doi:10.11659/jjssx.06E025130

·临床研究·

肺腺癌中ILT4、CD147表达与肿瘤免疫浸润及预后的相关性研究

李佳慧[1],郭一泽[2],胡 雯[1],张 丽[1] (1.空军军医大学唐都医院肿瘤科,陕西 西安 710038;2.空军军医大学唐都医院胸外科,陕西 西安 710038)

[摘 要] **目的** 分析ILT4、CD147在肺腺癌中的表达及其与肿瘤免疫浸润和患者预后的关系。**方法** 收集2024年1—12月在我院接受手术治疗的134例肺腺癌患者的癌组织和癌旁组织标本,并对患者临床资料进行回顾性分析。采用免疫组化法和qRT-PCR分别检测不同组织中ILT4、CD147的蛋白及mRNA表达;分析ILT4、CD147表达与肺腺癌临床病理特征的相关性。基于GEPIA2数据库检索ILT4、CD147在泛癌组织中的表达,并分析其与肺腺癌预后的关系。基于TIMER数据库分析肺腺癌样本中ILT4、CD147表达与6种免疫细胞浸润的相关性。**结果** 肺腺癌组织中ILT4和CD147蛋白阳性率及mRNA表达水平均明显高于癌旁组织(P<0.05)。GEPIA数据库分析显示,ILT4、CD147在多种肿瘤中表达上调,肺腺癌组织中ILT4、CD147表达水平均高于非配对的癌旁组织。ILT4蛋白表达与肺腺癌TNM分期、淋巴结转移密切相关(P<0.05);CD147蛋白表达与TNM分期、淋巴结转移及分化程度相关(P<0.05)。GEPIA数据库分析显示,ILT4和CD147高表达患者总生存率低于低表达患者(*Log-rank* P=0.000 58、0.002 6)。TIMER数据库分析显示,ILT4表达与巨噬细胞、中性粒细胞和树突状细胞浸润呈明显负相关(P<0.05);CD147表达与B细胞、$CD4^+$ T细胞和树突状细胞浸润呈明显负相关(P<0.05)。**结论** 肺腺癌组织中ILT4、CD147均高表达,二者与患者临床病理特征、预后及免疫浸润相关,可能是肺腺癌患者预后评估的潜在标志物及免疫治疗靶点。

[关键词] 肺腺癌;ILT4;CD147;肿瘤微环境;免疫浸润;预后

[中图分类号] R734.2 [文献标志码] A [收稿日期] 2025-06-25

Correlation of the expression of ILT4 and CD147 with tumor immunoinfiltration and prognosis in lung adenocarcinoma

LI Jia-hui[1], GUO Yi-ze[2], HU Wen[1], ZHANG Li[1] (1.Department of Oncology, Tangdu Hospital, Air Force Medical University, Xi'an Shaanxi 710038, China; 2.Department of Thoracic Surgery, Tangdu Hospital, Air Force Medical University, Xi'an Shaanxi 710038, China)

Abstract: Objective To analyze the expression of ILT4 and CD147 in lung adenocarcinoma and their relationships with tumor immunoinfiltration and prognosis of patients. **Methods** The specimens of cancer tissues and adjacent tissues of 134 patients with lung adenocarcinoma who underwent surgical treatment at our hospital from January to December 2024 were collected, and a retrospective analysis was conducted on the clinical data of the patients. The protein and mRNA expression of ILT4 and CD147 in different tissues were detected by immunohistochemistry and qRT-PCR, respectively. The correlations of the expression of ILT4 and CD147 with the clinicopathological characteristics of lung adenocarcinoma were analyzed. The expression of ILT4 and CD147 in pan-cancer tissues were retrieved based on the GEPIA2 database, and their relationships with the prognosis of lung adenocarcinoma were analyzed. The correlations of the expression of ILT4 and CD147 with the infiltration of 6 kinds of immune cells in lung adenocarcinoma samples were analyzed based on TIMER database. **Results** The protein positive rates and mRNA expression levels of ILT4 and CD147 in lung adenocarcinoma tissues were significantly higher than those in adjacent tissues (P<0.05). The analysis of GEPIA database showed that ILT4 and CD147 upregulated in various tumors, and the expression levels of ILT4 and CD147 in lung adenocarcinoma tissues were both higher than those in unpaired adjacent tissues. The expression of ILT4 protein was closely related to the TNM stage and lymph node metastasis of lung adenocarcinoma (P<0.05); the expression of CD147 protein was correlated with TNM stage, lymph node metastasis and degree of differentiation (P<0.05). The analysis of GEPIA database showed that the patients with high expression of ILT4 and CD147 had lower overall survival rates than those with low expression (*Log-rank* P=0.000 58, 0.002 6). The analysis of the TIMER database showed that the expression of ILT4 was negatively correlated with the infiltration of macrophages, neutrophils and dendritic cells (P<0.05); the expression of CD147 was negatively correlated with the infiltration of B cells, $CD4^+$ T cells and dendritic cells (P<0.05). **Conclusion** ILT4 and CD147 are highly expressed in lung adenocarcinoma tissues, which are related to clinicopathological features, prognosis and immunoinfiltration of patients. They may be the potential markers for prognosis evaluation and immunotherapeutic targets of patients with lung adenocarcinoma.

Keywords: lung adenocarcinoma; ILT4; CD147; tumor microenvironment; immunoinfiltration; prognosis

[通信作者] 张 丽,E-mail:ZHANG96160535@126.com

肺腺癌是肺癌的主要类型,发病率高、转移快、对放疗不敏感,尽管综合治疗取得诸多进展,仍有部分患者无法从治疗中获益[1-2]。研究发现,肺癌发生发展与肿瘤微环境的免疫抑制密切相关,免疫球蛋白样转录子4(immunoglobulin-like transcript 4, ILT4)和细胞外基质金属蛋白酶诱导因子CD147是近年来备受关注的两种关键蛋白,在调控肿瘤免疫逃逸中扮演重要角色。ILT4是免疫球蛋白超家族中的一种抑制性受体,主要表达于髓系固有免疫细胞中。研究报道,免疫细胞中ILT4可通过与主要组织相容性复合体Ⅰ(major histocompatibility complex Ⅰ, MHCI)结合,抑制T细胞、树突状细胞、NK细胞等的免疫活性,诱导调节性T细胞(regulatory T cells,Treg)及免疫抑制细胞因子生成,从而发挥免疫抑制作用[3-4]。ILT4在多种髓系肿瘤和实体瘤中异常表达和富集,与肿瘤浸润、转移及预后密切相关[5-7]。CD147通过诱导基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)的产生促进肿瘤浸润和转移,参与肺癌等多种肿瘤的发生发展[8-10]。相关研究报道,CD147是一种T细胞激活相关分子,通过调节T细胞活化和免疫突触的形成在免疫功能的调节中起着重要作用[11]。有证据初步显示,CD147可调控人类白细胞抗原G(human leukocyte antigen-G, HLA-G)的表达,而HLA-G可与髓系免疫细胞上的相应受体ILT4相互作用,抑制抗肿瘤免疫应答[12-13]。但是ILT4、CD147在肺腺癌中的共表达模式及与免疫细胞浸润和预后的关系还需更多研究证实。因此,本研究基于临床样本和生物在线信息数据库,分析ILT4、CD147在肺腺癌组织中的表达及与肿瘤免疫浸润及预后的关系,旨在为肺腺癌的精准治疗提供更多分子靶点。

1 资料与方法

1.1 标本来源

收集2024年1—12月在我院接受手术治疗的134例肺腺癌患者的癌组织和癌旁组织标本,并对患者的临床资料进行回顾性分析。纳入标准:初次确诊,术后病理学确诊为肺腺癌;术前未接受过任何相关抗肿瘤治疗;未合并其他恶性肿瘤、血液系统及自身免疫性疾病;无重要脏器功能障碍;临床资料完整。134例患者年龄<65岁80例,≥65岁54例;男79例,女55例;肿瘤直径≥3 cm 81例,<3 cm 53例;TNM分期Ⅰ~Ⅱ期75例,Ⅲ~Ⅳ期59例;中、高分化66例,低分化68例;淋巴结转移48例;吸烟史44例。本研究经过我院医学伦理委员会批准(批准号:20230511),患者同意临床资料用于研究。

1.2 免疫组化法检测ILT4、CD147蛋白表达

取待测癌组织及癌旁组织标本,4%多聚甲醛固定,石蜡包埋,制作4 μm厚度切片,脱蜡、水化,加入枸橼酸钠溶液进行高压抗原修复,后加入兔抗人ILT4和CD147单克隆一抗(1∶500)孵育过夜;加入二抗,37 ℃孵育30 min,DAB显色5 min,苏木素复染40 s,自来水冲洗,脱水、干燥、透明、封片,镜下观察。以细胞核、细胞质或细胞膜均可见黄色或棕黄色颗粒为ILT4阳性,以细胞质和细胞膜出现黄色或棕褐色颗粒为CD147阳性。结果判读:随机取镜下5个视野,根据阳性细胞比例及染色强度进行综合评定,阳性细胞比例0、<25%、25%~50%、51%~75%、>75%分别记为0、1、2、3、4分;染色强度:无染色、淡黄色、黄色、棕褐色分别记为0、1、2、3分;两项评分乘积为总分(0~12分),≥4分为阳性,<4分为阴性。

1.3 qRT-PCR检测ILT4、CD147 mRNA表达

采用TRIzol法提取待测组织标本总RNA,利用反转录试剂盒逆转录合成cDNA,并将其作为模板配制PCR反应体系,然后进行PCR扩增。反应条件:95 ℃ 5 min,95 ℃ 30 s,60 ℃ 1 min,72 ℃ 15 s,循环40次。ILT4正向引物5′-TTGGCATAGATTACAATACGGCG-3′,反向引物5′-AGCCTGACCATAGGGTCGTG-3′;CD147正向引物5′-ACTGCTCCTCACCTCCTTGA-3′,反向引物5′-GCCTCCGTTATCACGTGTTC-3′;GAPDH正向引物5′-TGTCGTCATTGTGGTGGAAC-3′,反向引物5′-ATGCAGGGTACGTGTTGCAT-3′。以GAPDH为内参,采用$2^{-\triangle\triangle Ct}$法计算ILT4、CD147相对表达。

1.4 GEPIA2数据库分析ILT4、CD147表达及与肺腺癌预后的相关性

从GEPIA2(http://gepia2.cancer-pku.cn/#index/)[14]数据库中通过General模块检测泛癌样本中ILT4、CD147的mRNA表达,通过Expression DIY模块检测肺腺癌样本和非配对癌旁样本中ILT4、CD147的mRNA表达,结果以boxplot表示;同时通过Survival模块,以ILT4、CD147表达中位值进行分组,分析两者表达与肺腺癌患者总生存期的关系。

1.5 TIMER数据库分析ILT4、CD147表达及与免疫细胞浸润的相关性

基于TIMER(https://cistrome.shinyapps.io/timer/)数据库[15],通过Gene模块分析肺腺癌样本中ILT4、CD147表达与6种免疫细胞浸润的相关性,P<0.05为差异有统计学意义。

1.6 临床资料收集

收集入组肺腺癌患者的临床资料,包括性别、年龄、吸烟、肿瘤直径、TNM分期、淋巴结转移、分化程度及ILT4、CD147检测结果。

1.7 统计学处理

采用SPSS 22.0软件和R语言软件包进行统计学分

析。临床组织样本中ILT4、CD147 mRNA表达水平以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用配对t检验;计数资料以率(%)表示,采用χ^2检验。P<0.05为差异有统计学意义。

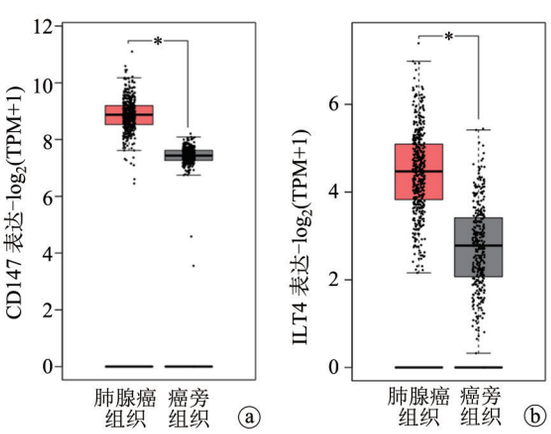
2 结果

2.1 ILT4、CD147在肺腺癌中的表达

临床样本检测结果显示,肺腺癌组织中ILT4和CD147蛋白阳性率及mRNA表达水平均明显高于癌旁组织,差异有统计学意义(P<0.05),见表1。GEPIA数据库分析显示,ILT4和CD147在多种肿瘤中表达均上调;在483例肺腺癌组织中ILT4、CD147表达均高于347例非配对癌旁组织(P<0.05),见图1、2。

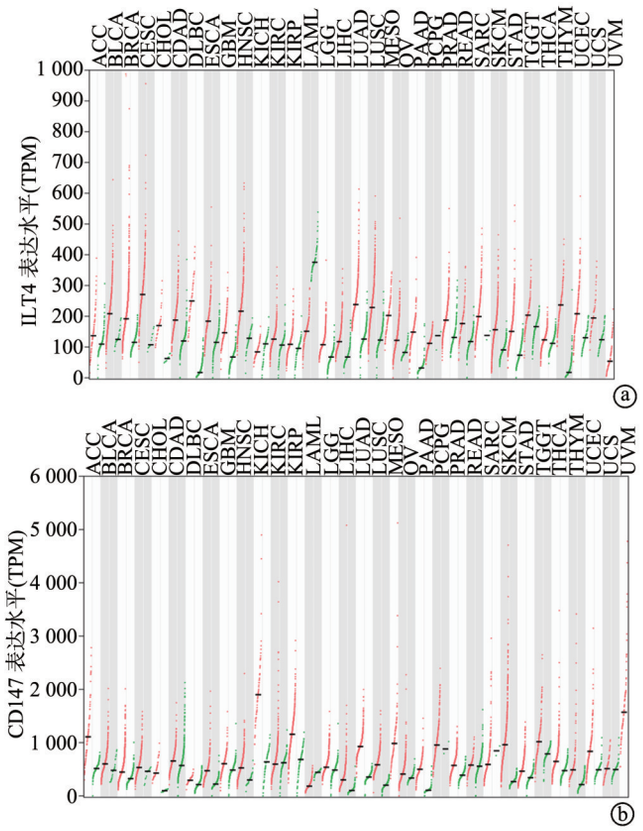
表1 肺腺癌组织及癌旁组织中ILT4、CD147的表达情况

组织	ILT4		CD147	
	蛋白阳性[例(%)]	mRNA水平	蛋白阳性[例(%)]	mRNA水平
癌组织	74(55.22)	1.65±0.06	82(61.19)	1.52±0.05
癌旁组织	32(23.88)	1.03±0.02	26(19.40)	1.01±0.02
χ^2/t	27.530	113.479	48.637	109.629
P	0.000	0.000	0.000	0.000



a、b:肺腺癌组织和癌旁组织中CD147、ILT4的表达 *:P<0.05

图1 GEPIA在线数据库检索ILT4、CD147在肺腺癌组织及癌旁组织中的差异表达



a、b:ILT4、CD147在泛癌组织中的表达 红色:肿瘤组织;绿色:正常组织

图2 GEPIA在线数据库检索ILT4、CD147在泛癌组织中的差异表达

2.2 ILT4、CD147表达与肺腺癌临床特征的关系

临床资料分析结果显示,ILT4蛋白表达与TNM分期、淋巴结转移相关,CD147蛋白表达与TNM分期、淋巴结转移及分化程度相关,差异均有统计学意义(P<0.05),见表2。

2.3 ILT4、CD147表达与肺腺癌预后的关系

基于GEPIA数据库,根据肺腺癌组织中ILT4和CD147表达水平中位值将患者分为高表达组和低表达

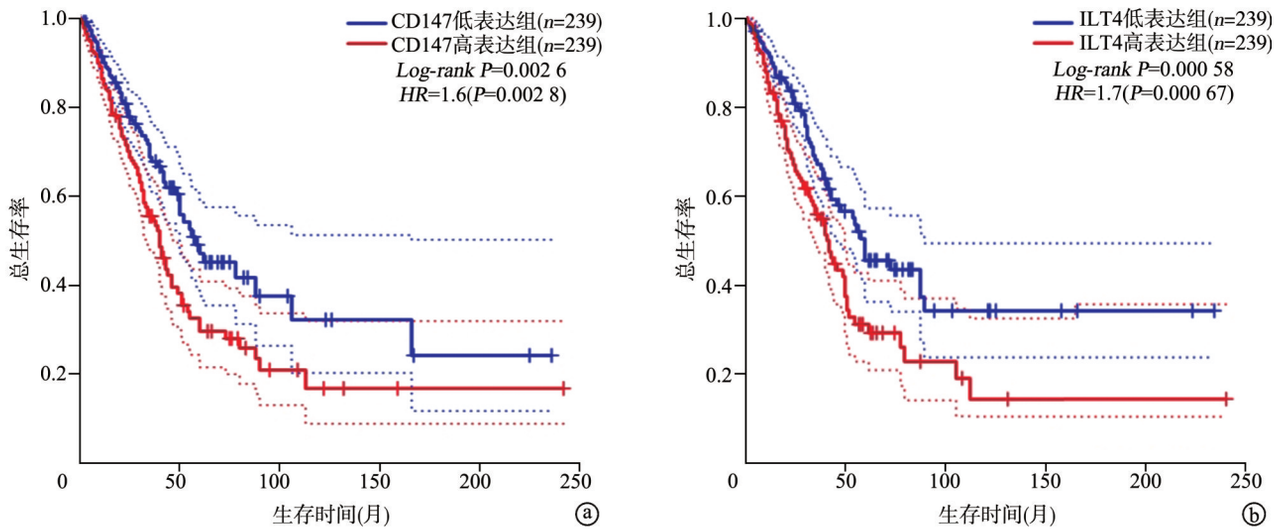
表2 ILT4、CD147蛋白表达与肺腺癌患者临床特征的关系[例(%)]

临床特征		n	ILT4阳性	χ^2	P	CD147阳性	χ^2	P
年龄	<65岁	80	39(48.75)	3.365	0.067	44(55.00)	3.207	0.073
	≥65岁	54	35(64.82)			38(70.37)		
性别	男	79	41(51.89)	0.861	0.354	46(58.23)	0.998	0.318
	女	55	33(60.00)			38(69.09)		
吸烟	是	44	27(61.36)	0.999	0.318	31(70.45)	2.366	0.124
	否	90	47(52.22)			51(56.67)		
肿瘤直径	≥3 cm	81	50(61.73)	3.504	0.061	52(64.20)	0.778	0.378
	<3 cm	53	24(45.28)			30(56.60)		
TNM分期	Ⅰ~Ⅱ期	82	39(47.56)	5.018	0.025	43(52.44)	6.821	0.009
	Ⅲ~Ⅳ期	52	35(67.31)			39(75.00)		
淋巴结转移	是	48	36(75.00)	11.829	0.001	37(77.08)	7.952	0.005
	否	86	38(44.19)			45(52.33)		
分化程度	中高分化	75	37(49.33)	2.390	0.122	40(53.33)	4.432	0.035
	低分化	59	37(62.71)			42(71.19)		

组,进一步分析显示:ILT4和CD147高表达组患者总生存率低于低表达组患者(*Log-rank P*=0.000 58,0.002 6),见图3。

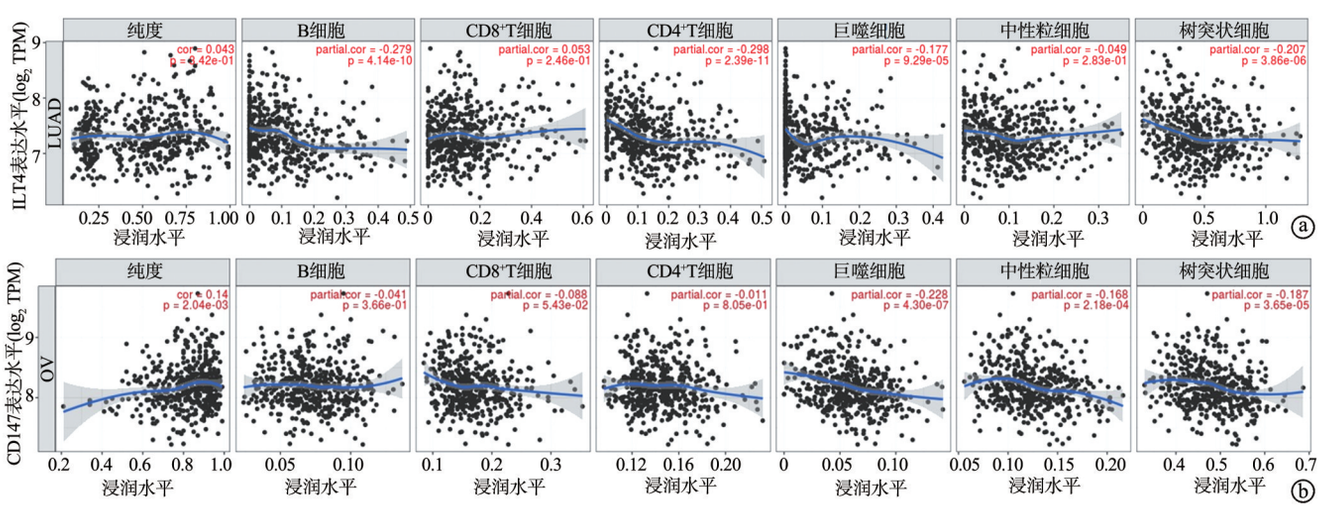
2.4 ILT4、CD147表达与肺腺癌免疫浸润的关系

TIMER数据库分析显示,肺腺癌中ILT4表达与巨噬细胞、中性粒细胞和树突状细胞浸润呈明显负相关(*P*<0.05);CD147表达与B细胞、$CD4^+$T细胞和树突状细胞浸润呈明显负相关(*P*<0.05),见图4。



a:CD147表达对患者总生存率的影响;b:ILT4表达对患者总生存率的影响

图3 GEPIA在线数据库分析CD147、ILT4表达与肺腺癌患者预后的关系



a:ILT4表达与肺腺癌免疫细胞浸润的关系;b:CD147表达与肺腺癌免疫细胞浸润的关系

图4 ILT4、CD147表达与肺腺癌免疫细胞浸润的关系

3 讨论

近年来,以PD-L1/PD-1为靶点的免疫治疗在肿瘤的临床治疗中展现出良好优势,但部分患者仍存在耐药情况,肿瘤细胞免疫逃逸是造成治疗耐药的原因之一[2]。因此,本研究重点探讨了ILT4、CD147在肺腺癌中的表达及其与患者预后和免疫细胞浸润的关系,以期为其临床治疗提供参考。

ILT4是ILT家族膜性抑制性受体之一,参与人类肿瘤的发生发展,可通过靶向PI3K/Akt/mTOR、ERK等信号通路[16-17],调控乳腺癌[5]、结直肠癌[6]、非小细胞肺癌[18-19]等肿瘤的细胞浸润、转移过程。CD147是近年来发现的广谱肿瘤标志物,其作为重要的多功能细胞黏附分子,在恶性肿瘤的发生及免疫应答中发挥重要作用,现已成为肿瘤防治的重要靶点[9]。本研究基于临床组织样本及GEPIA数据库分析证实,ILT4、CD147在肺腺癌等多种肿瘤组织中差异表达,肺腺癌组织中ILT4、CD147蛋白阳性率高于癌旁正常组织,且与

TNM分期、淋巴结转移相关,提示ILT4、CD147参与肺腺癌的浸润、转移过程;GEPIA数据库分析显示,ILT4、CD147高表达的肺腺癌患者总生存率较低,因而预后较差。基于上述研究结果,推测ILT4、CD147可作为评估肺腺癌进展及预后的潜在分子指标。

肿瘤微环境中,免疫细胞浸润对肿瘤的生长、侵袭及转移影响较大,T细胞、B细胞、巨噬细胞、树突状细胞、中性粒细胞等免疫细胞在肿瘤免疫应答中起到重要作用,可调控肿瘤的发生及免疫治疗耐药[20-21]。研究报道,肿瘤相关巨噬细胞中ILT4显著富集,可促使M2表型极化,导致免疫抑制发生;活化的$CD4^+$ T细胞中ILT4作为SEMA4A受体能够驱动Th2分化[22-23]。肿瘤相关巨噬细胞源性ILT4可诱导炎症因子释放,促进Treg活化,调控T细胞浸润介导的肿瘤免疫逃逸,提示ILT4在抑制肿瘤免疫细胞激活及免疫应答中发挥重要作用[24-25]。CD147也被证实参与炎症和免疫失调过程,活化的T细胞表面CD147表达上调,细胞免疫被激活,敲除CD147可促进T细胞活化增殖,被认为是T细胞活化相关抗原[11]。此外,病理状态下,免疫应答等因素刺激可促使CD147表达升高和MMPs活化,造成组织损伤,并诱导炎症和免疫应答发生[26]。本研究基于TIMER数据库分析发现,肺腺癌中ILT4表达与巨噬细胞、中性粒细胞和树突状细胞浸润呈负相关,而CD147表达与B细胞、$CD4^+$T细胞和树突状细胞浸润呈负相关,可能参与调节肺腺癌细胞免疫微环境,并可能通过调节B细胞和T细胞影响肺腺癌的进展。本研究证实了ILT4和CD147在肺腺癌免疫调节及应答中发挥重要作用,为开发新的靶向治疗药物及改进免疫治疗方法提供了新的方向。但由于本研究仅涉及单一数据集,仅观察ILT4和CD147在肺腺癌中的作用,限制了研究群体的多样性;且本研究为回顾性研究,对肿瘤免疫浸润和预后的观察仅基于数据库分析,后续还需设计开展前瞻性研究,对ILT4、CD147与肺腺癌免疫治疗效果的关系进行分析,以充实和佐证本研究结果。

综上所述,肺腺癌组织中ILT4、CD147均高表达,与患者临床病理特征、预后及免疫浸润相关,可能是肺腺癌预后评估的潜在标志物及免疫治疗靶点。

[参考文献]

[1] Raskova Kafkova L, Mierzwicka JM, Chakraborty P, et al. NSCLC: from tumorigenesis, immune checkpoint misuse to current and future targeted therapy[J]. Front Immunol, 2024, 15: 1342086. doi: 10.3389/fimmu.2024.1342086.

[2] 闫兰芳,武 云. 局部晚期非小细胞肺癌治疗现状及展望[J]. 癌症进展, 2021, 19(19): 1957-1960. doi: 10.11877/j.issn.1672-1535.2021.19.19.04.

[3] 林艳清,文瑞婷,杨志刚. ILT4的免疫调节功能及其在肿瘤和免疫性疾病中的作用[J]. 中国免疫学杂志, 2021, 37(15): 1914-1918. doi: 10.3969/j.issn.1000-484X.2021.15.023.

[4] 刘 莹,孙玉萍,高爱琴. 免疫球蛋白样转录子4:癌症免疫治疗新靶点[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2023, 30(20): 1257-1264. doi: 10.16073/j.cnki.cjcpt.2023.20.08.

[5] Zhang H, Gao A, Liu Q, et al. ILT4 reprograms glucose metabolism to promote tumor progression in triple-negative breast cancer[J]. J Cell Sci, 2023, 136(18): jcs260964. doi: 10.1242/jcs.260964.

[6] Yang Z, Gao A, Shi W, et al. ILT4 in colorectal cancer cells induces suppressive T cell contexture and disease progression[J]. Onco Targets Ther, 2021, 14: 4239-4254. doi: 10.2147/OTT.S290348.

[7] Li Q, Li J, Wang S, et al. Overexpressed immunoglobulin-like transcript (ILT) 4 in lung adenocarcinoma is correlated with immunosuppressive T cell subset infiltration and poor patient outcomes[J]. Biomark Res, 2020, 8: 11. doi: 10.1186/s40364-020-00191-7.

[8] 王 赟,胡 雯,刘理礼,等. 外泌体miR-20a-5p调控Sp1/CD147信号通路促进非小细胞肺癌的骨转移[J]. 局解手术学杂志, 2023, 32(9): 753-759. doi: 10.11659/jjssx.10E022142.

[9] Nyalali AMK, Leonard AU, Xu Y, et al. CD147: an integral and potential molecule to abrogate hallmarks of cancer[J]. Front Oncol, 2023, 13: 1238051. doi: 10.3389/fonc.2023.1238051.

[10] Li F, Wang J, Yan YQ, et al. CD147 promotes breast cancer migration and invasion by inducing epithelial-mesenchymal transition via the MAPK/ERK signaling pathway[J]. BMC Cancer, 2023, 23(1): 1214. doi: 10.1186/s12885-023-11724-2.

[11] Kanekura T. CD147/Basigin is involved in the development of malignant tumors and T-cell-mediated immunological disorders via regulation of glycolysis[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(24): 17344. doi: 10.3390/ijms242417344.

[12] Carosella ED, Gregori S, Tronik-Le Roux D. HLA-G/LILRBs: a cancer immunotherapy challenge[J]. Trends Cancer, 2021, 7(5): 389-392. doi: 10.1016/j.trecan.2021.01.004.

[13] Chen QY, Chen YX, Han QY, et al. Prognostic significance of immune checkpoints HLA-G/ILT-2/4 and PD-L1 in colorectal cancer[J]. Front Immunol, 2021, 12: 679090. doi: 10.3389/fimmu.2021.679090.

[14] Tang Z, Li C, Kang B, et al. GEPIA: a web server for cancer and normal gene expression profiling and interactive analyses[J]. Nucleic Acids Res, 2017, 45(W1): W98-W102. doi: 10.1093/nar/gkx247.

[15] Li T, Fu J, Zeng Z, et al. TIMER2.0 for analysis of tumor-infiltrating immune cells[J]. Nucleic Acids Res, 2020, 48(W1): W509-W514. doi: 10.1093/nar/gkaa407.

[16] Zhang Y, Zhao J, Qiu L, et al. Co-expression of ILT4/HLA-G in human non-small cell lung cancer correlates with poor prognosis and ILT4-HLA-G interaction activates ERK signaling[J]. Tumour Biol, 2016, 37(8): 11187-11198. doi: 10.1007/s13277-016-5002-5.