

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.04.004

· 基础研究 ·

基于单细胞测序分析肿瘤相关巨噬细胞来源的半乳糖凝集素3的功能

胡向嘉, 李楠(海军军医大学 免疫学研究所暨医学免疫学国家重点实验室, 上海 200433)

[摘要] **目的:**从肿瘤相关巨噬细胞(TAM)在化疗前后的表型变化入手,寻找通过调控肿瘤免疫微环境(TIME)从而影响肿瘤治疗效果和预后的功能分子。**方法:**利用欧洲核苷酸数据库(ENA)的PRJEB45598数据集,分析进展期胃癌患者化疗前后活检肿瘤组织单细胞测序数据,采用主成分分析(PCA)和一致流形近似与投影(UMAP)降维,获得31个亚群细胞,并进一步进行TAM亚型分析、差异基因筛选,寻找化疗后M2型TAM中高表达的基因。通过黑色素瘤B16-F10细胞皮下移植瘤模型验证化疗前后特定基因mRNA和蛋白水平表达变化,并通过Incucyte体外分析该蛋白是否调控化疗药物诱导的肿瘤细胞死亡。**结果:**聚焦单细胞测序数据中M2型TAM的特征表达基因,发现半乳糖凝集素3(LGALS3)在胃癌化疗后mRNA水平显著升高($P<0.01$),在多种肿瘤中LGALS3高表达且与患者生存期呈负相关($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。黑色素瘤B16-F10细胞移植瘤模型中,LGALS3在M2型TAM中高表达($P<0.01$),且奥沙利铂化疗后表达进一步升高($P<0.05$)。体外对肿瘤细胞给予重组LGALS3蛋白可抑制化疗药物奥沙利铂诱导的肿瘤细胞死亡($P<0.01$)。**结论:**奥沙利铂化疗后的M2型TAM通过合成和分泌LGALS3促进黑色素瘤细胞的化疗抵抗,因此通过免疫治疗的方法靶向LGALS3分子可能有效提高肿瘤的治疗效果。

[关键词] 胃癌;单细胞测序;肿瘤相关巨噬细胞;半乳糖凝集素3;黑色素瘤;B16-F10细胞

[中图分类号] R735.2;R730.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2023)04-0302-07

Functional study on galactose-specific lectin 3 from tumor-associated macrophage based on single-cell sequencing

HU Xiangjia, LI Nan (National Key Laboratory of Medical Immunology & Institute of Immunology, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective:** To find functional molecules that regulate tumor immune microenvironment (TIME) and influence therapeutic effect and prognosis by focusing on phenotype changes of tumor-associated macrophages (TAM) before and after chemotherapy. **Methods:** The data set PRJEB45598 from ENA (European Nucleotide Archive) was used to analyze the single-cell sequencing data of biopsy tumor tissues from patients with advanced gastric cancer before and after chemotherapy. 31 subpopulations of cells were obtained using PCA (principal component analysis) and UMAP (uniform manifold approximation and projection). Further TAM subtype analysis and differential gene screening were performed to find the genes highly expressed in M2-like TAM cells after chemotherapy. The mRNA and protein expression changes of the specific gene before and after chemotherapy were verified by subcutaneous melanoma B16-F10 cell transplanted xenograft model. Whether the protein regulates chemotherapy-induced tumor cell death was analyzed in vitro by Incucyte. **Results:** Focusing on the characteristic expression genes in M2-like TAM in single-cell sequencing data, we found that the mRNA level of galactose-specific lectin 3 (LGALS3) was significantly increased after chemotherapy ($P<0.01$), and its high expression in various tumors was negatively related to the survival of patients ($P<0.05$ or $P<0.01$). LGALS3 was highly expressed in M2-like TAM in melanoma B16-F10 cell transplanted xenograft model *in vivo* ($P<0.01$), and its expression was further increased after oxaliplatin chemotherapy ($P<0.05$). Recombinant LGALS3 protein inhibited oxaliplatin-induced tumor cell death *in vitro*. **Conclusion:** M2-like TAM promotes chemoresistance of tumor cells through synthesis and secretion of LGALS3 after chemotherapy. Therefore, targeting LGALS3 through immunotherapy may effectively improve the therapeutic effect of tumors.

[Key words] gastric cancer; single-cell sequencing; tumor-associated macrophage; galactose-specific lectin 3; melanoma; B16-F10 cell
[Chin J Cancer Biother, 2023, 30(4): 302-308. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2023.04.004]

胃癌是世界范围内最常见的恶性肿瘤之一,其发病率和病死率分别位列第五和第三^[1]。临床上大多数胃癌病例属于进展期胃癌(advanced gastric cancer, AGC),患者确诊时多数肿瘤病灶已发生局部进展或出现转移,患者中位生存期为12~15个月^[2-4]。

一线标准化疗药物5-氟尿嘧啶(5-FU)和铂类在AGC

[基金项目] 国家自然科学基金(No.82071762)

[作者简介] 胡向嘉(1997—),男,硕士生,主要从事固有免疫表观调控的研究,E-mail: hxj15821673375@163.com

[通信作者] 李楠,E-mail: nanli@immunol.org

治疗中起核心作用,能够有效削减肿瘤体积、缓解肿瘤症状。近年来,多项国际Ⅲ期临床试验证实,对 AGC 患者进行抗 PD-1 药物与化疗药物联合治疗可以获得更为显著的疗效^[5-6]。联用免疫检查点抑制剂在胃癌化疗中的机制目前尚不清楚,有临床前证据表明,化疗通过重塑肿瘤免疫微环境(tumor immune microenvironment, TIME)增加肿瘤免疫原性,促进免疫介导的肿瘤杀伤,在 PD-1 阻断后显著增强 CD8⁺ T 细胞的细胞毒作用^[7-8]。但是,尚未有来自患者体内的直接证据支持这一猜想。因此,描绘 AGC 患者化疗前后 TIME 改变,对了解化疗联合免疫治疗这一新兴治疗方案背后的机制十分重要。肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophage, TAM)是肿瘤微环境中最主要的免疫细胞,在肿瘤进展和转归中具有关键作用。TAM 是一类异质性显著的巨噬细胞群体,表现为一个动态、连续的表型谱系,具有两个典型而极端的极化状态(M1 和 M2),在介导炎症和免疫反应中发挥截然相反的作用。大量研究表明, TAM 表型更倾向于 M2 表型,其免疫抑制活性和促进组织生长的作用较为突出,而缺乏 M1 表型的细胞毒活性和促炎作用^[9]。TAM 的免疫抑制作用是肿瘤免疫治疗的一大靶点,抑制 TAM 的促肿瘤作用是近年来肿瘤治疗的热点,通过杀伤特定表型的 TAM 或诱导 TAM 表型重塑辅助一线方案治疗肿瘤,目前多种相关药物已应用于临床^[10-11]。然而, TAM 表型的复杂性、功能的多样性,以及随 TIME 影响而表现出的强大的可塑性,使得 TAM 研究一直具有相当的难度。随着单细胞测序技术的发展,在单细胞水平解构 TAM 的异质性,并将表型特征整合到功能研究中,是目前研究 TAM 的主要思路,有望为肿瘤治疗开辟新的道路。关注 TAM 在化疗前后的表型变化,对于明确化疗在重塑 TIME 中所起的作用尤为重要。某些化疗药物能够诱导 TAM 复极化,进而通过重塑 TIME 增加患者对治疗的响应,这在 5-FU 治疗结直肠癌^[12]、铂类药物为主的新辅助化疗治疗高级别卵巢癌^[13]、吉西他滨治疗胰腺癌^[14]中均有报道。为了准确描述 AGC 患者化疗前后 TIME 改变,本研究利用患者治疗前后的肿瘤活检组织单细胞测序数据进行研究,重点关注巨噬细胞特征性基因在化疗前后的表达变化, 以期为目标 TIME 的肿瘤免疫治疗提供参考和借鉴。

1 材料与方法

1.1 利用欧洲核苷酸数据库(European Nucleotide Archive, ENA)研究 AGC 患者化疗前后的单细胞测序数据

原始数据来自 ENA 的 PRJEB45598 数据集,本数

据集选取 2018 至 2019 年间就诊于韩国首尔三星医疗中心的 12 例 AGC 患者的单细胞测序数据。所有患者均接受一线标准化疗方案,其中 5 例 HER2 阳性患者接受卡培他滨联合顺铂(capecitabine plus cisplatin, XP)和曲妥珠单抗(trastuzumab)治疗, 7 例 HER2 阴性患者接受卡培他滨联合奥沙利铂(capecitabine plus oxaliplatin, XELOX)治疗。在两个标准疗程的化疗前后,分别取 11 例和 7 例患者的活检样品进行单细胞测序(表 1)。

表 1 患者信息

编号	性别	年龄/ 岁	治疗方案	治疗前 资料	治疗后 资料
1	男	49	XELOX	√	√
2	女	51	XP+Trastuzumab	√	√
3	男	46	XP+Trastuzumab	√	√
4	男	60	XP+Trastuzumab	√	√
5	女	33	XELOX	√	√
6	男	71	XP+Trastuzumab	×	×
7	男	38	XELOX	√	√
8	女	74	XELOX	√	√
9	男	75	XELOX	√	×
10	男	75	XELOX	√	×
11	女	69	XP+Trastuzumab	√	×
12	男	50	XELOX	√	×

√:有相关数据;×:无相关数据

利用 Cell Ranger 对原始 Fastq 数据进行数据质量统计、与 Ensembl 数据库的参考基因组比对、细胞拆分、去 PCR 假重复序列、细胞识别。利用 Seurat 软件包进行细胞质控,细胞过滤指标为同时满足 200 条<基因数<10 000 条、线粒体基因占比<10%、红细胞基因占比<10%的细胞,并利用 Scrublet 工具去除双细胞。针对样本内的高质量单细胞,利用 Seurat 软件包进行表达矩阵的标准化和归一化,基于扩散系数判别高变异程度基因,利用高变基因进行主成分分析(principal component analysis, PCA)。选取前 30 个 PCA 主成分,利用一致流形近似与投影(uniform manifold approximation and projection, UMAP)降维方法对单细胞群聚类进行可视化。UMAP 使用 K 最近邻(K-nearest neighbor, KNN)分类算法,并使用随机梯度下降来优化结果,计算高维空间中点之间的距离,将它们投影到低维空间,使得数据的全局结构尽可能多地保留。利用 Seurat 软件包的 Find All Markers 函数筛选差异表达基因,得到每个聚类细胞群的标记基因集,根据标记基因进行注释。

1.2 细胞、主要试剂及实验动物

小鼠黑色素瘤 B16-F10 细胞购自 ATCC 公司。LGALS3 小鼠重组蛋白(CYT-188)购自 ProSpec 公司, SYTOX Green(S7020)核酸染料购自 Invitrogen 公司, 胶原酶 IV (LS004209)购自 Worthington 公司, DNA 酶 I (EN0521)购自 ThermoFisher Scientific 公司, 奥沙利铂(S1224)购自 Selleck 公司。8 周龄 C57BL/6J 小鼠购自集萃药康公司, 实验动物合格证号为[SYXK(苏)2018-0027]。

1.3 B16-F10 细胞皮下小鼠移植瘤模型的建立及其化疗处理

在 C57BL/6J 小鼠背部皮下注射 B16-F10 细胞(5×10^5 个细胞/只)。荷瘤第 8 天时, 将成瘤小鼠按随机表法随机分成化疗组和对照组, 并开始给予实验处理。化疗组为腹腔注射奥沙利铂(10 mg/kg 体质量), 对照组则为腹腔注射等量的生理盐水。所有处理均 3 d 一次, 共计 4 次。第 20 天手术剥离肿瘤组织, 供后续流式术分选细胞使用。

1.4 移植瘤细胞分离和流式分选

将肿瘤组织剪碎, 加入胶原酶 IV (1.0 mg/mL) 和 DNA 酶 I (2 U/mL) 后于 37 °C 下处理 60 min。用 40 μ m 细胞滤网过滤后, 使用破红液裂解红细胞。使用 CD45 磁珠(Miltenyi)分离免疫细胞。使用 Sony SH800 进行流式分选, 设门策略如下: 单核细胞, CD45⁺CD11b⁺Ly6G⁺Ly6C⁺; 巨噬细胞, CD45⁺CD11b⁺Ly6G⁺Ly6C⁺F4/80⁺; M1 型 TAM, CD45⁺CD11b⁺Ly6G⁺Ly6C⁺F4/80⁺MHCII^{high}; M2 型 TAM, CD45⁺CD11b⁺Ly6G⁺Ly6C⁺F4/80⁺MHCII^{low}。流式抗体均购自 BioLegend 公司。

1.5 qPCR 法检测化疗前后移植瘤组织中 LGALS3 mRNA 的表达水平

使用 RNA fast 200(飞捷生物)RNA 提取试剂盒从移植瘤组织中提取总 RNA, 使用 ReverTra Ace qPCR RT (TOYOBO 公司)反转录试剂盒获得 cDNA, 使用 TB Green Premix Ex Taq (TaKaRa 公司)试剂盒进行 qPCR。PCR 反应参数: PCR 采用两步法, 反应条件为 95 °C 10 min, 95 °C 15 s、60 °C 1 min, 共计 40 个循环。LGALS3 上游引物为 AGACAGCTTTTCGCTTAACGA, 下游引物为 GGGTAGGCACTAGGAGGAGC; 内参 β -Actin 上游引物为 GTGACGTTGACATCCGTAAAGA, 下游引物为 GCCGGACTCATCGTAC TCC。以 β -actin 为内参基因, 用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算出 LGALS3 mRNA 的相对表达水平。

1.6 WB 法检测化疗前后移植瘤组织中 LGALS3 蛋白的表达水平

使用添加蛋白酶抑制剂的细胞裂解液在冰上裂

解细胞, 离心去除沉淀后测定蛋白浓度。使用相同上样量(10~20 μ g)的蛋白进行 SDS-PAGE, 再电转移至硝酸纤维素膜。使用含有 5% 牛血清白蛋白的 TBST 缓冲液封闭后, 加入 LGALS3 抗体(1:1 000)和内参 β -actin 抗体(1:1 000), 4 °C 下处理过夜, 次日加入 HRP 标记抗兔二抗(1:2 000), 室温下处理 1 h。最后使用 ECL 显色, 用 Tanon 化学发光/荧光图像分析系统采集图像并分析。

1.7 LGALS3 对奥沙利铂诱导 B16-F10 细胞死亡的影响

B16-F10 细胞置于含 10% 胎牛血清的 DMEM-F12 培养基, 于 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养。当细胞汇合度约为 80% 时进行实验。实验分为三组: 对照组(PBS 作为奥沙利铂溶质); 奥沙利铂组(100 μ mol/L 奥沙利铂); 奥沙利铂+LGALS3 组(100 μ mol/L 奥沙利铂 + 50 ng/ml LGALS3 重组蛋白)。培养 24 h 后, 用 SYTOX Green 核酸染料进行细胞染色, Incucyte 细胞成像系统显示细胞死亡情况。

1.8 统计学处理

使用 GraphPad Prism 8.4.1 软件进行数据的统计学分析, 符合正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用双侧独立样本 *t* 检验, 以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

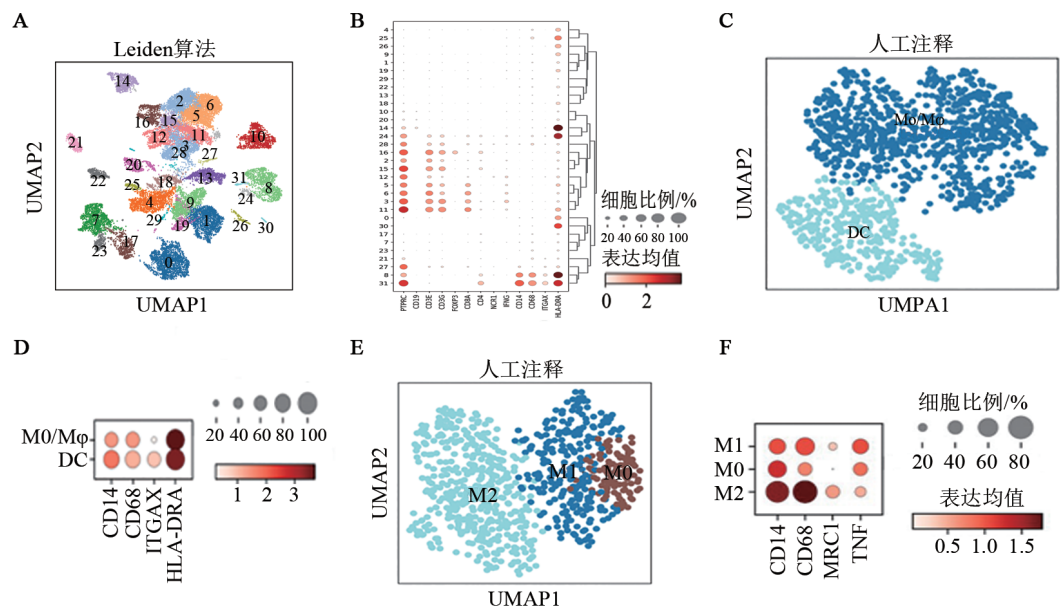
2.1 化疗前后 AGC 组织单细胞测序数据聚类分析获取标志细胞群和标志基因

为了描述化疗药物 5-FU 和铂类对 AGC 的 TIME 的影响, 合并了从 18 个肿瘤样本中单细胞测序获得的 18 911 个细胞(10 651 个细胞来自 11 个治疗前样本, 8 260 个细胞来自 7 个治疗后样本)进行研究。通过 UMAP 聚类分析获得 31 个细胞群, 其中第 8 群和第 31 群细胞高表达单核/巨噬细胞(monocyte/macrophage, Mo/M ϕ)和 DC 的标记基因 CD14、CD68、HLA-DRA (major histocompatibility complex, class II, DR α)(图 1A、B)。提取第 8 群和第 31 群细胞进行再聚类, 将细胞群分为 Mo/M ϕ 和 DC 亚群, 其中 CD11c(integrin α X, ITGAX)在 DC 中特异性高表达, 是 DC 的标志基因(图 1C、D)。再提取 Mo/M ϕ 进行单独聚类, 共获得 3 个细胞群, 分别为 Mo、M1 和 M2 巨噬细胞, 其标志基因分别为 CD14、TNF- α 、甘露糖受体 1 (mannose receptor 1, MRC1 或称 CD206)(图 1E、F)。

2.2 化疗后 LGALS3 mRNA 在 AGC 组织 M2 型 TAM 中高表达且其与患者 OS 呈负相关

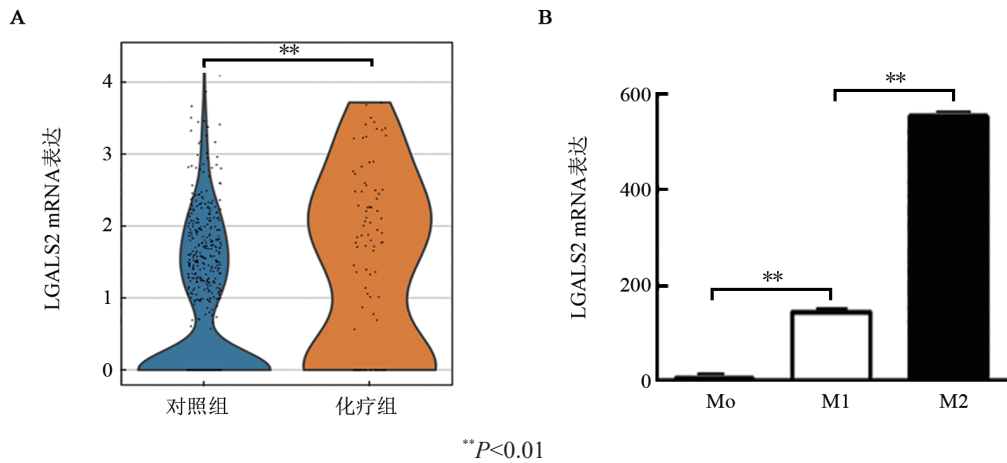
根据聚类分析获得的细胞群, 单独分析了 M2 型 TAM 的特征基因, 并鉴定了化疗前后细胞中的差异

表达基因,发现半乳糖凝集素 3 (galactose-specific lectin 3, LGALS3)在化疗后表达显著升高(图 2A, $P<0.01$),与 Mo 和 M1 型 TAM 比较, M2 型 TAM 中特异性高表达 LGALS3(图 2B, $P<0.01$)。



A:肿瘤组织细胞亚群 UMAP 聚类散点图;B:肿瘤组织细胞亚群标记基因表达气泡图;C:Mo/Mφ 和 DC 亚群的 UMAP 聚类散点图;D:Mo/Mφ 和 DC 亚群标记基因表达气泡图;E:Mo/Mφ 亚群 UMAP 聚类散点图;F:Mo/Mφ 亚群标记基因表达气泡图。在散点图中,每个点代表 1 个细胞,每个颜色代表 1 种细胞亚群。在气泡图中,纵坐标表示细胞亚群,横坐标表示细胞标记基因,气泡大小代表标记基因在相应亚群中表达的细胞占比,气泡颜色深浅代表标记基因在相应亚群中表达的平均水平

图 1 肿瘤组织单细胞亚群 UMAP 聚类散点图和细胞特征基因表达气泡图



A:LGALS3 在治疗前后表达情况的提琴图,图形宽度表示数据的密度分布;B:LGALS3 在不同细胞群中的表达情况

图 2 LGALS3 在治疗前后以及不同细胞群间的表达情况

通过分析 TCGA(The Cancer Genome Atlas)数据库,发现在多种肿瘤中, LGALS3 的高表达与患者 OS 或 DFS 呈显著负相关(图 3)。结果提示, LGALS3 可能在肿瘤进展中发挥重要调控作用。

2.3 化疗可上调小鼠皮下移植瘤组织 M2 型 TAM 中 LGALS3 的表达

利用小鼠黑色素瘤皮下移植模型,验证 LGALS3 在化疗前后的 TAM 中的表达情况。利用 B16-F10 细胞构建黑色素移植瘤模型,并给予奥沙利铂进行化

疗,疗程完成后手术剥离肿瘤,通过流式分选瘤内浸润的 Mo、M1 和 M2 型 TAM, qPCR 和 WB 实验证实 LGALS3 在 M2 型 TAM 中特异性高表达(均 $P<0.01$),且在化疗后表达进一步升高(图 4, $P<0.05$)。

2.4 LGALS3 蛋白可抑制奥沙利铂诱导的 B16-F10 细胞的死亡

与对照组比较,奥沙利铂处理组 B16-F10 细胞死亡明显增加($P<0.01$);与奥沙利铂处理组比较,奥沙利铂+LGALS3 重组蛋白处理组 B16-F10 细胞死亡明

显明显减少($P<0.01$),说明LGALS3能够抑制奥沙利铂诱导的B16-F10细胞死亡,提示M2型TAM高表达

LGALS3能抑制化疗诱导的肿瘤细胞死亡(图5)。

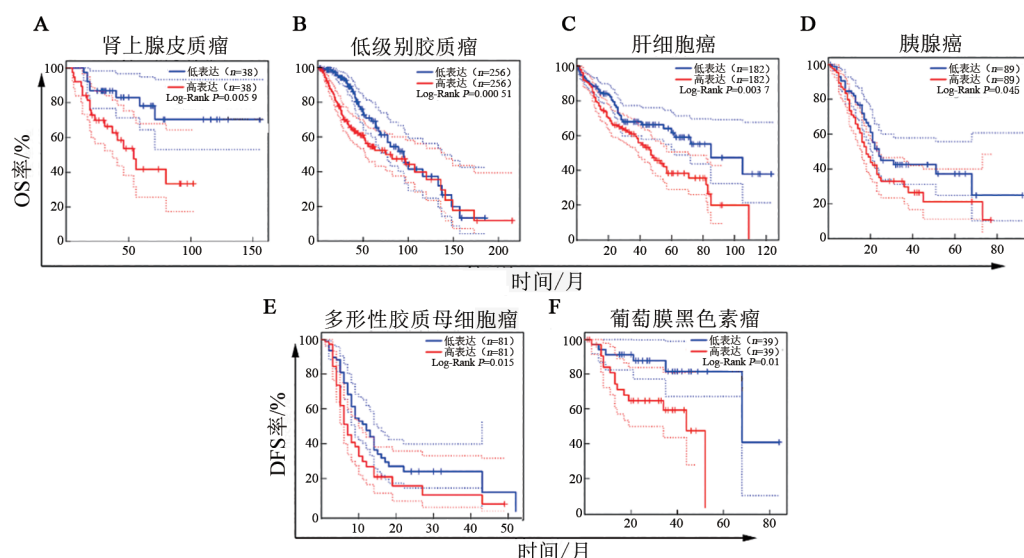


图3 LGALS3 mRNA在多种肿瘤组织中的表达及其与患者预后的关系

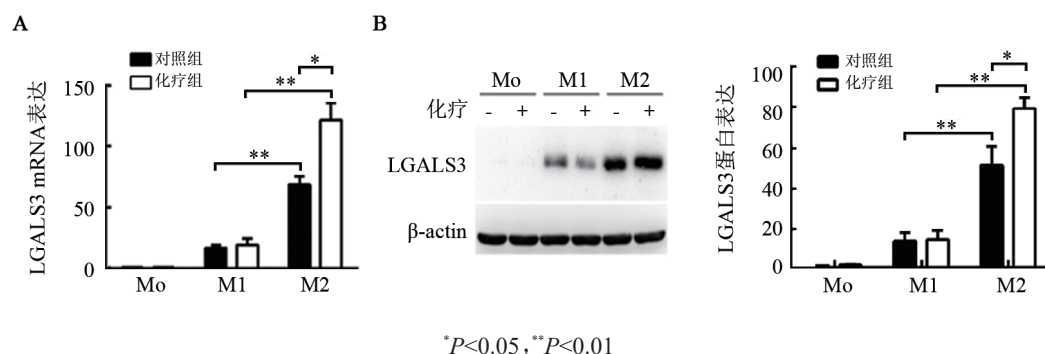


图4 LGALS3 mRNA(A)和蛋白(B)在化疗前后的移植瘤组织TAM中表达的变化

3 讨论

TIME的改变能够决定肿瘤治疗的疗效和预后^[12-14],对TIME的重塑是影响化疗疗效的关键因素之一^[15]。已有研究^[16]在单细胞水平描述胃癌TIME的特征,以及在胃癌发展过程中TIME的动态图谱。TAM是TIME中主要的免疫细胞之一,能够建立免疫抑制的微环境,促进肿瘤细胞的增殖和侵袭,刺激肿瘤血管生成,抑制T细胞介导的抗肿瘤免疫反应^[9]。鉴于TAM在TIME中发挥的重要作用,本文探究TAM在化疗前后特征基因表达谱的改变及其功能意义,以此为肿瘤治疗提供新的思路。通过分析AGC患者接受一线标准化疗前后的单细胞测序数据集,发现LGALS3是特异性高表达于M2型TAM,且在化疗前后发生显著表达差异的分子。目前可用于移植的鼠源肿瘤细胞系种类非常局限,而胃癌原发瘤模型的构建周期较长、构建难度和个体差异较大,因此

本研究选用小鼠黑色素瘤模型进行动物实验。LGALS3在M2型TAM中及化疗后显著高表达的现象在小鼠肿瘤模型中得到证实;同时,细胞杀伤实验表明,LGALS3的确能够诱导肿瘤细胞对化疗药物的抵抗。

凝集素是糖结合蛋白,而半乳糖凝集素具有识别并结合 β -半乳糖苷的能力。在半乳糖凝集素家族的十几种成员中,对LGALS3的研究最为广泛。LGALS3在人体组织中广泛表达,包括上皮细胞、内皮细胞以及所有类型的免疫细胞。LGALS3主要定位在细胞质,可通过核质穿梭入核,还可作为分泌蛋白释放至细胞外^[17]。既往研究已发现肿瘤细胞LGALS3高表达与肿瘤细胞的干性维持和迁移、侵袭等表型密切相关,介导Wnt、Notch、Hedgehog、TGF- β 、EGFR等多个信号通路的活化,且能通过阻断死亡受体抑制肿瘤细胞凋亡^[18]。此外,LGALS3还与肿瘤微环境中的免疫细胞密切相关,包括参与炎症反应,促

进中性粒细胞的活化和巨噬细胞的趋化;尤其能够负向调控细胞凋亡、T 细胞活化和免疫突触形成,提示其可能介导肿瘤免疫^[19]。多种 LGALS3 抑制剂,如

MCP(GBC-590)和 GR-MD-02 已进入了 II 期临床研究,提示其具有广阔的研究和应用前景^[20-21]。

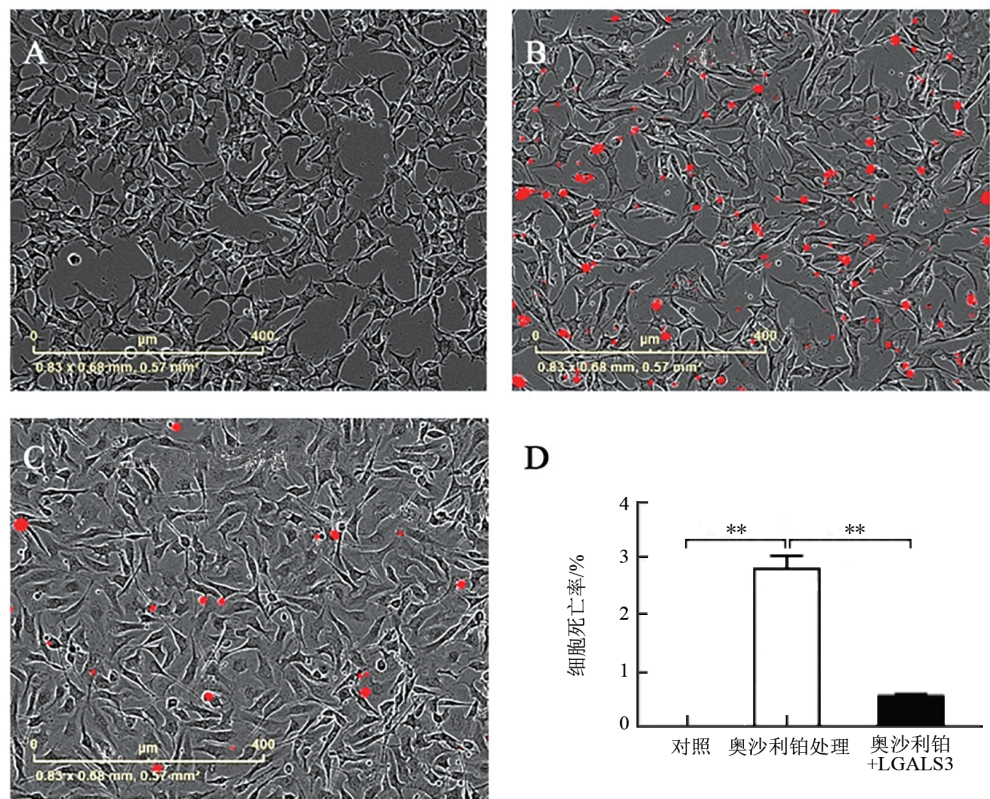


图5 SYTOX Green 染色显示 LGALS3 能抑制奥沙利铂诱导的 B16-F10 细胞死亡

LGALS3 与巨噬细胞的相关性近年来亦有报道。例如,在人乳腺癌和小鼠乳腺癌肺转移模型中都发现了高表达 LGALS3 的 TAM 亚群^[22-23]。在小鼠乳腺癌模型中,缺氧能够诱导 TAM 合成和分泌 LGALS3,施加巨噬细胞清除剂氯膦酸盐脂质体和 LGALS3 抑制剂改良柑橘果胶(modified citric pectin, MCP)能够抑制 TAM 在缺氧环境下促进肿瘤生长和转移的作用^[24]。在小鼠肺腺癌模型中,不仅证明巨噬细胞来源的 LGALS3 促进肿瘤生长、转移和 LGALS3 抑制剂 GB1107 的疗效,还发现联用 GB1107 能够增强免疫检查点 PD-L1 抑制剂的疗效^[25]。在上述研究的基础上,本文不仅发现高表达 LGALS3 的 TAM 同样存在于人胃癌和小鼠黑色素瘤中,还明确了 LGALS3 在肿瘤化疗抵抗中的作用,为后续靶向 TIME 的肿瘤免疫治疗靶点的开发提供更多可靠依据。

总之,本研究通过单细胞测序的数据处理,筛选出既在 M2 型 TAM 中特异表达,又在化疗干预后表达升高的分子 LGALS3。通过体内和体外实验,明确巨噬细胞来源的 LGALS3 在肿瘤化疗抵抗中具有重

要作用,可作为肿瘤治疗的潜在靶点。然而,由于单细胞测序数据分析与实验验证结果的肿瘤组织来源并不相同, LGALS3 是否在多种肿瘤类型中发挥相似的作用,亦或存在差异性调控作用,仍有待进一步研究。通过体内和体外实验,明确 TAM 来源的 LGALS3 在肿瘤治疗疗效中具有重要作用,可作为肿瘤免疫治疗的潜在靶点。在接下来的工作中,将深入研究 TAM 来源的 LGALS3 在决定肿瘤疗效中的具体分子机制,进一步探索 TAM 在靶向 TIME 的免疫治疗中发挥的作用。

[参 考 文 献]

[1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424. DOI:10.3322/caac.21492.

[2] CUNNINGHAM D, STARLING N, RAO S, *et al.* Capecitabine and oxaliplatin for advanced esophagogastric cancer[J]. N Engl J Med, 2008, 358(1): 36-46. DOI:10.1056/NEJMoa073149.

[3] BANG Y J, VAN CUTSEM E, FEYEREISLOVA A, *et al.* Trastuzumab

- in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial[J]. *Lancet*, 2010, 376(9742): 687-697. DOI:10.1016/S0140-6736(10)61121-X.
- [4] WILKE H, MURO K, VAN CUTSEM E, *et al.* Ramucirumab plus paclitaxel *versus* placebo plus paclitaxel in patients with previously treated advanced gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (RAINBOW): a double-blind, randomised phase 3 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2014, 15(11): 1224-1235. DOI:10.1016/S1470-2045(14)70420-6.
- [5] KANG Y K, BOKU N, SATOH T, *et al.* Nivolumab in patients with advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer refractory to, or intolerant of, at least two previous chemotherapy regimens (ONO-4538-12, ATTRACTION-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial[J]. *Lancet*, 2017, 390(10111): 2461-2471. DOI:10.1016/S0140-6736(17)31827-5.
- [6] JANJIGIAN Y Y, SHITARA K, MOEHLER M, *et al.* First-line nivolumab plus chemotherapy versus chemotherapy alone for advanced gastric, gastro-oesophageal junction, and oesophageal adenocarcinoma (CheckMate 649): a randomised, open-label, phase 3 trial[J]. *Lancet*, 2021, 398(10294): 27-40. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)00797-2.
- [7] HEINHUIS K M, ROS W, KOK M, *et al.* Enhancing antitumor response by combining immune checkpoint inhibitors with chemotherapy in solid tumors[J]. *Ann Oncol*, 2019, 30(2): 219-235. DOI:10.1093/annonc/mdy551.
- [8] PARK D S, ROBERTSON-TESSI M, LUDDY K A, *et al.* The goldilocks window of personalized chemotherapy: getting the immune response just right[J]. *Cancer Res*, 2019, 79(20): 5302-5315. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-18-3712.
- [9] CHRISTOFIDES A, STRAUSS L, YEO A, *et al.* The complex role of tumor-infiltrating macrophages[J/OL]. *Nat Immunol*, 2022, 23(8): 1148-1156[2022-11-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/6597225/>. DOI:10.1038/s41590-022-01267-2.
- [10] PITTET M J, MICHIELIN O, MIGLIORINI D. Clinical relevance of tumour-associated macrophages[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2022, 19(6): 402-421. DOI:10.1038/s41571-022-00620-6.
- [11] MANTOVANI A, ALLAVENA P, MARCHESI F, *et al.* Macrophages as tools and targets in cancer therapy[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2022, 21(11): 799-820. DOI:10.1038/s41573-022-00520-5.
- [12] MALESCI A, BIANCHI P, CELESTI G, *et al.* Tumor-associated macrophages and response to 5-fluorouracil adjuvant therapy in stage III colorectal cancer[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2017, 6(12): e1342918[2022-11-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29209561>. DOI:10.1080/2162402X.2017.1342918.
- [13] HEATH O, BERLATO C, MANIATI E, *et al.* Chemotherapy induces tumor-associated macrophages that aid adaptive immune responses in ovarian cancer[J/OL]. *Cancer Immunol Res*, 2021, 9(6): 665-681[2022-11-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33839687>. DOI:10.1158/2326-6066.CIR-20-0968.
- [14] DI CARO G, CORTESE N, CASTINO G F, *et al.* Dual prognostic significance of tumour-associated macrophages in human pancreatic adenocarcinoma treated or untreated with chemotherapy [J]. *Gut*, 2016, 65(10): 1710-1720. DOI:10.1136/gutjnl-2015-309193.
- [15] SATHE A, GRIMES S M, LAU B T, *et al.* Single-cell genomic characterization reveals the cellular reprogramming of the gastric tumor microenvironment[J/OL]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(11): 2640-2653[2022-11-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7269843/>. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-19-3231.
- [16] YIN H, GUO R, ZHANG H, *et al.* A dynamic transcriptome map of different tissue microenvironment cells identified during gastric cancer development using single-cell RNA sequencing[J/OL]. *Front Immunol*, 2021, 12:728169[2022-11-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34745098>. DOI:10.3389/fimmu.2021.728169.
- [17] NAKAHARA S, RAZ A. Regulation of cancer-related gene expression by galectin-3 and the molecular mechanism of its nuclear import pathway[J/OL]. *Cancer Metastasis Rev*, 2007, 26(3-4): 605-610. [2022-11-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3613988/>. DOI: 10.1007/s10555-007-9095-6.
- [18] NANGIA-MAKKER P, HOGAN V, RAZ A. Galectin-3 and cancer stemness[J]. *Glycobiology*, 2018, 28(4): 172-181. DOI: 10.1093/glycob/cwy001.
- [19] DONG R, ZHANG M, HU Q, *et al.* Galectin-3 as a novel biomarker for disease diagnosis and a target for therapy (Review) [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(2): 599-614. DOI:10.3892/ijmm.2017.3311.
- [20] BLANCHARD H, YU X, COLLINS P M, *et al.* Galectin-3 inhibitors: a patent review (2008-present)[J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2014, 24(10): 1053-1065. DOI:10.1517/13543776.2014.947961.
- [21] SETHI A, SANAM S, ALVALA R, *et al.* An updated patent review of galectin-1 and galectin-3 inhibitors and their potential therapeutic applications (2016-present) [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2021, 31(8): 709-721. DOI:10.1080/13543776.2021.1903430.
- [22] HU W M, YANG Y Z, ZHANG T Z, *et al.* LGALS3 is a poor prognostic factor in diffusely infiltrating gliomas and is closely correlated with CD163⁺ tumor-associated macrophages[J/OL]. *Front Med (Lausanne)*, 2020, 7: 182[2022-11-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32528967>. DOI:10.3389/fmed.2020.00182.
- [23] HUGGINS D N, LARUE R S, WANG Y, *et al.* Characterizing macrophage diversity in metastasis-bearing lungs reveals a lipid-associated macrophage subset[J/OL]. *Cancer Res*, 2021, 81(20): 5284-5295[2022-11-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/8530952/>. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-21-0101.
- [24] WANG L, LI Y S, YU L G, *et al.* Galectin-3 expression and secretion by tumor-associated macrophages in hypoxia promotes breast cancer progression[J/OL]. *Biochem Pharmacol*, 2020, 178:114113[2022-11-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32579956>. DOI:10.1016/j.bcp.2020.114113.
- [25] VUONG L, KOUVERIANOU E, ROONEY C M, *et al.* An orally active galectin-3 antagonist inhibits lung adenocarcinoma growth and augments response to PD-L1 blockade[J]. *Cancer Res*, 2019, 79(7): 1480-1492. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-18-2244.

[收稿日期] 2022-12-15

[修回日期] 2023-02-10

[本文编辑] 向正华,沈志超