

PD - L1 抑制剂治疗先天性巨大黑痣的 有效性研究

Efficacy of PD - L1 inhibitor in treating giant congenital melanocytic nevi

孟剑霞, 魏伯轩, 高博闻,
谢 峰

(上海交通大学 医学院 附属第九人民医院 整复
外科, 上海, 200011)

MENG JIAN - xia, WEI Bo - xuan,
GAO Bo - wen, XIE Feng

(Department of Plastic and Reconstructive
Surgery, Shanghai Ninth People's
Hospital, Shanghai Jiao Tong University
School of Medicine, Shanghai 200011,
China)

基金项目: 国家自然科学基金资助项目
(81871595), 上海市整形与修复重
建临床医学研究中心上海市科委项
目(22MC1940300), 上海市卫生健康
委员会卫生行业临床研究专项基金
资助项目(20214Y0330)

作者简介: 孟剑霞(1992 -), 女, 主管药师, 主
要从事先天性巨大黑痣的药物研究

通信作者: 谢峰, 主任医师, 硕士生导师
MP: 13917081344

E - mail: xiefenghe@163.com

摘要:目的 探索抗细胞程序性死亡配体 1(PD - L1)免疫疗法在先天性巨大黑痣(GCMN)治疗中的潜力。**方法** 将原代 GCMN 细胞分为 GCMN 组[仅 GCMN 细胞而未加入外周血单核细胞(PBMC)细胞], 未激活 PBMC + GCMN 组(于 GCMN 细胞中加入未处理过的 PBMC 细胞共培养), 激活 PBMC + GCMN 组(于 GCMN 细胞中加入使用 CD3/CD28 抗体刺激的 PBMC 细胞共培养), 激活 PBMC + GCMN + PD - L1 抑制剂组(在激活 PBMC + GCMN 组的基础上加入 $10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ PD - L1 抑制剂阿替利珠单抗进行干预), 在培养 72 h 后, 用显微镜观察细胞杀伤情况与细胞汇合度, 并进一步使用细胞计数试剂盒(CCK - 8)实验检测细胞活性、用流式细胞技术检测细胞凋亡; 同时, 于 C - NKG 重度免疫缺陷小鼠腹腔注射人 PBMC 建立人源化免疫系统, 并于人源化免疫小鼠中构建 GCMN - 患者来源组织异种移植(PDX)模型, 并分为 2 组, 对照组[腹腔注射磷酸盐缓冲液(PBS)], 实验组(腹腔注射 $10 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 阿替利珠单抗), 每 3 d 1 次, 共注射 2 周, 评估体内疗效。**结果** GCMN 组、未激活 PBMC + GCMN 组、激活 PBMC + GCMN 组、激活 PBMC + GCMN + PD - L1 抑制剂组的细胞汇合度分别为: (93.14 ± 3.25)%、(85.29 ± 2.40)%、(68.29 ± 3.68)% 和 (22.55 ± 4.28)%; 细胞活性分别为: (100.00 ± 1.48)%、(80.35 ± 2.60)%、(52.17 ± 2.37)% 和 (15.61 ± 1.82)%; 凋亡细胞比例分别为: (0.64 ± 0.14)%、(9.32 ± 0.91)%、(19.29 ± 3.98)% 和 (28.43 ± 0.33)%; 激活 PBMC + GCMN + PD - L1 抑制剂组与 GCMN 组比较, 上述指标在统计学上差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。在人源化免疫小鼠构建的 GCMN - PDX 模型中实验组和对照组的真皮内细胞密度分别为 (580 ± 183) 和 (3658 ± 532) $\text{cells} \cdot \text{mm}^{-2}$, 2 组的真皮细胞密度比较, 在统计学上差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 本研究表明, PD - L1 抑制剂通过激活免疫系统有效杀伤 GCMN 细胞, 为 GCMN 的临床药物治疗提供新策略。

关键词: 阿替利珠单抗; 先天性巨大黑痣; 黑色素痣; 程序性死亡配体 1; 免疫治疗

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.16.009

中图分类号: R979.5 **文献标志码:** A

文章编号: 1001-6821(2025)16-2299-06

Abstract: Objective To explore the potential of anti - programmed cell death ligand 1 (PD - L1) immunotherapy in giant congenital melanocytic nevus (GCMN) treatment. **Methods** GCMN cells were divided into four groups: GCMN group (GCMN cells alone), unactivated peripheral blood mononuclear cells (PBMC) + GCMN group (GCMN cells with unstimulated PBMCs), activated PBMC + GCMN group (GCMN cells with CD3/CD28 antibody - stimulated PBMCs), and activated PBMC + GCMN + PD - L1 inhibitor group (the activated PBMC

+ GCMN group treated with $10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ PD-L1 inhibitor atezolizumab). After 72 hours of culture, cell cytotoxicity and confluence were assessed. Cell viability was measured using the cell counting kit (CCK-8) assay, and apoptosis was evaluated *via* flow cytometry. Additionally, a humanized immune system was established in C-NKG severely immunodeficient mice by intraperitoneal injection of human PBMCs. A GCMN patient-derived xenograft (PDX) model was constructed in these humanized mice, divided into two groups: control group [phosphate buffer saline (PBS)] and experimental group (intraperitoneal injection of $10 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ atezolizumab), administered every 3 days for 2 weeks, to evaluate *in vivo* efficacy. **Results** Cell confluence rates for the GCMN, unactivated PBMC + GCMN, activated PBMC + GCMN, and activated PBMC + GCMN + PD-L1 inhibitor groups were $(93.14 \pm 3.25)\%$, $(85.29 \pm 2.40)\%$, $(68.29 \pm 3.68)\%$ and $(22.55 \pm 4.28)\%$, respectively. Cell viability rates were $(100.00 \pm 1.48)\%$, $(80.35 \pm 2.60)\%$, $(52.17 \pm 2.37)\%$ and $(15.61 \pm 1.82)\%$, respectively. Apoptotic cell proportions were $(0.64 \pm 0.14)\%$, $(9.32 \pm 0.91)\%$, $(19.29 \pm 3.98)\%$ and $(28.43 \pm 0.33)\%$, respectively. Compared to the GCMN group, the activated PBMC + GCMN + PD-L1 inhibitor group showed statistically significant differences in all measured parameters (all $P < 0.05$). In GCMN-PDX model, dermal cell density in experimental group and control group were (580 ± 183) and $(3\ 658 \pm 532)$ cells $\cdot \text{mm}^{-2}$, respectively. And the difference of the above index between the two groups was statistically significant (all $P < 0.05$). **Conclusion** This study demonstrates that PD-L1 inhibitors effectively target GCMN cells by activating the immune system, offering a promising new strategy for the clinical treatment of GCMN.

Key words: atezolizumab; giant congenital melanocytic nevi; melanocytic nevi; programmed death-ligand 1; immunotherapy

先天性巨大黑痣(giant congenital melanocytic nevi, GCMN)是一种出生即存在的黑色素细胞来源体表良性肿瘤。表现为成人预计直径超过40 cm的广泛皮肤黑变^[1]。GCMN不仅严重影响患者的外观而带来心理问题,还会威胁生命,GCMN恶变为黑色素瘤的发生率约3%~5%^[2],疾病进展迅速,死亡率高。临床上,GCMN的治疗策略包含磨削、激光、化学剥脱、手术治疗等手段^[3]。然而,对于特大面积的GCMN,这些治疗方法无法将痣细胞彻底清除,复发及恶变的风险依旧存在,且往往导致广泛瘢痕。因此,开发有效的药物治疗手段使GCMN发生消退,成为亟待突破的问题。近年来,免疫抑制剂的出现,大大提高了皮肤恶性黑色素瘤的生存率,其中作为金标准、应用最多的免疫治疗为抗程序性死亡受体-1(programmed death 1, PD-1)/程序性死亡配体-1(programmed cell death ligand 1, PD-L1)疗法^[4]。在我国,PD-1抑制剂特瑞普利单抗已获批用于治疗标准治疗失败后的局部进展或转移性黑色素瘤。GCMN与皮肤恶性黑色素瘤存在诸多同源性。在发病机制上,二者均源于黑色素细胞的异常增殖。从基因层面来看,GCMN和皮肤恶性黑色素瘤具有相似的基因突变谱。皆为发生了鼠类肉瘤病毒癌基因同源物B1(v-murine sarcoma viral oncogene homologue B1, BRAF)或神经母细胞瘤RAS病毒癌基因同源物(neuroblastoma

RAS viral oncogene homolog, NRAS)突变^[4-5]。同时,GCMN有一定概率恶变为黑色素瘤。基于这些同源性,理论上抗PD-1/PD-L1疗法有望对GCMN发挥治疗作用。研究该疗法在GCMN治疗中的有效性,有望为GCMN患者提供全新的治疗策略。

材料与方法

1 材料

组织和外周全血 2019年6月至2023年6月于我院整复外科手术切除的巨痣组织10例及皮肤恶性黑色素瘤组织6例。2023年6月至2024年6月招募并采集18~30岁的健康人群,共计3例,采集外周全血样本。本研究经上海交通大学医学院附属第九人民医院伦理委员会批准(伦理批号:沪九院科伦审201743)。患者术前签署知情同意书与样本捐献同意书。

细胞 人恶性黑色素瘤细胞A375(收录于中国科学院干细胞库,编号:SCSP-533),购自赛业(苏州)生物科技有限公司。

动物 雌性,C-NKG小鼠,6~8周龄,体质量18~24 g,购自赛业(苏州)生物科技有限公司,动物生产许可证号:SCXK(苏)2022-0016。本实验经上海交通大学医学院附属第九人民医院动物伦理委员会批准(伦理批准号:SH9H-2023-A891-1)。

药品与试剂 阿替利珠单抗 Atezolizumab,规格:

每支 5 mg, 批号: A2004, 购自上海蓝木化工有限公司; PD-L1 抗体、CD45 抗体、山羊抗兔 IgG H&L (Alexa Fluor[®] 488) 抗体, 皆为英国 Abcam 公司生产; T 细胞扩增和活化的 Dynabeads[™] 人 T 活化剂 CD3/CD28, 美国 Thermo Fisher 公司生产; 辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG (H + L)、异硫氰酸荧光素标记的膜联蛋白 V (Annexin V fluorescein isothiocyanate, Annexin V - FITC) 细胞凋亡检测试剂盒、细胞计数试剂盒 (cell counting kit 8, CCK - 8)、Tris - EDTA 抗原修复液、Triton - X, 均为上海碧云天生物技术股份有限公司生产; Ficoll 分离液及 AEC 显色剂, 均由北京索莱宝科技有限公司生产; 罗斯威尔公园纪念研究所 - 1640 (Roswell Park Memorial Institute 1640, RPMI - 1640) 培养基, 购自美国 Gibco 公司; 黑色素细胞培养基 (melanocyte medium, MELM), 购自美国 ScienCell 公司; Dispase II 及胶原酶 I, 购自美国 Sigma - Aldrich 公司。

仪器 HistoCore PEARL 组织脱水机、HistoCore Arcadia H 热石蜡包埋机, 德国 Leica 公司产品。流式细胞仪 Beckman CytoflexS, 美国 Beckman 公司产品。Varioskan LUX 多功能酶标仪, 美国 Thermo Fisher 公司产品。Nikon 研究级倒置荧光显微镜 TE300, 日本 Nikon 公司产品。通用型小动物麻醉机, 深圳瑞沃德公司产品。

2 实验方法

2.1 细胞实验

2.1.1 GCMN 原代细胞的提取与培养

将患者来源的新鲜巨痣组织浸泡 0.25% Dispase 酶 II 中, 4 °C 孵育过夜, 将表皮撕去, 剩余真皮部分使用眼科剪剪碎, 0.2% 胶原酶 I 消化 4 ~ 8 h, 过筛离心后, 接种于细胞皿中, 使用 MELM (含 10% FBS) 培养基进行培养。每 3 ~ 4 h 进行换液一次, 细胞生长至 70% ~ 90% 的融合度后进行 1:2 传代。

2.1.2 外周血淋巴细胞的提取、培养与刺激

将采集的健康人群全血样本经 Ficoll 分层液离心, 提取中间白色层的外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cells, PBMC), 使用 RPMI - 1640 (含 10% FBS) 培养基进行悬浮培养, 培养皿在培养前 24 h, 预先用 T 细胞扩增和活化的 Dynabeads[™] 人 T 活化剂 CD3/CD28 包被, 加入 PBMC 培养刺激 48 h 后成为激活的 PBMC, 未进行包被的组别则为未激活的 PBMC。

2.1.3 先天性巨大黑痣细胞与外周血单核细胞的共培养体系建立

为了明确 PD - L1 抑制剂能否逆转 GCMN 的免

疫逃逸, 促进淋巴细胞对 GCMN 细胞的杀伤, 将提取的 PBMC 及 PD - L1^{high} GCMN 细胞 (该细胞的定义见 2.1.5) 进行共培养 (比例 5:1), 并设置以下组别: GCMN 组未共培养组、未激活 PBMC + GCMN 组、激活 PBMC + GCMN 组、激活 PBMC + GCMN + PD - L1 抑制剂组。各组别使用 RPMI - 1640 (含 10% FBS) 培养基培养 72 h, 其中 GCMN 组仅 GCMN 细胞而未加入 PBMC 细胞, 未激活 PBMC + GCMN 组于 GCMN 细胞中加入未处理过的 PBMC 细胞, 激活 PBMC + GCMN 组于 GCMN 细胞中加入使用 CD3/CD28 抗体刺激的 PBMC 细胞, 含有 PD - L1 抑制剂的组别加入 Atezolizumab (10 μg · mL⁻¹), 浓度选择根据既往文献^[6]。72 h 后, 使用显微镜记录并拍摄细胞的形态, 计算细胞汇合度 (每组 n = 3)。

2.1.4 免疫组化检测 PD - L1 的表达与苏木精 - 伊红染色 (hematoxylin - eosin staining, HE) 检测组织病理改变

使用组织免疫组化技术检测 PD - L1 在 GCMN (n = 6) 及恶性黑色素瘤 (n = 6) 病灶组织中的表达, 并通过病理科医师评判, 给与阳性率评分 (-: 0%, +: 0% ~ 25%, ++: 25% ~ 50%, +++: 50% ~ 75%, ++++: 75% ~ 100%)。将组织切片进行脱蜡、复水。使用 3% 过氧化氢灭活内源性过氧化氢酶, 再使用 Tris - EDTA 抗原修复液 (PH = 9.0) 进行水浴锅抗原修复 30 h。使用 5% 牛血清白蛋白于室温封闭 20 分钟。加入 PD - L1 一抗 (ab205921, Abcam, 1:200) 于 4 °C 孵育过夜。使用对应种属的二抗进行室温孵育 1 h。各步骤结束皆使用磷酸盐缓冲液 (phosphate buffer saline, PBS) 洗涤三次。AEC 显色剂显色。苏木素染色、流水反蓝复染, 常规封片, 光学显微镜镜检。HE 染色: 上述组织切片脱蜡后, 依次以苏木素和伊红染色。

2.1.5 细胞免疫荧光检测 PD - L1 的阳性率

免疫组化结果中, PD - L1 表达 3+ 的 GCMN 组织被定义为 PD - L1^{high}。提取 PD - L1^{high} 的 GCMN 原代细胞 (n = 3), 并使用 A375 人皮肤黑色素瘤细胞系 (n = 3), 进行细胞免疫荧光。GCMN 细胞及 A375 细胞系使用多聚甲醛固定 20 min 后, PBS 洗涤 3 次。使用 Triton - X 进行破膜 20 min, PBS 洗涤 3 次。孵育 PD - L1 (ab205921, abam, 1:100) 一抗 4 度过夜。PBS 洗涤 3 次, 荧光二抗标记 (Alexa Fluor 488) 室温孵育 1 小时, PBS 洗涤 3 次, DAPI 复染核, 倒置荧光显微镜观察。

2.1.6 流式细胞技术检测凋亡与 CCK - 8 实验检测细胞活性

使用流式细胞技术分析检测凋亡情况, 并进行

CCK-8 实验检测细胞活性情况。弃上清后,将各组贴壁的 GCMN 细胞消化下来,加入 Annexin V - FITC 和碘化丙啶(propidium iodide, PI) 染液,37 °C 孵育 20 min 后,流式检测细胞凋亡率(每组 $n = 3$)。对于 CCK-8 实验,在弃上清后,加入 CCK-8 溶液,孵育 1 ~ 2 h,酶标仪测定 450 nm 吸光度,计算细胞活性率(每组 $n = 3$)。

2.2 动物实验

2.2.1 巨痣患者来源异种移植(patient-derived xenograft, PDX)模型的建立

采用 C-NKG 免疫缺陷小鼠(6 ~ 8 周龄)建立人源化免疫系统,每只小鼠腹腔注射 5×10^6 个人 PBMC 后,流式检测人 CD45⁺ 免疫细胞阳性率,明确构建成功与否。

将手术获取的巨痣新鲜组织裁剪为 $5 \times 5 \times 2 \text{ mm}^3$ 的大小,移植至人源化小鼠颈部皮下,2 周后观察巨痣组织的存活情况,确保存活良好。

2.2.2 动物分组与给药方法

实验组小鼠腹腔注射 PD-L1 抑制剂 Atezolizumab ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 每 3 天 1 次,共注射 2 周),剂量选择根据既往文献^[6],对照组注射 PBS,注射 2 周后进行组织块取材,HE 评估巨痣细胞的减少情况(每组 $n = 3$)。

3 统计学处理

使用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用 student *t* 检验。多组间比较用单因素方差分析。

结 果

1 先天性巨大黑痣细胞中 PD-L1 呈现高表达

免疫组化结果显示:GCMN 的 PD-L1 阳性强度为 + ~ + + +,而 CM 的 PD-L1 阳性率为 + + ~ + + +。细胞免疫荧光结果显示:PD-L1 在 GCMN 细胞中的阳性率为 $(94.02 \pm 5.61)\%$,A373 细胞的阳性率为 $(97.15 \pm 1.51)\%$ 。以上结果提示部分先天性巨大黑痣患者的痣细胞与恶性黑色素瘤相似,皆存在 PD-L1 的高表达,见图 1。

2 PD-L1 抑制剂诱导淋巴细胞对先天性巨大黑痣细胞的显著杀伤作用

各组的细胞汇合度结果如下,GCMN 组为 $(93.14 \pm 3.25)\%$;未激活 PBMC + GCMN 组为 $(85.29 \pm 2.40)\%$ 、激活 PBMC + GCMN 组为 $(68.29 \pm 3.68)\%$ 、激活 PBMC + GCMN + PD-L1 抑制剂组为 $(22.55 \pm 4.28)\%$ 。使用激活 PBMC 结合 PD-L1 抑制剂干预的效果最好,细胞汇合度较 GCMN 组显著下降($P < 0.05$),且细胞碎片增多、细胞核皱缩,见图 2。以上结果提示 PD-L1 抑制剂促进 PBMC 对 GCMN 细胞的杀伤作用。

3 PD-L1 抑制剂促进淋巴细胞抑制先天性巨大黑痣细胞的活性并诱导其凋亡

CCK-8 法检测结果显示:GCMN 组为 $(100.00 \pm 1.48)\%$;未激活 PBMC + GCMN 组为

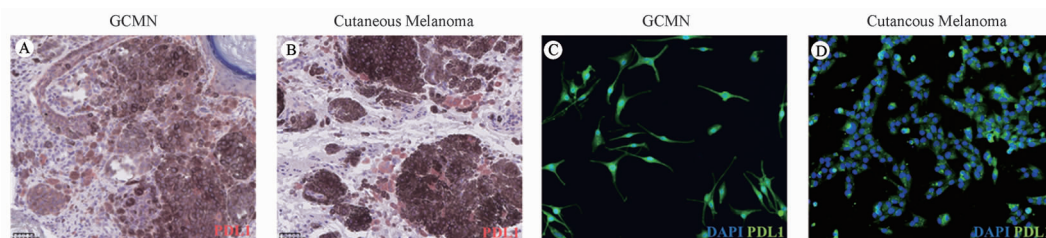


图 1 组织免疫组化(A-B)与细胞免疫荧光(C-D)检测细胞程序性死亡-配体 1(PD-L1)在先天性巨大黑痣(GCMN)及皮肤恶性黑色素瘤中的表达情况

Figure 1 Immunohistochemistry (A - B) and cellular immunofluorescence (C - D) detection of programmed cell death ligand 1 (PD - L1) expression in giant congenital melanocytic nevi(GCMN) and cutaneous melanoma

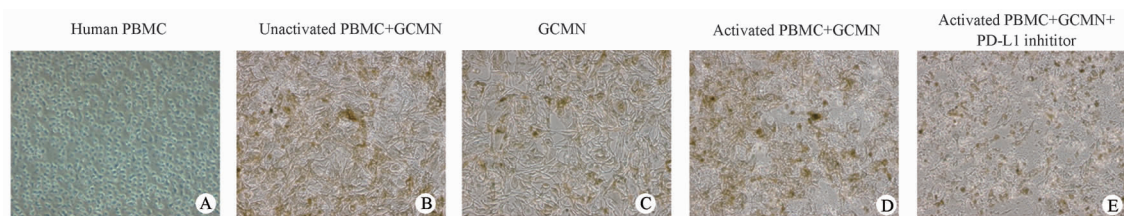


图 2 在光学显微镜下观察 PD-L1 抑制剂对 GCMN-外周血单个核细胞(PBMC)细胞共培养体系的杀伤情况

Figure 2 Cytotoxic effects of PD - L1 inhibitors on the GCMN - peripheral blood mononuclear cells (PBMC) co - culture system by microscopy observation

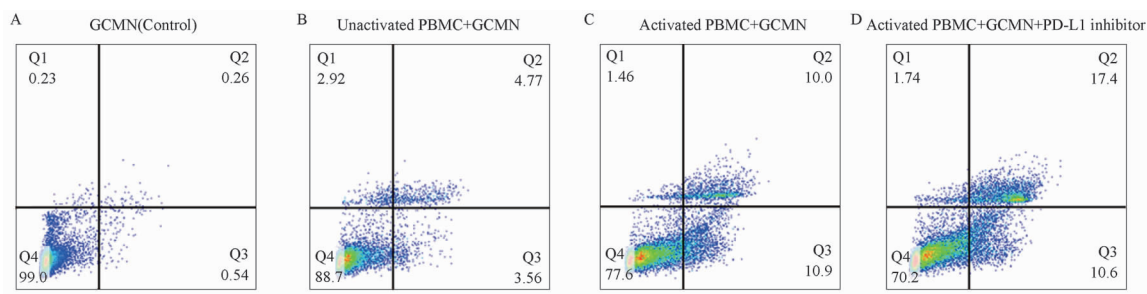


图3 用流式细胞分析法检测 GCMN - PBMC 共培养体系中使用 PD - L1 抑制剂干预后的凋亡情况(横轴代表 Annexin V - FITC, 纵轴代表 PI - PE)

Figure 3 Apoptosis in the GCMN - PBMC co - culture system following intervention with PD - L1 inhibitors by flow cytometry analysis

(80.35 ± 2.60)%、激活 PBMC + GCMN 组为 (52.17 ± 2.37)%、激活 PBMC + GCMN + PD - L1 抑制剂组为 (15.61 ± 1.82)% ; PD - L1 抑制剂显著促进淋巴细胞对 GCMN 细胞活性的抑制作用 ($P < 0.05$)。流式检测凋亡细胞比例,第二象限(Q2)为晚期凋亡细胞,第三象限为早期凋亡细胞(Q3),2者总和为凋亡细胞比例,见图3。GCMN 组为 (0.64 ± 0.14)% ; 未激 PBMC + GCMN 组为 (9.32 ± 0.91)%、激活 PBMC + GCMN 组为 (19.29 ± 3.98)%、激活 PBMC + GCMN + PD - L1 抑制剂组为 (28.43 ± 0.33)% ; PD - L1 抑制剂显著促进淋巴细胞诱导 GCMN 细胞凋亡 ($P < 0.05$)。以上结果显示 PD - L1 抑制剂能够促进淋巴细胞抑制 GCMN 细胞活性并诱导细胞凋亡,起到良好的治疗作用。

4 PD - L1 抑制剂在人源化免疫小鼠巨痣 PDX 模型中显著杀伤巨痣细胞

用流式细胞分析法检测人源化免疫小鼠 GCMN PDX 模型的外周血细胞,其人 CD45⁺ 免疫细胞阳性率达 (27.33 ± 11.23)% ,提示构建成功。PBS 组及 PD - L1 抑制剂 (Atezolizumab) 组治疗 2 周后进行取材。HE 染色显示 PBS 组真皮内的痣细胞密度为 ($3\ 658 \pm 532$) cell · mm⁻², PD - L1 抑制剂组真皮内的

痣细胞密度为 (580 ± 183) cell · mm⁻², 见图 4。PD - L1 抑制剂显著减少组织块内 GCMN 细胞的含量 ($P < 0.05$),明确了 PD - L1 抑制剂在体内治疗 GCMN 的可行性。

讨 论

现有的手术治疗或非手术治疗方法皆无法完全根除 GCMN,若不进行治疗,GCMN 有终生恶变风险,可能威胁生命,导致 GCMN 患者的临床管理面临巨大挑战。因此,开发以消退病灶、降低恶变风险药物治疗手段成为近年研究热点^[7]。

针对 GCMN 的药物研究主要集中在靶向治疗,由于 GCMN 由 NRAS 和 BRAF 突变引起,因此,针对 MAPK 通路及 PI3K - AKT 通路的抑制剂研究众多。基础研究显示,MEK 抑制剂、PI3K 抑制剂及 AKT 抑制剂能够有效抑制 GCMN 细胞活性^[8-9],但在临床上用于治疗 GCMN 的效果有限,无法完全根除巨痣^[10-11]。恶性黑色素瘤中,BRAF 抑制剂(如 Vemurafenib)联合 MEK 抑制剂疗效显著^[4],但 GCMN 中 BRAF 突变率较低(约 10%),且病灶异质性导致靶向药物难以全面覆盖,限制了疗效。

与靶向治疗相比,免疫治疗通过激活全身免疫系统,受肿瘤异质性影响较小,具有更广谱的杀伤潜力。在皮肤恶性黑色素瘤中,PD - 1/PD - L1 抑制剂显著延长生存期^[12],客观缓解率达 40% 以上^[13-15]。本研究发现,GCMN 细胞高表达 PD - L1,提示其通过类似黑色素瘤的机制实现免疫逃逸,为免疫治疗提供了依据。

本研究显示,PD - L1 抑制剂解除免疫抑制后,淋巴细胞对 GCMN 细胞的杀伤作用增强,并促进巨痣细胞凋亡,在人源化免疫小鼠巨痣 PDX 模型中,PD - L1 抑制剂干预后使得组织块中 GCMN 细胞显著减少。以上结果明确 PD - L1 抑制剂治疗先天性巨大黑痣的可行性与有效性,并且可能通过重新激活抗原特异性

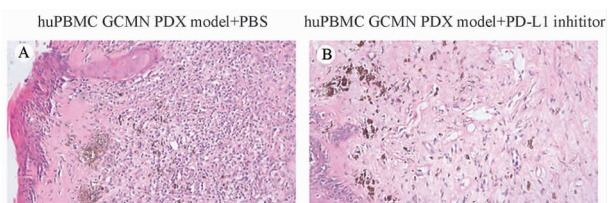


图4 用苏木精 - 伊红(HE)染色观察人源化免疫小鼠构建的患者来源异种移植(PDX)模型模型中使用 PD - L1 抑制剂后 GCMN 细胞的数量变化

Figure 4 Hematoxylin - eosin (HE) staining assessing changes in GCMN cell numbers in the patient - derived xenograft (PDX) model established in humanized immune mice after treatment with PD - L1 inhibitors

淋巴细胞,引发广泛杀伤。未来,除了应用 PD-L1 抑制剂治疗,也有望分离特异性记忆淋巴细胞,体外扩增后注射回巨痣病灶,进一步放大杀伤效应^[16]。

本研究表明,PD-L1 抑制剂可能通过重新激活免疫系统杀伤 GCMN,克服靶向治疗因异质性导致的局限,具有治疗大范围病灶的潜力。免疫治疗全身效应强,靶向精准性高,药物不良反应小,未来在大面积皮肤肿瘤中应用前景广阔。对于 PD-L1 高表达的 GCMN 患者,该疗法可能是优选策略,需进一步验证其临床疗效。

参考文献:

- [1] KRENGEL S, SCOPE A, DUSZA S W, *et al.* New recommendations for the categorization of cutaneous features of congenital melanocytic nevi [J]. *J Am Acad Dermatol*, 2013, 68(3):441—451.
- [2] BETT B J. Large or multiple congenital melanocytic nevi: Occurrence of cutaneous melanoma in 1008 persons [J]. *J Am Acad Dermatol*, 2005, 52(5): 793—797.
- [3] KINSLER V A, BIRLEY J, ATHERTON D J. Great ormond street hospital for children registry for congenital melanocytic naevi: Prospective study 1988—2007. Part 2—Evaluation of treatments [J]. *Br J Dermatol*, 2009, 160(2): 387—392.
- [4] SCHADENDORF D, FISHER D E, GARBE C, *et al.* Melanoma [J/OL]. *Nat Rev Dis Primers*, 2015, 1(1): e15003. 2015-04-23 [2025-04-08]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27188223/>.
- [5] POLUBOTHU S, MCGUIRE N, AL-OLABI L, *et al.* Does the gene matter? Genotype—phenotype and genotype—outcome associations in congenital melanocytic naevi [J]. *Br J Dermatol*, 2020, 182(2): 434—443.
- [6] HE Y, LEI L, CAO J, *et al.* A combinational chemo—immune therapy using an enzyme—sensitive nanoplatfor for dual—drug delivery to specific sites by cascade targeting [J/OL]. *Sci Adv*, 2021, 7(6): eaba0776. 2021-02-05 [2025-04-08]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33547067/>.
- [7] GRAFANAKI K, MERLINO G, DAY C P. Making a mouse out of a molehill: How precision modeling repurposes drugs for congenital giant nevi [J]. *Trends Cancer*, 2022, 8(8): 626—628.
- [8] ROUILLÉ T, ARACTINGI S, KADLUB N, *et al.* Local Inhibition of MEK/Akt Prevents Cellular Growth in Human Congenital Melanocytic Nevi [J]. *J Invest Dermatol*, 2019, 139(9): 2004—2015.
- [9] CHOI Y S, ERLICH T H, VON FRANQUE M, *et al.* Topical therapy for regression and melanoma prevention of congenital giant nevi [J]. *Cell*, 2022, 185(12): 2071—2085.
- [10] MIR A, AGIM N G, KANE A A, *et al.* Giant congenital melanocytic nevus treated with trametinib [J/OL]. *Pediatrics*, 2019, 143(3): e20182469. 2019-03-01 [2025-04-08]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30792255/>.
- [11] MOLHO—PESSACH V, HARTSHTARK S, MERIMS S, *et al.* Giant congenital melanocytic naevus with a novel CUX1—BRAF fusion mutation treated with trametinib [J]. *Br J Dermatol*, 2022, 187(6): 1052—1054.
- [12] 余克富, 徐雅楠, 赵志刚等. 程序性死亡受体 1 抑制药治疗黑色素瘤的分析 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2022, (19): 2356—2359.
- [13] TUMEH P C, HARVIEW C L, YEARLEY J H, *et al.* PD—1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance [J]. *Nature*, 2014, 515(7528): 568—571.
- [14] EGGERMONT A M M, BLANK C U, MANDALA M, *et al.* Adjuvant pembrolizumab versus placebo in resected stage III melanoma [J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(19): 1789—1801.
- [15] LUKE J J, RUTKOWSKI P, QUEIROLO P, *et al.* Pembrolizumab versus placebo as adjuvant therapy in completely resected stage IIB or IIC melanoma (KEYNOTE—716): A randomised, double—blind, phase 3 trial [J]. *Lancet*, 2022, 399(10336): 1718—1729.
- [16] KLOBUCH S, SEIJKENS T T P, SCHUMACHER T N, *et al.* Tumour—infiltrating lymphocyte therapy for patients with advanced—stage melanoma [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2024, 21(3): 173—184. (收稿日期 2025-04-30)

· 科学文摘 ·

一种通过双重结合靶点作用于多重耐药菌且未检测到耐药性的广谱抗生素

引自: HE W, *et al.* A broad—spectrum antibiotic targets multiple—drug—resistant bacteria with dual binding targets and no detectable resistance [J]. *Nat Commun*, 2025, 16(1): 7048.

难治性多重耐药病原体的迅速出现,加之具有新型作用机制的抗生素稀缺,对全球公共卫生构成了严重威胁。本研究结合合成生物信息学天然产物策略与多肽优化技术,揭示了类芽孢杆菌科细菌产生抗生素的潜力。通过不依赖培养的方法,发现了 paenimicin——一种新型 11 聚酯脂肽,其具有前所未有的双重结合机制。该化合物通过螯合革兰氏阴性菌脂质 A 的磷酸基/羟基以及革兰氏阳性菌磷壁酸的磷酸基,在体外和体内模型中均表现出对多重耐药病原体的强效广谱抗菌活性。Paenimicin 未检测到耐药性,且具有优良的药代动力学特征和低肾毒性,有望成为治疗严重紧急多重耐药感染的重要候选药物。