



# LTBR作为肿瘤相关巨噬细胞的一种新的免疫检查点

王亮<sup>1,#</sup>, 范洁怡<sup>2,#</sup>, 仵思凡<sup>1,#</sup>, 程世林<sup>1,#</sup>, 赵俊龙<sup>1</sup>, 樊帆<sup>1</sup>, 高春辰<sup>1</sup>, 乔蓉<sup>3</sup>, 盛琪琪<sup>1</sup>, 胡映暘<sup>1</sup>, 张勇<sup>4</sup>,  
刘鹏军<sup>1</sup>, 焦哲<sup>1</sup>, 魏调霞<sup>1</sup>, 雷杰<sup>5</sup>, 陈衍<sup>3,\*</sup>, 秦鸿雁<sup>1,\*</sup>

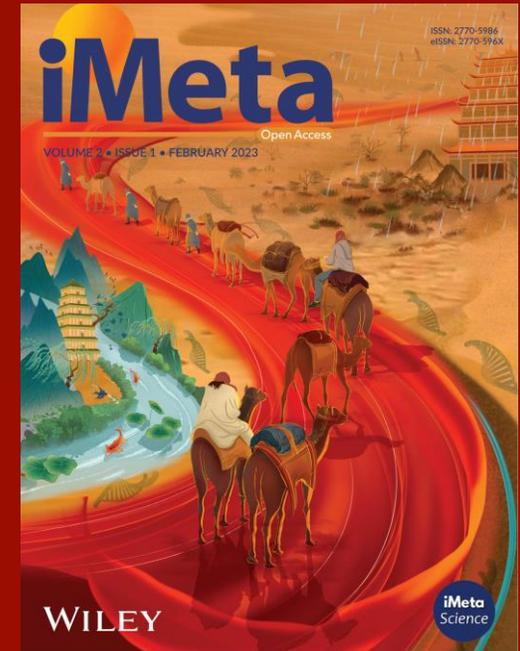
<sup>1</sup>第四军医大学, 医学遗传与发育生物学教研室, 消化系肿瘤整合防治全国重点实验室, 西安, 710032

<sup>2</sup>第四军医大学, 航空航天医学系, 西安, 710032

<sup>3</sup>第四军医大学, 西京医院肿瘤科, 西安, 710032

<sup>4</sup>第四军医大学, 西京医院呼吸内科, 西安, 710032

<sup>5</sup>第四军医大学, 唐都医院胸外科, 西安, 710032

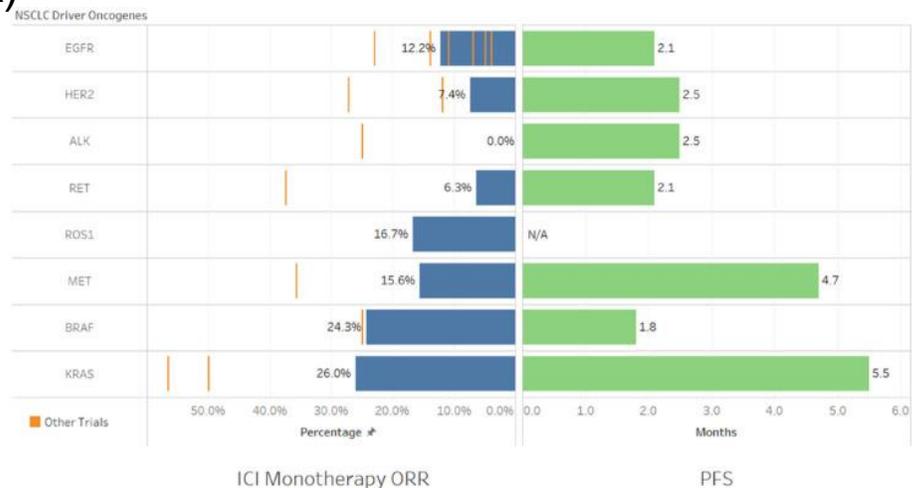


Liang Wang<sup>1,#</sup>, Jieyi Fan<sup>2,#</sup>, Sifan Wu<sup>1,#</sup>, Shilin Cheng<sup>1,#</sup>, Junlong Zhao<sup>1</sup>, Fan Fan<sup>1</sup>, Chunchen Gao<sup>1</sup>, Rong Qiao<sup>3</sup>, Qiqi Sheng<sup>1</sup>, Yiyang Hu<sup>1</sup>, Yong Zhang<sup>4</sup>, Pengjun Liu<sup>1</sup>, Zhe Jiao<sup>1</sup>, Tiaoxia Wei<sup>1</sup>, Jie Lei<sup>5</sup>, Yan Chen<sup>3,\*</sup>, Hongyan Qin<sup>1,\*</sup>. 2024. LTBR acts as a novel immune checkpoint of tumor-associated macrophages for cancer immunotherapy. *iMeta* 3: e233. <https://doi.org/10.1002/imt2.233>



# 研究背景

(A)



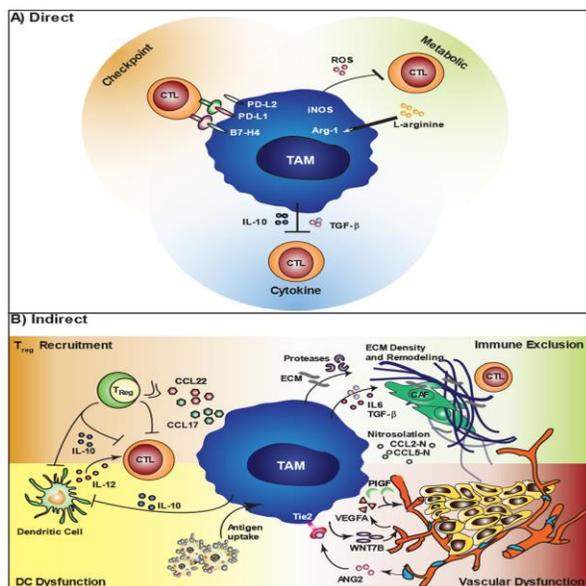
\*bars reflect overall ORR (blue) and mPFS (green) demonstrated in retrospective IMMUNOTARGET study

\*\*vertical orange lines depict ORRs shown in other individual ICI monotherapy trials

➤ 免疫检查点抑制剂（ICI）虽能显著改善肺癌患者的无事件生存期（EFS）和病理完全缓解期（pCR），但其在肺癌患者中的总体反应率只有6.3%~26%，因此迫切需要揭示潜在的机制和开发新型ICI。

➤ 肿瘤免疫微环境（TIM）在肿瘤的发生、发展及免疫治疗抵抗中起着至关重要的作用。

(B)

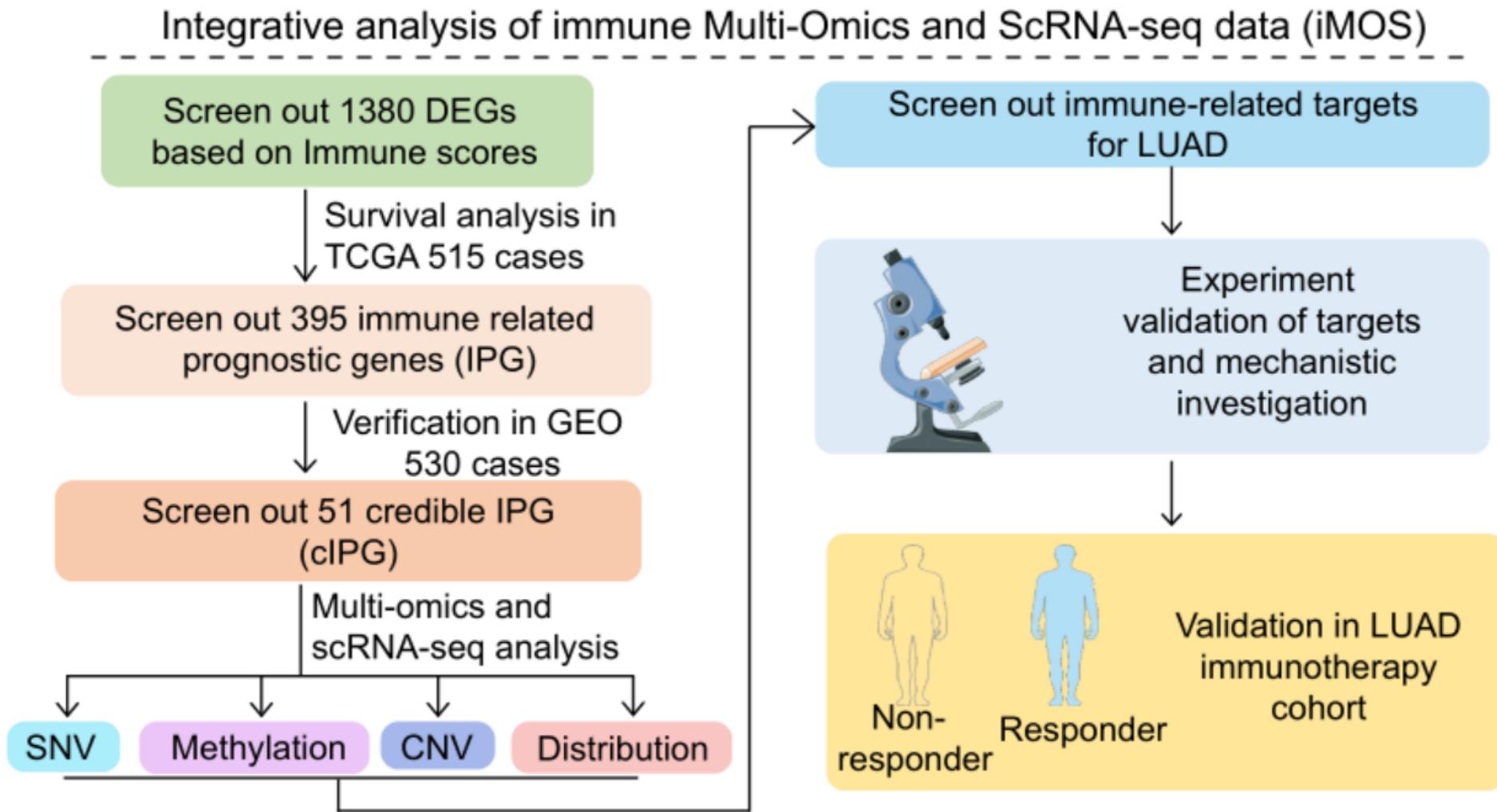


➤ 肿瘤相关巨噬细胞（TAMs）是TIM的主要细胞群体，它们不仅滋养肿瘤细胞，还贡献于肿瘤免疫抑制微环境（TISM），包括耗竭细胞毒性CD8+ T细胞和招募免疫抑制细胞，如髓源抑制细胞（MDSC）、调节性T细胞（Tregs）等。

➤ 靶向TAMs可能是一种有前景的肿瘤免疫治疗策略。



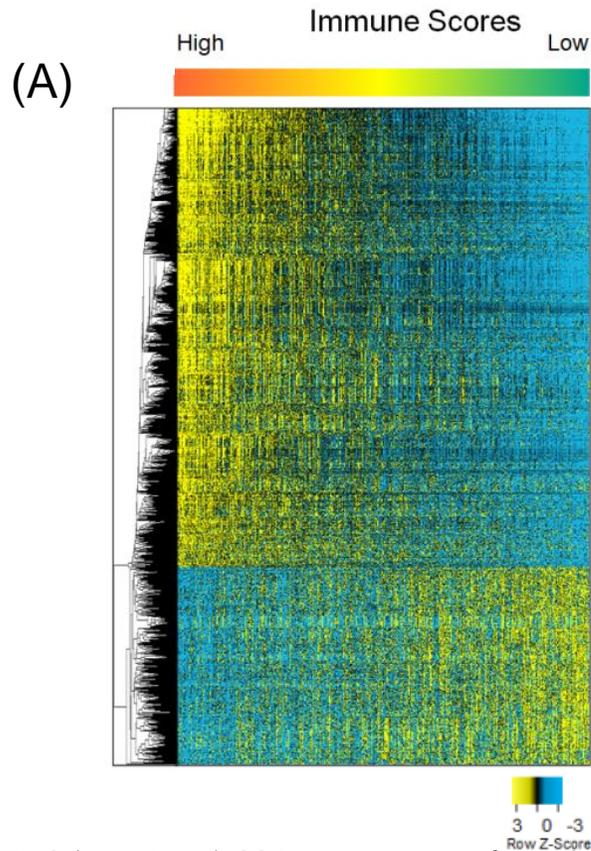
# 研究结果



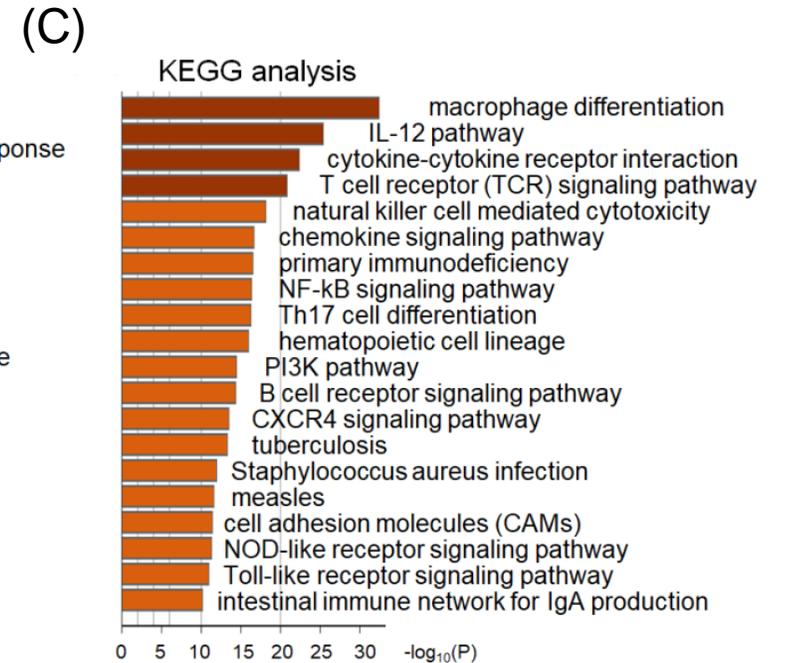
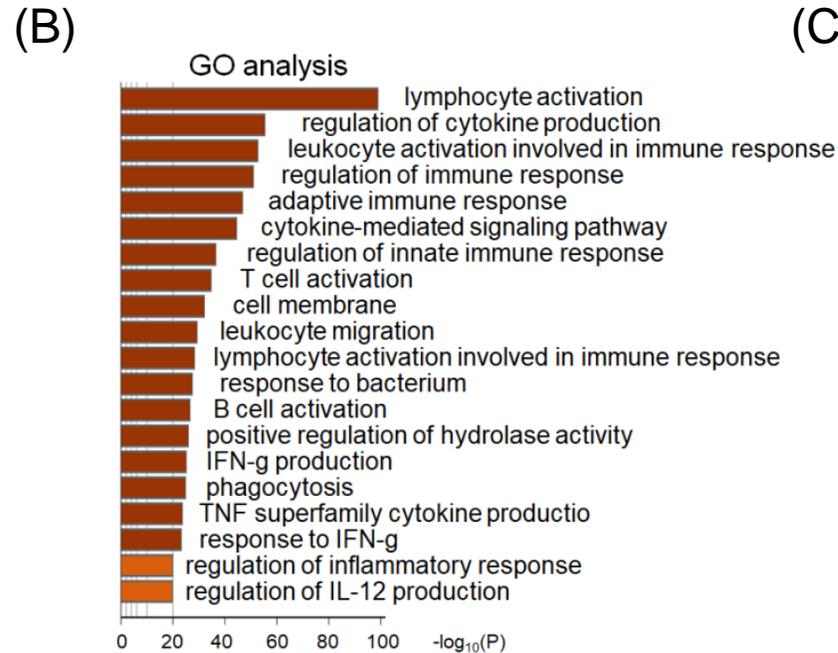
免疫检查点平台iMOS流程图



# 研究结果 — 免疫评分筛选LUAD中的免疫相关基因

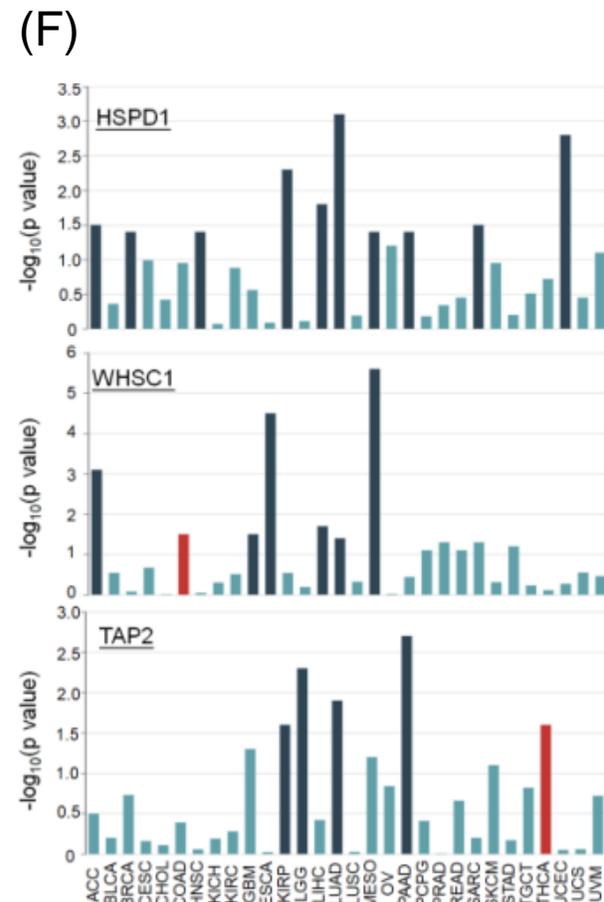
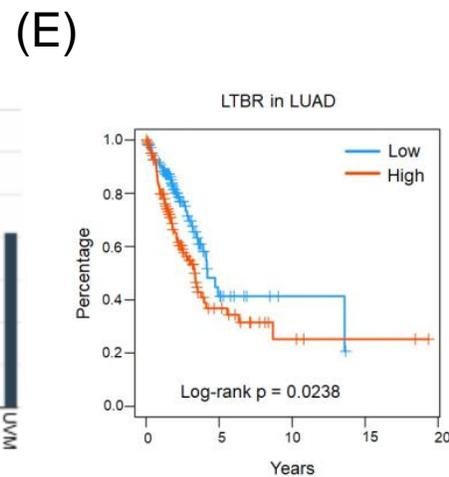
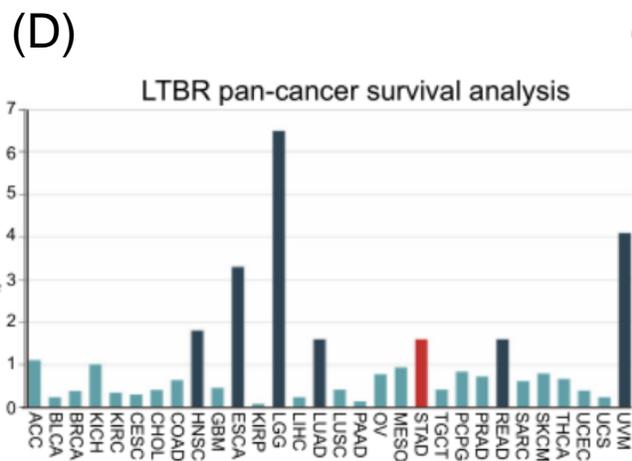
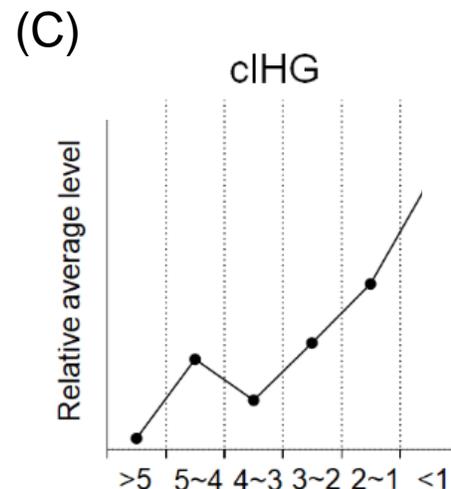
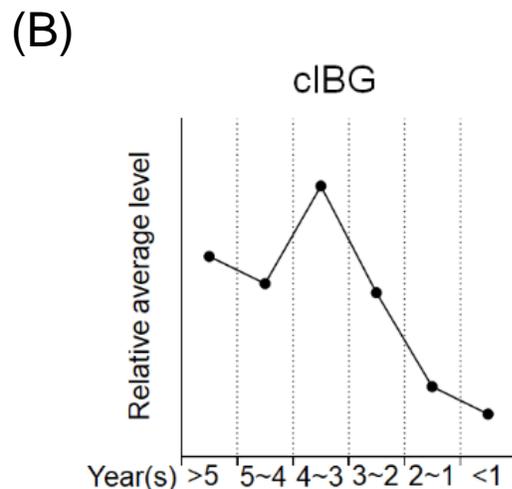
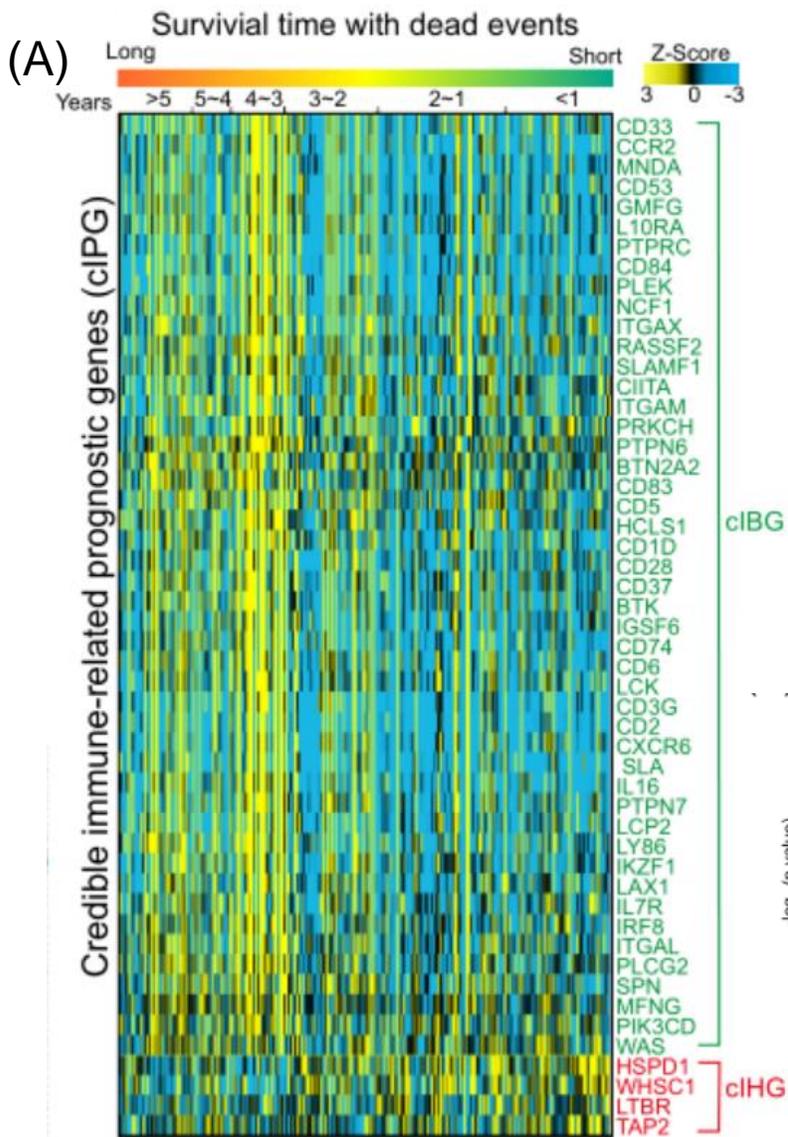


通过免疫评分筛选出LUAD中的免疫相关基因，以揭示LUAD进程中的免疫决定因素。并识别出1380个差异表达基因，其中高免疫评分组中967个基因上调，413个基因下调。



- (1) 这些差异表达基因的前五个GO富集项分别是淋巴细胞活化、细胞因子生成调控、参与免疫反应的白血球活化、免疫反应调控和适应性免疫反应。
- (2) 这些差异表达基因的前五个KEGG富集通路包括巨噬细胞分化、IL-12通路、细胞因子-细胞因子受体相互作用、T细胞受体 (TCR) 信号通路和自然杀伤细胞介导的细胞毒性。

# 研究结果 — 在LUAD队列中筛选可信的免疫相关预后基因



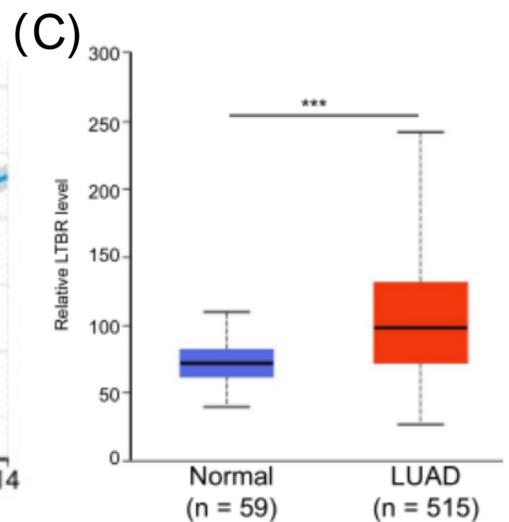
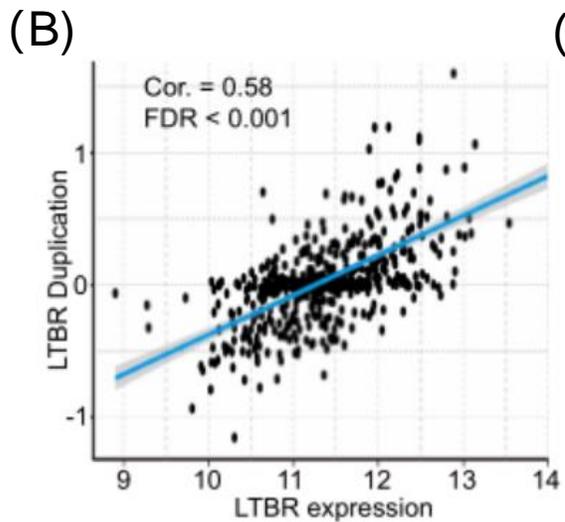
TCGA队列的IPG在其他LUAD队列中的预后意义



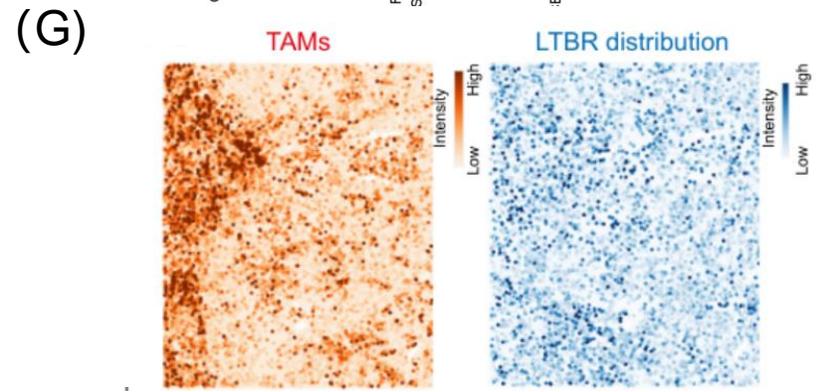
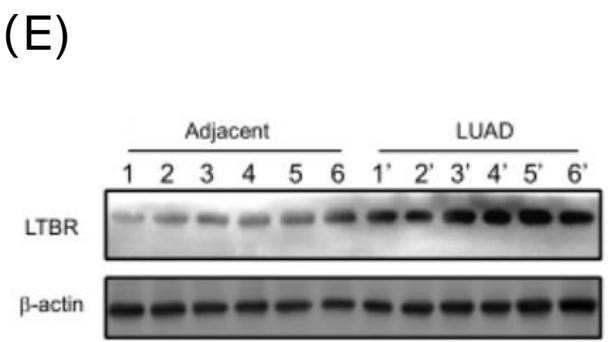
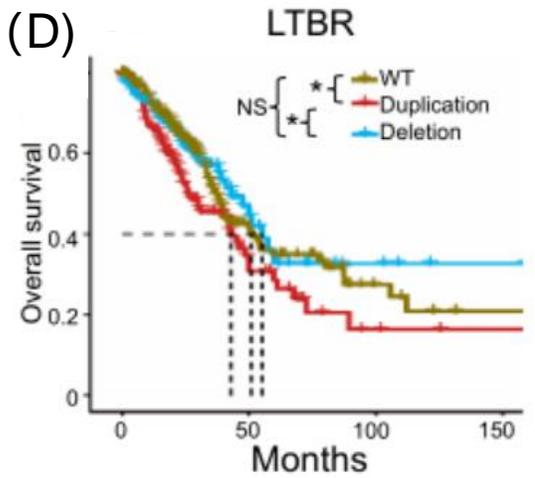
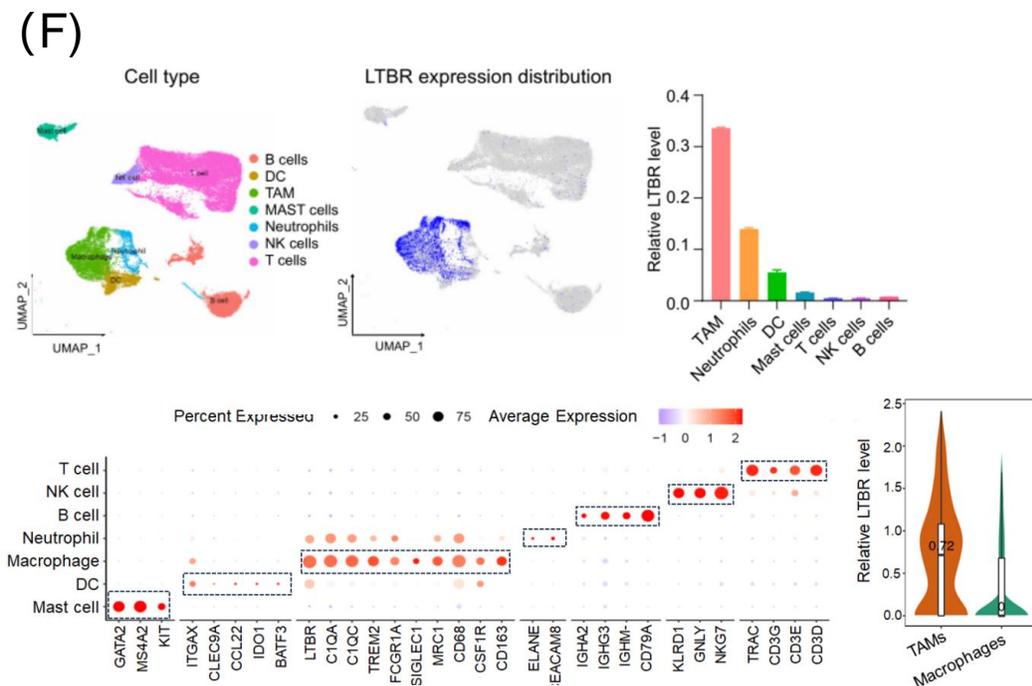
# 研究结果 — iMOS将LTBR识别为TAMs的潜在免疫检查点

多组学分析

- CNV
- LTBR
  - CD74
  - PRKCH
  - PTPN6
  - HSPD1
  - CIITA
  - PIK3CD
  - CCR2
  - CXCR6
  - MFNG
  - CD53
  - PLCG2
  - CD37
  - LCP2
  - HCLS1
  - IL7R
  - IKZF1
  - SLA
  - LAX1
  - CD1D
  - LY86
  - CD84
  - MNDA
  - SLAMF1
  - PTPRC
  - PTPN7
- FDR: ○ ○ ○  
0.0 1.0 1.00



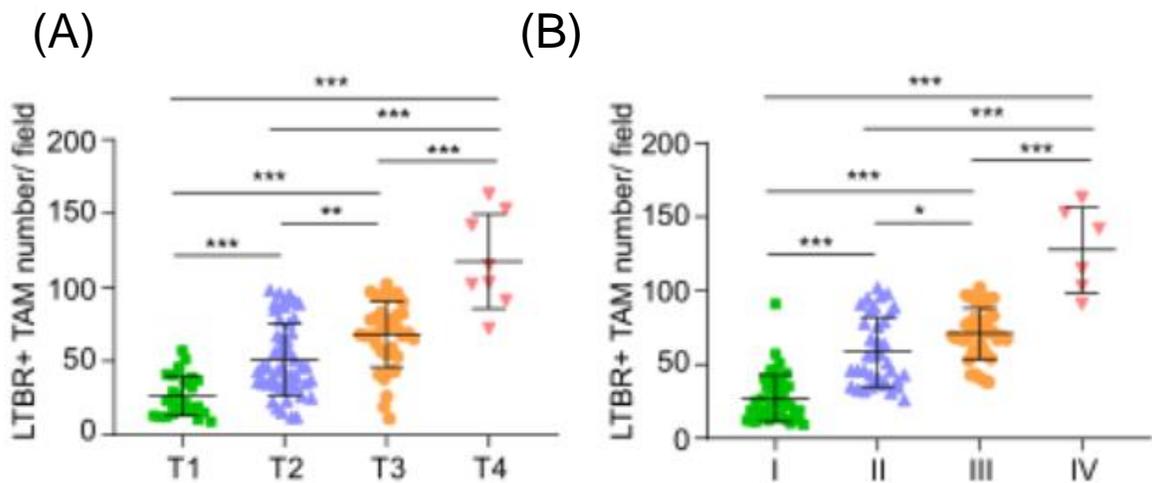
单细胞测序



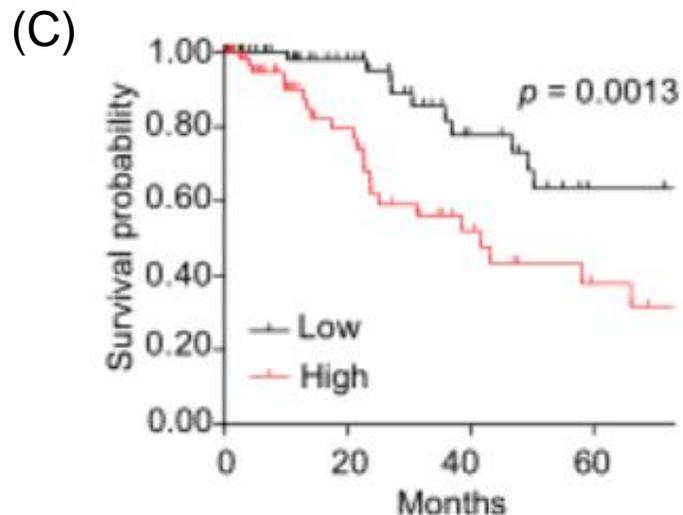
免疫检查点发现平台iMOS, 成功筛选出LTBR作为肿瘤相关巨噬细胞 (TAMs) 上的新型免疫检查点。



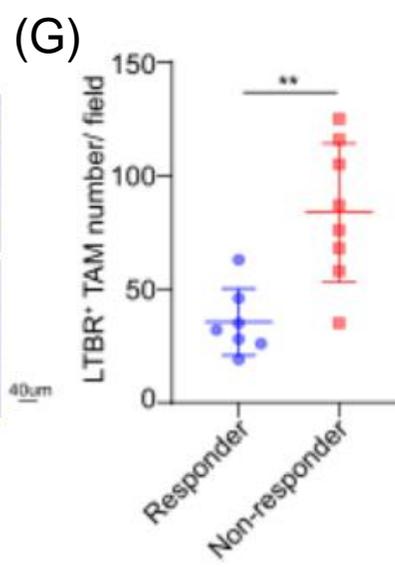
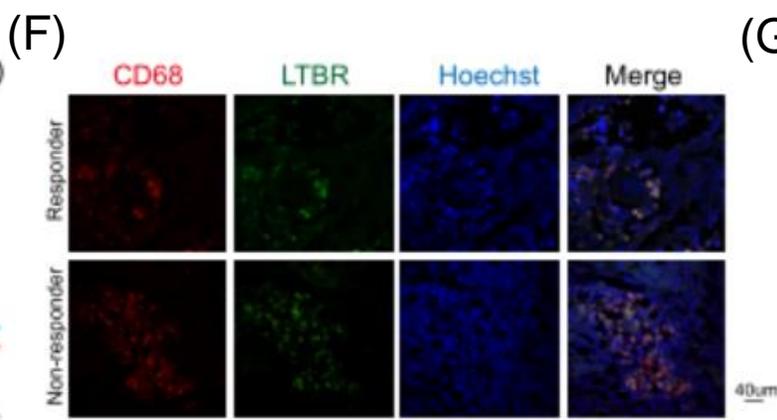
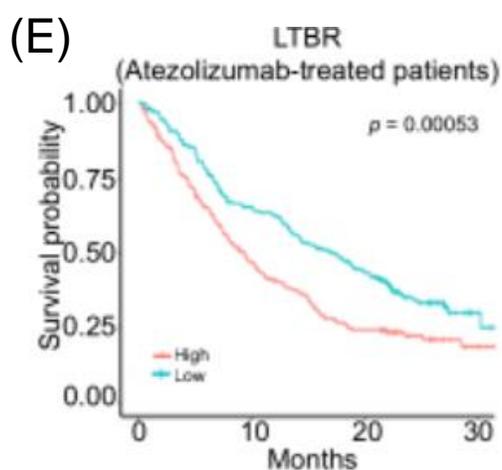
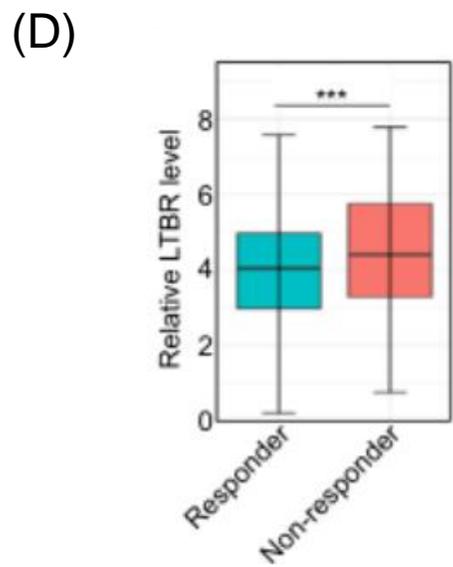
# 研究结果 — LTBR+ TAMs与LUAD分期、免疫治疗失败和临床预后相关



LTBR+ TAMs的浸润随着LUAD恶性程度的增加而增加



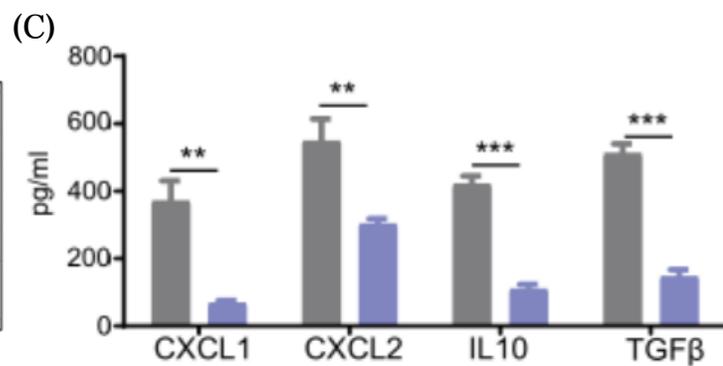
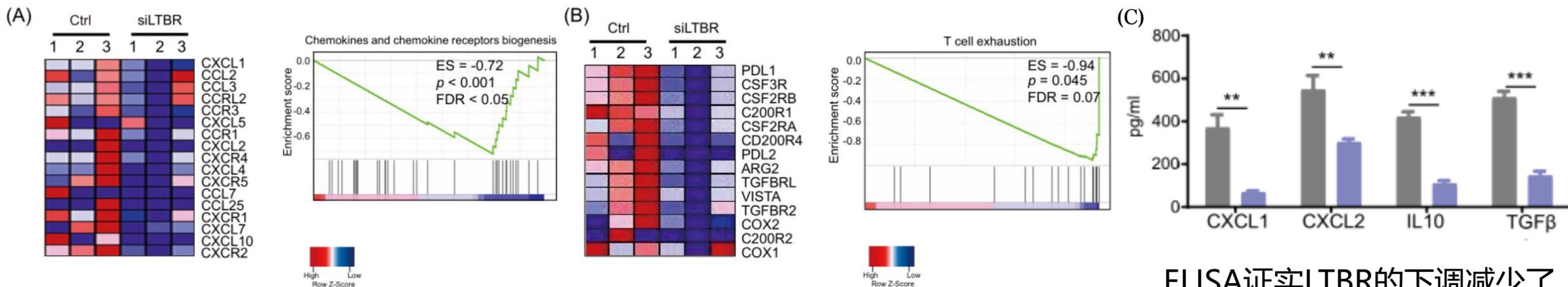
LTBR+ TAMs的浸润可以用来预测LUAD患者的总生存期



LTBR可以用于预测免疫治疗反应和临床预后

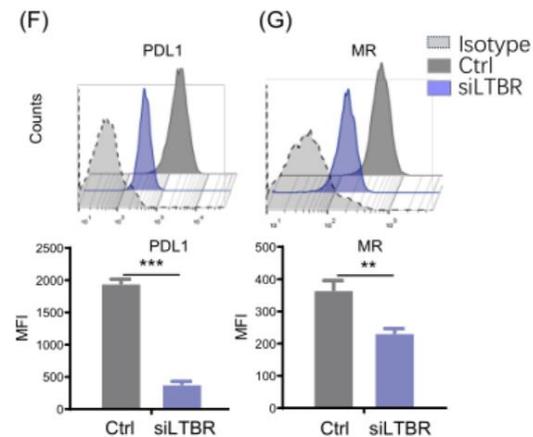
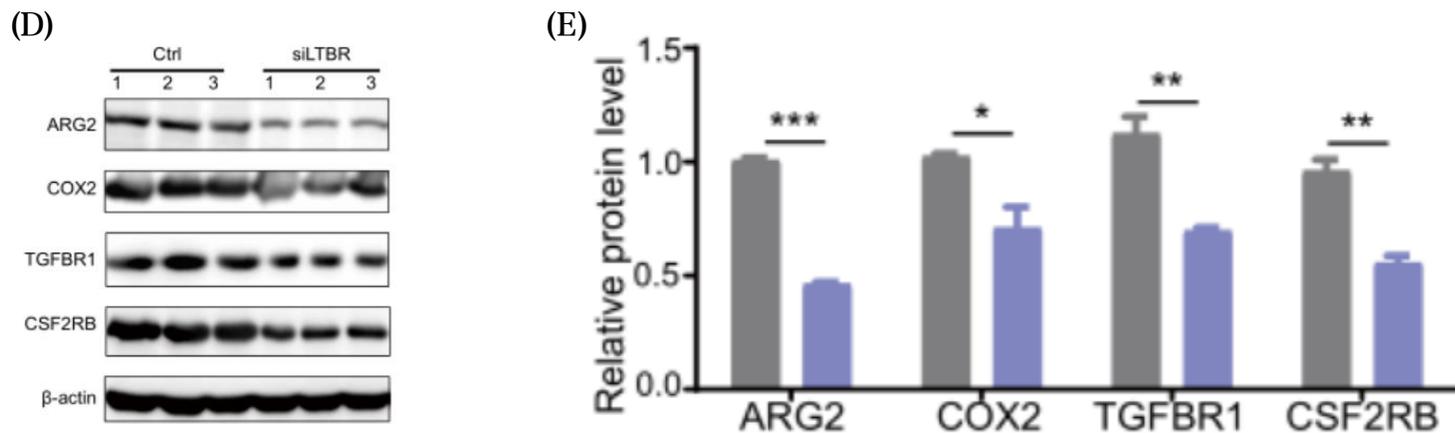


# 研究结果 — LTBR有助于维持TAMs介导的CD8+ T细胞的免疫抑制



GSEA结果显示，LTBR的下调抑制了涉及趋化因子和趋化因子受体生物发生以及T细胞耗竭的基因表达，包括CXCL1，CXCL2，PDL1，ARG2和COX2。

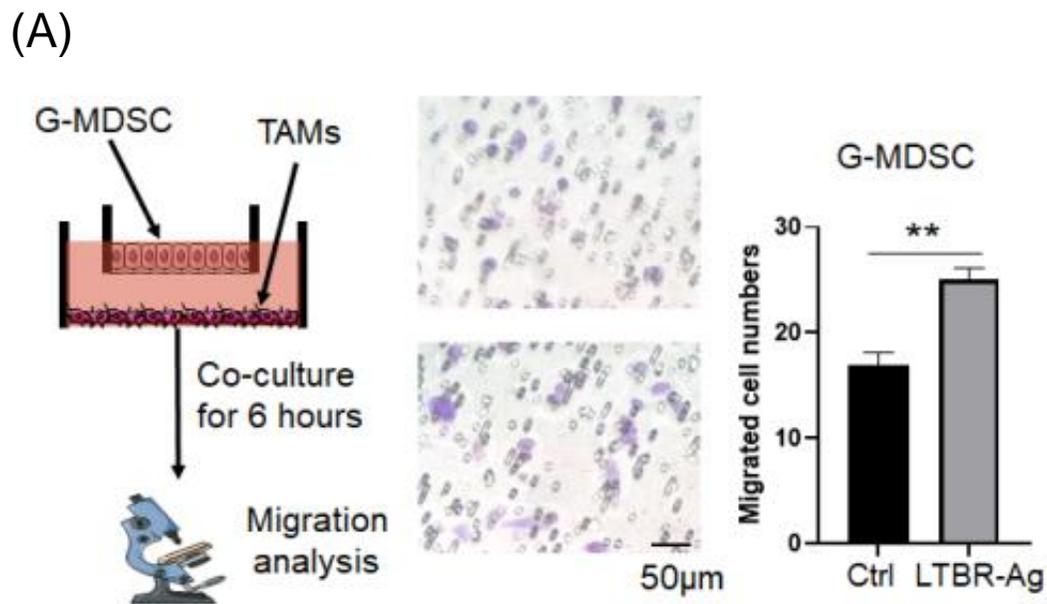
ELISA证实LTBR的下调减少了TAMs分泌CXCL1，CXCL2，IL10和TGFb。



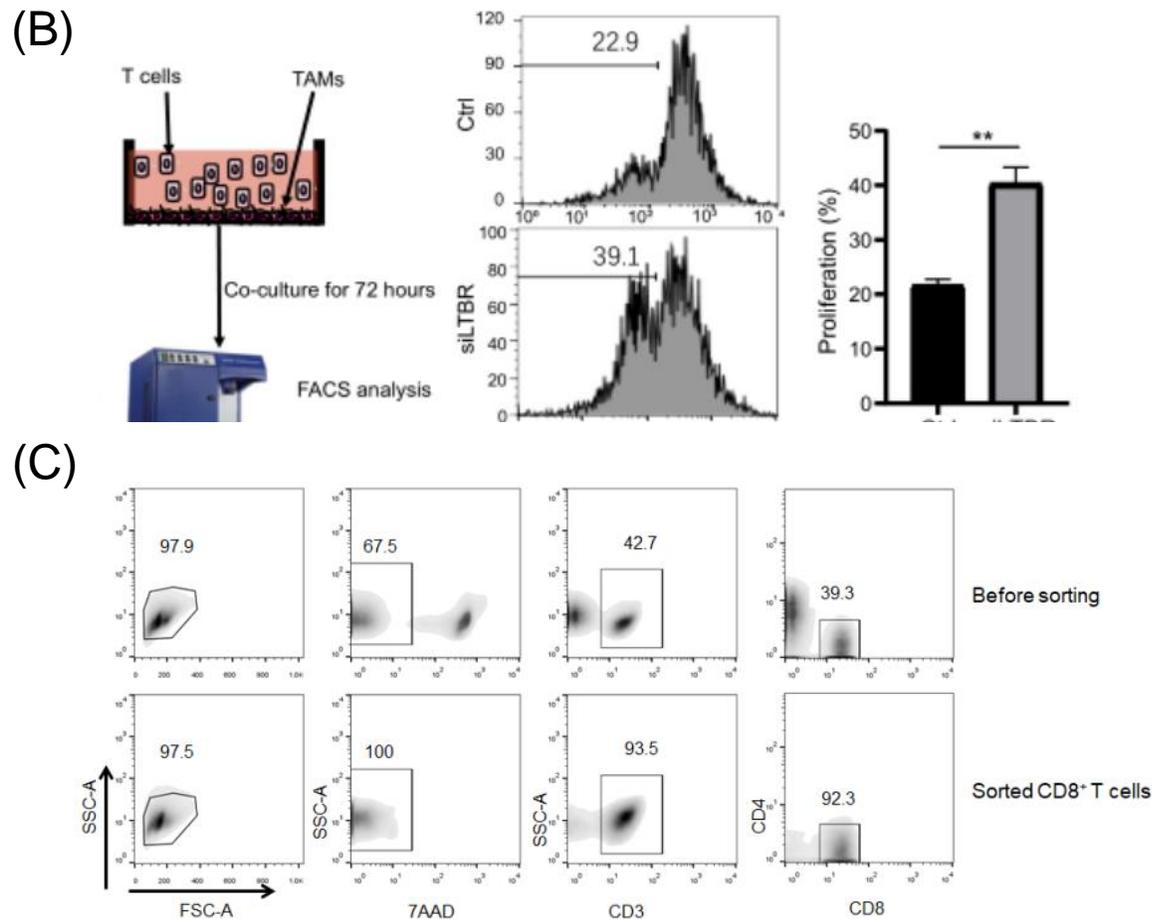
WB和FACS实验证实LTBR的下调抑制了TAMs中PDL1，ARG2，COX2，TGFbR1，CSF2RB和MR的蛋白水平。



# 研究结果 — LTBR有助于维持TAMs介导的CD8+ T细胞的免疫抑制

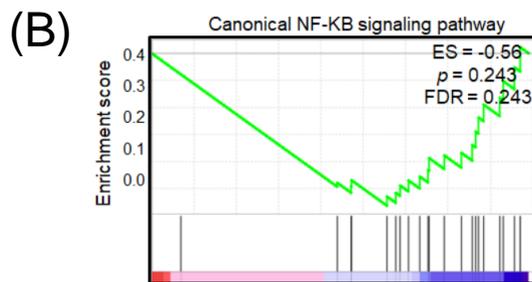
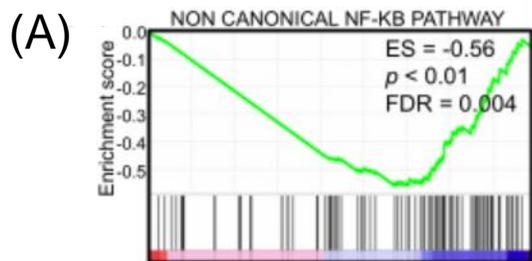


TAMs中LTBR的激活促进了G-MDSC的招募



对TAMs和CD8+ T细胞的共培养实验显示，在TAMs中，LTBR的破坏促进了CD8+ T细胞的增殖。

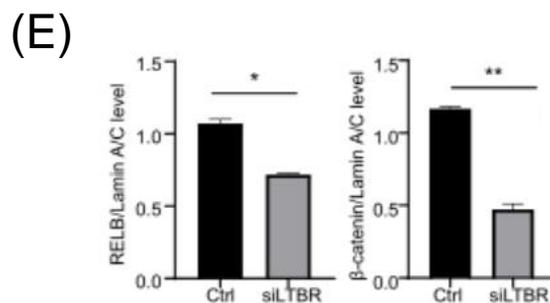
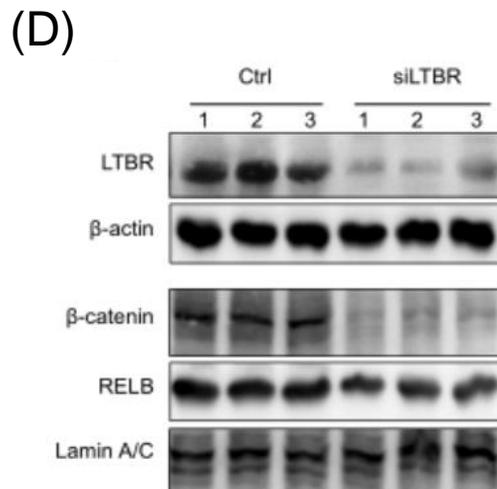
# 研究结果 — LTBR通过非典型的NF- $\kappa$ B和Wnt/b-catenin信号通路维持了TAMs的免疫抑制特征和免疫逃逸



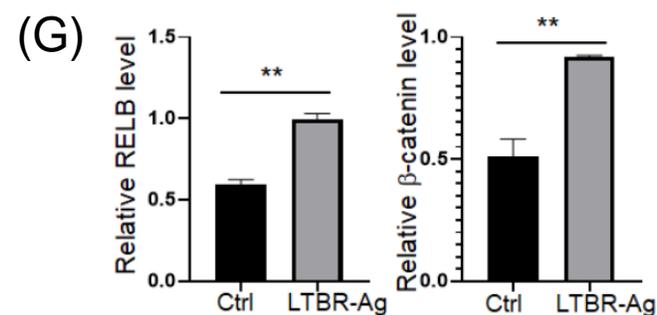
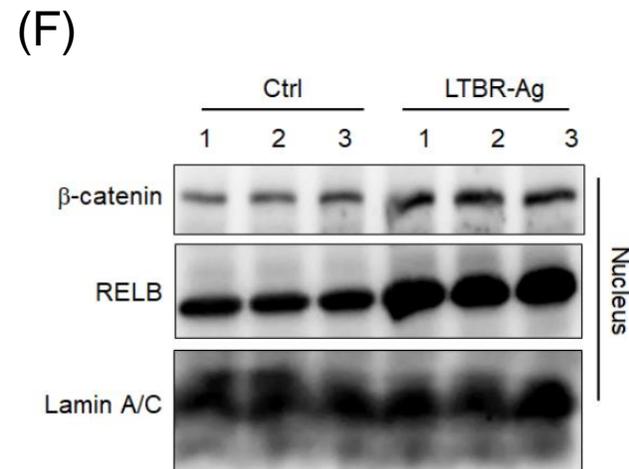
TAMs中LTBR敲低影响非典型的NF- $\kappa$ B, 不影响典型的NF- $\kappa$ B信号。



TAMs中LTBR的敲低破坏了Wnt/ $\beta$ -连环蛋白信号通路



LTBR的敲除减少了RELB和 $\beta$ -连环蛋白进入细胞核的易位

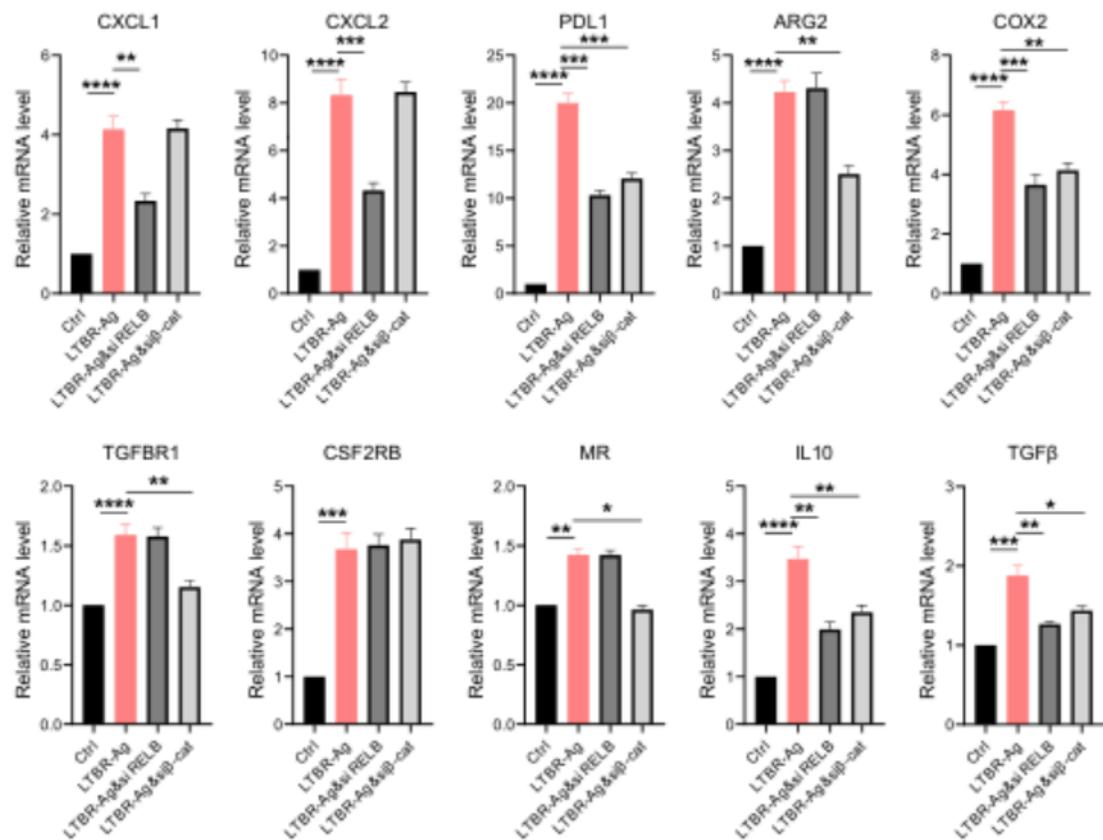


LTBR的激活促进了RELB和 $\beta$ -连环蛋白进入细胞核的易位

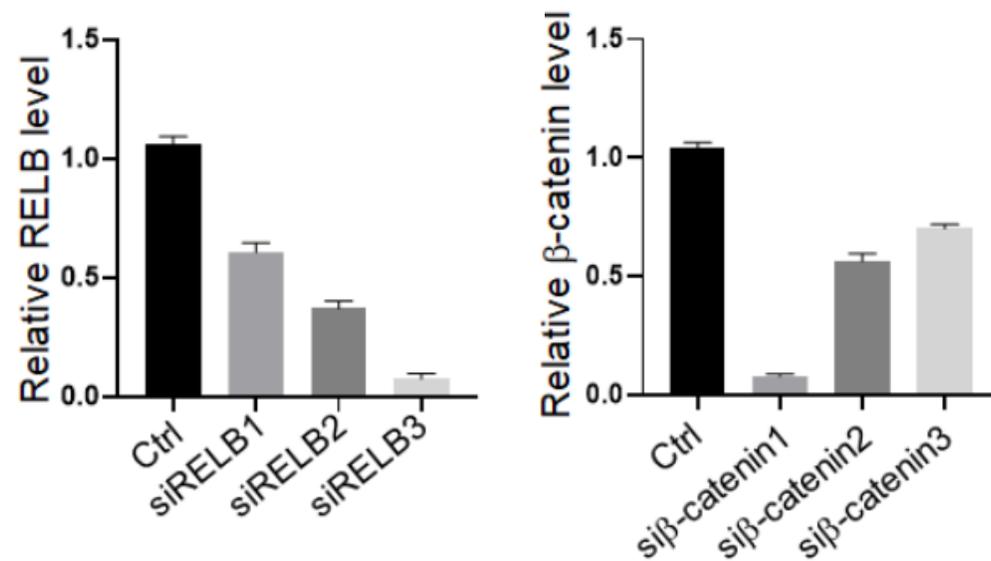
# 研究结果

—LTBR通过非典型的NF- $\kappa$ B和Wnt/b-catenin信号通路维持了TAMs的免疫抑制特征和免疫逃逸

(A)

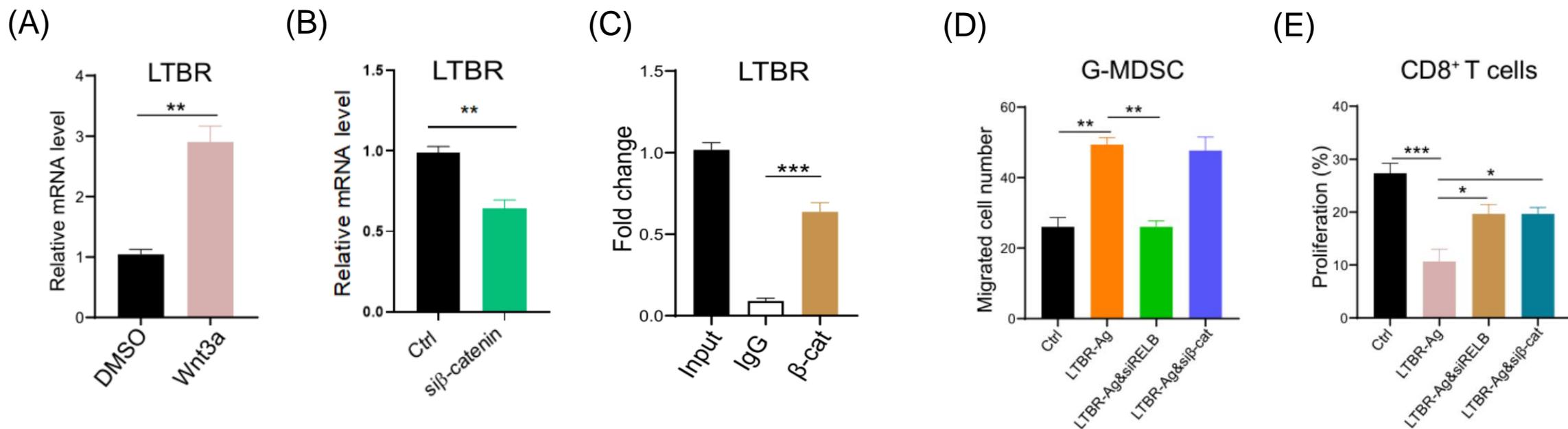


(B)



敲除RELB可以抑制LTBR激活后上调CXCL1、CXCL2、PDL1、COX2、白介素10和TGF $\beta$ 的作用。下调 $\beta$ -catenin可以减弱LTBR激活后上调PDL1、ARG2、COX2、TGF $\beta$ R1、IL10、Mr和TGF $\beta$ 的作用。

# 研究结果 — LTBR通过非典型的NF- $\kappa$ B和Wnt/b-catenin信号通路维持了TAMs的免疫抑制特征和免疫逃逸



TAMs中Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路与LTBR表达之间存在正反馈调控通路，ChIP实验证实了 $\beta$ -catenin可以结合LTBR的启动子区域。

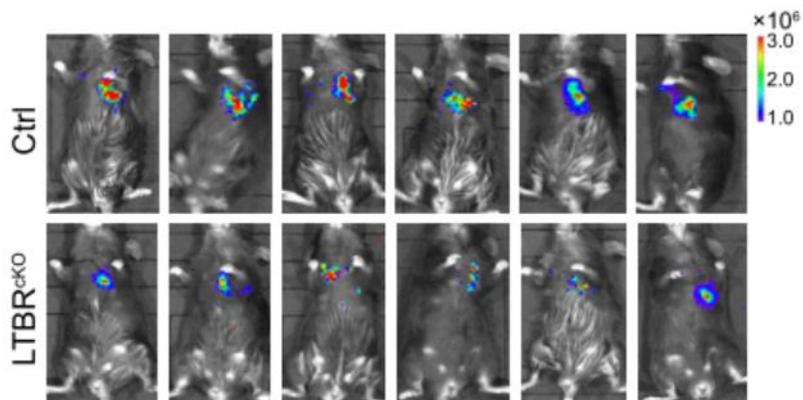
在TAMs中敲除RELB，激活LTBR减弱了G-MDSC的募集；并且TAMs和CD8<sup>+</sup>T细胞共培养实验显示，敲除RELB或 $\beta$ -catenin可以挽救激活LTBR后CD8<sup>+</sup>T细胞的增殖。



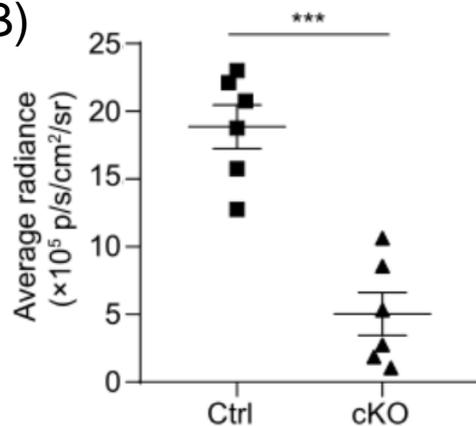
# 研究结果

—敲除TAMs中的LTBR可以通过破坏TAMs免疫抑制活性和M2表型来抑制肿瘤生长

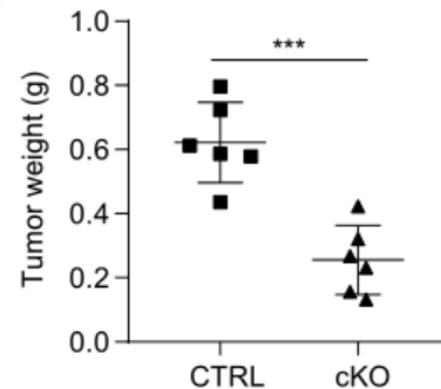
(A)



(B)



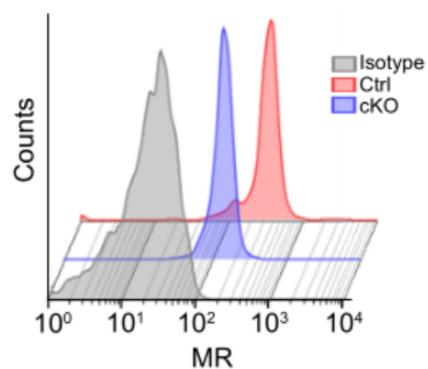
(C)



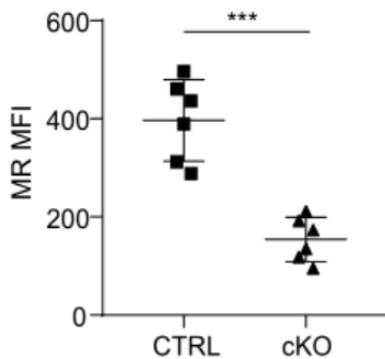
注入LLC细胞三周后LTBRcKO小鼠的肿瘤生长相较于Ctrl小鼠受到抑制

LTBRcKO小鼠的肿瘤重量显著低于Ctrl小鼠

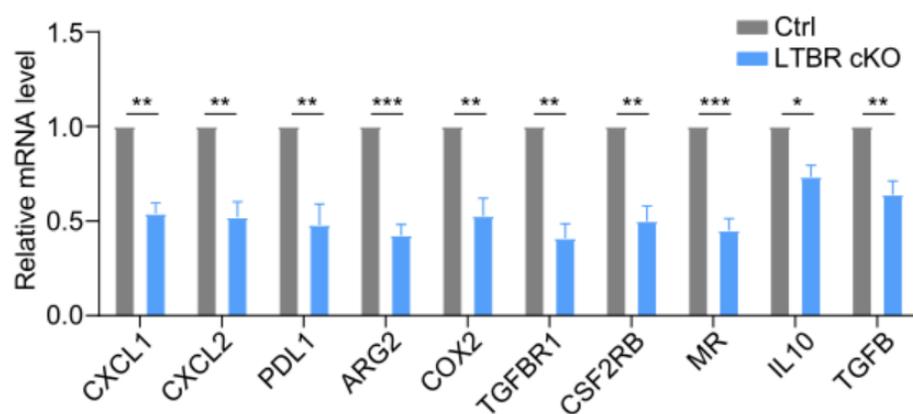
(D)



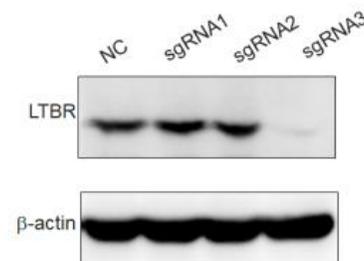
(E)



(F)



(F)



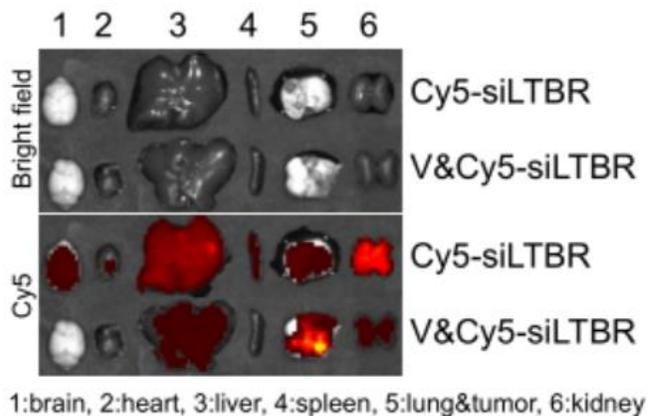
LTBR的敲除阻碍了TAMs的免疫抑制特性和M2表型



# 研究结果

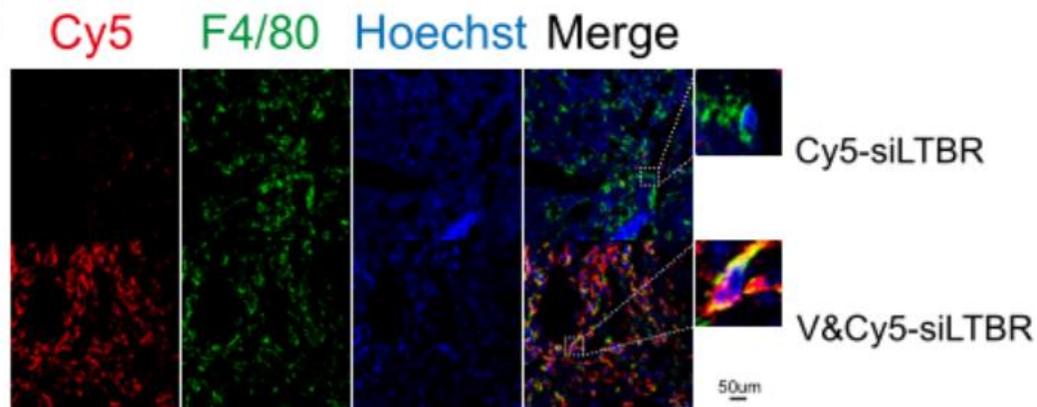
TAMs靶向传递LTBR siRNA会破坏TAMs的免疫抑制能力，并提高免疫治疗反应

(A)



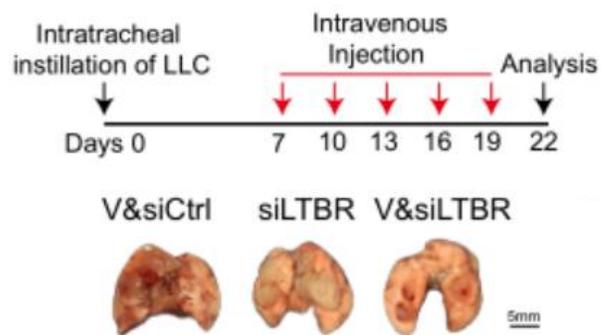
体内活体成像显示V&Cy5-siLTBR主要富集于肺癌组织

(B)



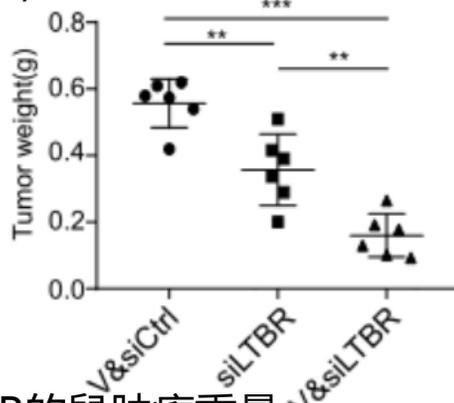
免疫荧光检测表明该系统能够将siLTBR特异性递送至TAMs

(C)

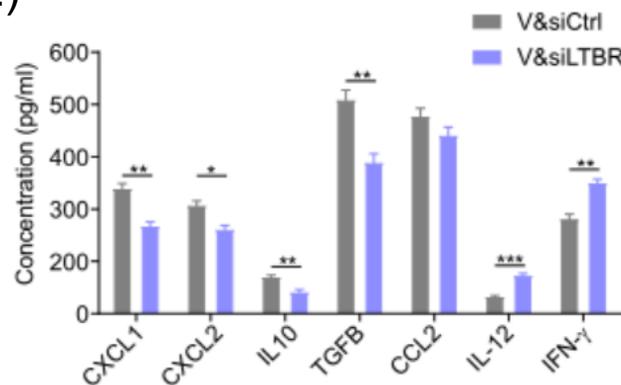


经过五次治疗，接受V&siLTBR的鼠肿瘤重量明显低于单独接受siLTBR或V&siCtrl的鼠。

(D)

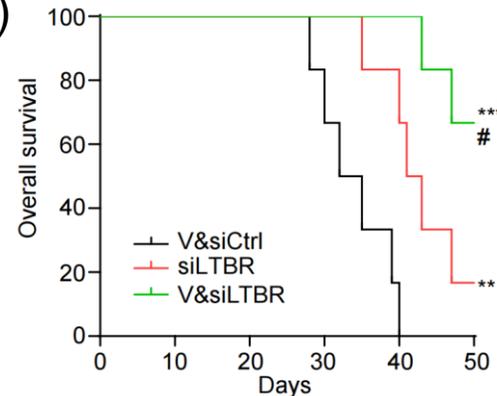


(E)



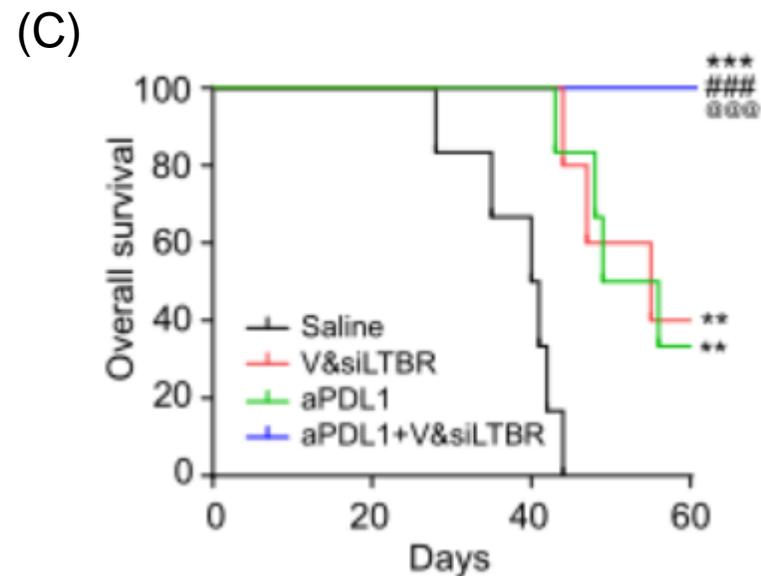
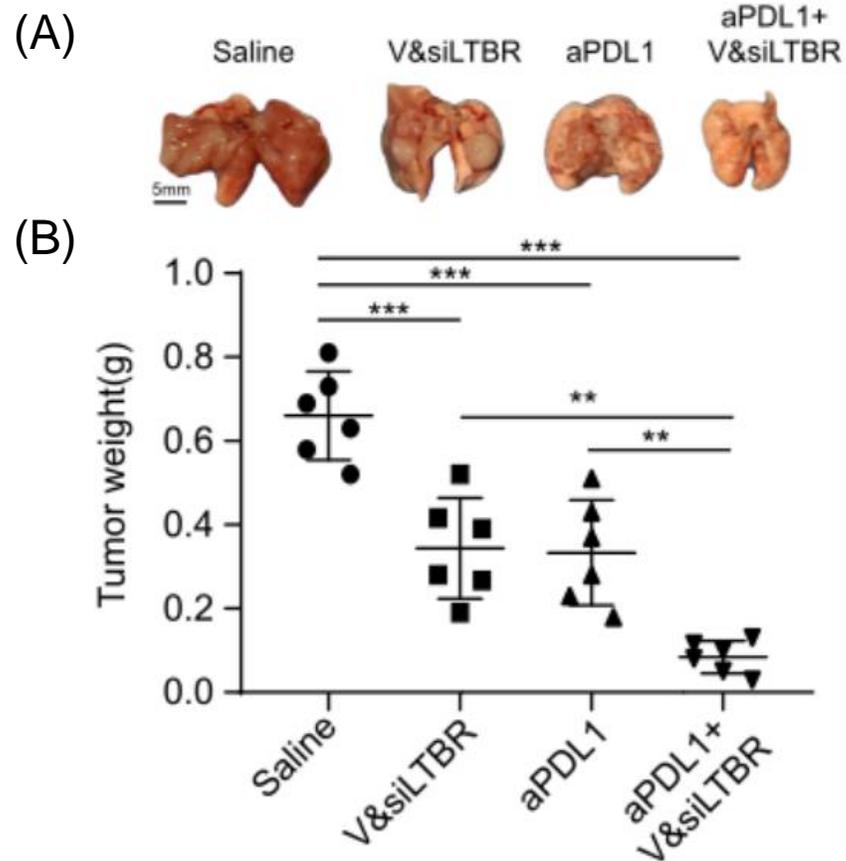
相较于V&siCtrl治疗，接受V&siLTBR治疗的小鼠生存时间长于仅接受siLTBR或V&siCtrl治疗的小鼠。

(F)





# 研究结果 — TAMs靶向传递LTBR siRNA会破坏TAMs的免疫抑制能力，并提高免疫治疗反应

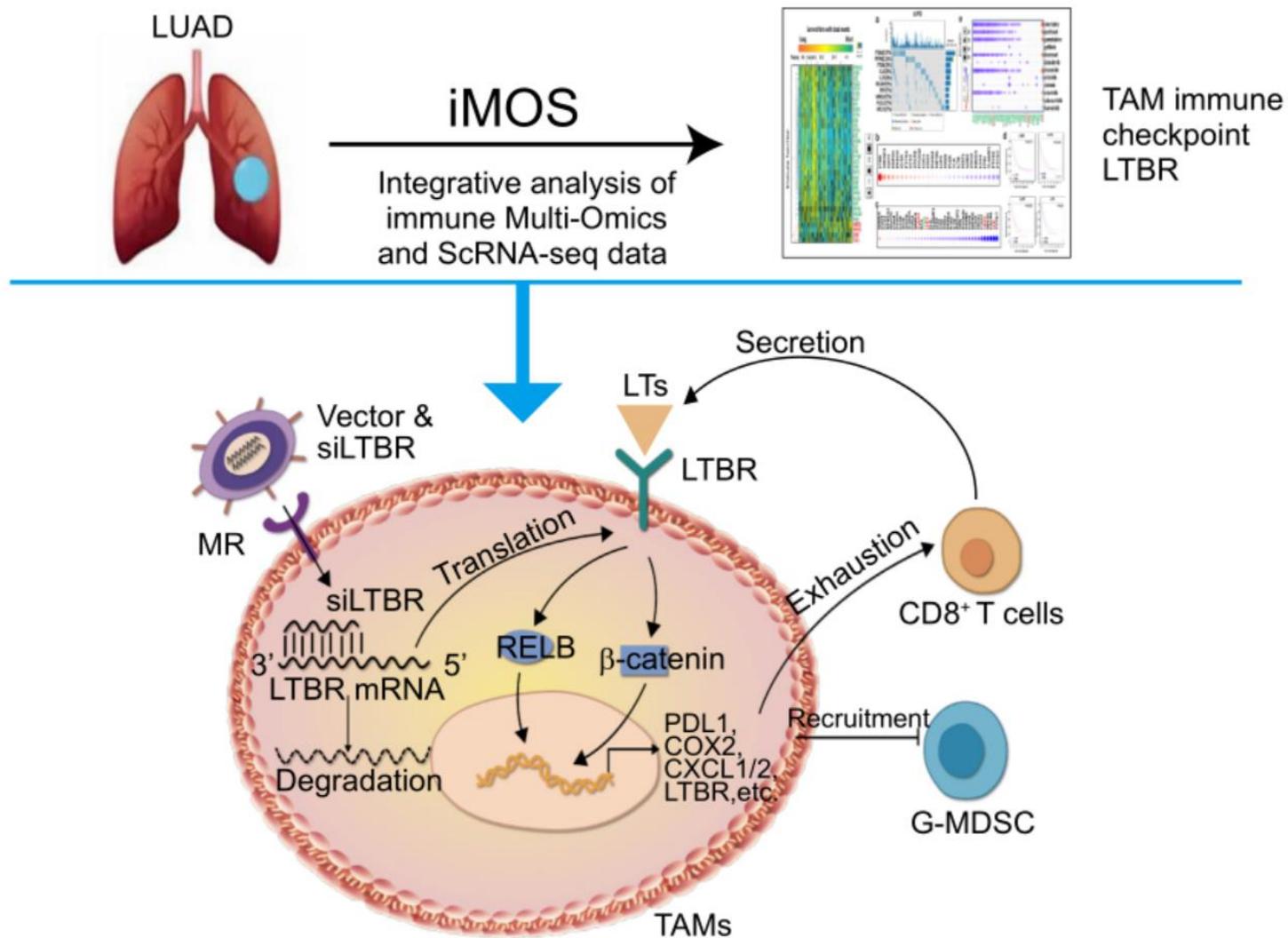


V&siLTBR与aPDL1联合治疗的小鼠生存时间显著长于仅接受V&siLTBR或aPDL1治疗的小鼠

针对TAMs的siLTBR递送可以增强PDL1抗体的治疗效果



# 研究结果总结

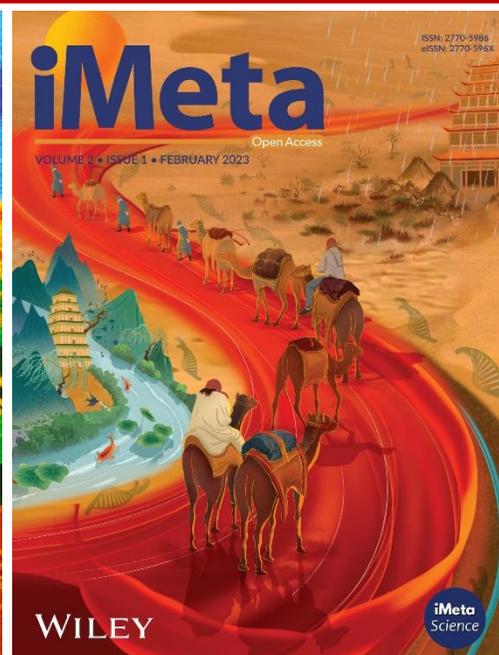
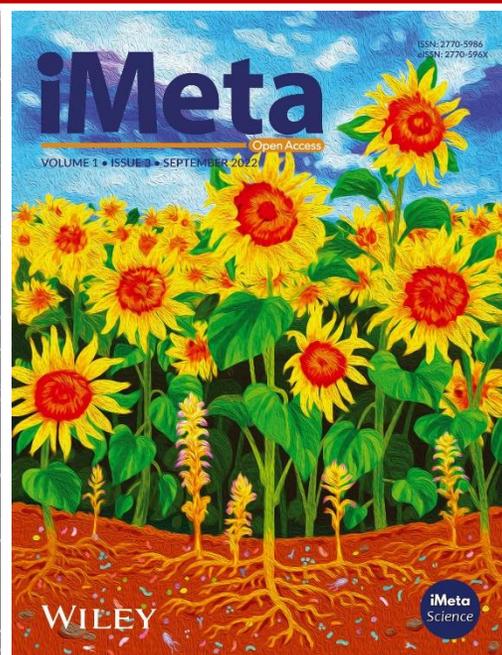




# 总结

1. 本研究开发了iMOS平台，并发现LTBR相对特异性地在TAMs中表达。
2. 研究发现LTBR+ TAMs的浸润与LUAD病理分期、免疫治疗抵抗及预后相关。
3. 研究发现LTBR通过非典型NF- $\kappa$ B信号通路和Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路维持TAMs的免疫抑制活性和M2表型。
4. 研究证实在TAMs中干扰LTBR提升了肿瘤免疫治疗的效果。

Liang Wang<sup>1,#</sup>, Jieyi Fan<sup>2,#</sup>, Sifan Wu<sup>1,#</sup>, Shilin Cheng<sup>1,#</sup>, Junlong Zhao<sup>1</sup>, Fan Fan<sup>1</sup>, Chunchen Gao<sup>1</sup>, Rong Qiao<sup>3</sup>, Qiqi Sheng<sup>1</sup>, Yiyang Hu<sup>1</sup>, Yong Zhang<sup>4</sup>, Pengjun Liu<sup>1</sup>, Zhe Jiao<sup>1</sup>, Tiaoxia Wei<sup>1</sup>, Jie Lei<sup>5</sup>, Yan Chen<sup>3,\*</sup>, Hongyan Qin<sup>1,\*</sup>. 2024. LTBR acts as a novel immune checkpoint of tumor-associated macrophages for cancer immunotherapy. *iMeta* 3: e233. <https://doi.org/10.1002/imt2.233>



“**iMeta**” (影响因子**23.7**) 由威立、肠菌分会和数千名华人科学家出版的期刊，主编刘双江和傅静远教授。收稿范围：任何领域高影响力的研究、方法和综述，重点关注微生物组、生物信息、大数据和多组学等；影响力：[ESCI/WOS/JCR](#)、[PubMed](#)、[Google](#)、[Scopus](#) 收录，**IF 23.7** 位列微生物学研究期刊全球第一；时效性：外审平均21天；投稿至发表中位数57天；“**iMetaOmics**” 主编赵方庆和于君教授，定位IF>10的高水平交叉学科综合期刊，欢迎投稿！



主页: <http://www.imeta.science>

出版社: <https://wileyonlinelibrary.com/journal/imeta>



[office@imeta.science](mailto:office@imeta.science)

[imetaomics@imeta.science](mailto:imetaomics@imeta.science)



投稿: <https://wiley.atyponrex.com/journal/IMT2>

<https://wiley.atyponrex.com/journal/IMO2>



宣传片



[iMeta](#)

