

颅咽管瘤免疫微环境的单细胞转录组学分析及 PE_EGR2 亚群生长信号通路研究

余秋锦^{1*}, 吉翔², 尤君元^{3#}

¹重庆医科大学附属第二医院超声科, 重庆

²重庆医科大学附属第二医院神经外科, 重庆

³重庆医科大学附属第二医院重症医学科, 重庆

收稿日期: 2026年3月3日; 录用日期: 2026年3月26日; 发布日期: 2026年4月3日

摘要

目的: 系统解析成釉细胞型颅咽管瘤(Adamantinomatous Craniopharyngioma, ACP)肿瘤免疫微环境的细胞组成与功能状态, 并重点探讨高干性肿瘤上皮亚群PE_EGR2的生长信号通路通讯网络, 为ACP靶向治疗提供新的理论依据。方法: 整合5个公开数据集共81,050个单细胞转录组数据, 涵盖21例样本。采用Harmony算法进行批次效应校正, 重建UMAP低维嵌入。通过Wilcoxon秩和检验鉴定免疫细胞标志基因, 利用CytoTRACE 2深度学习框架评估肿瘤上皮细胞分化潜能, 并以LIANA rank_aggregate共识方法推断细胞间配体-受体通讯。结果: 共鉴定27种细胞类型, 免疫细胞占44.1%, 肿瘤上皮细胞占37.8%。髓系细胞(以M0样驻留巨噬细胞为主, 占免疫细胞41.4%)构成免疫微环境的核心成分, 呈现显著的M2样免疫抑制极化特征。T细胞亚群中检测到明显的耗竭信号(PDCD1、HAVCR2、TIGIT高表达)。CytoTRACE 2分析显示PE_EGR2亚群具有最高干性潜能(中位评分0.435)。细胞通讯分析识别出172对显著配体-受体互作, 其中33对涉及生长通路, PE_EGR2通过GSTP1/ANXA1 → EGFR轴向其他肿瘤上皮亚群发送强烈的EGF信号, 同时接收来自神经胶质细胞的FGF14 → FGFR2信号。结论: ACP肿瘤微环境呈现高度免疫抑制状态, PE_EGR2亚群兼具高干性和活跃的生长信号发送能力, 是ACP肿瘤维持与扩张的潜在关键驱动亚群, EGFR抑制剂与FGFR抑制剂联合免疫检查点阻断可能是ACP综合治疗的潜在策略。

关键词

颅咽管瘤, 单细胞转录组, 肿瘤免疫微环境, 细胞通讯, EGFR, FGF/FGFR, 干性

*第一作者。

#通讯作者。

Single-Cell Transcriptomic Analysis of the Immune Microenvironment in Adamantinomatous Craniopharyngioma and Growth Signaling Pathways of the PE_EGR2 Subpopulation

Qiujiu Yu^{1*}, Xiang Ji², Junyuan You^{3#}

¹Department of Ultrasound, The Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing

²Department of Neurosurgery, The Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing

³Department of Critical Care Medicine, The Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing

Received: March 3, 2026; accepted: March 26, 2026; published: April 3, 2026

Abstract

Object: To systematically characterize the cellular composition and functional states of the tumor immune microenvironment (TME) in adamantinomatous craniopharyngioma (ACP), with a focus on elucidating the growth signaling communication network of the high-stemness tumor epithelial subpopulation PE_EGR2, thereby providing a theoretical basis for targeted therapy of ACP. **Methods:** Single-cell transcriptomic data from 81,050 cells across 21 samples were integrated from five public datasets. Batch effects were corrected using the Harmony algorithm, followed by UMAP dimensionality reduction. Wilcoxon rank-sum tests were applied to identify immune cell marker genes. The CytoTRACE 2 deep learning framework was used to assess the differentiation potential of tumor epithelial cells, and the LIANA rank_aggregate consensus method was employed to infer ligand-receptor-mediated intercellular communication. **Results:** A total of 27 cell types were identified, with immune cells comprising 44.1% and tumor epithelial cells 37.8% of all cells. Myeloid cells, predominantly M0-like resident macrophages (41.4% of immune cells), constituted the core of the immune microenvironment and exhibited prominent M2-like immunosuppressive polarization. T cell subpopulations displayed marked exhaustion signatures, characterized by high expression of *PDCD1*, *HAVCR2*, and *TIGIT*. CytoTRACE 2 analysis revealed that the PE_EGR2 subpopulation possessed the highest stemness potential (median score 0.435). Cell communication analysis identified 172 significant ligand-receptor interactions, of which 33 involved growth-related pathways. PE_EGR2 transmitted potent EGF signals to other tumor epithelial subpopulations via the *GSTP1/ANXA1* → *EGFR* axis, while receiving *FGF14* → *FGFR2* signals from glial cells. **Conclusion:** The ACP tumor microenvironment is characterized by profound immunosuppression. The PE_EGR2 subpopulation combines high stemness with active growth signal transmission, representing a potential key driver of ACP maintenance and expansion. Combined targeting of *EGFR/FGFR* signaling with immune checkpoint blockade may constitute a promising therapeutic strategy for ACP.

Keywords

Craniopharyngioma, Single-Cell Transcriptomics, Tumor Immune Microenvironment, Cell Communication, *EGFR*, *FGF/FGFR*, Stemness

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

颅咽管瘤(Craniopharyngioma, CP)是起源于 Rathke 囊残余上皮的颅内肿瘤,组织学上分为成釉细胞型(Adamantinomatous Craniopharyngioma, ACP)和鳞状乳头型(Papillary Craniopharyngioma, PCP)两种亚型[1]。ACP 是儿童鞍区最常见的肿瘤,约占所有颅咽管瘤的 90%,其发病机制与 CTNNB1 基因第 3 外显子激活突变导致的 β -catenin 核积聚和 WNT 信号通路异常激活密切相关[2] [3]。尽管 ACP 在组织学上属于良性肿瘤(WHO I 级),但由于其毗邻视交叉、下丘脑及垂体柄等重要结构,手术全切除极为困难,术后复发率高达 25%,患者常遗留严重的内分泌功能障碍、视力损害及认知障碍,严重影响生活质量[4] [5]。目前 ACP 的治疗仍以手术切除联合放疗为主,缺乏有效的靶向药物。

肿瘤微环境(Tumor Microenvironment, TME)在肿瘤的发生、发展及治疗耐药中发挥关键作用。既往研究表明,ACP 肿瘤组织中存在丰富的免疫细胞浸润,包括肿瘤相关巨噬细胞(Tumor-Associated Macrophages, TAMs)、T 细胞及树突状细胞等[6] [7]。免疫组化研究发现,ACP 中 M2 型巨噬细胞高表达与肿瘤早期复发相关,PD-1/PD-L1 通路在 ACP 中存在潜在的治疗靶点[8] [9]。然而,受限于传统批量测序技术的分辨率,ACP 免疫微环境的细胞异质性及各亚群的功能状态尚未得到系统阐明。

单细胞 RNA 测序(single-cell RNA sequencing, scRNA-seq)技术的快速发展为在单细胞分辨率下解析肿瘤微环境提供了前所未有的机遇。近年来,多项研究已将 scRNA-seq 应用于 ACP 的研究,揭示了肿瘤上皮细胞的异质性及部分免疫细胞特征。JIANG 等[10]通过整合 44,038 个单细胞转录组数据,描绘了 ACP 肿瘤微环境的细胞图谱,鉴定了四种主要肿瘤细胞状态。Xu 等[11]通过单核 RNA 测序揭示了 ACP 免疫微环境的高度免疫抑制特征,并发现 TAMs 在角化过程中的关键作用。ZHANG 等[12]利用单细胞与空间转录组学整合分析,揭示了 ACP 肿瘤细胞层级结构及潜在治疗靶点。然而,现有研究在样本量、细胞类型注释深度及细胞间通讯分析方面仍存在局限。

本研究整合了来自 5 个公开数据集的 81,050 个单细胞转录组数据,系统解析了 ACP 肿瘤免疫微环境的细胞组成、功能状态及分化潜能,并重点利用 LIANA 细胞通讯框架探讨了高干性肿瘤上皮亚群 PE_EGR2 的生长信号通路通讯网络,旨在为 ACP 的靶向治疗提供新的理论依据。

2. 材料与方法

2.1. 数据来源与整合

本研究整合了 5 个公开 ACP 单细胞转录组数据集,共包含 21 例样本、81,050 个细胞、36,522 个基因。数据集来源包括:JIANG 等发表于 Science Advances 的 ACP01-03_Jiang 数据集(3 例样本,共 26,573 个细胞)[10];GEO 数据库 GSE215932 数据集(6 例样本,50,982 个细胞)。所有数据集均已完成细胞质量控制(Quality Control, QC)、双细胞去除及细胞类型注释。

2.2. 批次效应校正与降维可视化

为消除不同数据集间的批次效应,采用 Harmony 算法对各样本的主成分分析(Principal Component Analysis, PCA)嵌入进行整合校正,迭代收敛于 5 次。以校正后的 Harmony 嵌入(前 50 个主成分)为基础,采用均匀流形近似与投影(Uniform Manifold Approximation and Projection, UMAP)算法($\text{min_dist} = 0.3$, $\text{spread} = 1.0$)进行二维可视化,构建全局细胞图谱。

2.3. 细胞类型鉴定与标志基因分析

基于原始数据集提供的细胞类型注释,共鉴定 27 种细胞类型。为验证注释准确性并鉴定各免疫亚群的特征基因,采用 Wilcoxon 秩和检验对 12 种免疫细胞亚群进行差异表达分析,筛选标准为调整后 P 值

(p_{adj}) < 0.05 且 \log_2 倍数变化(\log_2FC) > 0.5, 共鉴定 2396 个显著标志基因。多重比较校正采用 Benjamini-Hochberg 方法。同时, 基于文献报道的经典免疫标志基因绘制点图, 验证各亚群的细胞身份。

2.4. 肿瘤上皮细胞分化潜能评估

采用 CytoTRACE 2 深度学习框架评估肿瘤上皮细胞的分化潜能[13][14]。CytoTRACE 2 基于单细胞转录组多样性, 在绝对尺度上预测细胞的发育潜能, 评分范围为 0 (完全分化)至 1 (高度未分化/干性)。本研究对 31,234 个具有 CytoTRACE 2 评分的肿瘤上皮细胞进行分析, 比较 7 种肿瘤上皮亚群的干性差异。

2.5. 细胞间通讯分析

采用 LIANA (LIgand-receptor ANALysis framework)的 rank_aggregate 共识方法推断细胞间配体-受体通讯[15][16]。LIANA 整合了 CellPhoneDB、NATMI、Connectome、CellChat、SingleCellSignalR 及 logFC 等多种方法的结果, 通过聚合排名提高预测可靠性。分析基于共识配体-受体资源库, 设置 100 次置换检验, 以 magnitude_rank < 0.05 且 specificity_rank < 0.05 为显著性阈值。针对 PE_EGR2 亚群, 进一步筛选涉及 EGF/EGFR、FGF/FGFR、WNT、Notch、PDGF、Semaphorin、EphrinR、VEGF 及 CXCL 等生长相关通路的配体-受体对, 共识别 33 对显著生长通路互作。

2.6. 统计学分析

所有分析均在 Python 3.11 环境下完成, 主要使用 scanpy (v1.9)、harmonypy、liana 及 matplotlib/seaborn 等软件包。差异表达分析采用 Wilcoxon 秩和检验, 多重比较校正采用 Benjamini-Hochberg 方法。P < 0.05 为差异具有统计学意义。

3. 结果

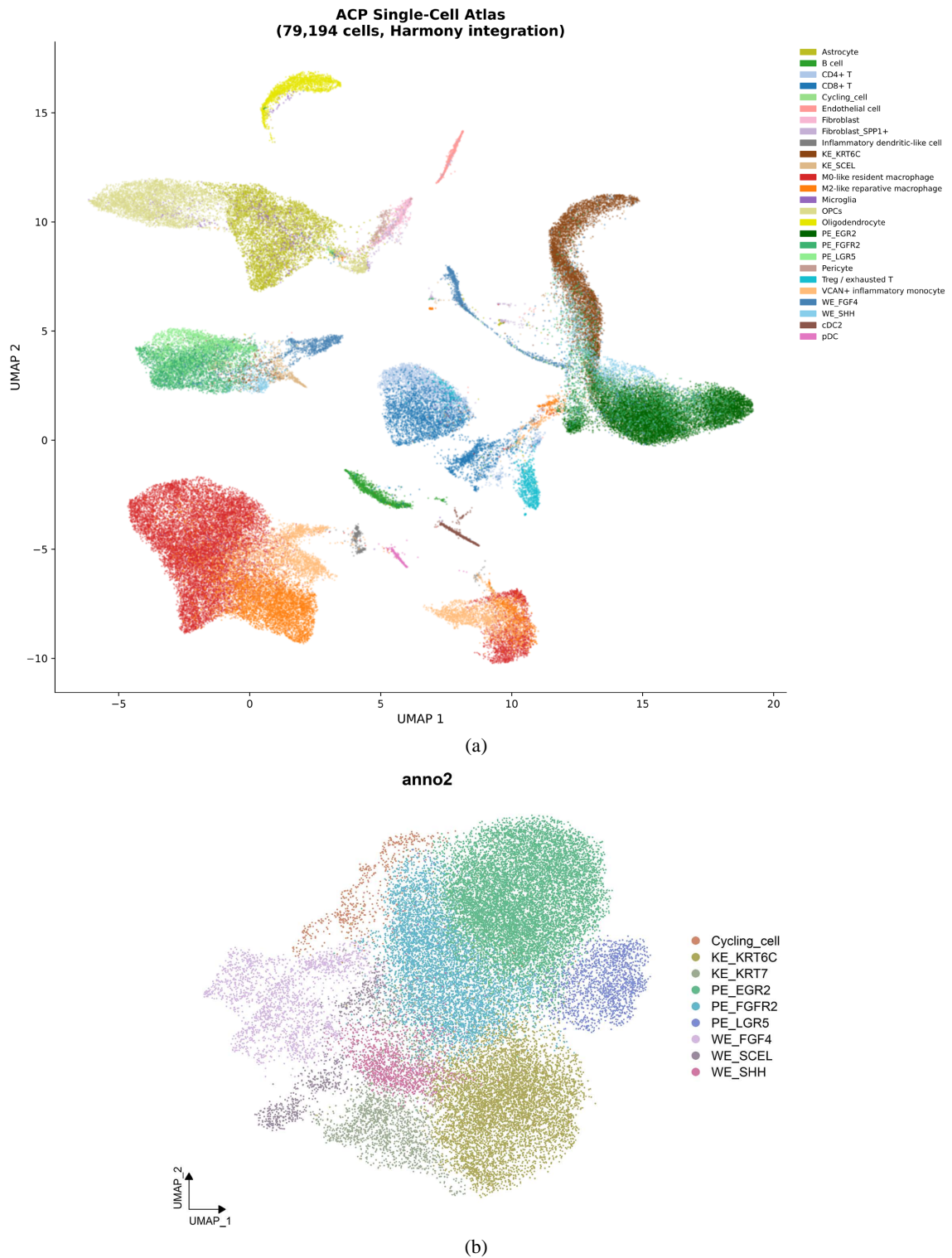
3.1. ACP 单细胞图谱的构建

整合 21 例样本的 81,050 个单细胞转录组数据, 经 Harmony 批次效应校正后, UMAP 可视化呈现出清晰的细胞类型分离(图 1(a))。共鉴定 27 种细胞类型, 涵盖肿瘤上皮细胞、免疫细胞、神经胶质细胞及间质细胞四大类(图 1(b))。

从细胞组成来看, 免疫细胞占比最高(35,729 个, 44.1%), 其次为肿瘤上皮细胞(30,666 个, 37.8%), 神经胶质及间质细胞占 17.4%, 增殖细胞(Cycling_cell)占 0.7% (增殖细胞跨越多种细胞类型, 单独统计)。肿瘤上皮细胞包含 7 种亚群, 其中 PE_EGR2 (10,646 个, 13.1%)和 KE_KRT6C (6611 个, 8.2%)为最主要的肿瘤上皮亚群。神经胶质细胞以星形胶质细胞(Astrocyte, 5948 个, 7.3%)和少突胶质前体细胞(oligodendrocyte precursor cells, OPCs, 4427 个, 5.5%)为主, 反映了 ACP 肿瘤与周围脑组织的密切关联。

3.2. 免疫微环境的细胞组成

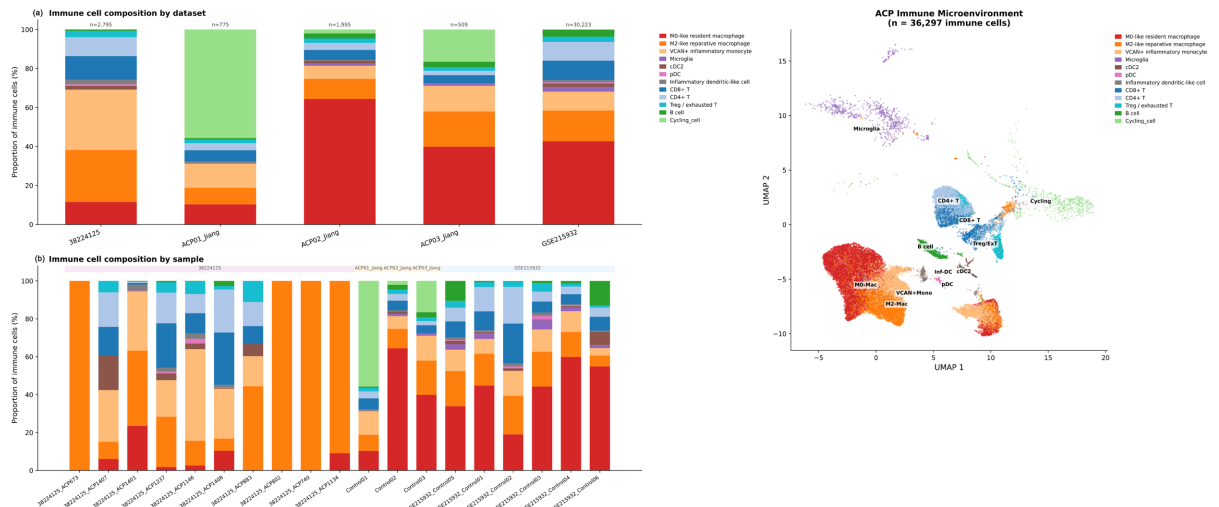
在 35,729 个免疫细胞中, 髓系细胞(包括巨噬细胞、单核细胞及树突状细胞)占绝对主导地位, 共 26,730 个(占免疫细胞 74.8%) (图 2)。其中, M0 样驻留巨噬细胞(M0-like resident macrophage)最为丰富(14,789 个, 占免疫细胞 41.4%), 其次为 M2 样修复性巨噬细胞(M2-like reparative macrophage, 5855 个, 16.4%)和 VCAN+炎性单核细胞(4111 个, 11.5%)。淋巴细胞亚群中, CD8+ T 细胞(3555 个, 9.9%)和 CD4+ T 细胞(3296 个, 9.2%)为主要成分, Treg/耗竭 T 细胞(957 个, 2.7%)和 B 细胞(1191 个, 3.3%)比例较低。树突状细胞亚群包括 cDC2 (619 个, 1.7%)、炎性树突状样细胞(386 个, 1.1%)和浆细胞样树突状细胞(plasmacytoid Dendritic Cells, pDC, 221 个, 0.6%)。不同数据集间免疫细胞组成存在一定差异, 但 M0 样驻留巨噬细胞在所有样本中均占主导地位, 提示其在 ACP 免疫微环境中的核心地位具有普遍性。



UMAP 图展示了 27 种细胞类型的分布情况，其中不同的颜色代表不同的细胞类群，包括肿瘤上皮细胞(PE/KE/WE 亚群)、免疫细胞(巨噬细胞、T 细胞、B 细胞等)、胶质细胞(星形胶质细胞、少突胶质细胞等)以及基质细胞(成纤维细胞、周细胞等)。

Figure 1. Single-cell transcriptomic atlas of ACP

图 1. ACP 单细胞转录组图谱

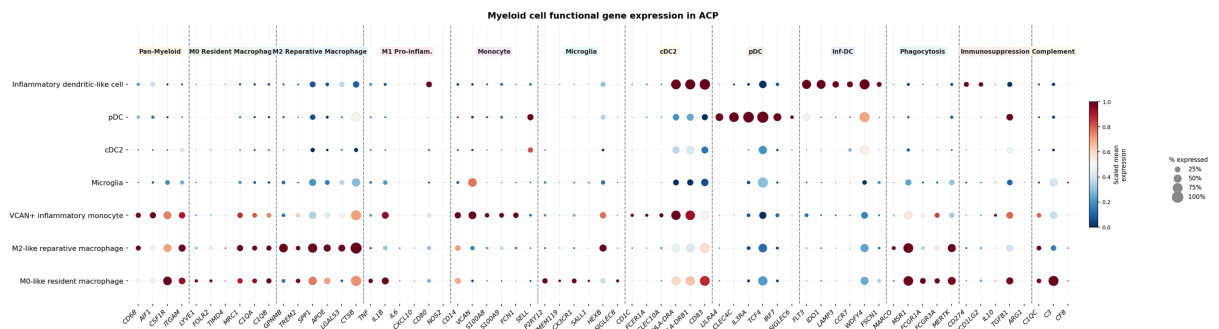


(a): 柱状图展示了各免疫细胞亚群的细胞计数及比例，其中髓系细胞(巨噬细胞、单核细胞、树突状细胞)占总免疫细胞的 74.8%；(b): UMAP 图展示了免疫细胞亚群的分布情况，其中不同颜色代表不同的免疫细胞类型。

Figure 2. Cellular composition of the ACP immune microenvironment
图 2. ACP 免疫微环境细胞组成

3.3. 髓系细胞的功能状态

对 26,730 个髓系细胞进行专项分析(图 3)。基于经典极化标志基因的点图分析显示(图 3): M0 样驻留巨噬细胞高表达组织驻留标志基因 *LYVE1*、*FOLR2* 和 *TIMD4*，提示其具有组织驻留巨噬细胞的特征，可能来源于脑内小胶质细胞或早期定植的组织巨噬细胞。M2 样修复性巨噬细胞高表达 *GPNMB*、*TREM2*、*CD163* 和 *MRC1* 等 M2 极化标志基因，同时低表达 M1 标志基因 *CD86* 和 *HLA-DR*，提示其具有强烈的免疫抑制和抗肿瘤功能。VCAM+ 炎性单核细胞高表达 *VCAN*、*S100A8*、*S100A9* 和 *NAMPT*，具有典型的炎性单核细胞特征，可能通过分泌促炎因子参与 ACP 的炎症反应。树突状细胞亚群中，cDC2 高表达 *BANK1* 和 *RALGPS2*，炎性树突状样细胞高表达 *FLT3*、*WDFY4* 和 *IDO1*，pDC 高表达 *TCF4*、*BCL11A* 和 *IL3RA*，各亚群均具有明确的分子特征。值得注意的是，炎性树突状样细胞高表达 *IDO1* (吡啶胺 2,3-双加氧酶 1)，提示其可能通过色氨酸代谢途径参与免疫抑制。总体而言，ACP 髓系细胞呈现以 M2 样免疫抑制极化为主的功能状态。

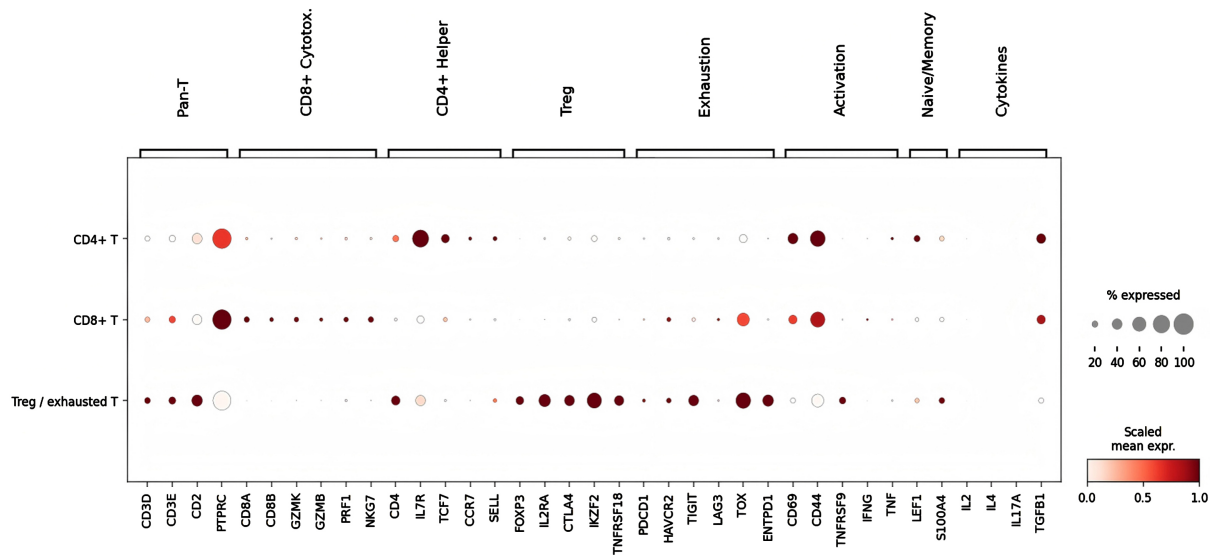


点图展示了 M1/M2 极化标志基因在各髓系细胞亚群中的表达情况，其中点的大小代表表达该基因的细胞比例，颜色的深浅指示平均表达水平。

Figure 3. Functional characterization of myeloid cells in ACP
图 3. ACP 髓系细胞功能状态分析

3.4. T 细胞亚群的功能状态

对 7808 个 T/NK 细胞进行专项分析(图 4)。功能状态点图显示(图 4)：CD8+ T 细胞高表达细胞毒性标志基因 *GZMB*、*PRF1* 和 *IFNG*，同时共表达耗竭标志基因 *PDCD1* (PD-1)、*HAVCR2* (TIM-3)和 *TIGIT*，提示 CD8+ T 细胞处于功能耗竭状态。CD4+ T 细胞高表达 *IL7R*、*SKAP1* 和 *BCL11B*，具有辅助性 T 细胞特征。Treg/耗竭 T 细胞高表达 *FOXP3*、*CTLA4* 和 *IL2RA*，为典型的调节性 T 细胞标志，其存在进一步支持 ACP 免疫微环境的免疫抑制特征。巨噬细胞与 T 细胞之间的相互作用可能是维持 ACP 免疫抑制状态的重要机制，M2 样巨噬细胞通过分泌 IL-10、TGF- β 等抑制性细胞因子，可能抑制 CD8+ T 细胞的效应功能，形成免疫抑制的正反馈回路。



点图展示了功能性标志基因在各 T 细胞亚群中的表达情况，包括细胞毒性基因(*GZMB*、*PRF1*)、耗竭标志物(*PDCD1*、*HAVCR2*、*TIGIT*)以及调节性 T 细胞标志物(*FOXP3*、*CTLA4*)。

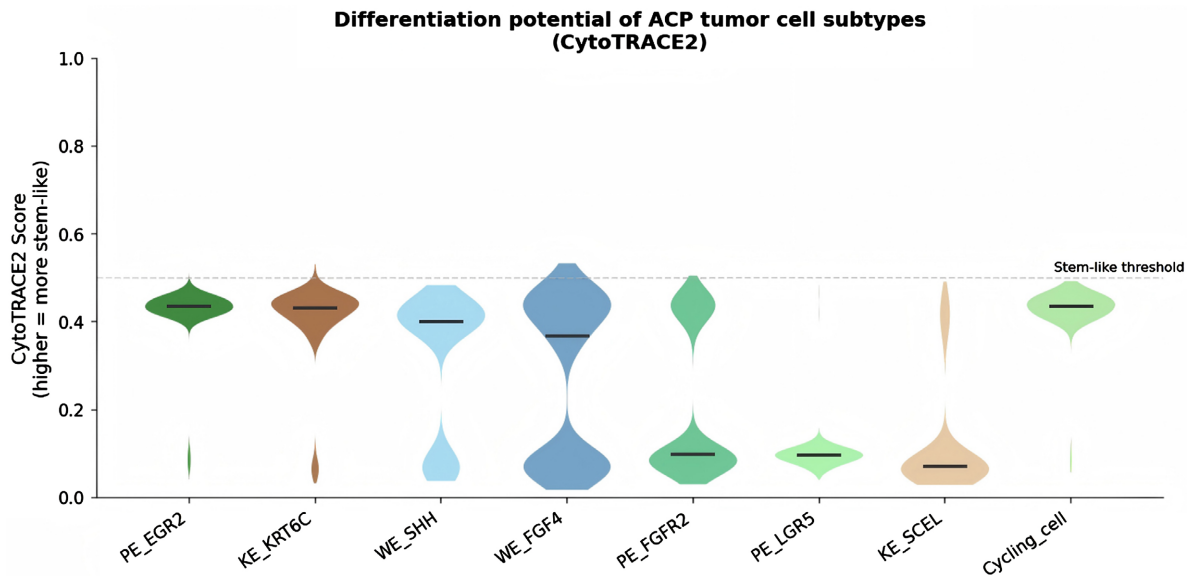
Figure 4. Functional characterization of T cell subpopulations in ACP
图 4. ACP T 细胞亚群功能状态分析

3.5. 肿瘤上皮细胞的分化潜能

采用 CytoTRACE 2 对 29,378 个具有评分的肿瘤上皮细胞进行分化潜能分析(图 5)。结果显示，不同肿瘤上皮亚群的干性评分存在显著差异：*PE_EGR2* 亚群具有最高的干性潜能(中位 CytoTRACE 2 评分 0.435)，其次为 *KE_KRT6C* (0.432)、*WE_SHH* (0.401)和 *WE_FGF4* (0.368)。相比之下，*PE_FGFR2* (0.099)、*PE_LGR5* (0.096)和 *KE_SCEL* (0.070)的干性评分显著偏低，提示这些亚群处于相对分化状态。从分化潜能类别分布来看，*PE_EGR2* 和 *KE_KRT6C* 亚群中“多能性(multipotent)”和“寡能性(oligopotent)”细胞比例最高，而 *PE_LGR5* 和 *KE_SCEL* 亚群中“单能性(unipotent)”细胞占主导。这一结果提示，*PE_EGR2* 可能代表 ACP 肿瘤上皮细胞层级中相对原始的干细胞样亚群，在肿瘤维持和复发中可能发挥重要作用。

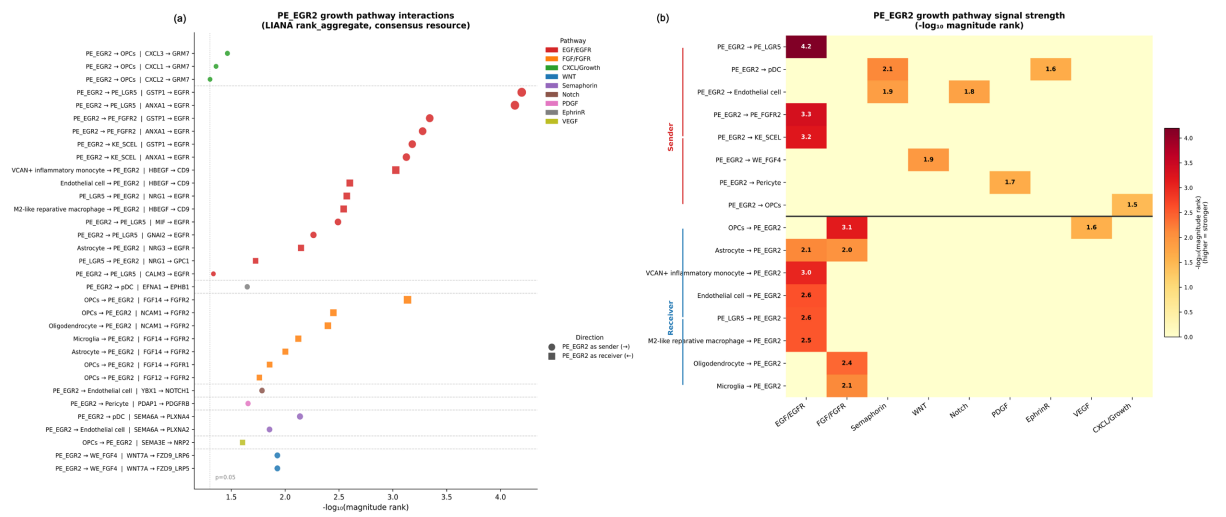
3.6. PE_EGR2 亚群的生长通路细胞通讯

基于 LIANA rank_aggregate 共识分析，在全数据集 202,807 对配体 - 受体互作中，筛选出 172 对显著的 *PE_EGR2* 相关互作(magnitude_rank < 0.05 且 specificity_rank < 0.05)，其中 33 对涉及生长相关通路(图 6(a)和图 6(b))。



小提琴图展示了 CytoTRACE 2 评分在七个肿瘤上皮细胞亚群中的分布情况，其中 PE_EGR2 亚群的中位评分最高(0.435)，而 KE_SCEL 亚群最低(0.070)。

Figure 5. CytoTRACE 2 stemness assessment of ACP tumor epithelial cells
图 5. ACP 肿瘤上皮细胞 CytoTRACE 2 干性评估



(a): 气泡图展示了涉及 PE_EGR2 的 33 对显著的生长通路配体 - 受体相互作用，其中 x 轴代表配体 - 受体对，y 轴代表细胞类型对（发送细胞 → 接收细胞），气泡大小指示 magnitude_rank 值(值越小越显著)，颜色代表通路类型 (EGF/EGFR、FGF/FGFR、WNT、Notch 等)；(b): 和弦图展示了 PE_EGR2 与其他细胞类型之间的生长信号通讯强度，其中箭头方向指示信号传递方向，线条粗细代表相互作用强度。

Figure 6. Growth pathway cell communication network of the PE_EGR2 subpopulation
图 6. PE_EGR2 亚群生长通路细胞通讯网络

EGF/EGFR 通路(15 对)是 PE_EGR2 最主要的生长信号通路。PE_EGR2 作为信号发送者，通过 $GSTP1 \rightarrow EGFR$ ($magnitude_rank = 6.3 \times 10^{-5}$)和 $ANXA1 \rightarrow EGFR$ (7.2×10^{-5})向 PE_LGR5 发送最强烈的 EGF 信号，同时向 PE_FGFR2 和 KE_SCEL 发送类似信号。作为信号接收者，PE_EGR2 接收来自 VCAN 阳性单核细胞($HBEGF \rightarrow CD9$, $magnitude_rank = 9.4 \times 10^{-4}$)、内皮细胞($HBEGF \rightarrow CD9$)、PE_LGR5 ($NRG1 \rightarrow EGFR$)和 M2 样巨噬细胞($HBEGF \rightarrow CD9$)的 EGF 信号。

FGF/FGFR 通路(7 对)中, PE_EGR2 主要作为 FGF 信号的接收者。OPCs 通过 FGF14 → FGFR2 (magnitude_rank = 7.3×10^{-4})和 NCAM1 → FGFR2 向 PE_EGR2 传递最强的 FGF 信号, 星形胶质细胞(FGF14 → FGFR2)、少突胶质细胞(NCAM1 → FGFR2)和小胶质细胞(FGF14 → FGFR2)也参与其中, 提示神经胶质细胞通过 FGF 信号轴对 PE_EGR2 的干性维持具有重要调控作用。

此外, PE_EGR2 还通过 WNT7A → FZD9_LRP6/LRP5 向 WE_FGF4 亚群发送 WNT 信号(2 对), 通过 YBX1 → NOTCH1 向内皮细胞发送 Notch 信号(1 对), 通过 SEMA6A → PLXNA4/PLXNA2 向 pDC 和内皮细胞发送 Semaphorin 信号(2 对), 以及通过 PDAP1 → PDGFRB 向周细胞发送 PDGF 信号(1 对)。

4. 讨论

4.1. ACP 免疫微环境的高度免疫抑制特征

本研究通过整合迄今最大规模的 ACP 单细胞转录组数据(81,050 个细胞), 系统描绘了 ACP 肿瘤免疫微环境的细胞图谱。免疫细胞占总细胞数的 44.1%, 提示 ACP 具有丰富的免疫细胞浸润, 与既往研究一致[6] [11]。

髓系细胞, 尤其是 M0 样驻留巨噬细胞(占免疫细胞 41.4%)和 M2 样修复性巨噬细胞(16.4%), 构成 ACP 免疫微环境的主体。M2 样巨噬细胞高表达 GPNMB、TREM2 和 CD163, 具有典型的免疫抑制和促肿瘤功能。这与 XU 等[11]报道的 ACP 中 TAMs 主导免疫抑制微环境的结论相吻合。TAMs 通过分泌 IL-10、TGF- β 等抑制性细胞因子, 以及表达 PD-L1 等免疫检查点分子, 抑制效应 T 细胞功能, 形成有利于肿瘤生长的免疫抑制环境[17] [18]。

CD8+ T 细胞的耗竭状态(PDCD1、HAVCR2、TIGIT 共表达)进一步支持 ACP 免疫微环境的免疫抑制特征。COY 等[9]通过多重免疫荧光技术证实 ACP 中存在 PD-1/PD-L1 通路激活, 提示免疫检查点抑制剂可能是 ACP 潜在的治疗策略。Treg 细胞(FOXP3+)的存在则可能通过直接抑制效应 T 细胞和 NK 细胞功能, 进一步加剧免疫抑制状态。值得注意的是, 炎性树突状样细胞高表达 IDO1, 提示色氨酸代谢途径可能参与 ACP 的免疫逃逸机制。IDO1 通过将色氨酸代谢为犬尿氨酸, 抑制 T 细胞增殖并促进 Treg 分化, 是肿瘤免疫逃逸的重要机制之一。除上述已知免疫抑制通路外, 本研究数据还提示 ACP 可能存在多种其他免疫逃逸机制, 值得深入探讨。其一, 抗原提呈缺陷方面: M2 样巨噬细胞低表达 HLA-DR (MHC II 类分子), 提示 ACP 肿瘤微环境中抗原提呈功能可能受损。肿瘤细胞通过下调 MHC I 类分子表达逃避 CD8+ T 细胞识别是多种肿瘤的共同免疫逃逸策略[19] [20], 未来研究应系统评估 ACP 肿瘤上皮细胞的 MHC I/II 类分子表达状态及抗原加工提呈机制(Antigen Processing and presentation Machinery, APM)的完整性[21]。其二, 代谢重编程方面: 肿瘤细胞的有氧糖酵解(Warburg 效应)可导致肿瘤微环境中葡萄糖耗竭和乳酸积累, 直接抑制 T 细胞和 NK 细胞的效应功能[22]。IDO1 介导的色氨酸耗竭与犬尿氨酸积累不仅抑制 T 细胞增殖, 还可通过激活芳香烃受体(Aryl hydrocarbon Receptor, AhR)促进 Treg 分化, 形成代谢 - 免疫抑制的恶性循环[23] [24]。此外, 谷氨酰胺代谢重编程也可能通过竞争性剥夺免疫细胞的营养底物, 进一步削弱抗肿瘤免疫应答[25]。其三, 免疫细胞功能重塑方面: M2 样巨噬细胞高表达 TREM2, TREM2+ 肿瘤相关巨噬细胞已被证实能够通过多种机制抑制 T 细胞浸润和功能, 是多种肿瘤免疫逃逸的关键介质[17] [18]。上述多层次免疫逃逸机制的协同作用, 可能共同构成 ACP 高度免疫抑制微环境的分子基础, 也提示单一免疫检查点阻断策略可能不足以有效激活抗肿瘤免疫, 需要针对多个免疫逃逸节点的联合治疗策略。

4.2. PE_EGR2 亚群的干性特征及其临床意义

CytoTRACE 2 分析揭示 PE_EGR2 亚群具有最高的干性潜能(中位评分 0.435), 提示其可能代表 ACP

肿瘤上皮细胞层级中的干细胞样亚群。CytoTRACE 2 是一种基于深度学习的单细胞发育潜能预测框架,已在多种肿瘤类型中被验证能够准确识别肿瘤干细胞亚群[13] [14]。

ACP 的发生被认为遵循“旁分泌致瘤”模型:携带 CTNNB1 突变的垂体干细胞发生衰老,通过分泌衰老相关分泌表型(Senescence-Associated Secretory Phenotype, SASP)因子诱导周围正常细胞形成肿瘤[12] [26]。PE_EGR2 亚群高表达 EGR2 (早期生长反应因子 2, early growth response 2), 该转录因子属于锌指蛋白家族,通过识别并结合靶基因启动子区的 GC 富集序列(GC-box)调控下游基因转录,在细胞命运决定、增殖与干性维持中发挥多层次调控作用[27]。在干性维持机制方面, EGR2 可直接激活 SOX2、OCT4 等多能性核心转录因子的表达,并与 WNT/ β -catenin 信号通路形成正反馈调控环路,从而维持肿瘤干细胞的自我更新能力[28]。在结肠癌干细胞中, EGR2 被证实通过调控神经发育基因表达网络促进肿瘤干细胞的维持与肿瘤神经发生[29]。在 Ewing 肉瘤中, EGR2 作为 EWSR1-FLI1 融合蛋白的直接靶基因,通过上调甲羟戊酸(mevalonate)通路关键酶的转录,促进肿瘤细胞增殖与存活[30]。在神经干细胞中, EGR2 与 SOX2 协同调控 Fos 介导的基因调控网络,维持干细胞的长期自我更新[28]。值得注意的是, EGR2 的下游靶点还包括 CCND1 (细胞周期蛋白 D1)、MYC 及多种细胞外基质重塑基因,提示其可能通过促进细胞周期进展和基质重塑共同维持 PE_EGR2 亚群的干性特征[27]。此外, EGR2 在 ACP 特有的 CTNNB1 突变背景下,可能与异常激活的 WNT/ β -catenin 信号通路产生协同效应,进一步强化肿瘤干细胞的自我更新能力,这一潜在机制值得在未来研究中通过 ChIP-seq 和功能实验加以验证。ZHANG 等[12]通过单细胞和空间转录组学分析发现, ACP 中存在明确的肿瘤细胞层级结构,高干性亚群可能是肿瘤复发的细胞来源。本研究的 CytoTRACE 2 结果与这一模型相吻合,提示 PE_EGR2 可能是 ACP 肿瘤干细胞的重要候选亚群,靶向 EGR2 及其下游调控网络可能为 ACP 的治疗提供新策略。

4.3. PE_EGR2 的 EGF/EGFR 旁分泌信号轴

细胞通讯分析揭示, PE_EGR2 通过 GSTP1/ANXA1 \rightarrow EGFR 轴向其他肿瘤上皮亚群(PE_LGR5、PE_FGFR2、KE_SCEL)发送强烈的 EGF 信号,提示 PE_EGR2 可能是 ACP 肿瘤微环境中的 EGF 信号枢纽。

EGFR 是上皮细胞增殖、存活和干性维持的关键受体酪氨酸激酶,在多种肿瘤类型中, EGFR 信号通路被证实能够维持肿瘤干细胞的自我更新能力[31] [32]。GSTP1 (谷胱甘肽 S-转移酶 π 1)可通过非经典途径激活 EGFR 下游的 PI3K/AKT 和 RAS/ERK 信号通路,促进细胞增殖和存活。ANXA1 (膜联蛋白 A1)同样被报道能够激活 EGFR 信号,参与肿瘤细胞的旁分泌调控。值得关注的是, PE_EGR2 同时接收来自 VCAN+炎性单核细胞和 M2 样巨噬细胞的 HBEGF \rightarrow CD9 信号。HBEGF (肝素结合 EGF 样生长因子)是 EGFR 的高亲和力配体,免疫细胞来源的 HBEGF 可能通过旁分泌方式促进 PE_EGR2 的增殖和干性维持[33]。这一发现提示, ACP 中免疫细胞不仅参与免疫调控,还可能通过分泌生长因子直接促进肿瘤细胞的生长,形成免疫-肿瘤互促的恶性循环。

4.4. 神经胶质细胞 - 肿瘤 FGF 信号轴

本研究发现, OPCs、星形胶质细胞、少突胶质细胞和小胶质细胞均通过 FGF14 \rightarrow FGFR2 轴向 PE_EGR2 传递 FGF 信号,揭示了 ACP 肿瘤与周围脑组织之间的神经-肿瘤互作机制。FGF/FGFR 信号通路在脑肿瘤的发生发展中具有重要作用, FGF14 虽属非分泌型 FGF,主要在神经系统中表达,但已有研究报道其可通过非经典途径与 FGFR1/2 相互作用激活下游信号通路[34] [35]。在胶质母细胞瘤中, FGF2-FGFR1 信号通路被证实能够维持肿瘤干细胞的自我更新能力。ACP 毗邻下丘脑和脑组织,周围神经胶质细胞丰富,本研究发现的神经胶质细胞 \rightarrow PE_EGR2 FGF 信号轴提示,脑组织微环境可能通过 FGF 旁分泌信号为 PE_EGR2 提供干性维持的外部支持,这可能是 ACP 难以根治的重要原因之一。

FGFR2 在 ACP 中的高表达已有报道, 且 PE_FGFR2 亚群以 FGFR2 高表达为特征。本研究发现 PE_EGR2 同样高表达 FGFR2, 并接收来自多种神经胶质细胞的 FGF 信号, 提示 FGFR2 可能是 ACP 的重要治疗靶点。FGFR 抑制剂(如 erdafitinib、pemigatinib)已在多种 FGFR 异常激活的肿瘤中显示出临床疗效, 值得在 ACP 中进一步探索[36] [37]。

4.5. 研究局限性与展望

本研究存在以下局限性: 第一, 数据来源于公开数据集, 缺乏完整的临床信息(如手术方式、复发情况、随访数据), 无法进行预后相关分析; 第二, 细胞通讯分析基于转录组数据推断, 需要功能实验(如共培养、条件培养基实验)进一步验证关键配体-受体互作的生物学意义; 第三, CytoTRACE 2 评分仅覆盖肿瘤上皮细胞, 免疫细胞的干性状态未能评估; 第四, 本研究缺乏空间转录组数据, 无法直接验证细胞间通讯的空间位置关系。

5. 结论

综上所述, 本研究通过整合 81,050 个 ACP 单细胞转录组数据, 系统解析了 ACP 肿瘤免疫微环境的细胞组成与功能状态, 并重点揭示了高干性肿瘤上皮亚群 PE_EGR2 的生长信号通路通讯网络。ACP 肿瘤免疫微环境以 M2 样免疫抑制性髓系细胞为主导, CD8+ T 细胞呈现明显的功能耗竭状态, 整体呈高度免疫抑制特征; PE_EGR2 亚群具有最高的干性潜能, 可能代表 ACP 肿瘤干细胞样亚群; PE_EGR2 通过 GSTP1/ANXA1 → EGFR 旁分泌轴向其他肿瘤上皮亚群传递强烈的 EGF 增殖信号, 同时接收来自神经胶质细胞的 FGF14 → FGFR2 信号, 形成“神经胶质-肿瘤干细胞” FGF 信号轴; 炎性单核细胞和 M2 样巨噬细胞通过 HBEGF → CD9 信号促进 PE_EGR2 的生长, 揭示了免疫细胞直接促进肿瘤干细胞增殖的新机制。上述发现为 ACP 的靶向治疗提供了新的候选靶点, EGFR 抑制剂和 FGFR 抑制剂联合免疫检查点阻断可能是 ACP 综合治疗的潜在策略, 值得在未来的临床前和临床研究中进一步探索。

参考文献

- [1] Gonzalez-Meljem, J.M., Cao, L., Apps, J.R. and Martinez-Barbera, J.P. (2025) Decoding Craniopharyngioma: From Mechanisms to Therapy. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, **39**, Article ID: 102051. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2025.102051>
- [2] Apps, J.R., Carreno, G., Gonzalez-Meljem, J.M., Haston, S., Guiho, R., Cooper, J.E., et al. (2018) Tumour Compartment Transcriptomics Demonstrates the Activation of Inflammatory and Odontogenic Programmes in Human Adamantinomatous Craniopharyngioma and Identifies the MAPK/ERK Pathway as a Novel Therapeutic Target. *Acta Neuropathologica*, **135**, 757-777. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-1830-2>
- [3] An, W., Li, S., An, Y. and Lin, Z. (2025) Molecular Subtypes of Adamantinomatous Craniopharyngiomas. *Neuro-Oncology*, **27**, 1180-1192. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noaf030>
- [4] Pires de Oliveira Neto, C., Nascimento, G.C., Damiane, S.d.S.P. and Faria, M.d.S. (2025) Recent Advances in Craniopharyngioma Pathophysiology and Emerging Therapeutic Approaches. *Frontiers in Endocrinology*, **16**, Article ID: 1562942. <https://doi.org/10.3389/fendo.2025.1562942>
- [5] Apps, J.R., Gonzalez-Meljem, J.M., Guiho, R., Pickles, J.C., Prince, E., Schwalbe, E., et al. (2024) Recurrent Adamantinomatous Craniopharyngiomas Show MAPK Pathway Activation, Clonal Evolution and Rare Tp53-Loss-Mediated Malignant Progression. *Acta Neuropathologica Communications*, **12**, Article No. 127. <https://doi.org/10.1186/s40478-024-01838-4>
- [6] Lin, D., Wang, Y., Zhou, Z., et al. (2019) Immune Microenvironment of Primary and Recurrent Craniopharyngiomas: A Study of the Differences and Clinical Significance. *World Neurosurgery*, **126**, e1056-e1063.
- [7] Gao, Q., Luo, J., Pan, J., Zhang, L., Song, D., Zhang, M., et al. (2022) Integrative Analyses Identify Hif-1 α as a Potential Protective Role with Immune Cell Infiltration in Adamantinomatous Craniopharyngioma. *Frontiers in Immunology*, **13**, Article ID: 949509. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.949509>
- [8] Xu, C., Wu, J., Ye, J., Si, Y., Zhang, J., Wu, B., et al. (2024) Multiomics Integration-Based Immunological

- Characterizations of Adamantinomatous Craniopharyngioma in Relation to Keratinization. *Cell Death & Disease*, **15**, Article No. 439. <https://doi.org/10.1038/s41419-024-06840-1>
- [9] Coy, S., Rashid, R., Lin, J., Du, Z., Donson, A.M., Hankinson, T.C., *et al.* (2018) Multiplexed Immunofluorescence Reveals Potential PD-1/PD-L1 Pathway Vulnerabilities in Craniopharyngioma. *Neuro-Oncology*, **20**, 1101-1112. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noy035>
- [10] Jiang, Y., Yang, J., Liang, R., Zan, X., Fan, R., Shan, B., *et al.* (2023) Single-Cell RNA Sequencing Highlights Intratumor Heterogeneity and Intercellular Network Featured in Adamantinomatous Craniopharyngioma. *Science Advances*, **9**, eadc8933. <https://doi.org/10.1126/sciadv.adc8933>
- [11] Matsuda, T., Kono, T., Taki, Y., Sakuma, I., Fujimoto, M., Hashimoto, N., *et al.* (2024) Deciphering Craniopharyngioma Subtypes: Single-Cell Analysis of Tumor Microenvironment and Immune Networks. *iScience*, **27**, Article ID: 111068. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.111068>
- [12] Zhang, B., Zhang, J., Li, Z., Sheng, H., Li, H., Lu, Y., *et al.* (2025) Interrogation of the Cellular Hierarchies Reveals Neoplastic Evolution and Therapeutic Vulnerability in Craniopharyngioma. *Neuro-Oncology*, **28**, 191-205. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noaf249>
- [13] Kang, M., Gulati, G.S., Brown, E.L., Qi, Z., Avagyan, S., Armenteros, J.J.A., *et al.* (2025) Improved Reconstruction of Single-Cell Developmental Potential with Cytotrace 2. *Nature Methods*, **22**, 2258-2263. <https://doi.org/10.1038/s41592-025-02857-2>
- [14] Gulati, G.S., Sikandar, S.S., Wesche, D.J., Manjunath, A., Bharadwaj, A., Berger, M.J., *et al.* (2020) Single-Cell Transcriptional Diversity Is a Hallmark of Developmental Potential. *Science*, **367**, 405-411. <https://doi.org/10.1126/science.aax0249>
- [15] Dimitrov, D., Türei, D., Garrido-Rodriguez, M., Burmedi, P.L., Nagai, J.S., Boys, C., *et al.* (2022) Comparison of Methods and Resources for Cell-Cell Communication Inference from Single-Cell RNA-Seq Data. *Nature Communications*, **13**, Article No. 3224. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-30755-0>
- [16] Dimitrov, D., Schäfer, P.S.L., Farr, E., Rodriguez-Mier, P., Lobentanzer, S., Badia-i-Mompel, P., *et al.* (2024) LIANA+ Provides an All-in-One Framework for Cell-Cell Communication Inference. *Nature Cell Biology*, **26**, 1613-1622. <https://doi.org/10.1038/s41556-024-01469-w>
- [17] Ji, S., Shi, Y. and Yin, B. (2024) Macrophage Barrier in the Tumor Microenvironment and Potential Clinical Applications. *Cell Communication and Signaling*, **22**, Article No. 74. <https://doi.org/10.1186/s12964-023-01424-6>
- [18] Toledo, B., Zhu Chen, L., Paniagua-Sancho, M., Marchal, J.A., Perán, M. and Giovannetti, E. (2024) Deciphering the Performance of Macrophages in Tumour Microenvironment: A Call for Precision Immunotherapy. *Journal of Hematology & Oncology*, **17**, Article No. 44. <https://doi.org/10.1186/s13045-024-01559-0>
- [19] Jhunjhunwala, S., Hammer, C. and Delamarre, L. (2021) Antigen Presentation in Cancer: Insights into Tumour Immunogenicity and Immune Evasion. *Nature Reviews Cancer*, **21**, 298-312. <https://doi.org/10.1038/s41568-021-00339-z>
- [20] Dhatchinamoorthy, K., Colbert, J.D. and Rock, K.L. (2021) Cancer Immune Evasion through Loss of MHC Class I Antigen Presentation. *Frontiers in Immunology*, **12**, Article ID: 636568. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.636568>
- [21] Balasubramanian, A., John, T. and Asselin-Labat, M. (2022) Regulation of the Antigen Presentation Machinery in Cancer and Its Implication for Immune Surveillance. *Biochemical Society Transactions*, **50**, 825-837. <https://doi.org/10.1042/bst20210961>
- [22] Zhang, H., Li, S., Wang, D., Liu, S., Xiao, T., Gu, W., *et al.* (2024) Metabolic Reprogramming and Immune Evasion: The Interplay in the Tumor Microenvironment. *Biomarker Research*, **12**, Article No. 96. <https://doi.org/10.1186/s40364-024-00646-1>
- [23] Tufail, M., Jiang, C. and Li, N. (2025) Immune Evasion in Cancer: Mechanisms and Cutting-Edge Therapeutic Approaches. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, **10**, Article No. 227. <https://doi.org/10.1038/s41392-025-02280-1>
- [24] Wang, R., Zhuang, J., Zhang, Q., Wu, W., Yu, X., Zhang, H., *et al.* (2025) Decoding the Metabolic Dialogue in the Tumor Microenvironment: From Immune Suppression to Precision Cancer Therapies. *Experimental Hematology & Oncology*, **14**, Article No. 99. <https://doi.org/10.1186/s40164-025-00689-6>
- [25] Ma, G., Zhang, Z., Li, P., Zhang, Z., Zeng, M., Liang, Z., *et al.* (2022) Reprogramming of Glutamine Metabolism and Its Impact on Immune Response in the Tumor Microenvironment. *Cell Communication and Signaling*, **20**, Article No. 114. <https://doi.org/10.1186/s12964-022-00909-0>
- [26] Prince, E.W., Apps, J.R., Jeang, J., Chee, K., Medlin, S., Jackson, E.M., *et al.* (2024) Unraveling the Complexity of the Senescence-Associated Secretory Phenotype in Adamantinomatous Craniopharyngioma Using Multimodal Machine Learning Analysis. *Neuro-Oncology*, **26**, 1109-1123. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noae015>
- [27] Guo, R., Wang, R., Zhang, W., Li, Y., Wang, Y., Wang, H., *et al.* (2025) Multifaceted Regulatory Mechanisms of the EGR Family in Tumours and Prospects for Therapeutic Applications (Review). *International Journal of Molecular Medicine*, **56**, Article No. 113. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2025.5554>

-
- [28] Pagin, M., Pernebrink, M., Giubbolini, S., Barone, C., Sambruni, G., Zhu, Y., *et al.* (2021) Sox2 Controls Neural Stem Cell Self-Renewal through a Fos-Centered Gene Regulatory Network. *Stem Cells*, **39**, 1107-1119. <https://doi.org/10.1002/stem.3373>
- [29] Regan, J.L., Schumacher, D., Staudte, S., Steffen, A., Lesche, R., Toedling, J., *et al.* (2022) Identification of a Neural Development Gene Expression Signature in Colon Cancer Stem Cells Reveals a Role for EGR2 in Tumorigenesis. *iScience*, **25**, Article ID: 104498. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104498>
- [30] Buchou, C., Laud-Duval, K., van der Ent, W., Grossetête, S., Zaidi, S., Gentric, G., *et al.* (2022) Upregulation of the Mevalonate Pathway through EWSR1-FLI1/EGR2 Regulatory Axis Confers Ewing Cells Exquisite Sensitivity to Statins. *Cancers*, **14**, Article No. 2327. <https://doi.org/10.3390/cancers14092327>
- [31] Talukdar, S., Emdad, L., Das, S.K., *et al.* (2020) EGFR: An Essential Receptor Tyrosine Kinase-Regulator of Cancer Stem Cells. *Advances in Cancer Research*, **147**, 161-188.
- [32] Uribe, M.L., Marrocco, I. and Yarden, Y. (2021) EGFR in Cancer: Signaling Mechanisms, Drugs, and Acquired Resistance. *Cancers*, **13**, Article No. 2748. <https://doi.org/10.3390/cancers13112748>
- [33] Yang, J., Liao, D., Chen, C., Liu, Y., Chuang, T., Xiang, R., *et al.* (2013) Tumor-Associated Macrophages Regulate Murine Breast Cancer Stem Cells through a Novel Paracrine EGFR/Stat3/Sox-2 Signaling Pathway. *Stem Cells*, **31**, 248-258. <https://doi.org/10.1002/stem.1281>
- [34] Klimaschewski, L. and Claus, P. (2021) Fibroblast Growth Factor Signalling in the Diseased Nervous System. *Molecular Neurobiology*, **58**, 3884-3902. <https://doi.org/10.1007/s12035-021-02367-0>
- [35] Ardizzone, A., Scuderi, S.A., Giuffrida, D., Colarossi, C., Puglisi, C., Campolo, M., *et al.* (2020) Role of Fibroblast Growth Factors Receptors (FGFRs) in Brain Tumors, Focus on Astrocytoma and Glioblastoma. *Cancers*, **12**, Article No. 3825. <https://doi.org/10.3390/cancers12123825>
- [36] Babina, I.S. and Turner, N.C. (2017) Advances and Challenges in Targeting FGFR Signalling in Cancer. *Nature Reviews Cancer*, **17**, 318-332. <https://doi.org/10.1038/nrc.2017.8>
- [37] Zhang, P., Yue, L., Leng, Q., Chang, C., Gan, C., Ye, T., *et al.* (2024) Targeting FGFR for Cancer Therapy. *Journal of Hematology & Oncology*, **17**, Article No. 39. <https://doi.org/10.1186/s13045-024-01558-1>