et al*. Glioblastoma radiotherapy using intensity modulated radiotherapy (IMRT) or proton radiotherapy-GRIPS trial (glioblastoma radiotherapy via IMRT or proton BeamS): A study protocol for a multicenter, prospective, open-label, randomized, two-arm, phase III study [J]. *Radiat Oncol*, 2021, 16(1): 240.

[4] He X, Xu C. Immune checkpoint signaling and cancer immunotherapy [J]. *Cell Res*, 2020, 30(8): 660-669.

[5] Marin-Acevedo J A, Kimbrough E O, Lou Y. Next generation of immune checkpoint inhibitors and beyond [J]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1): 45.

[6] Huang Y, Ouyang F, Yang F, *et al*. The expression of hexokinase 2 and its hub genes are correlated with the prognosis in glioma [J]. *BMC Cancer*, 2022, 22(1): 900.

[7] Bewersdorf J P, Shallis R M, Zeidan A M. Immune checkpoint inhibition in myeloid malignancies: Moving beyond the PD-1/PD-L1 and CTLA-4 pathways [J]. *Blood Rev*, 2021, 45: 100709.

[8] Lim M, Xia Y, Bettegowda C, *et al*. Current state of immunotherapy for glioblastoma [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(7): 422-442.

[9] Tsvetkov P, Coy S, Petrova B, *et al*. Copper induces cell death by targeting lipoylated TCA cycle proteins [J]. *Science*, 2022, 375(6586): 1254-1261.

[10] Hu F F, Liu C J, Liu L L, *et al*. Expression profile of immune checkpoint genes and their roles in predicting immunotherapy response [J]. *Brief Bioinform*, 2021, 22(3): bbaa176.

[11] Wu P, Cai J, Fan S, *et al*. A novel risk score predicts prognosis in melanoma: The combination of three tumor-infiltrating immune cells and four immune-related genes [J]. *Clin Immunol*, 2021, 228: 108751.

[12] Bagchi S, Yuan R, Engleman E G. Immune checkpoint inhibitors for the treatment of cancer: Clinical impact and mechanisms of response and resistance [J]. *Annu Rev Pathol*, 2021, 16: 223-249.

[13] Reardon D A, Brandes A A, Omuro A, *et al*. Effect of nivolumab *vs* bevacizumab in patients with recurrent glioblastoma: The checkmate 143 phase 3 randomized clinical trial [J]. *JAMA Oncol*, 2020, 6(7): 1003-1010.

[14] Persson M L, Douglas A M, Alvaro F, *et al*. The intrinsic and microenvironmental features of diffuse midline glioma: Implications for the development of effective immunotherapeutic treatment strategies [J]. *Neuro Oncol*, 2022, 24(9): 1408-1422.

[15] Takashima Y, Kawaguchi A, Hayano A, *et al*. CD276 and the gene signature composed of GATA3 and LGALS3

enable prognosis prediction of glioblastoma multiforme [J]. *PLoS One*, 2019, 14(5): e0216825.

[16] Wang Z, Wang Z, Zhang C, *et al*. Genetic and clinical characterization of B_7-H_3 (CD276) expression and epigenetic regulation in diffuse brain glioma [J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(9): 2697-2705.

[17] Zhou Q, Yan X, Liu W, *et al*. Three immune-associated subtypes of diffuse glioma differ in immune infiltration, immune checkpoint molecules, and prognosis [J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 586019.

[18] Yang F, He Z, Duan H, *et al*. Synergistic immunotherapy of glioblastoma by dual targeting of IL-6 and CD40 [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 3424.

[19] Lee-Chang C, Miska J, Hou D, *et al*. Activation of 4-1BBL+ B cells with CD40 agonism and IFNγ elicits potent immunity against glioblastoma [J]. *J Exp Med*, 2021, 218(1): e20200913.

[20] Cao K, Jiang X, Wang B, *et al*. SAA1 Expression as a potential prognostic marker of the tumor microenvironment in glioblastoma [J]. *Front Neurol*, 2022, 13: 905561.

[21] Long S, Li M, Liu J, *et al*. Identification of immunologic subtype and prognosis of GBM based on TNFSF14 and immune checkpoint gene expression profiling [J]. *Aging* (Albany NY), 2020, 12(8): 7112-7128.

[22] He B, Jabouille A, Steri V, *et al*. Vascular targeting of LIGHT normalizes blood vessels in primary brain cancer and induces intratumoural high endothelial venules [J]. *J Pathol*, 2018, 245(2): 209-221.

[23] Yu Z, Yang H, Song K, *et al*. Construction of an immune-related gene signature for the prognosis and diagnosis of glioblastoma multiforme [J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 938679.

[24] Wu J, Wang Y, Yang Y, *et al*. TNFSF9 promotes metastasis of pancreatic cancer by regulating M2 polarization of macrophages through Src/FAK/p-Akt/IL-1β signaling [J]. *Int Immunopharmacol*, 2022, 102: 108429.

[责任编辑 高源]