

PAICS在胃癌中的表达及临床意义

于 帅, 李启信*

安徽医科大学附属巢湖医院胃肠外科, 安徽 合肥

收稿日期: 2025年3月18日; 录用日期: 2025年4月11日; 发布日期: 2025年4月21日

摘 要

目的: 通过生物信息学方法研究PAICS对胃癌患者预后影响及其临床意义。方法: 应用Kaplan-Meier (<https://kmplot.com/analysis/>) 网站数据库研究PAICS表达与胃癌患者临床预后的相关性。使用TIMER2.0数据库、UALCAN数据库阐明PAICS在胃癌组织中的表达与免疫细胞浸润和相关基因标记物的相关性。结果: PAICS在多种癌症中表达水平高于正常组织, 且具有统计学意义($P < 0.001$), 其中包括BLCA (膀胱尿路上皮癌)、BRCA (乳腺浸润性癌)、COAD (结肠癌)、ESCA (食管癌)、LIHC (肝细胞癌)、LUAD (肺腺癌)、LUSC (肺鳞状细胞癌)、PRAD (前列腺癌)、STAD (胃癌)、THCA (甲状腺癌)、UCEC (子宫内膜癌)。提示PAICS的高表达与胃癌预后不良有关。PAICS表达与胃癌免疫细胞(B细胞、CD4+T细胞、CD8+T细胞、中性粒细胞、巨噬细胞和树突状细胞)浸润呈负相关($P < 0.01$); 胃癌中PAICS表达水平与多数免疫细胞标志物相关。结论: PAICS显著影响胃癌预后, 可以作为胃癌预后相关生物标志物。

关键词

胃癌, PAICS, 免疫浸润, 预后

Expression and Clinical Significance of PAICS in Gastric Cancer

Shuai Yu, Qixin Li*

Department of Gastrointestinal Surgery, Chaohu Hospital of Anhui Medical University, Hefei Anhui

Received: Mar. 18th, 2025; accepted: Apr. 11th, 2025; published: Apr. 21st, 2025

Abstract

Objective: This study investigates the prognostic impact and clinical significance of PAICS in gastric cancer patients through bioinformatics approaches. **Methods:** The Kaplan-Meier

*通讯作者。

文章引用: 于帅, 李启信. PAICS 在胃癌中的表达及临床意义[J]. 临床医学进展, 2025, 15(4): 2193-2200.
DOI: 10.12677/acm.2025.1541170

(<https://kmplot.com/analysis/>) database was used to study the correlation between PAICS expression and the clinical prognosis of gastric cancer patients. TIMER2.0 database and UALCAN database were used to clarify the correlation between the expression of PAICS in gastric cancer tissues and immune cell invasion and related gene markers. Results: The expression level of PAICS was higher than that of normal tissues in a variety of cancers and was statistically significant ($P < 0.001$), including BLCA (bladder urothelial carcinoma), BRCA (invasive carcinoma of the breast), COAD (colon cancer), ESCA (esophageal cancer), LIHC (hepatocellular carcinoma), LUAD (lung adenocarcinoma), LUSC (lung squamous cell carcinoma), PRAD (prostate cancer), STAD (gastric cancer), THCA (thyroid cancer), UCEC (endometrial cancer). These results suggest that high expression of PAICS is associated with poor prognosis of gastric cancer. PAICS expression was negatively correlated with the infiltration of gastric cancer immune cells (B cells, CD4+T cells, CD8+T cells, neutrophils, macrophages and dendritic cells) ($P < 0.01$). Conclusion: PAICS significantly affects the prognosis of gastric cancer and can be used as a prognostic biomarker for gastric cancer.

Keywords

Gastric Cancer, PAICS, Immune Infiltration, Prognosis

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

胃癌具有高度致命性, 在全球最常诊断的癌症中排名第五, 也是癌症死亡的第四大原因。胃癌患者的预后较差, 5 年生存率为<10% [1] [2]。手术后辅助化疗或放化疗是半数符合手术条件的胃癌患者的标准治疗[3] [4]。然而, 即使在切除后, ~60%的患者也会出现局部复发或远处转移[5]。磷酸核糖氨基咪唑羧化酶, 磷酸核糖氨基咪唑琥珀酰羧酰胺合成酶(PAICS)是一种推定的双功能酶, 参与从头嘌呤生物合成途径, 具有 5-氨基咪唑核糖核苷酸羧化酶和 4-(N-琥珀酰羧酰胺)-5-氨基咪唑核糖核苷酸合成酶活性[6]。先前的研究表明, 癌细胞依赖于 PAICS 依赖性代谢途径进行单磷酸腺苷和鸟苷一磷酸合成, 并且从头途径的失活在体外和体内都会抑制癌细胞增殖[7]。PAICS 已被证明在各种类型的癌症中高度表达, 例如乳腺癌[8]、前列腺癌[9]、膀胱癌[10]、肺癌[7] [11]和急性淋巴细胞白血病[12]。但目前 PAICS 在胃癌中的具体生物学作用和相关机制仍不清楚。因此, 我们使用了包括 TCGA 数据库在内的多个公用数据库对 PAICS 在胃癌中的表达及预后进行相关研究, 同时我们还进一步通过 TIMER 等肿瘤免疫相关数据库对 PAICS 在肿瘤免疫浸润的相关性分析其临床意义。

2. 材料与方法

2.1. PAICS 基因在泛癌及癌旁的差异表达

TIAMER (Tumor Immune Estimation Resource)数据库包含七个功能模块, 其中“Diff Exp”模块被用于探究 PAICS 基因在多种癌症类型及其对应正常组织中的表达差异。此外, 通过 UALCAN 数据库提供的 TCGA 数据, 进一步分析了 PAICS 在胃癌组织与癌旁组织、不同分期的胃癌以及淋巴结转移状态下的表达差异。

2.2. PAICS 基因表达水平与胃癌患者预后相关性分析

通过使用 Kaplan-Meier (<https://kmplot.com/analysis/>)网站公共数据库绘制关于 PAICS 总生存期、无进

展期、进展后生存期曲线, 评估高表达的 PAICS 基因在胃癌患者中的价值。检索方法如下: ① 基因符号: PAICS; ② 癌症类型: 胃癌; ③ 生存指标: 总生存期(OS)、无进展期(FP)、进展后生存期(PPS)。

2.3. 免疫细胞浸润分析

通过对 TIMER 数据库的分析, 使用 “Gene” 模块探索 PAICS 于胃癌中基因表达, 评估 PAICS 基因表达与各种免疫细胞浸润程度之间的相互关联性, 包括 B lymphocyte、m0、Neutrophil、DC 细胞、CD8+T 淋巴细胞以及 CD4+T 淋巴细胞。

2.4. PAICS 的表达与免疫细胞浸润的关系分析

检索 TIMER 数据库, 以研究在相关免疫浸润中与 PAICS 的相关性。检索方式如下: ① 选择 Timer 数据库中 “Correlation” 相关模块。② 癌症类型选择 “胃腺癌(STAD)” ; ③ 基因符号 Y 设为 “PAICS”, 基因符号 X 设为 “select immune cells marker” 。

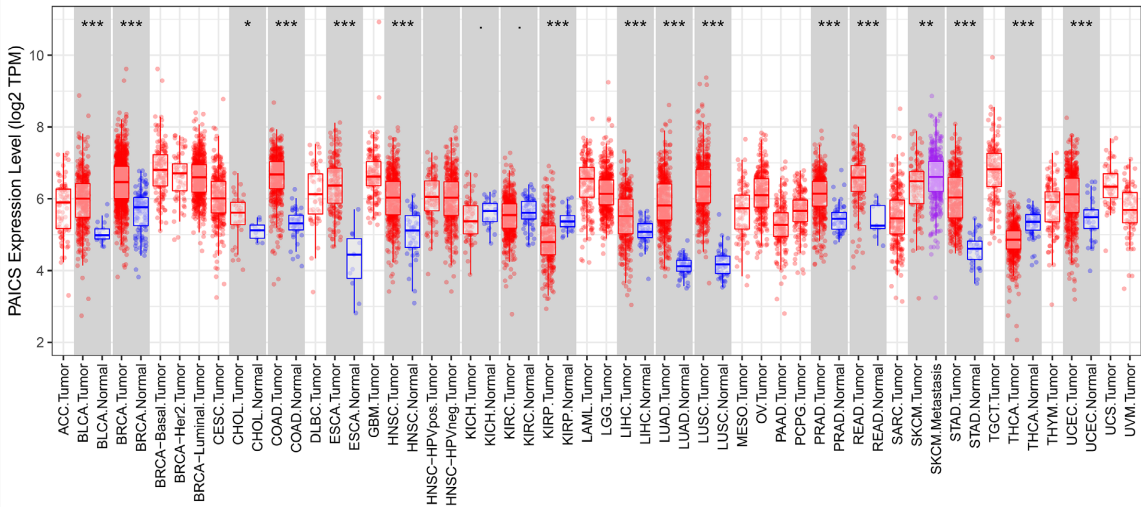
2.5. 统计学方法

生存曲线的绘制采用了 Kaplan-Meier 方法。检验结果以风险比(HR)表示, 当 P 值小于 0.05 时, 差异被认为具有统计学意义。在 TIMER 数据库中, 相关性分析采用了 Spearman 相关系数进行评价。为了减少多重比较带来的假阳性结果, 我们采用了 Bonferroni 校正方法, 将显著性水平调整为 P 值除以比较次数。此外, 为了处理不同数据库之间的数据差异和标准化问题, 我们对所有数据进行了标准化处理, 确保不同数据库的数据在相同的尺度上进行比较和分析。

3. 结果

3.1. PAICS 基因在胃癌组织中呈高表达

通过 TIMER 数据库分析 PAICS 在泛癌中的表达可以看出 PAICS 在 BLCA(膀胱尿路上皮癌)、BRCA(乳腺浸润性癌)、COAD(结肠癌)、ESCA(食管癌)、LIHC(肝细胞癌)、LUAD(肺腺癌)、LUSC(肺鳞状细胞癌)、PRAD(前列腺癌)、STAD(胃癌)、THCA(甲状腺癌)、UCEC(子宫内膜癌)中的表达高于正常组



注: · < 0.1; *P < 0.05; **P < 0.01; ***P < 0.001。

Figure 1. Expression of PAICS in pan-cancer
图 1. PAICS 在泛癌中的表达

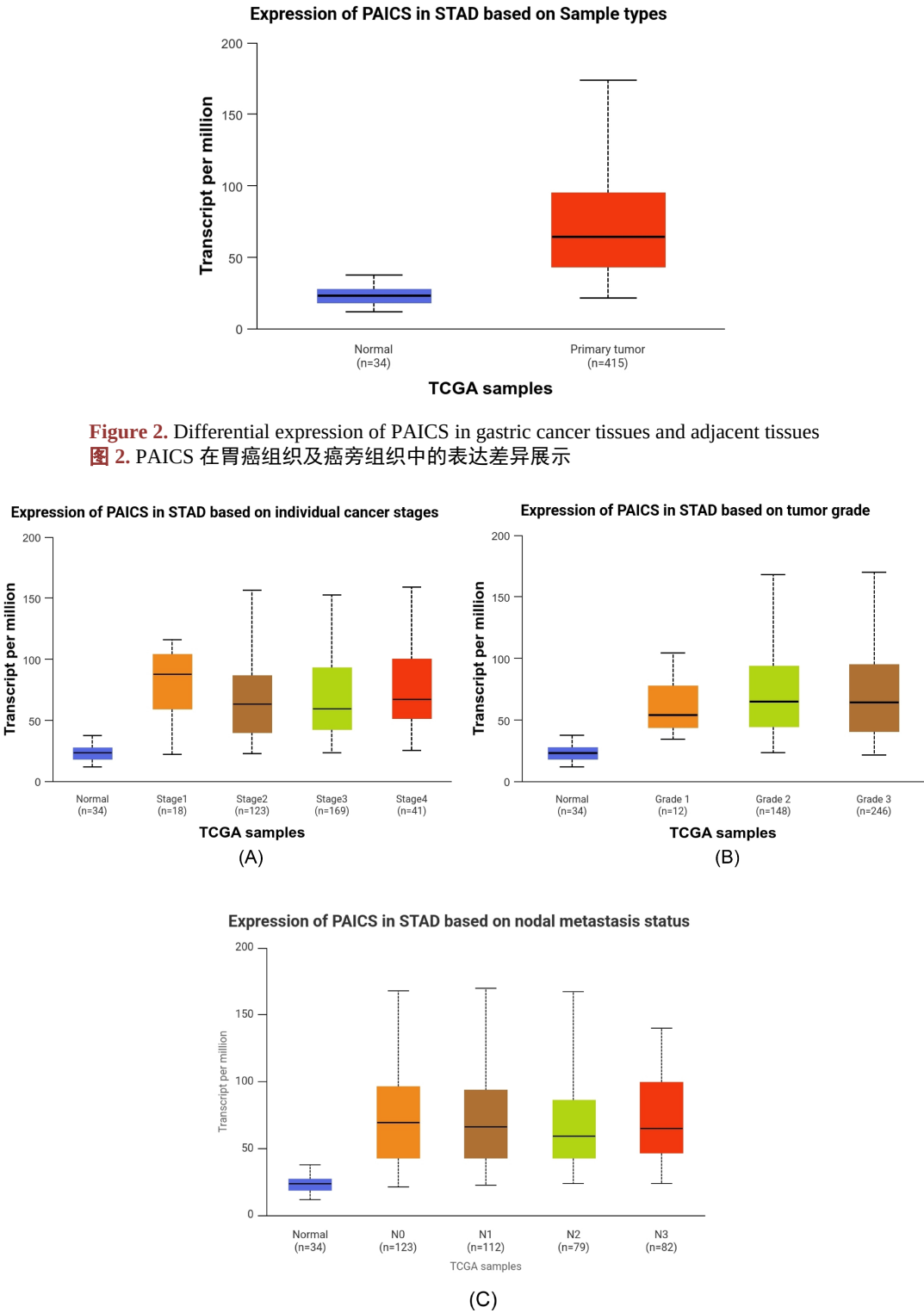


Figure 3. Illustrating the following: (A) illustrates the expression of PAICS in normal tissues and gastric cancer tumour stages; (B) reveals the expression of PAICS in gastric cancer tumours at all levels and in normal tissues. (C) explores the expression of PAICS in various stages of lymph node metastasis and normal tissues
图 3. 展示了以下内容: (A)图阐述了 PAICS 在正常组织与胃癌肿瘤各期的表达; (B)图揭示了 PAICS 在胃癌肿瘤各级及正常组织中的表达; (C)图则探讨了 PAICS 在淋巴结转移各期及正常组织的表达

织, 且具有意义($P < 0.001$), 见图 1。通过对 TCGA 数据进行深入的 UALCAN 数据库分析, 研究显示, PAICS 在胃恶性肿瘤中的表达存在显著差异($P = 1.62436730732907E-12$), 在分析中考虑了其他基因表达的潜在影响, 并通过多变量回归分析排除了混杂因素, 见图 2。根据 UALCAN 数据库的分析结果, 可以观察到当患者个别肿瘤分期为第一、二、三、四期时, PAICS 的表达量显著高于癌旁组织, 见图 3(A)。同时 PAICS 在肿瘤分级方面, PAICS 在 1 级、2 级、3 级中的表达量均高于正常组织, 且 3 级表达高于 1 级、2 级, 见图 3(B)。此外, 在涉及肿瘤淋巴结转移的分析中, 在正常组织中的 PAICS 表达量都明显低于淋巴结转移的各阶段, 并且这种差异在统计学上具有显著性, 见图 3(C)。

3.2. PAICS 基因高表达与胃癌患者预后不良密切相关

研究者通过对 Kaplan-Meier 数据库的分析, 探讨了 PAICS 在胃癌中的表达及其对预后的影响。结果提示: PAICS 表达水平较高时, 往往预示着胃癌患者的预后可能较为不利。总生存期(OS): ($HR = 1.38$ ($1.16 \sim 1.63$), $P = 2e-04$, $n = 881$)见图 4(A); 无进展生存期(FP): ($HR = 1.37$ ($1.12 \sim 1.68$), $P = 0.0021$; $n = 645$)见图 4(B); 进展后生存期(PPS): ($HR = 1.72$ ($1.38 \sim 2.15$), $P = 1.2e-06$; $n = 503$)见图 4(C), 所有生存分析结果均经过多重比较校正, 确保结果的可靠性。

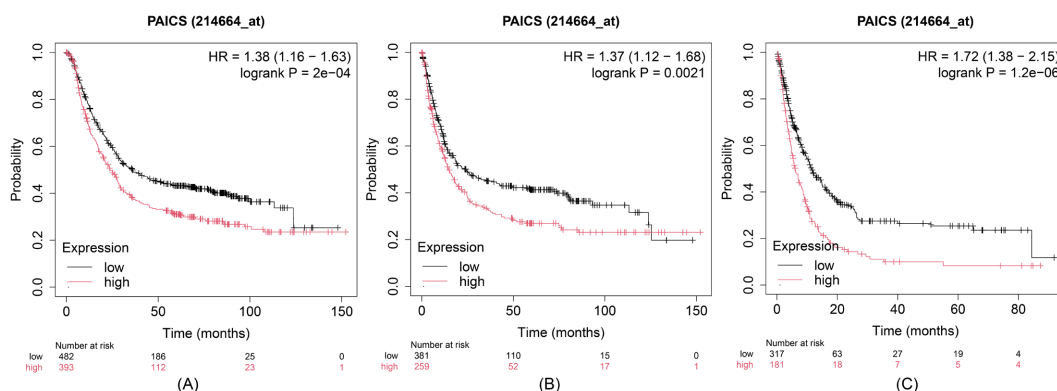


Figure 4. The value of PAICS expression in the prognosis of gastric cancer patients

图 4. PAICS 表达对胃癌患者预后的价值

3.3. PAICS 基因与免疫细胞浸润呈负相关

在对 TIMER 数据库进行的分析中发现, PAICS 表达水平与 B 细胞、CD4+T 细胞、CD8+T 细胞、中性粒细胞、巨噬细胞和树突状细胞浸润程度存在负相关性, 且具有意义。见图 5。

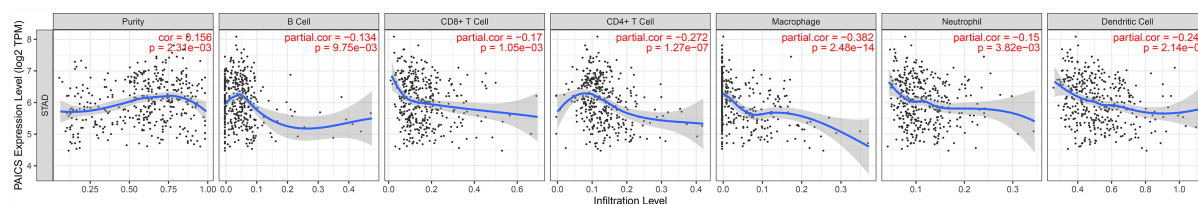


Figure 5. Relationship between PAICS expression and the level and purity of different immune cells in gastric cancer tissues

图 5. PAICS 表达与胃癌组织不同免疫细胞浸润水平及纯度的关系

3.4. PAICS 基因与免疫细胞标志物相关

对胃癌中 PAICS 表达的研究揭示了其与免疫细胞标志物之间存在显著的负相关性, 相关系数 P 值小

于 0.05。具体而言, PAICS 与 T 细胞、B 细胞、中性粒细胞、M1 巨噬细胞、M2 巨噬细胞、Th1 细胞、Th2 细胞的免疫细胞标志物呈现出相关关系, 见图 6。

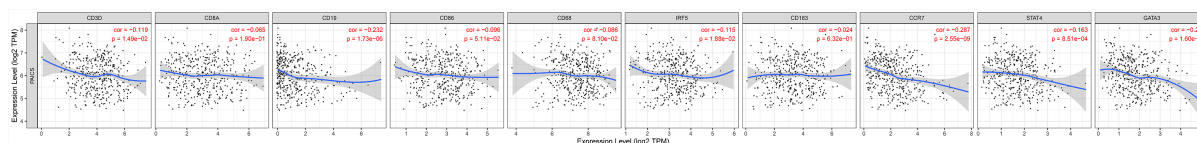


Figure 6. Relationship between PAICS and various immune cell-related markers in gastric cancer

图 6. PAICS 在胃癌中与各类免疫细胞相关标记物的关系

4. 讨论

胃癌(GC)乃全球范围内导致癌症相关死亡的主要因素之一。其发生、发展以及扩散的过程受多种因素影响。当前, 手术治疗依然是胃癌治疗的主要方式。然而, 鉴于胃癌的快速发展特性, 众多患者未能在最佳时机接受手术治疗, 这对他们的生命安全构成了严重威胁。近年来, 分子生物学与肿瘤免疫学的迅猛进步催生了多种新型肿瘤治疗方法, 其中包括放射线治疗、化学治疗和生物治疗等, 这些方法逐渐成为治疗恶性肿瘤的新途径。特别是免疫治疗, 在临床实践中得到了广泛的应用, 并且已经取得了显著的治疗效果, 其中以 PD-1/PD-L1 抑制剂和 HER2 靶向治疗尤为突出[13][14]。PAICS 的过表达可预测肿瘤患者的不良生存率[7][9]-[11][15]。对 PAICS 致癌机制的研究显示, PAICS 可以通过正向调节 SNAIL1 和降低 E-钙粘蛋白表达来诱导膀胱癌的上皮-间质转化[10]。此外, 在前列腺癌中存在 JQ1 的情况下, 在 PAICS 启动子上观察到 MYC 占有率的丧失[9]。但是, 在胃癌的发生与发展过程中, PAICS 是否扮演着关键角色, 至于其是否能成为新型免疫治疗的潜在靶点, 目前尚不明确。鉴于此, 本研究深入挖掘并分析了现有的主流公共生物医学信息数据库, 目的在于探寻胃癌免疫治疗的新途径。

本文的目的在于验证 PAICS 能够作为胃癌预测性生物标志物以及肿瘤免疫治疗潜在靶点的可行性。首先, 研究多个公共数据库对 PAICS 基因在各类常见癌症中的表达情况进行分析。经 TIMER 数据库发现, PAICS 在多种癌症中呈现高表达态势。接着, 利用 UALCAN 数据库对 TCGA 数据进行分析, 结果表明 PAICS 在胃癌组织中的表达存在显著差异($P = 1.62436730732907E-12$), 这表明 PAICS 在胃癌发生过程中扮演了关键角色。随后, 通过进一步利用 UALCAN 数据库进行分析, 研究表明 PAICS 在正常组织与胃癌组织中的差异表达存在显著的相关性。在胃癌患者群体中, 正常组织中的 PAICS 表达水平明显低于胃癌组织。进一步分析肿瘤分期发现, 当患者肿瘤分期为第一、二、三、四期时, PAICS 的表达量显著高于癌旁组织。在肿瘤分级方面, PAICS 在 1 级、2 级、3 级中的表达量均高于正常组织, 且 3 级的表达量高于 2 级和 1 级, 在涉及肿瘤淋巴结转移的分析中, 在正常组织中的 PAICS 表达量都明显低于淋巴结转移的各阶段。此外, 通过 The Kaplan Meier plotter 数据库分析, 提示 PAICS 的高表达能够使胃癌患者的无进展生存期(FP)、总生存期(OS)、及进展后生存期(PPS)均有所减少。这些分析结果表明, PAICS 的高表达在胃癌的形成、进展、侵袭性增强以及预后不良方面发挥着关键作用, 暗示着 PAICS 可能是一个潜在的预后生物标志物。

通过对 TIMER 数据库进行深入探究后发现, PAICS 的表达与 B 细胞、CD4+T 细胞、CD8+T 细胞、中性粒细胞、巨噬细胞和树突状细胞呈现出明显的负相关关系。这种负相关关系表明 PAICS 基因可能对这种免疫细胞的浸润有抑制作用。提示 PAICS 基因在胃癌中具有潜在的免疫抑制作用。具体机制可能涉及 PAICS 对趋化因子(如 CXCL10、CCL5)的调控, 这些趋化因子在免疫细胞的迁移和浸润中起关键作用。此外, PAICS 可能通过影响细胞因子(如 IL-6、TNF- α)的分泌, 进一步调节免疫细胞的功能和活性, PAICS 也可能通过与免疫检查点分子(如 PD-L1)的相互作用, 影响肿瘤微环境中的免疫逃逸过程, 这些假设需要

通过实验验证,例如通过体外实验检测 PAICS 对趋化因子和免疫检查点分子的调控作用,或通过动物模型观察 PAICS 对免疫细胞浸润的影响。同时,PAICS 的表达与 T 细胞、B 细胞、中性粒细胞、M1 巨噬细胞、M2 巨噬细胞、Th1 细胞、Th2 细胞等肿瘤免疫细胞标志物之间存在显著的相关性。据此可以证实,PAICS 通过影响免疫细胞,进而对胃癌的发生和发展过程产生影响。前述研究结果揭示,PAICS 在胃癌肿瘤微环境中对免疫细胞的浸润及免疫检查点基因具有调控作用,可能参与了肿瘤免疫逃逸和抑制的过程。为胃癌的免疫治疗提供了理论基础[16]-[18],具体调控机制有待进一步研究。综上所述,PAICS 作为胃癌发展中的关键分子,有望成为个性化治疗的新靶点。通过检测 PAICS 的表达水平,可以指导选择合适的治疗方案,提高治疗效果。需进一步探索 PAICS 在胃癌异质性中的调控网络,并开展多中心临床试验验证其作为液态活检标志物及靶向治疗方案的可行性。然而,从研究科学性角度分析,本研究尚且具有诸多局限性。第一、研究中所用数据均引用于公共数据库,缺乏自身实验数据作为对各类公共数据的佐证。第二、不同数据库之间所采用的统计学方式可能各不相同,此外,这些方法可能不具备足够的特异性。第三、通过 TIMER 数据库分析 PAICS 与胃癌组织免疫细胞浸润水平及与免疫细胞相关标记物的关系,可以看出需进一步研究免疫细胞相关标记物以明确高表达 PAICS 基因与免疫浸润相关性,应通过与免疫浸润相关的细胞实验和动物实验验证 GANS 是如何促进胃癌肿瘤的发生、发展及转移。第四、本研究基于公共数据库的生物信息学分析,可能存在混杂因素的影响。例如,肿瘤微环境中的其他细胞类型(如髓系来源的抑制细胞或调节性 T 细胞)可能对 PAICS 的表达和功能产生影响。此外,其他基因的表达(如与 PAICS 协同作用的代谢酶)也可能干扰 PAICS 的预后价值。未来研究应通过多组学联合分析(如转录组与代谢组)进一步验证 PAICS 在胃癌中的作用,并通过实验排除混杂因素的影响。

5. 结论

上述研究揭示了 PAICS 在胃癌的发病、进展以及免疫浸润方面扮演着关键角色,它有可能作为评估胃癌患者临床预后的生物标志物,并且成为新的免疫治疗的潜在靶点。然而,为了深入理解 PAICS 在胃癌中的确切作用机制,特别是在免疫细胞浸润和免疫检查点基因方面的功能,尚需进一步的研究。这样的研究将为胃癌的精准治疗提供更为坚实的科学基础。

参考文献

- [1] Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., *et al.* (2021) Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **71**, 209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- [2] Joshi, S.S. and Badgwell, B.D. (2021) Current Treatment and Recent Progress in Gastric Cancer. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **71**, 264-279. <https://doi.org/10.3322/caac.21657>
- [3] Smyth, E.C., Nilsson, M., Grabsch, H.I., van Grieken, N.C. and Lordick, F. (2020) Gastric Cancer. *The Lancet*, **396**, 635-648. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(20\)31288-5](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(20)31288-5)
- [4] Li, G.Z., Doherty, G.M. and Wang, J. (2022) Surgical Management of Gastric Cancer. *JAMA Surgery*, **157**, 446-454. <https://doi.org/10.1001/jamasurg.2022.0182>
- [5] Ajani, J.A. (2005) Evolving Chemotherapy for Advanced Gastric Cancer. *The Oncologist*, **10**, 49-58. <https://doi.org/10.1634/theoncologist.10-90003-49>
- [6] Li, S., Tong, Y., Xie, X., Wang, Q., Zhou, H., Han, Y., *et al.* (2007) Octameric Structure of the Human Bifunctional Enzyme PAICS in Purine Biosynthesis. *Journal of Molecular Biology*, **366**, 1603-1614. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2006.12.027>
- [7] Zhou, S., Yan, Y., Chen, X., Wang, X., Zeng, S., Qian, L., *et al.* (2019) Roles of Highly Expressed PAICS in Lung Adenocarcinoma. *Gene*, **692**, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.12.064>
- [8] Meng, M., Chen, Y., Jia, J., Li, L. and Yang, S. (2018) Knockdown of PAICS Inhibits Malignant Proliferation of Human Breast Cancer Cell Lines. *Biological Research*, **51**, Article No. 24. <https://doi.org/10.1186/s40659-018-0172-9>
- [9] Chakravarthi, B.V.S.K., Goswami, M.T., Pathi, S.S., Dodson, M., Chandrashekar, D.S., Agarwal, S., *et al.* (2018)

- Expression and Role of PAICS, a *de Novo* Purine Biosynthetic Gene in Prostate Cancer. *The Prostate*, **78**, 693-694. <https://doi.org/10.1002/pros.23533>
- [10] Chakravarthi, B.V.S.K., Rodriguez Pena, M.D.C., Agarwal, S., Chandrashekar, D.S., Hodigere Balasubramanya, S.A., Jabboure, F.J., *et al.* (2018) A Role for *de Novo* Purine Metabolic Enzyme PAICS in Bladder Cancer Progression. *Neoplasia*, **20**, 894-904. <https://doi.org/10.1016/j.neo.2018.07.006>
 - [11] Goswami, M.T., Chen, G., Chakravarthi, B.V.S.K., Pathi, S.S., Anand, S.K., Carskadon, S.L., *et al.* (2015) Role and Regulation of Coordinately Expressed *de Novo* Purine Biosynthetic Enzymes *ppat* and *paics* in Lung Cancer. *Oncotarget*, **6**, 23445-23461. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.4352>
 - [12] Zaza, G., Yang, W., Kager, L., Cheok, M., Downing, J., Pui, C., *et al.* (2004) Acute Lymphoblastic Leukemia with TEL-AML1 Fusion Has Lower Expression of Genes Involved in Purine Metabolism and Lower *de Novo* Purine Synthesis. *Blood*, **104**, 1435-1441. <https://doi.org/10.1182/blood-2003-12-4306>
 - [13] Wu, X., Gu, Z., Chen, Y., Chen, B., Chen, W., Weng, L., *et al.* (2019) Application of PD-1 Blockade in Cancer Immunotherapy. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, **17**, 661-674. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2019.03.006>
 - [14] Shitara, K., Lordick, F., Bang, Y., Enzinger, P., Ilson, D., Shah, M.A., *et al.* (2023) Zolbetuximab plus mFOLFOX6 in Patients with CLDN18.2-Positive, HER2-Negative, Untreated, Locally Advanced Unresectable or Metastatic Gastric or Gastro-Oesophageal Junction Adenocarcinoma (SPOTLIGHT): A Multicentre, Randomised, Double-Blind, Phase 3 Trial. *The Lancet*, **401**, 1655-1668. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(23\)00620-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(23)00620-7)
 - [15] Huang, Q., Liu, F. and Shen, J. (2019) Bioinformatic Validation Identifies Candidate Key Genes in Diffuse Large-B Cell Lymphoma. *Personalized Medicine*, **16**, 313-323. <https://doi.org/10.2217/pme-2018-0068>
 - [16] Tsuchiya, H. and Shiota, G. (2021) Immune Evasion by Cancer Stem Cells. *Regenerative Therapy*, **17**, 20-33. <https://doi.org/10.1016/j.reth.2021.02.006>
 - [17] Li, B., Severson, E., Pignon, J., Zhao, H., Li, T., Novak, J., *et al.* (2016) Comprehensive Analyses of Tumor Immunity: Implications for Cancer Immunotherapy. *Genome Biology*, **17**, Article No. 174. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-1028-7>
 - [18] Zeng, D., Wu, J., Luo, H., Li, Y., Xiao, J., Peng, J., *et al.* (2021) Tumor Microenvironment Evaluation Promotes Precise Checkpoint Immunotherapy of Advanced Gastric Cancer. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, **9**, e002467. <https://doi.org/10.1136/jitc-2021-002467>