

临床患者血培养分离出卡明斯假谷氨酸杆菌的全基因组测序及基因功能分析

许楠¹, 杨旭东², 田莹¹, 刘泽世¹, 薛丽¹, 高宁¹, 耿燕¹ (1. 西安交通大学第二附属医院检验科, 西安 710004; 2. 西安交通大学医学部基础医学院生物化学与分子生物学系, 西安 710061)

摘要: **目的** 应用全基因组测序及生物信息学分析方法对一株分离自腹膜间皮瘤患者血液标本中的卡明斯假谷氨酸杆菌菌株进行基因测序和功能分析。 **方法** 于2018年8月2日~8月15日, 两次从临床患者血液分离出的微生物经基质辅助激光解析电离-飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF)鉴定为卡明斯假谷氨酸杆菌。应用基因组测序软件构建、自组装的基因功能表注释器及anti SMASH等软件预测其次级代谢反应和产物蛋白生物合成调控相关的基因及基因簇。通过查询COG, KEGG, GO, NR, CAzy和Swiss-Prot数据库对预测的基因进行功能注释。 **结果** 卡明斯假谷氨酸杆菌基因组经过重组、分析筛选及基因序列整合筛选和优化, 得到了约300个Scaffolds, 总长度约2 456 693bp, GC含量平均约为58.39%。分析发现其中约有2 097个编码基因, 1 431个功能注释蛋白。其中427个蛋白功能未知, KEGG预测到的编码蛋白主要集中在碳水化合物代谢、氨基酸代谢、能量代谢、维生素代谢、脂类代谢和遗传信息传递和表达等通路。CAzy注释发现27个碳水化合物代谢相关酶, 通过基因序列比对识别出21个与 β -内酯合成有关的次级代谢基因, 序列分析发现89个抗药性基因。 **结论** 首次成功全面深入分析了卡明斯假谷氨酸杆菌的基因组序列, 为今后研究该菌株的代谢特点、致病性及抗药性奠定了基础。

关键词: 卡明斯假谷氨酸杆菌; 全基因组测序; 基因注释

中图分类号: R378; Q786 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2023) 03-058-07

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2023.03.011

Whole Genome Sequencing and Gene Function Analysis of *Pseudoglutamicibacter Cumminsii* Isolated from Blood Culture of Clinical Patients

XU Nan¹, YANG Xu-dong², TIAN Ying¹, LIU Ze-shi¹, XUE Li¹, GAO Ning¹, GENG Yan¹

(1. Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, China; 2. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Basic Medicine College, Health Science Center of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China)

Abstract: Objective A *Pseudoglutamicibacter cumminsii* strain was isolated from blood samples of patients with peritoneal mesothelioma, and its genome was sequenced and its gene function was analyzed. **Methods** On 2 August and 15 August 2018, the microorganisms isolated from the blood of clinical patients were identified by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF) as *Pseudoglutamicibacter cumminsii*. Using genome sequencing software, self-assembled gene menu annotator and anti SMASH software, etc, the genes and gene clusters related to its secondary metabolic reaction and biosynthesis regulation of product protein were predicted respectively. The predicted genes were annotated by querying COG, KEGG, GO, NR, CAzy and Swiss-Prot databases. **Results** After reassembly, analysis and screening, gene sequence integration and screening and optimization of *Pseudoglutamicibacter cumminsii* genome, about 300 Scaffolds were obtained. The total length was roughly estimated to be about 2 456 693bp, and the average GC content was only about 58.39%. After analysis, it was predicted to contain about 2 097 coding genes. By comparison, 1 431 proteins were annotated. Among them, 427 had unknown functions. The encoded proteins predicted by KEGG were mainly enriched in the function of carbohydrate metabolism, amino acid metabolism, energy metabolism, vitamin metabolism, lipid metabolism and the transmission and expression of genetic information. Twenty-seven enzymes related to carbohydrate metabolism were identified by CAzy annotation. Twenty-one secondary metabolic genes related to β -lactone synthesis were identified by gene sequence alignment, and the sequence analysis revealed 89 resistance genes. **Conclusion** The genome sequence of *Pseudoglutamicibacter cumminsii* was successfully analyzed for the first time, laying a foundation for the future study of its metabolic characteristics, pathogenicity and drug resistance.

Keywords: *Pseudoglutamicibacter cummingsii*; whole genome sequencing; gene annotation

卡明斯假谷氨酸杆菌 (*Pseudoglutamicibacter cummingsii*) 是一种需氧、过氧化氢酶阳性的革兰阳性杆菌,其属于球杆菌属,主要分布于土壤中(Comn H J and Dimmick 1947)^[1]。卡明斯假谷氨酸杆菌较少感染人类,以往从患者体内分离出的卡明斯假谷氨酸杆菌主要来自尿液和皮肤^[2],其他组织样本中尚未分离出。卡明斯假谷氨酸杆菌菌落直径通常为2~3 mm,具有湿润、光滑、灰色不透明等特点,血平板上生长无溶血环。近年来第三代基因组测序技术已被广泛应用于生物基因组的分析,但目前尚无卡明斯假谷氨酸杆菌的基因组研究报道。与传统及质谱法相比,全基因组测序不仅可鉴定微生物种类,而且可提供其代谢特点、致病基因以及耐药基因等信息,可为抗感染治疗提供更有价值的指导意见。本研究对一株从腹膜间皮瘤患者血液中分离出来的卡明斯假谷氨酸杆菌进行了全基因组测序及序列分析,以了解卡明斯假谷氨酸杆菌的代谢特点和致病性。

1 材料与方法

1.1 研究对象 患者男性,36岁,因3月前无明显诱因出现乏力,加重7天,体重减轻、下腹痛、以及体温升高等,于2018年5月1日入西安交通大学第二附属医院接受治疗。入院前行腹部CT及腹部彩超,提示腹腔积液、下腹及右侧腹部混合性包块。后对腹膜肿物穿刺取样进行活检,确诊腹膜间皮瘤。予以培美曲塞+卡铂方案化疗,化疗2周期。由于患者体温升高,最高达39.5℃,血细胞检测:WBC $42.89 \times 10^9/L$, N% 91.90%。注射用美洛西林钠/舒巴坦钠抗感染治疗8天后复查血细胞检测:WBC $26.97 \times 10^9/L$, N% 90.10%。改用注射用亚胺培南/西司他丁钠药物抗感染治疗。同时进行2次血培养检测(2018年8月2日和8月15日)。

1.2 仪器与试剂 BD BACTEC FX自动血培养仪及配套血培养瓶[碧迪医疗器械(上海)有限公司];梅里埃 VITEK 2 Compact全自动细菌鉴定及药敏分析仪,梅里埃 MALDI-TOF MS质谱仪(法国梅里埃公司),细菌基因组DNA提取试剂盒(天根生物公司),美吉生物公司进行测序分析的配套试剂。

1.3 方法

1.3.1 细菌分离、鉴定及药敏试验:血培养瓶放置于自动血培养仪中孵育,报警阳性后立即转种血平板,于37℃温箱中培养24h后,取单个菌落涂片后进行革兰染色和光镜下观察。梅里埃 VITEK 2 Compact和梅里埃 MALDI-TOF MS质谱仪进行鉴定,具体操作严格按照操作说明进行。药物敏感性实验:根据欧洲抗生素敏感性测试委员会

(EUCAST)2021中的棒状杆菌折点作为解释参考。

1.3.2 基因组DNA提取:从患者血液标本中分离出的卡明斯假谷氨酸杆菌,在LB培养液中通过30℃ 200r/min摇菌12h,然后8000r/min离心2min收集菌体。应用天根生物公司的细菌基因组DNA提取试剂盒提取DNA。琼脂糖凝胶电泳检测DNA质量,通过在280nm波长处测定DNA样品的A值来计算样品的浓度及纯度。随后把DNA样品送往美吉生物公司进行测序分析。

1.3.3 基因组测序和组装:应用二代测序平台Illumina Hiseq×10对质检合格的细菌DNA样品进行de novo基因组测序。主要步骤是构建~400bp的片段并进行PE150双端测序,其中单端测序读长150bp,每个样品提供不低于基因组100×覆盖深度的原始测序数据量(raw data),通过组装得到多条基因组scaffold。应用短序列组装软件SOAPdenovo2并根据不同的Kmer参数拼接测序后获得的序列,选择最优的contigs组装结果。依据reads与contig的对比结果进一步优化组装结果,形成scaffolds。最后,应用unicycler软件组装出细菌的基因组,并用pilonjin软件进行序列校正。通过位于序列两端的overlap将序列环化,从而获得完整的卡明斯假谷氨酸杆菌染色体序列。

1.3.4 基因组组分分析:应用Glimmer软件预测拼接完成的基因组构成。应用tRNAscan-SE v2.0软件预测基因组中tRNA基因的序列及其编码的tRNA结构信息。应用Barrnap软件预测基因组中包含的rRNA基因序列结构及基因定位。

1.3.5 基因功能注释及次级产物基因簇分析:将卡明斯假谷氨酸杆菌菌株的蛋白序列与6大数据库(NR, Swiss-Prot, Pfam, COG, GO和KEGG)中的数据进行比对,对预测的基因进行功能注释。另外,由于次级代谢产物一般由多基因控制,其编码基因通常在基因组中成簇存在,我们应用antismash软件对样本的次级代谢产物合成基因簇进行预测。

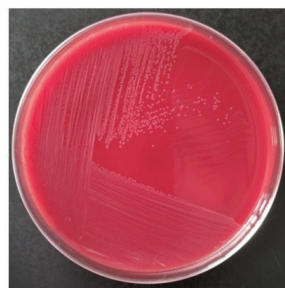
2 结果

2.1 细菌分离、鉴定及药敏结果 血培养需氧瓶在自动血培养仪中孵育20h后阳性报警,转种血平板,于37℃温箱中培养24h后,取单个灰白色、不透明、表面光滑和无溶血环的圆形菌落进行革兰染色,镜下可见革兰阳性杆菌,也可观察到阴性杆菌,见图1A, B。梅里埃 VITEK 2 Compact鉴定不出结果,后经质谱鉴定为卡明斯假谷氨酸杆菌。

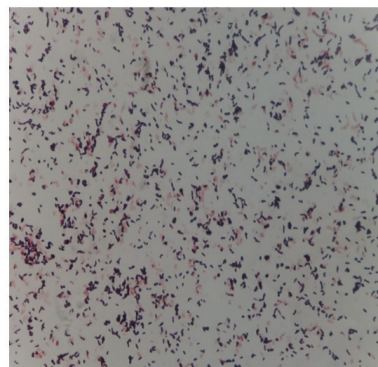
分离菌株对检测药物的MIC分别为:亚胺培南0.004 8mg/L,利奈唑胺0.25mg/L,利福平

0.008mg/L, 四环素 0.38mg/L, 万古霉素 0.25mg/L, 环丙沙星 0.5mg/L, 克林霉素 0.024mg/L, 红霉素

0.064mg/L, 庆大霉素 0.5mg/L 和青霉素 0.024mg/L。



A. 血平板上经 24h 培养的卡明斯假谷氨酸杆菌



B. 革兰染色的卡明斯假谷氨酸杆菌 (10 × 100)

图1 卡明斯假谷氨酸杆菌血平板及染色

2.2 基因组分析 应用软件组装卡明斯假谷氨酸杆菌的基因组,共得到 300 个 Scaffolds,基因组总长度 2 456 693 bp, GC 含量 58.39%, N50 长度 253 401bp, N90 长度 35 124 bp, 最长片段为 46 768 bp, 最短片段 212 bp。Glimmer 软件预测显示卡明斯假谷氨酸杆菌的基因组中存在 2 097 个编码基因,其基因总长度 2 048 412 bp, 占基因组全长的 60.02%, 基因平均长度 976.83bp, 见图 2。基因组中 17 个散在重复序列的总长 1 752bp, 其中 SINE 转座子 17, LINE 转座子 6。331 个串联重复序列的总长 71 570 bp, 其长度分布范围 45~124 bp。tRNAscan-SE v2.0 软件预测基因组含有 70 个 tRNA 基因, Barrnap 软件预测基因组含有 8 个 rRNA 基因。Antismash 软件预测到基因组中存在 3 个基因, 见图 3。

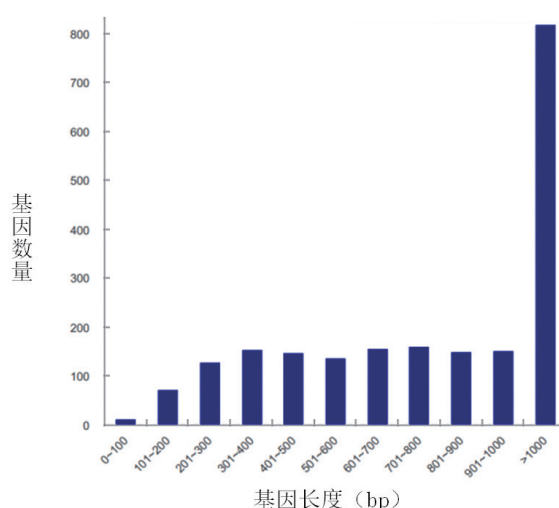


图2 卡明斯假谷氨酸杆菌基因长度分布

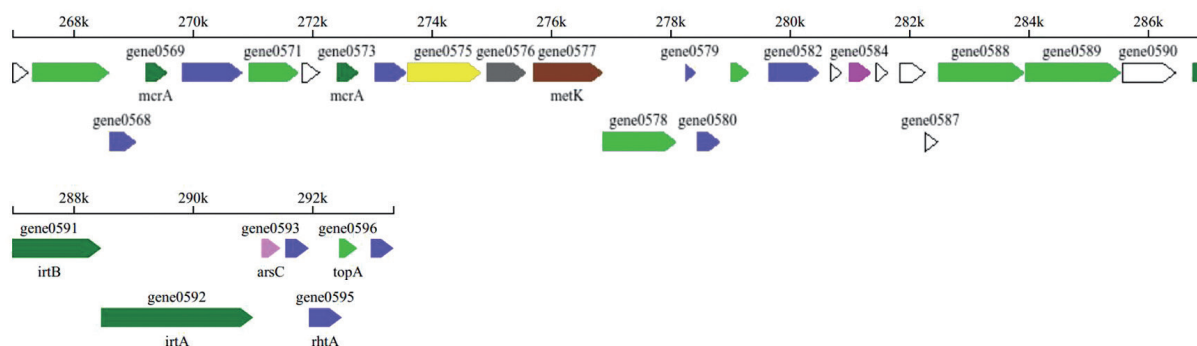


图3 卡明斯假谷氨酸杆菌基因岛中的基因分布

2.3 基因功能注释

2.3.1 COG 数据库注释: COG 蛋白数据库可以预测与已知蛋白具有同源性的蛋白。将卡明斯假谷氨酸杆菌的基因序列与 COG 数据库进行比对,结果显示 1 768 个卡明斯假谷氨酸杆菌的基因编码蛋白功能与复制、转录、碳水化合物运转和代谢、氨基酸转运、维生素代谢、能量代谢等活动有关,见图 4。

2.3.2 GO 数据库注释: GO 数据库可对基因编码蛋白的细胞定位、功能及其参与的生物过程进行聚类分析。通过与 GO 数据库进行比对,成功注释 1 431 个蛋白,见图 5。其中,427 个蛋白功能未知,丰度最高的已知功能蛋白参与 DNA 复制、重组以及修复。其他参与能量代谢、脂类代谢、氨基酸代谢和转录等生命活动的蛋白丰度也较高。

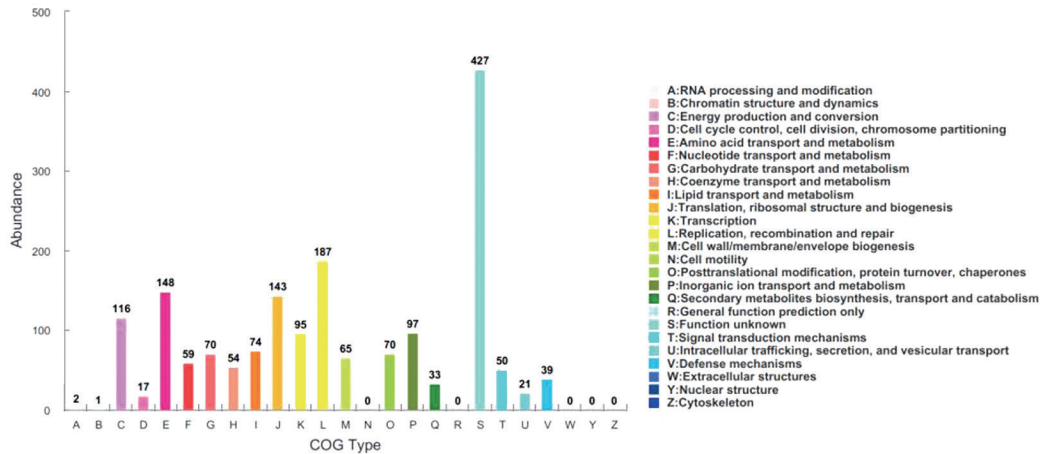


图4 卡明斯假谷氨酸杆菌蛋白质 COG 聚类分析

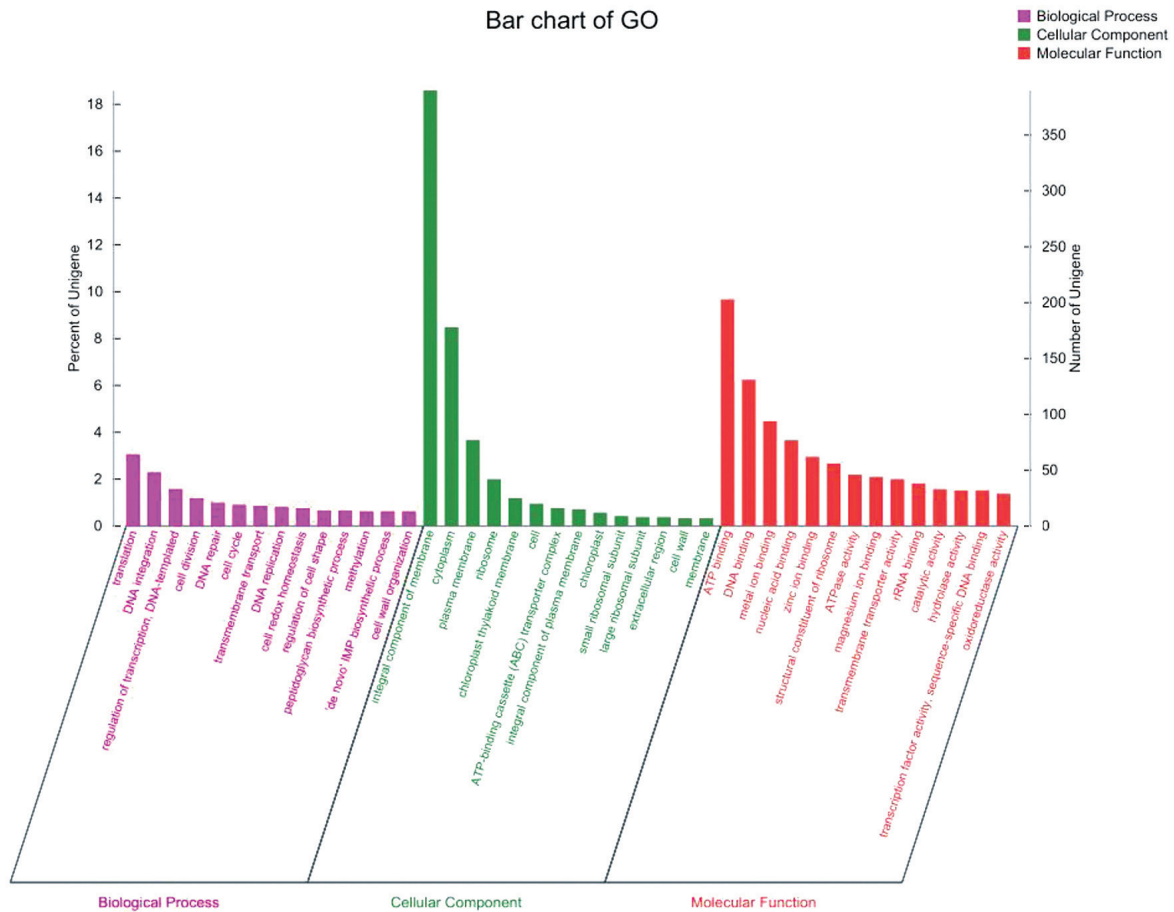


图5 卡明斯假谷氨酸杆菌蛋白质 GO 聚类分析

2.3.3 KEGG 数据库注释: KEGG 数据库可预测基因编码蛋白参与的生物通路。KEGG 分析显示, 富集卡明斯假谷氨酸杆菌的编码蛋白的生物通路主要集中在碳水化合物代谢、氨基酸代谢、能量代谢、维生素代谢、脂类代谢及遗传信息的传递和表达等, 见图6。

2.4 碳水化合物活性酶 (CAZy) 数据库注释 CAZy 数据库包含参与碳水化合物代谢的各种酶的信息。应用 CAZy 数据库分析显示, 卡明斯假谷氨

酸杆菌具有 27 个碳水化合物代谢相关酶, 根据序列特征可具体分为碳水化合物酯酶、糖基转移酶、碳水化合物结合模块和辅助活动蛋白 (主要与氧化还原相关)。

2.5 次级代谢基因簇分析 卡明节杆菌属于放线菌, 而放线菌通常会合成丰富的次级代谢产物。基因序列比对显示, 卡明节杆菌的 1 个基因簇内包含 21 个与 β -内酯 (β -lacton) 合成有关的基因, 见图7。

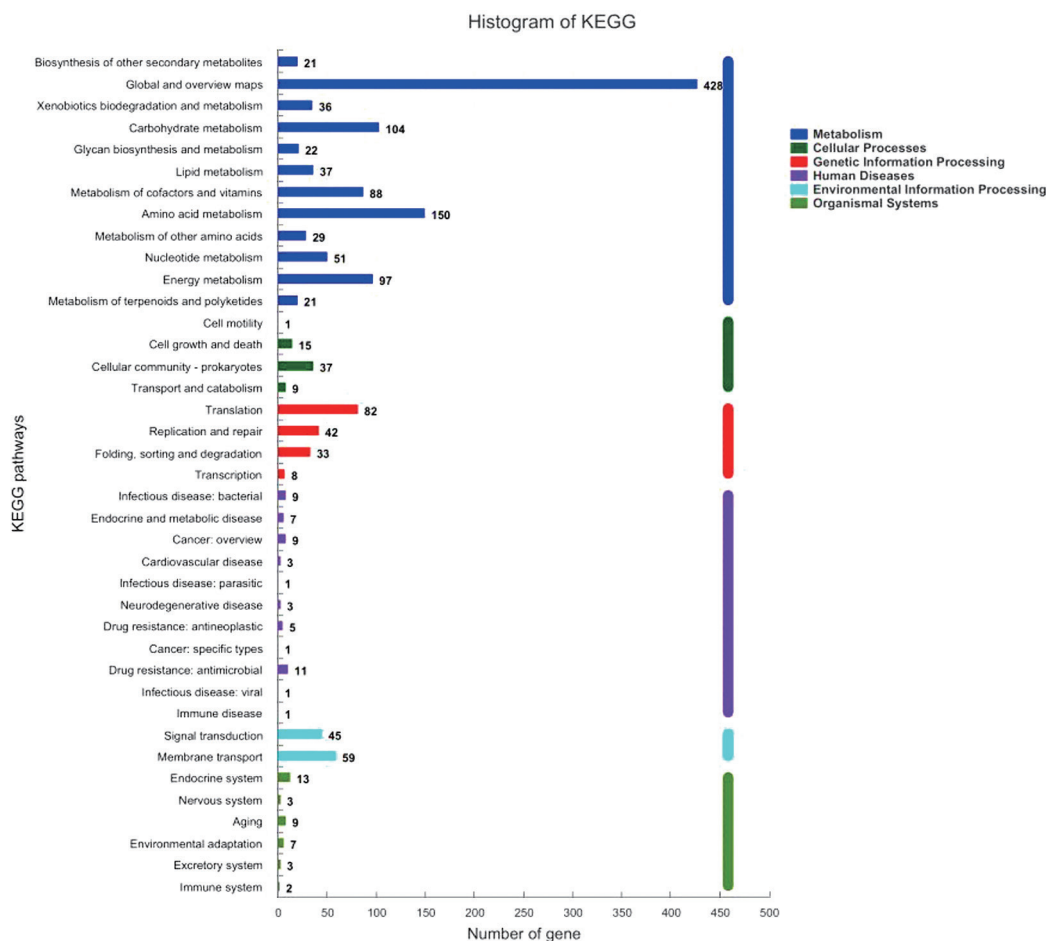


图6 卡明斯假谷氨酸杆菌 KEGG 代谢通路分析

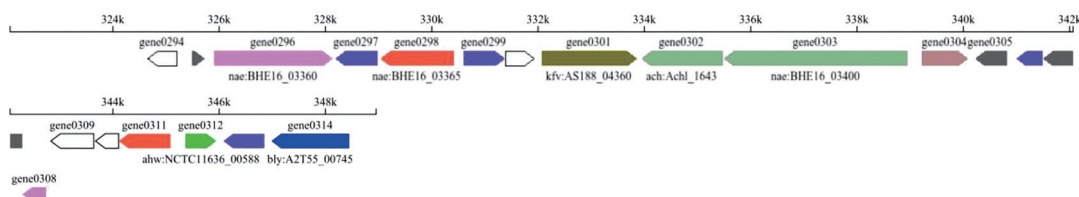


图7 次级代谢基因簇分析

2.6 抗生素抗性相关基因 见图8。基因序列分析显示,卡明节杆菌的基因与已知抗药基因具有同源性。序列分析发现卡明节杆菌有89个抗药相关基因,分布于基因组的1~8,10~14等区域,其作用分别与截短侧耳素、莫匹罗星、四环素、林可酰胺、大环内酯类抗生素、唑烷类抗生素、利胆醇类抗生素、链霉素阳菌素、利福霉素、肽类抗生素、氨基香豆素、糖肽类抗生素、氨基糖苷类抗生素、头孢菌素、头霉素、青霉素、硝基咪唑、双环霉素、二氨基嘧啶、氟喹诺酮、单菌霉素、磺胺、甘氨酸环素和磷霉素等抗生素的抗性有关。

2.7 致病性基因 见图9。卡明斯假谷氨酸杆菌的基因组中发现377个基因与其他病原微生物具有同源性,其中208个基因与可感染哺乳动物的病原微生物如空肠弯曲杆菌、金黄色葡萄球菌等有同源性。

208个基因中的99个被确定为其编码产物为毒力因子。

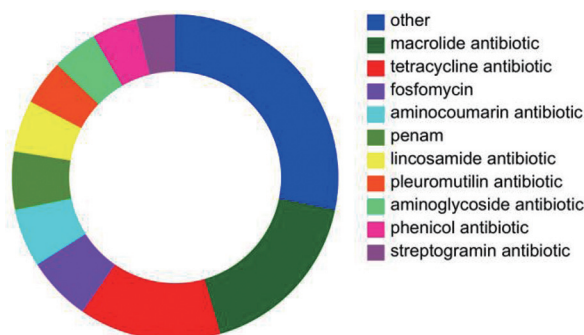


图8 抗生素抗性相关基因

3 讨论

卡明斯假谷氨酸杆菌分布广泛,是土壤中最常被分离到的细菌之一。研究发现,卡明斯假谷氨酸

杆菌在自然界广泛分布的原因之一是其具有在温度变化、饥饿、氧自由基、电离辐射和有毒化合物等

恶劣环境中长期存活的能力^[3]。近年来,许多研究聚焦于卡明斯假谷氨酸杆菌分解有机物的作用。

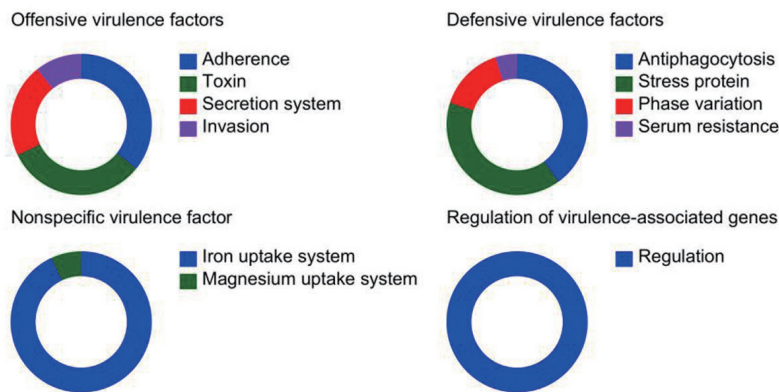


图9 致病性基因

本研究首次报道了肿瘤患者血培养分离出卡明斯假谷氨酸杆菌。该患者确诊上皮样间皮瘤的同时发生了卡明斯假谷氨酸杆菌血流感染。出现这种情况的原因之一可能是由于肿瘤过度消耗营养导致患者免疫力下降。另外,根据患者出现胸腹腔积液和小支气管阻塞的CT结果推断,肿瘤细胞有可能向患者其他组织侵袭浸润并造成解剖屏障会被破坏^[4-5]。如果肿瘤细胞浸润到气道,有可能导致患者在呼吸过程中吸入的卡明斯假谷氨酸杆菌进入黏膜下,并在其产生的侵袭相关致病因子的帮助下侵入血流。当患者机体免疫力下降时,入侵的卡明斯假谷氨酸杆菌就引发血流感染。

随着测序技术发展和测序成本下降,全基因组测序在近年来开始被应用于病原体鉴定^[6]。与传统的根据生化及免疫特征鉴定病原菌的检测技术相比,全基因组测序可以快速获得结果。与质谱法相比,全基因组测序不仅可鉴定微生物种类,而且可提供其代谢特点、致病基因及耐药基因等多方面信息,可为抗感染治疗提供更有价值的指导意见^[7]。本案例对患者采取了卡铂化疗。由于铂类化疗通常会导致嗜中性粒细胞下降^[8],从而增加了患者发生感染的风险。因此,选用合适的抗生素对于指导抗卡明斯假谷氨酸杆菌感染用药以及预防院内感染具有重要意义。

本研究用全基因组测序分析了卡明斯假谷氨酸杆菌菌株基因组序列。此前尚未有卡明斯假谷氨酸杆菌菌株基因组序列的相关报道。且全基因组分析为微生物的致病性及耐药性分析提供了有价值的指导意见。测序结果显示,该患者卡明斯假谷氨酸杆菌无碳青霉烯类抗生素的抗性基因,据此选择亚胺培南进行治疗后患者的感染迅速得到控制。本案例证明全基因组测序作为一种新的技术在指导临床用药方面具有重要价值。可以快速进行病原鉴定和分析的技术对于提

高肿瘤患者的治疗效果具有更加重要的意义。相信随着全基因组测序技术的普及,它必将成为肿瘤治疗的常规辅助检测手段。另外,对于临床不明原因的发热,要重视血培养检测的应用,尤其应注意在用药前不同部位多次采集血液,结合血培养鉴定及药敏结果,及时与临床沟通,加强抗生素的合理应用。卡明斯假谷氨酸杆菌在临床实验室较少见。因此在结果判断方面,首先要排除污染问题。这就要求临床严格按照标准操作手册采样,同时送两套不同部位的血培养样本。

与其他革兰阳性菌相比,卡明斯假谷氨酸杆菌临床病例很少见。目前国内外有关该菌对人类疾病感染的研究较少,缺乏实验室诊断依据。本研究使临床微生物专业人员全面深入了解卡明斯假谷氨酸杆菌菌株,通过全基因组测序方法,获得卡明斯假谷氨酸杆菌的基因组序列。通过多种生物信息学分析方法,对该菌株的基因组功能进行分析预测,将为后续挖掘更多有特殊功能的细菌编码基因、分泌蛋白和次级代谢产物,以及构建基因工程菌株打下基础。

参考文献:

- [1] CHAVES BLANCO L, GÓMEZ-CAMARASA C, ILLESCAS LÓPEZ M, et al. Unusual isolation of *Pseudoglutamicibacter cummingsii* in urine culture[J]. Rev Esp Quimioter, 2022, 35(1):95-96.
- [2] FUNKE G, HUTSON R A, BERNARD K A, et al. Isolation of *Arthrobacter* spp. from clinical specimens and description of *Arthrobacter cummingsii* sp. nov. and *Arthrobacter woluwensis* sp. nov.[J]. J Clin Microbiol, 1996, 34(10):2356-2363.
- [3] 张新建, 张广志, 杨合同. 节杆菌环境适应性的基因组学研究进展 [J]. 微生物学报, 2016, 56(4): 570-577. ZHANG Xinjian, ZHANG Guangzhi, YANG Hetong. Genomics basis of *Arthrobacter* spp. environmental adaptability-A review [J]. Acta Microbiologica Sinica,

- 2016, 56(4): 570-577.
- [4] PAPROCKA P, DURNAŚ B, MAŃKOWSKA A, et al. *Pseudomonas aeruginosa* infections in cancer patients[J]. Pathogens, 2022, 11(6): 679.
- [5] SEELY K D, MORGAN A D, HAGENSTEIN L D, et al. Bacterial involvement in progression and metastasis of colorectal neoplasia[J]. Cancers (Basel), 2022, 14(4): 1019.
- [6] BESSER J, CARLETON H A, GERNER-SMIDT P, et al. Next-generation sequencing technologies and their application to the study and control of bacterial infections[J]. Clinical Microbiology and Infection, 2018, 24(4):335-341.
- [7] RAPOPORT B L. Management of the cancer patient with infection and neutropenia[J]. Seminars in Oncology, 2011, 38(3): 424-430.
- [8] GHONEUM A, ALMOUSA S, WARREN B, et al. Exploring the clinical value of tumor microenvironment in platinum-resistant ovarian cancer[J]. Seminars in Cancer Biology, 2021, 77: 83-98.
- 收稿日期: 2022-09-20
修回日期: 2022-12-08

(上接第46页)

- [9] LU Guanming, LAI Yuanhui, WANG Tian-tian, et al. Mitochondrial fission regulator 2 (MTFR2) promotes growth, migration, invasion and tumour progression in breast cancer cells[J]. Aging, 2019, 11(22): 10203-10219.
- [10] LU Wenjie, ZANG Rukun, DU Yuanna, et al. Overexpression of MTFR2 predicts poor prognosis of breast cancer[J]. Cancer Management and Research, 2020, 12: 11095-11102.
- [11] ZHANG Jinfeng, ZHANG Jian, XU Shouping, et al. Hypoxia-induced TPM2 methylation is associated with chemoresistance and poor prognosis in breast cancer[J]. Cellular Physiology and Biochemistry, 2018, 45(2): 692-705.
- [12] ZHAO Xiaotong, ZHU Yan, ZHOU Jiefu, et al. Development of a novel 7 immune-related genes prognostic model for oral cancer: A study based on TCGA database[J]. Oral Oncology, 2021, 112: 105088.
- [13] ZOU Wenbo, WANG Zizheng, ZHANG Xiuping, et al. PIWIL4 and SUPT5H combine to predict prognosis and immune landscape in intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. Cancer Cell International, 2021, 21(1): 657.
- [14] ILIEV R, STANIK M, FEDORKO M, et al. Decreased expression levels of PIWIL1, PIWIL2, and PIWIL4 are associated with worse survival in renal cell carcinoma patients[J]. OncoTargets and Therapy, 2016, 9: 217-222.
- [15] YANG Xiting, WU Qiuji, WU Fengyang, et al. Differential expression of COL4A3 and collagen in upward and downward progressing types of nasopharyngeal carcinoma[J]. Oncology Letters, 2021, 21(3): 223.
- [16] NIE Xiaocui, WANG Jianping, ZHU Wan, et al. COL4A3 expression correlates with pathogenesis, pathologic behaviors, and prognosis of gastric carcinomas[J]. Human Pathology, 2013, 44(1): 77-86.
- [17] DYBERG C, PAPACHRISTOU P, HAUG B H, et al. Planar cell polarity gene expression correlates with tumor cell viability and prognostic outcome in neuroblastoma[J]. BMC Cancer, 2016, 16(1): 259.
- [18] 黄健斌. 基于TCGA数据库肝内胆管细胞癌的4-mRNA预后风险模型构建[D]. 广州: 南方医科大学, 2021.
- HUANG Jianbin. Identification of prognostic four-mRNA signature model in intrahepatic cholangiocarcinoma based on TCGA database [D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2021.
- [19] YE Yufu, ZHOU Lin, XIE Xiajun, et al. Interaction of B7-H1 on intrahepatic cholangiocarcinoma cells with PD-1 on tumor-infiltrating T cells as a mechanism of immune evasion[J]. Journal of Surgical Oncology, 2009, 100(6): 500-504.
- [20] SURIYO T, FUANGTHONG M, ARTPRADIT C, et al. Inhibition of T-cell-mediated immune response via the PD-1/ PD-L1 axis in cholangiocarcinoma cells[J]. European Journal of Pharmacology, 2021, 897: 173960.
- [21] KITANO Y, OKABE H, YAMASHITA Y I, et al. Tumour-infiltrating inflammatory and immune cells in patients with extrahepatic cholangiocarcinoma[J]. British Journal of Cancer, 2018, 118(2): 171-180.
- [22] 遆振宇, 高小鹏, 千东维, 等. 血清sPDL1水平和外周血NLR在判断晚期胆管癌患者生存预后中的意义[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(6): 41-46.
- TI Zhenyu, GAO Xiaopeng, QIAN Dongwei, et al. Soluble programmed death-ligand 1 (sPDL1) and Neutrophil-to-Lymphocyte ratio (NLR) predicts prognostic survival in advanced biliary tract cancer patients treated with palliative chemotherapy[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019, 34(6): 41-46.
- [23] ZENG Fanli, CHEN Jingfang. Application of immune checkpoint inhibitors in the treatment of cholangiocarcinoma[J]. Technology in Cancer Research & Treatment, 2021, 20: 15330338211039952.
- 收稿日期: 2022-11-16
修回日期: 2023-01-19