



云径平教授课题组致力于肿瘤发生发展机制及其分子病理研究,近年来兼做病理人工智能的研究。云径平教授主持多项国家级和省部级科研项目,并牵头或参与多项国际国内多中心临床研究。目前在国际知名期刊上已发表SCI文章120余篇,包括以通信作者身份在*J Hepatol*、*Hepatology*、*Cancer Res*、*Cancer Lett*、*Oncogene*等期刊上发表的50余篇论文。

EBV相关性肝内胆管癌的病理学研究进展

陈诗璐 李硕 黄雨华 云径平*

(华南恶性肿瘤防治全国重点实验室,广东省鼻咽癌诊治研究重点实验室,
广东省恶性肿瘤临床医学研究中心,中山大学肿瘤防治中心,广州 510060)

摘要 肝内胆管癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC)是发生于肝内胆管系统的恶性肿瘤,也是肝脏中第二常见的恶性肿瘤,因其侵袭性强、手术可切除率低及目前的治疗方法有限,患者预后较差。近数十年,全球ICC的发病率呈逐年上升趋势,大约50%的病例发病危险因素尚不明了。近年越来越多的研究发现,EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV)感染与肝内胆管癌的发生发展密切相关,EBV相关性肝内胆管癌(EBV-associated ICC, EBVaICC)在病因学、临床病理、分子遗传学及潜在治疗策略等方面均与非EBV相关性肝内胆管癌(non-EBVaICC)存在差异。该文将综述EBV相关性肝内胆管癌的病理学及治疗策略的研究进展。

关键词 EB病毒;肝内胆管癌;临床病理;肿瘤免疫微环境;基因组学

The Progress of Pathological Features in EBV-Associated Intrahepatic Cholangiocarcinoma

CHEN Shilu, LI Shuo, HUANG Yuhua, YUN Jingping*

(State Key Laboratory of Oncology in South China, Guangdong Key Laboratory of Nasopharyngeal Carcinoma Diagnosis and Therapy, Guangdong Provincial Clinical Research Center for Cancer, Sun Yat-sen University Cancer Center, Guangzhou 510060, China)

Abstract ICC (intrahepatic cholangiocarcinoma) is the second common malignancy of the liver. The incidence of ICC has been rising globally over recent decades. However, the etiology and pathogenesis of ICC are still not fully understood. ICC is associated with low survival rates because of its biological aggressiveness, poor respectability and limited therapeutic options. Recently, the association between EBV infection and ICC pathogenesis has attracted

收稿日期: 2024-12-03

接受日期: 2025-01-17

国家重点研发计划(批准号: 2017YFC1309000)资助的课题

*通信作者。Tel: 020-87342272, E-mail: yunjp@sysucc.org.cn

Received: December 3, 2024 Received: January 17, 2025

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (Grant No.2017YFC1309000)

*Corresponding author. Tel: +86-20-87342272, E-mail: yunjp@sysucc.org.cn

more and more attention of researchers. EBVaICC (EBV-associated ICC) has unique characteristics related to etiology, clinicopathology, molecular genetics and treatment compared with non-EBVaICC. Hence, a systematic and deeper understanding of this entity may provide valuable insights for pathogenesis and therapeutic strategies.

Keywords Epstein-Barr virus; intrahepatic cholangiocarcinoma; clinicopathology; tumor immune micro-environment; genomics

肝内胆管癌 (intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC) 是肝脏中第二常见的恶性肿瘤, 在亚洲人群高发。近数十年, 全球 ICC 的发病率呈逐年上升趋势。已有研究表明, ICC 的危险因素包括原发性硬化性胆管炎、肝硬化、化学物质接触、HCV、HBV 和肝吸虫感染等, 然而, 仍有 50% 的病例病因未明。近年来, Epstein-Barr 病毒 (Epstein-Barr virus, EBV) 感染与 ICC 发病的关系愈发引起研究者的关注。迄今为止, 全球范围内英文文献共报道了 60 余例 EBV 相关性肝内胆管癌 (EBV-associated ICC, EBVaICC), 绝大部分已报道的 EBVaICC 病例存在于东亚地区, 且几乎均为中国人, 提示 EBVaICC 的发病具有很强的地域和人群倾向, 可能与这些地区 EBV 的流行、地域性危险因素及人群基因易感性有关。中山大学肿瘤防治中心云径平教授团队^[1]进行的一项回顾性研究, 纳入了 303 例手术切除的 ICC 患者, 通过统计发现中国华南地区原发性 ICC 的 EBV 感染率为 6.6%。研究进一步比较了 EBVaICC 与 non-EBVaICC 的临床病理参数, 分析了 EBV 感染情况, 并探讨了肿瘤浸润淋巴细胞 (tumor infiltrating lymphocytes, TILs) 和基因组特征。该研究为 EBVaICC 的病因、发病机制研究和治疗策略提供了新的科学依据。据此, 本文对近年来 EBVaICC 取得的研究结果展开综述。

1 EBV相关性肝内胆管癌的流行病学特征及病因学研究

ICC 是肝脏内第二常见的原发性恶性肿瘤, 其发病率仅次于肝细胞癌, 占肝脏原发恶性肿瘤的 10%~15%。ICC 世界范围内总体发病率较低 (<6/10 万), 但其发病具有显著地域性差异, 东亚地区相对高发, 而欧美地区低发, 提示 ICC 的发生与地域危险因素及遗传易感性存在一定的相关性^[2]。中国 ICC 发病人数占全球 ICC 发病总人数的 55%^[3]。近数十年以来, 世界上绝大部分地区 ICC 的发病率呈逐年递增趋势^[3-4], 年增长率约为 9%^[4], 其原因尚不清楚^[2,5]。

ICC 已知的危险因素包括: 胆道疾病 (胆道囊

肿/Caroli's 病、原发性硬化性胆管炎/胆管炎、肝胆结石)、肝脏疾病 (肝硬化、HBV/HCV 等病毒性肝炎、血色素沉积症)、消化道疾病 (炎症性肠病、慢性胰腺炎、胃/十二指肠溃疡)、寄生虫感染、代谢性和内分泌疾病 (II 型糖尿病、肥胖、非酒精性脂肪肝/非酒精性脂肪肝炎)、生活方式 (酒精滥用、吸烟) 和致癌环境暴露等。然而, 目前仍有 50% 的 ICC 病例病因不明^[4,6-7]。

EBV 是人类疱疹病毒, 属于 γ 疱疹病毒亚科, 是双链 DNA 病毒^[8], 由 Epstein 和 Barr 于 1964 年从伯基特淋巴瘤 (Burkitt lymphoma, BL) 患者血液中首次分离获得^[9]。该病毒是第一个被发现的与人类肿瘤相关的病毒, 主要靶细胞为人类的淋巴细胞和口咽部上皮细胞。EBV 在人体内以潜伏期感染和裂解期感染两种形式存在。潜伏期间, EBV 表达的基因数量有限, 且以游离体的形式存在于细胞核中。EBV 相关性疾病均与 EBV 的潜伏期感染有关, 而病毒裂解期有助于诱导生长因子和细胞因子的表达, 从而引发 EBV 相关性肿瘤并维持其发展, 且促进 EBV 潜伏感染细胞的转化和增殖。EBV 致病机制研究发现, 免疫缺陷、病原微生物的感染与 EBV 裂解基因的共同作用在肿瘤发生发展中起重要作用。具体调控分子机制包括激活 NF- κ B、JNK、JAK/STAT 和 PI3K/Akt 等信号通路, 激活癌基因 *Bcl-2* 和 *c-Myc* 表达, 以及抑制抑癌基因 *DOK1*、*TP53*、*PTEN*、*P21* 和 *P16* 等表达^[10-12]。

目前认为, EBV 相关性恶性肿瘤主要包括: 上皮性恶性肿瘤, 如鼻咽癌 (nasopharyngeal carcinoma, NPC) 及 EBV 相关性胃癌 (EBV-associated gastric carcinoma, EBVaGC); 淋巴瘤, 如 BL、NK/T 细胞淋巴瘤 (NK/T cell lymphoma, NK/TCL)、经典型霍奇金淋巴瘤 (classical Hodgkin lymphoma, cHL)、EBV 阳性弥漫大 B 细胞淋巴瘤; 肉瘤, 如 Kaposi 肉瘤及 EBV 阳性的平滑肌肉瘤等。

迄今为止, ICC 与 EBV 感染的关系尚不十分明确。2000 年 OZAKI 等学者^[13]报道日本 ICC 患者的 EBV 感染率为零。然而, 在最近 20 年左右时间里, 全

球范围内英文文献相继报道了60余例EBVaICC。病例汇总及分析发现,绝大部分已报道的EBVaICC病例发生于东亚地区,且几乎均为中国人,提示EBVaICC的发病具有很强的地域和人群倾向,可能与这些地区EBV的流行、地域性危险因素及人群基因易感性有关^[1]。EBVaICC的病理组织学类型包括淋巴上皮瘤样亚型(lymphoepithelioma-like subtype, LEL subtype)和经典型(conventional type, CT),不同亚型之间的临床病理特征存在差异,据此,我们展开探讨。

2 EBV相关性肝内胆管癌的临床病理特征

2.1 EBV相关性肝内胆管癌的临床特征

EBVaICC患者中位发病年龄为46.5岁,以女性患者多见。绝大多数病例肿瘤呈单发病灶,仅少数病例肿瘤表现为多发病灶。肿瘤最大径中位值为4.75 cm。所有患者血清AFP均为阴性。25%患者血清CEA水平升高,30%患者血清CA19-9水平升高。半数患者呈HBV表面抗原(HBsAg)阳性。多数病例AJCC分期为I/II期,少数为III/IV期^[1]。

CHAN等^[14]报道了7例EBVaICC,其总生存率显著优于non-EBVaICC,2年总生存率(overall survival, OS)分别为100%和52.8%。然而,SUN等学者^[15]报道EBVaICC患者的预后与non-EBVaICC无统计学差异。HUANG等^[1]研究发现EBVaICC患者的2年OS略高于non-EBVaICC患者,但差异无统计学意义,而EBVaICC的LEL亚型患者2年OS达89%,显著优于其他病例。据统计,在淋巴上皮瘤样ICC中,EBV感染率为76%~100%^[16-17]。ZHENG等^[17]也证实EBVaICC的LEL亚型患者预后好于non-EBVaICC的LEL患者。

2.2 EBV相关性肝内胆管癌的病理形态及免疫微环境特征

EBVaICC的病理组织学类型包括LEL亚型和CT亚型。大多数病例肿瘤边界呈浸润性,但LEL亚型肿瘤边界较清楚。高、中、低分化的病例分别占15%、40%和45%。半数病例肿瘤内可见坏死,瘤内可见不等量的炎症细胞浸润,炎症细胞位于肿瘤间质或肿瘤细胞间,主要为淋巴细胞、浆细胞、组织细胞和中性粒细胞等混杂分布,部分病例尚可见明显的嗜酸性粒细胞浸润。所有LEL亚型的EBVaICC肿瘤内可见淋巴滤泡生发中心(次级淋巴滤泡)形成,而CT亚型的EBVaICC中均未见到。仅少数病例癌

旁肝组织呈结节性肝硬化改变^[1]。

EBVaICC肿瘤细胞不同程度表达胆管上皮标记CK7和CK19,而不表达肝细胞分化标记HepPar-1和Arginase-1,且不表达CK5/6和P40,提示肿瘤起源于胆管上皮细胞。肿瘤细胞Ki67增殖指数差异大,介于5%至80%之间。EBVaICC的肿瘤细胞呈EBERs阳性,而在癌旁肝组织的正常胆管上皮中均未检测到EBERs阳性信号。EBVaICC均表达错配修复蛋白MLH1、PMS2、MSH2和MSH6,呈微卫星稳定型^[1]。

在EBV所导致的一系列恶性肿瘤中因其感染的细胞类型不同,肿瘤免疫微环境(tumor immune microenvironment, TIME)的细胞成分差别很大。TIME的免疫细胞包括了固有和适应性免疫细胞,而不仅是针对肿瘤的特异性反应。肿瘤细胞内潜伏感染的EBV利用多种特殊机制形成特定的TIME,形成有利于肿瘤生存的环境。EBVaICC肿瘤内浸润的免疫细胞以T淋巴细胞为主。多种免疫细胞,包括B淋巴细胞、T淋巴细胞及M1和M2型的组织细胞在EBVaICC中的密度均较non-EBVaICC显著增加。EBVaICC肿瘤内浸润的免疫细胞增多,以T淋巴细胞为主,可能与EBV感染触发机体的免疫反应有关。

与non-EBVaICC相比,PD-L1-TIL、PD-L1-Tumor和PD1-TIL在EBVaICC中均显著上调。虽然EBVaICC高表达PD-L1,但是仅少数(5%)病例呈PD-L1基因(CD274, 9q24.1)扩增,提示CD274基因扩增不是EBVaICC肿瘤细胞过表达PD-L1蛋白的主要机制。

大多数EBVaICC属于TMIT I型(PD-L1⁺/CD8^{high}),该比率显著高于non-EBVaICC。EBVaICC(LEL亚型)中浸润的B细胞、CD3⁺和CD8⁺T细胞密度均显著高于EBVaICC(CT)和non-EBVaICC,且B细胞和CD8⁺T细胞比例亦均较EBVaICC(CT亚型)和non-EBVaICC显著上调,而B细胞和CD8⁺T细胞比例升高与患者总生存率高显著相关,提示EBVaICC(LEL亚型)患者预后好,可能与肿瘤浸润的B细胞与CD8⁺T细胞增多、局部抗肿瘤免疫活性增强有关,这表明EBVaICC是ICC中适合行免疫调节剂治疗的亚型,患者最可能在免疫治疗中获益(图1)。

2.3 EB病毒的感染状态

通过免疫组化方法检测EBV编码的EBNA1、LMP1和EBNA2等蛋白在EBVaICC中的表达模式,可判断EBV在ICC中的潜伏感染类型。结果表明,所

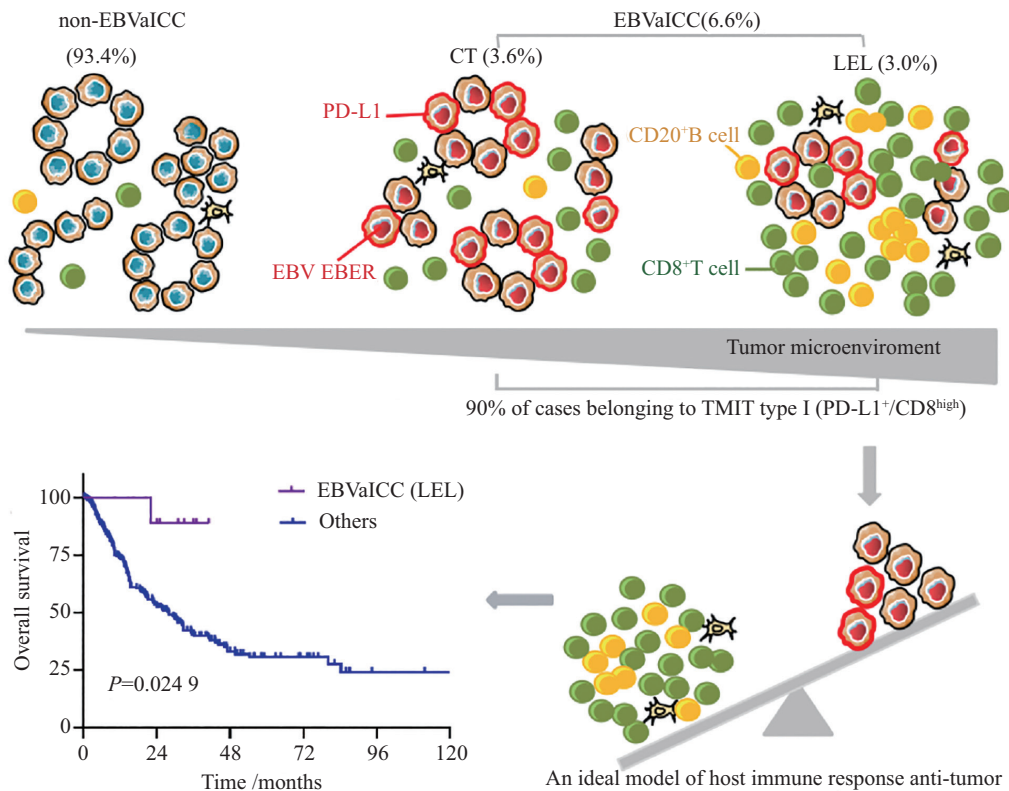


图1 EB病毒感染与肝内胆管细胞癌宿主肿瘤免疫应答(根据参考文献[1]修改)

Fig.1 EBV infection and host immune response antitumor in intrahepatic cholangiocarcinoma (modified from reference [1])

有EBVaICC均呈EBNA1阳性,且LMP1和EBNA2阴性,提示EBV在ICC中呈潜伏I型感染。巢式PCR方法扩增EBV *LMP-1*基因33 bp重复序列,发现EBVaICC中潜伏感染的EBV均呈单克隆,提示EBV潜伏感染可能发生在EBVaICC肿瘤细胞单克隆增殖以前或肿瘤的早期阶段^[1]。

2.4 EBVaICC的基因组学特征

目前研究发现,10例EBVaICC患者的肿瘤新鲜冻存组织全外显子测序检测到EBVaICC突变率为4.4个/Mb。EBVaICC最主要的两种突变类型为C:G>T:A和C:G>A:T。7个高频的非同义体细胞突变包括*MUC4*、*DNAH1*、*GLI2*、*LIPE*、*MYH7*、*RP11-766F14.2*和*WDR36*。研究共发现22个EBVaICC相关的潜在驱动基因,但未检测到已报道的ICC常见驱动基因*TP53*、*KRAS*、*IDH1*、*PTEN*、*ARID1A*、*EPPK1*、*ECE2*和*FYN*^[1]。*PRSS1*缺失和*BHLHE40*扩增在EBVaICC中分别占30%和10%,但其在EBVaICC发生发展中的作用尚不清楚。

在EBVaICC中,EBV病毒基因组均存在*BKRF4*(H171N)、*BcRF1*(T33A)、*BKRF4*(G169V),

BOLF1(D1154E)和*BPLF1*(S405G)突变,而在EBV相关性NKTCL、NPC和EBVaGC中均未检测到这些热点突变,提示这些突变可能具有ICC肿瘤特异性。EBV非同义突变最频繁的基因为*BRLF1*、*BOLF1*和*BRRF2*。其中*BRLF1*亦是NKTCL中EBV非同义突变最频繁的基因,而*BOLF1*和*BRRF2*高频突变在其他EBV相关性肿瘤中未被报道,其他EBV相关性肿瘤中病毒突变主要集中在*EBNAs*、*LMP1*、*LMP2*和*BDLF2/3*等基因上。与其他EBV相关性肿瘤类似,*LMP1*缺失在EBVaICC中较为常见。有意思的是,已知的*EBNAs*热点突变在ICC潜伏感染的EBV中却不多见。

3 EBV相关性肝内胆管癌治疗策略

ICC是一种侵袭性肿瘤,其死亡率高、存活率低。目前ICC的治疗多采用以手术为主、放疗和化疗为辅的综合治疗模式。遗憾的是患者的总体预后仍非常差^[18]。肿瘤免疫学及免疫治疗的发展为ICC患者治疗手段选择带了新的希望,且较传统化疗毒性小^[19],目前仍处于起步阶段,但前景可观^[7]。

ICC肿瘤浸润的淋巴细胞通常不明显,目前的研究非常有限。GOEPPERT等^[20]报道肿瘤浸润免疫细胞与ICC患者的预后无明显相关性,但也有研究报道CD163阳性巨噬细胞增多的ICC患者的无病生存期较短^[21]。PD-1抑制剂临床上已应用于恶性黑色素瘤等多种恶性肿瘤的治疗,目前虽有其与化疗药物联合治疗ICC的病例报道,但尚缺乏单药治疗ICC的病例。已有个案报道显示了PD-1抑制剂治疗ICC的是可行的^[22],但哪些ICC患者能从PD-1抑制剂治疗中获益尚不清楚。针对EBVaICC,PD-L1联合放疗可能是有效的治疗方式^[23]。CTLA-4主要表达于活化的T细胞和NK细胞,阻止CTLA-4与其受体B7-1/B7-2的结合,可促使T细胞活化^[24]。有研究显示,CTLA-4抑制剂联合微波消融治疗后43.8%(7/16)患者病情得到良好控制^[25]。通过CT和MRI更好地识别LEL亚型的EBVaICC将可能有助于这部分患者的更早期的治疗^[26]。

EBVaICC肿瘤间质浸润的免疫细胞显著增多,肿瘤细胞PD-L1表达显著上调,绝大多数病例属于TMIT I型,其比例显著高于non-EBVaICC,这一类型肿瘤的特点为细胞表达PD-L1,呈现免疫抵抗状态,使用药物阻断PD-L1能促进TIME中浸润的多量CD8⁺T细胞发挥抗肿瘤效应^[1]。在一项评估PD-1抗体治疗EBVaICC疗效的研究中发现,在接受PD-1抗体治疗的205例ICC患者中,EBVaICC患者的生存期明显长于non-EBVaICC患者;17例注射PD-1抗体的EBVaICC患者中,8例患者获得部分缓解,且全部17例患者获得疾病控制^[27]。

EBVaICC具有特殊的临床病理、免疫微环境及分子特征,并对免疫检查点抑制剂治疗有较好的获益,推荐采用EB病毒编码小核糖核酸(Epstein-Barr virus encoded ribonucleic acid, EBER)原位杂交检测来筛选免疫检查点抑制剂治疗获益人群,该结论已写入我国《2024年原发性肝癌诊疗指南》。

4 总结与展望

EBVaICC在病因、临床病理及分子遗传学等方面均与non-EBVaICC存在差异,应被视为ICC的一种特殊亚型。绝大多数EBVaICC属于TMIT I型(PD-L1⁺/CD8^{high}),提示其适合行免疫调节点阻断治疗。目前已形成EBVaICC的诊断共识,并将该共识写入了诊疗指南,增加免疫治疗作为EBVaICC治疗

的主要手段势在必行。

至今为止,全球范围内对EBVaICC这一罕见疾病的认知尚甚少,尚未建立EBVaICC细胞株,未能行相关细胞功能及动物实验。EBVaICC的发生发展机制及EBV在EBVaICC中起到的致癌或/和促癌作用,尚有待全基因组测序进一步研究。因该肿瘤罕见,已有研究纳入的EBVaICC病例仍相对较少,部分研究结果仍需今后大样本、多中心的研究验证。

参考文献 (References)

- [1] HUANG Y H, ZHANG C Z, HUANG Q S, et al. Clinicopathologic features, tumor immune microenvironment and genomic landscape of Epstein-Barr virus-associated intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. *J Hepatol*, 2021, 74(4): 838-49.
- [2] GUPTA A, DIXON E. Epidemiology and risk factors: intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. *Hepatobiliary Surg Nutr*, 2017, 6(2): 101-4.
- [3] DE JONG M C, NATHAN H, SOTIROPOULOS G C, et al. Intrahepatic cholangiocarcinoma: an international multi-institutional analysis of prognostic factors and lymph node assessment [J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(23): 3140-5.
- [4] KHAN S A, TAVOLARI S, BRANDI G. Cholangiocarcinoma: Epidemiology and risk factors [J]. *Liver Int*, 2019, 39(Suppl 1): 19-31.
- [5] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-49.
- [6] SHAIB Y H, EL-SERAG H B, DAVILA J A, et al. Risk factors of intrahepatic cholangiocarcinoma in the United States: a case-control study [J]. *Gastroenterology*, 2005, 128(3): 620-6.
- [7] KELLEY R K, BRIDGEWATER J, GORES G J, et al. Systemic therapies for intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. *J Hepatol*, 2020, 72(2): 353-63.
- [8] MÜNZ C. Role of human natural killer cells during Epstein-Barr virus infection [J]. *Crit Rev Immunol*, 2014, 34(6): 501-7.
- [9] EPSTEIN M A, ACHONG B G, BARR Y M. Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma [J]. *Lancet*, 1964, 1(7335): 702-3.
- [10] CHIU Y F, PONLACHANTRA K, SUGDEN B. How Epstein Barr virus causes lymphomas [J]. *Viruses*, 2024, 16(11): 1744.
- [11] YU H, ROBERTSON E S. Epstein-Barr virus history and pathogenesis [J]. *Viruses*, 2023, 15(3): 714.
- [12] YIN H, QU J, PENG Q, et al. Molecular mechanisms of EBV-driven cell cycle progression and oncogenesis [J]. *Med Microbiol Immunol*, 2019, 208(5): 573-83.
- [13] OZAKI S, HARADA K, WATANABE K, et al. Absence of Epstein-Barr virus (EBV) in intrahepatic cholangiocarcinoma confirmed by lack of EBV-coded nuclear RNA and latent membrane protein-1 [J]. *Histopathology*, 2000, 36(1): 50-3.
- [14] CHAN A W, TONG J H, SUNG M Y, et al. Epstein-Barr virus-associated lymphoepithelioma-like cholangiocarcinoma: a rare variant of intrahepatic cholangiocarcinoma with favourable outcome [J]. *Histopathology*, 2014, 65(5): 674-83.

- [15] SUN K, XU S, WEI J, et al. Clinicopathological features of 11 Epstein-Barr virus-associated intrahepatic cholangiocarcinoma at a single center in China [J]. *Medicine*, 2016, 95(40): e5069.
- [16] JIA J, GUO H, LIU J, et al. Single-center experience in the diagnosis and treatment of lymphoepithelioma-like hepatic carcinoma [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2023, 149(11): 8691-7.
- [17] ZHENG L, ZHOU N, YANG X, et al. Clinicopathological features of a rare cancer: intrahepatic lymphoepithelioma-like cholangiocarcinoma with Epstein-Barr virus infection [J]. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2023, 47(10): 102244.
- [18] CHUN Y S, JAVLE M. Systemic and adjuvant therapies for intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. *Cancer Control*, 2017, 24(3): 1073274817729241.
- [19] MARKS E I, YEE N S. Immunotherapeutic approaches in biliary tract carcinoma: current status and emerging strategies [J]. *World J Gastrointest Oncol*, 2015, 7(11): 338-46.
- [20] GOEPPERT B, FRAUENSCHUH L, ZUCKNICK M, et al. Prognostic impact of tumour-infiltrating immune cells on biliary tract cancer [J]. *Br J Cancer*, 2013, 109(10): 2665-74.
- [21] HASITA H, KOMOHARA Y, OKABE H, et al. Significance of alternatively activated macrophages in patients with intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. *Cancer Sci*, 2010, 101(8): 1913-9.
- [22] MOU H, YU L, LIAO Q, et al. Successful response to the combination of immunotherapy and chemotherapy in cholangiocarcinoma with high tumour mutational burden and PD-L1 expression: a case report [J]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1): 1105.
- [23] LIAO C X, DENG C S, LIANG X, et al. PD-1 blockade and radiotherapy combination for advanced Epstein-Barr virus-associated intrahepatic cholangiocarcinoma: a case report and literature review [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1239168.
- [24] BRZOSTEK J, GASCOIGNE N R, RYBAKIN V. Cell Type-specific regulation of immunological synapse dynamics by B7 ligand recognition [J]. *Front Immunol*, 2016, 7: 24.
- [25] XIE C, DUFFY A G, MABRY-HRONES D, et al. Tremelimumab in combination with microwave ablation in patients with refractory biliary tract cancer [J]. *Hepatology*, 2019, 69(5): 2048-60.
- [26] YANG Q, CAI Q, WEN H, et al. The CT and MRI features of primary intrahepatic lymphoepithelioma-like cholangiocarcinoma [J]. *AJR Am J Roentgenol*, 2021, 216(2): 393-402.
- [27] HE W Z, HUANG Y H, HU W M, et al. Response to programmed cell death protein 1 antibody in patients with Epstein-Barr virus-associated intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. *Eur J Cancer*, 2023, 194: 113337.