

单细胞转录组分析揭示胃肠道间质瘤肿瘤相关巨噬细胞异质性与伊马替尼耐药关系

陈冠好¹, 秦 耿², 杜时雨^{2*}

¹中日友好医院(中日友好临床医学研究所)/北京协和医学院/中国医学科学院, 北京

²中日友好医院(中日友好临床医学研究所)消化科, 北京

收稿日期: 2026年4月26日; 录用日期: 2026年5月21日; 发布日期: 2026年5月27日

摘 要

目的: 胃肠道间质瘤(GIST)是胃肠道中最常见的间质肿瘤。尽管选择性酪氨酸激酶抑制剂伊马替尼显著延长了大多数患者的生存期, 但原发性耐药和获得性耐药性仍然是一个主要的治疗挑战。越来越多的证据表明, 肿瘤免疫微环境参与影响治疗反应及肿瘤耐药, 肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAMs)在其中起重要作用。然而, GIST中TAM亚群的功能多样性和动态演变仍有待进一步研究。**方法:** 我们从基因表达综合数据库(GEO)中获得了GIST样本的单细胞RNA测序(scRNA-seq)数据, 包括伊马替尼敏感患者和耐药患者的测序数据。经过严格的质量控制, 我们进行了降维、无监督聚类和细胞类型注释。提取TAM, 并根据其转录组特征将其进一步分类为不同的亚群。使用基因集变异分析(GSVA)对TAM亚群进行功能表征, 以鉴定各个亚群中富集的信号通路。使用Monocle2进行拟时序分析, 以推断巨噬细胞亚群的动态分化路径。同时, 我们描述了GIST患者中肿瘤细胞亚型的转录和功能异质性。基于配体-受体相互作用模型, 使用CellChat推断TAM和肿瘤细胞之间的细胞间通讯模式。**结果:** 我们鉴定出5个转录组特征不同的TAM亚群, 它们具有不同的功能特征。炎症细胞因子富集型TAMs (inflammatory cytokine-enriched tumor-associated macrophages, Inflam-TAMs)在伊马替尼敏感患者肿瘤组织中比例较高, 而干扰素预激型TAMs (interferon-primed tumor-associated macrophages, IFN-TAMs)在伊马替尼耐药患者肿瘤组织中占主导地位。拟时序分析提示不同TAM状态之间可能存在连续性变化, IFN-TAMs相关状态可能出现在较后阶段。细胞间通讯分析提示, Inflam-TAMs与肿瘤细胞之间的预测互作相对较弱, 并提示TAMs与特定肿瘤亚群之间可能存在潜在信号轴。**结论:** 本研究表明, GIST中TAMs具有明显异质性, 不同TAM亚群在伊马替尼敏感与耐药样本中的分布模式不同。进一步分析提示, TAM状态变化及其与肿瘤细胞的相互作用可能与GIST耐药相关微环境有关。

关键词

胃肠道间质瘤, 肿瘤微环境, 伊马替尼耐药, 肿瘤相关巨噬细胞, 单细胞RNA测序

*通讯作者。

Single-Cell Transcriptomic Analysis Reveals the Heterogeneity of Tumor-Associated Macrophages and Their Association with Imatinib Resistance in Gastrointestinal Stromal Tumors

Guanyu Chen¹, Geng Qin², Shiyu Du^{2*}

¹China-Japan Friendship Hospital (Institute of Clinical Medical Science), Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing

²Department of Gastroenterology, China-Japan Friendship Hospital (Institute of Clinical Medical Science), Beijing

Received: April 26, 2026; accepted: May 21, 2026; published: May 27, 2026

Abstract

Objective: Gastrointestinal stromal tumor (GIST) is the most common mesenchymal tumor of the gastrointestinal tract. Although imatinib, a selective tyrosine kinase inhibitor, has significantly improved the survival of patients with GIST, primary and acquired resistance remain major therapeutic challenges. Increasing evidence suggests that the tumor immune microenvironment is involved in treatment response and drug resistance, among which tumor-associated macrophages (TAMs) play an important role. However, the functional diversity and dynamic evolution of TAM subsets in GIST remain insufficiently understood. **Methods:** Single-cell RNA sequencing (scRNA-seq) data of GIST samples were obtained from the Gene Expression Omnibus (GEO), including samples from imatinib-sensitive and imatinib-resistant patients. After quality control, dimensionality reduction, unsupervised clustering, and cell-type annotation were performed. TAMs were extracted and further classified into distinct subsets according to their transcriptomic characteristics. Gene set variation analysis (GSVA) was used to characterize the functional features of TAM subsets and identify enriched signaling pathways. Monocle2 was applied for pseudotime analysis to infer the potential state-transition trend of macrophage subsets. In addition, the transcriptional and functional heterogeneity of tumor cell subpopulations was analyzed. CellChat was used to infer potential ligand-receptor-mediated communication patterns between TAMs and tumor cells. **Results:** Five TAM subsets with distinct transcriptomic features were identified. Inflammatory cytokine-enriched TAMs (Inflam-TAMs) were more abundant in imatinib-sensitive tumor samples, whereas interferon-primed TAMs (IFN-TAMs) predominated in imatinib-resistant tumor samples. Pseudotime analysis suggested potential continuity among different TAM states, with the IFN-TAM-associated state tending to appear at a later stage. Cell-cell communication analysis indicated relatively weak predicted interactions between Inflam-TAMs and tumor cells, and suggested potential signaling axes between TAMs and specific tumor subpopulations. **Conclusion:** This study demonstrated marked heterogeneity of TAMs in GIST, with distinct distribution patterns of TAM subpopulations between imatinib-sensitive and imatinib-resistant samples. Further analyses suggested that TAM state transitions and their interactions with tumor cells may be associated with the imatinib resistance-related tumor microenvironment in GIST.

Keywords

Gastrointestinal Stromal Tumor, Tumor Microenvironment, Imatinib Resistance, Tumor-Associated Macrophages, Single-Cell RNA Sequencing

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

胃肠道间质瘤(Gastrointestinal stromal tumor, GIST)是胃肠道最常见的间质性肿瘤,全球发病率为每百万人口发病 10 至 15 例。伊马替尼是一种选择性小分子酪氨酸激酶抑制剂,它通过靶向 KIT 或 PDGFRA 突变体并阻断下游信号通路来抑制肿瘤增殖。据报道,超过 80%的 GIST 患者接受伊马替尼治疗后,总生存期(overall survival, OS)和无进展生存期(progression free survival, PFS)显著延长[1]。然而,约 15%的晚期 GIST 患者对伊马替尼产生原发性耐药,且大多数初始治疗有效患者最终会产生获得性耐药。伊马替尼治疗后的中位无进展生存期约为 2 年[2]。

GIST 主要由 KIT 或 PDGFRA 基因的激活突变驱动,但越来越多的证据表明,肿瘤免疫微环境在疾病进展和治疗反应中起着关键作用[3]。肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAMs)是 GIST 微环境中最丰富的免疫细胞之一。它们可以根据信号分化成多种功能表型,其数量和种类与肿瘤复发和临床预后密切相关[4]。GIST 中的 TAM 通常在伊马替尼治疗后极化为 M2 样表型(主要表现为抑制免疫杀伤肿瘤和促肿瘤发生发展)[5]。既往研究表明,使用 CD40 激动性抗体激活巨噬细胞可以增强伊马替尼的抗肿瘤疗效。这表明巨噬细胞是 GIST 治疗反应的关键介质[6]。

既往研究已从整体层面描绘了 GIST 伊马替尼耐药相关的肿瘤免疫微环境,但针对 TAMs 内部异质性的分析仍相对不足[7],传统的 M1/M2 分类无法全面反映 TAMs 的异质性,单细胞 RNA 测序(single-cell RNA sequencing, scRNA-seq)技术使得对 TAMs 异质性的分析更加精细化[8]。基于此,本研究在同一数据集基础上进一步聚焦 TAMs 群体,对 TAMs 的转录状态、功能特征及其与治疗反应的关系进行更细化描述,从巨噬细胞角度补充对 GIST 伊马替尼耐药相关微环境的认识。

2. 资料与方法

2.1. 数据来源与样本构成

从基因表达综合数据库(Gene Expression Omnibus, GEO)中检索了 GIST 的 scRNA-seq 数据,登录号 GSE254762。该数据集包含 7 例 GIST 患者的肿瘤标本,从其中 3 例伊马替尼治疗耐药患者中获取了 4 个样本,从 4 例伊马替尼治疗敏感患者中获取了 5 个样本。根据术前和术中评估,患者被分类为局部晚期肿瘤患者或转移性肿瘤患者,样本来源包括肿瘤原发灶、肝转移灶或腹膜转移灶[7]。

2.2. 单细胞数据预处理与细胞注释

本研究采用 Seurat (v5.0)完成单细胞转录组数据预处理[9]。首先读取原始表达矩阵并进行细胞与基因层面的初筛:保留表达基因数不少于 200 的细胞,去除在少于 3 个细胞中表达的基因。随后计算线粒体基因、核糖体基因及红细胞相关基因比例,对低质量细胞进行剔除。质控后进入标准化分析流程。

归一化采用 LogNormalize 方法,以降低测序深度差异对表达矩阵的影响。完成归一化后筛选高变基因,并基于高变基因进行主成分分析(principal component analysis, PCA),提取主要变异来源。考虑样本来源、病灶部位及测序批次可能带来的技术偏移,应用 Harmony 算法进行批次效应校正。校正后基于前 15 个主成分构建邻近图并开展无监督聚类分析,随后使用统一流形近似与投影(uniform manifold approximation and projection, UMAP)进行降维可视化,展示细胞群体分布与相互关系。

细胞注释基于经典标志基因表达模式完成。肿瘤细胞以 KIT、ANO1 高表达为主要特征；T 细胞以 CD3D、CD3E 为主要特征；NK 细胞以 KLRB1 为主要特征；单核细胞以 S100A8、S100A9 为主要特征；巨噬细胞以 C1QA、C1QB 为主要特征；树突细胞以 IDO1 为主要特征；B 细胞以 CD79A、MS4A1 为主要特征；浆细胞以 IGHG1、MZB1、SDC1 为主要特征；成纤维细胞、内皮细胞和上皮细胞分别以 ACTA2、PECAM1/VWF 和 EPCAM 表达为主要识别依据。

在注释过程中，综合采用 UMAP 分布、DotPlot 及小提琴图验证标志基因表达一致性，确保细胞注释与转录特征相匹配。对于标志基因表达交叉区域，结合多基因共表达模式进行复核，减少单一标志基因导致的误分。完成注释后，获得 GIST 肿瘤微环境整体细胞图谱，为后续 TAM 亚群再聚类、功能通路分析、伪时序轨迹构建及细胞通讯分析提供基础数据。

2.3. TAM 亚群识别与功能分析

在完成全细胞图谱注释后，本研究从表达矩阵中提取巨噬细胞群体，进入 TAM 亚群分析流程。提取后的细胞再次进行归一化、降维和聚类，并结合 UMAP 展示亚群分布。

在敏感组与耐药组比较中，本研究按样本临床标注将巨噬细胞映射到对应分组，比较各 TAM 亚群在不同治疗反应状态下的相对构成比例，以描述其分布差异特征，并结合标志基因表达强度进行交叉验证。该步骤用于评估 TAM 亚群分布与伊马替尼治疗反应之间的相关特征。

为进一步解析亚群功能状态，采用基因集变异分析(gene set variation analysis, GSVA)基于标准化表达矩阵计算通路富集评分[10]，再使用 limma 进行组间比较。通路显著性判定阈值设为 $|\logFC| > 0.5$ 且 adjusted $P < 0.05$ 。结果通过条形图和热图展示。

2.4. 拟时序分析

为评估 TAM 状态演变特征，本研究采用 Monocle2 进行拟时序分析[11]。按亚群进行下采样(每亚群 200 个细胞)后，基于 Seurat 筛选的亚群标志基因构建 Monocle 对象，依次执行 estimateSizeFactors 与 estimateDispersions 完成标准化，使用 DDRTree 进行轨迹降维并对细胞排序。最终根据拟时序位置、分支结构和亚群密度变化评估 TAM 动态转变路径。

2.5. 肿瘤细胞亚群分析

从 scRNA-seq 数据集中提取 GIST 肿瘤细胞后进行再聚类。采用 Louvain 算法完成分群，鉴于肿瘤细胞群体内部转录差异较集中，为避免过度分群，本研究采用较低分辨率(resolution = 0.001)进行聚类。结合 t 分布随机邻域嵌入(t-distributed stochastic neighbor embedding, t-SNE)降维可视化获得 4 个肿瘤细胞亚群(C1、C2、C3、C4)。各亚群通过 FindAllMarkers 筛选差异表达基因，随后使用 clusterProfiler 进行 GO 富集分析，筛选阈值为 $p < 0.01$ 且 $q < 0.01$ 。该分析用于描述不同肿瘤细胞亚群的转录功能特征。

2.6. 细胞通讯分析

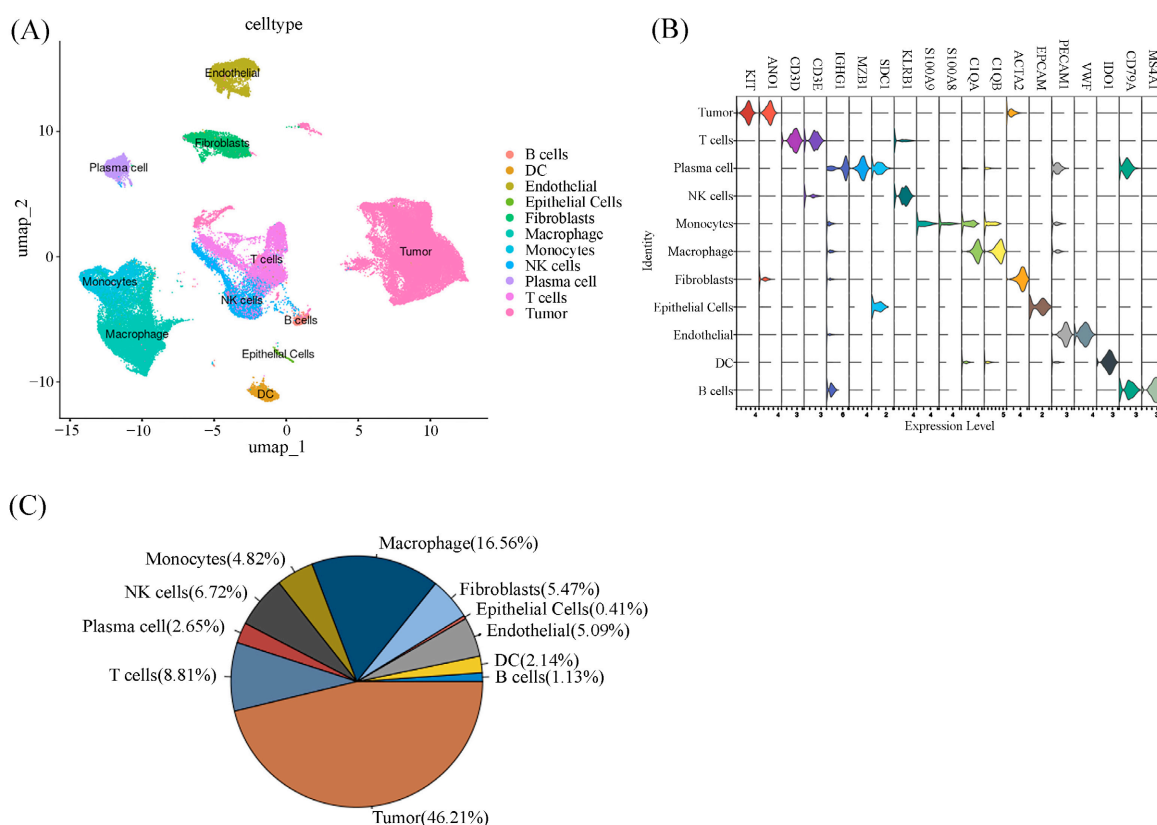
本研究采用 CellChat 分析 TAM 与肿瘤细胞之间的配体 - 受体通讯关系。基于 Seurat 标准化矩阵建立 CellChat 对象，以细胞类型为分组变量，调用 CellChatDB.human 数据库识别有效配体 - 受体对，并计算通讯概率与通讯强度。结果通过弦图和气泡图展示，重点观察不同 TAM 亚群与各肿瘤细胞亚群之间的互动强度差异及关键通路特征。

3. 结果

3.1. 单细胞 RNA 测序揭示 GIST 的肿瘤免疫图谱

本研究选取了 7 例 GIST 患者的手术肿瘤标本。我们对单细胞 RNA 测序数据进行了全面的质量控

制、过滤、聚类 and 注释, 最终保留了 76,362 个高质量细胞用于后续分析。我们基于已知的细胞标记基因, 通过气泡图分析对各细胞簇进行了注释。基于基因表达谱, 细胞簇被成功分为以下几类: KIT 和 ANO1 标记的肿瘤细胞($n = 35,284, 46.21\%$)、CD3D 和 CD3E 标记的 T 细胞($n = 6724, 8.81\%$)、IGHG1、MZB1 和 SDC1 标记的浆细胞($n = 2022, 2.65\%$)、KLRB1 标记的 NK 细胞($n = 5128, 6.72\%$)、S100A9 和 S100A8 标记的单核细胞($n = 3681, 4.82\%$)、C1QA 和 C1QB 标记的巨噬细胞($n = 12,645, 16.56\%$)、ACTA2 标记的成纤维细胞、EPCAM 标记的上皮细胞($n = 314, 0.41\%$)、PECAM1 和 VWF 标记的内皮细胞($n = 3886, 5.09\%$)、IDO1 标记的树突状细胞($n = 1636, 2.14\%$)以及 CD79A 和 MS4A1 标记的 B 细胞($n = 863, 1.13\%$)。使用 UMAP 可视化样本中不同细胞类型的分布(图 1(A)), 并对不同细胞类型之间特征基因的表达进行小提琴图分析, 展示了 GIST 肿瘤微环境中不同细胞类型特异性的表达谱(图 1(B))。TAMs 是肿瘤微环境中丰富的免疫细胞群, 这与之前的研究结论一致(图 1(C)) [4]。



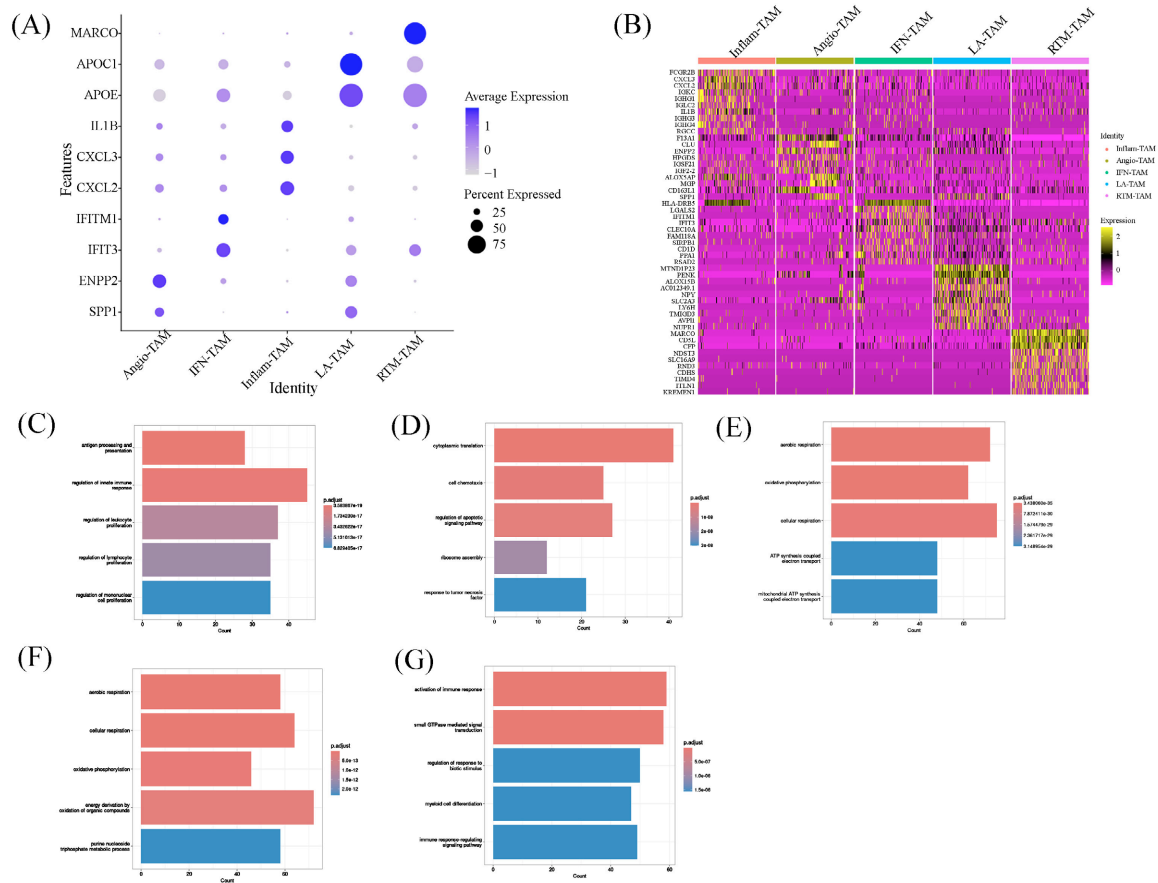
注: (A) 基于 UMAP 降维的细胞聚类与注释结果。(B) 主要细胞类型标志基因的表达分布(小提琴图), 横轴为基因, 纵轴为细胞类型, 形状宽度反映表达分布。(C) 各细胞类型在全样本中的组成比例(饼图)。

Figure 1. Cell atlas construction and cell type annotation of GIST single-cell RNA sequencing data
图 1. GIST 单细胞 RNA 测序数据的细胞图谱构建与细胞类型注释

3.2. 巨噬细胞亚群分析

本研究对巨噬细胞进行了亚群分析, 以探索其在肿瘤微环境中的作用。首先, 我们从单细胞转录组数据中提取了巨噬细胞。与传统的 M1/M2 巨噬细胞分类不同, 我们根据巨噬细胞的特征基因、富集通路和作用, 将其分为五个亚群, 分别是促血管生成型肿瘤相关巨噬细胞(angiogenic tumor-associated macrophages, Angio-TAMs)、干扰素预激型肿瘤相关巨噬细胞(interferon-primed tumor-associated macrophages,

IFN-TAMs)、炎症细胞因子富集型肿瘤相关巨噬细胞(inflammatory cytokine-enriched tumor-associated macrophages, Inflamm-TAMs)、脂质相关型肿瘤相关巨噬细胞(lipid-associated tumor-associated macrophages, LA-TAMs)和组织驻留样肿瘤相关巨噬细胞(resident tissue macrophage-like tumor-associated macrophages, RTM-TAMs)。Angio-TAMs 以 SPP1 和 ENPP2 为标志, IFN-TAMs 以 IFIT3 和 IFITM1 为标志, Inflamm-TAMs 以 CXCL2、CXCL3 和 IL-1 β 为标志, LA-TAMs 以 APOE 和 APOC1 为标志, RTM-TAMs 以 MARCO 为标志(图 2(A))。此外, 我们还分析了各巨噬细胞亚群的基因表达热图(图 2(B))。



注: (A) 气泡图显示 5 个 TAM 亚群的代表性标志基因表达谱; 点的颜色深度表示平均表达水平, 点的大小表示表达细胞比例。(B) 各 TAM 亚群差异表达基因的热图展示; 颜色表示标准化后的相对表达水平。(C)~(G) 各 TAM 亚群差异基因的功能富集结果(依次为分别为 IFN-TAMs、Inflamm-TAMs、Angio-TAMs、LA-TAMs、RTM-TAMs); 横轴为富集到该通路的基因数(Count), 颜色表示校正后 P 值(p.adjust)。

Figure 2. Identification of TAM subsets in GIST and analysis of their transcriptomic features and functional enrichment
图 2. GIST TAM 亚群划分及其转录特征与功能富集分析

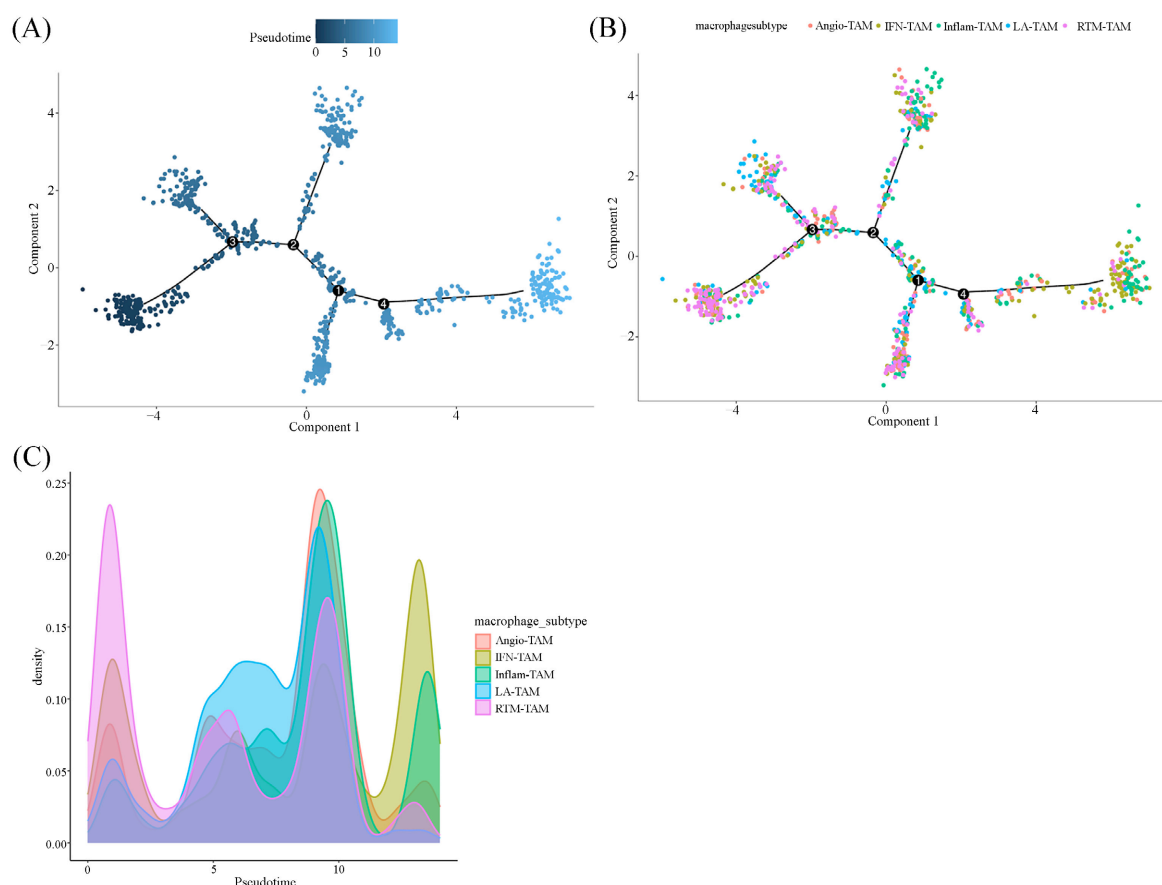
IFN-TAMs 高表达干扰素相关基因, Inflamm-TAMs 具有炎症细胞因子表达特征, Angio-TAMs 具有血管生成特征, LA-TAMs 具有脂质相关基因表达特征, 而 RTM-TAMs 被定义为类似于正常组织驻留巨噬细胞的巨噬细胞[8]。我们将巨噬细胞根据患者来源对伊马替尼是否存在耐药分为治疗耐药组和治疗敏感组, 然后进行亚组分析。我们发现, 在治疗耐药组中, IFN-TAMs 占比最高; 而在治疗敏感组中, Inflamm-TAMs 占比最高。这提示 GIST 微环境中 TAMs 构成的变化与伊马替尼治疗反应存在相关性。Inflamm-TAMs 具有多种炎症细胞因子的表达特征, 包括 IL-1 β 、CXCL2/3、CCL3 和 CCL3L1。CXCL2 和 CXCL3 属于炎症相关趋化因子, 常与 CXCR2 共同参与炎症细胞募集及肿瘤微环境调控。Inflamm-TAMs 可在肿瘤相关

炎症反应中主动募集和调控免疫细胞[8]。基于上述结果,我们推测 Inflamm-TAMs 可能与较好的伊马替尼治疗反应相关。既往研究表明,IFN-TAMs 通过降解色氨酸和募集 Treg 来抑制免疫反应[12]。我们的结果提示,IFN-TAMs 可能与免疫抑制状态及耐药相关微环境特征有关。

我们还对巨噬细胞亚群进行了通路富集分析(图 2(C)~(G))。研究发现,与免疫抑制相关的通路,例如固有免疫反应的调节通路,在 IFN-TAMs 中高表达。与趋化因子和炎症因子相关的通路,例如肿瘤坏死因子效应通路,在 Inflamm-TAMs 中高表达。与细胞呼吸相关的通路,例如有氧呼吸通路、氧化磷酸化通路和细胞呼吸通路,在 Angio-TAMs 和 LA-TAMs 中高表达。

3.3. 拟时序分析提示 TAM 亚群的潜在状态变化

为了探究 TAM 发育过程中巨噬细胞亚群的变化,我们基于所有巨噬细胞的基因特征和先前的聚类信息构建了一个无监督拟时序轨迹(图 3(A)、图 3(B))。RTM-TAMs 主要分布于拟时序早期,而 Inflamm-TAMs、LA-TAMs、Angio-TAMs 及 IFN-TAMs 沿轨迹呈现连续分布,提示不同 TAM 亚群之间可能存在状态转变关系。



注: (A) 基于 Monocle 构建的 TAM 拟时序轨迹图; 每个点代表一个巨噬细胞, 颜色梯度表示拟时序变化, 黑色主干线表示推断的细胞状态转变路径, 数字标记表示不同状态节点。(B) 将 TAM 亚群信息映射至同一轨迹图, 展示不同亚群在轨迹不同阶段及分支上的空间分布特征。(C) 不同 TAM 亚群在拟时序轴上的密度分布。

Figure 3. Pseudotime analysis reveals potential state transitions of TAM subsets in GIST

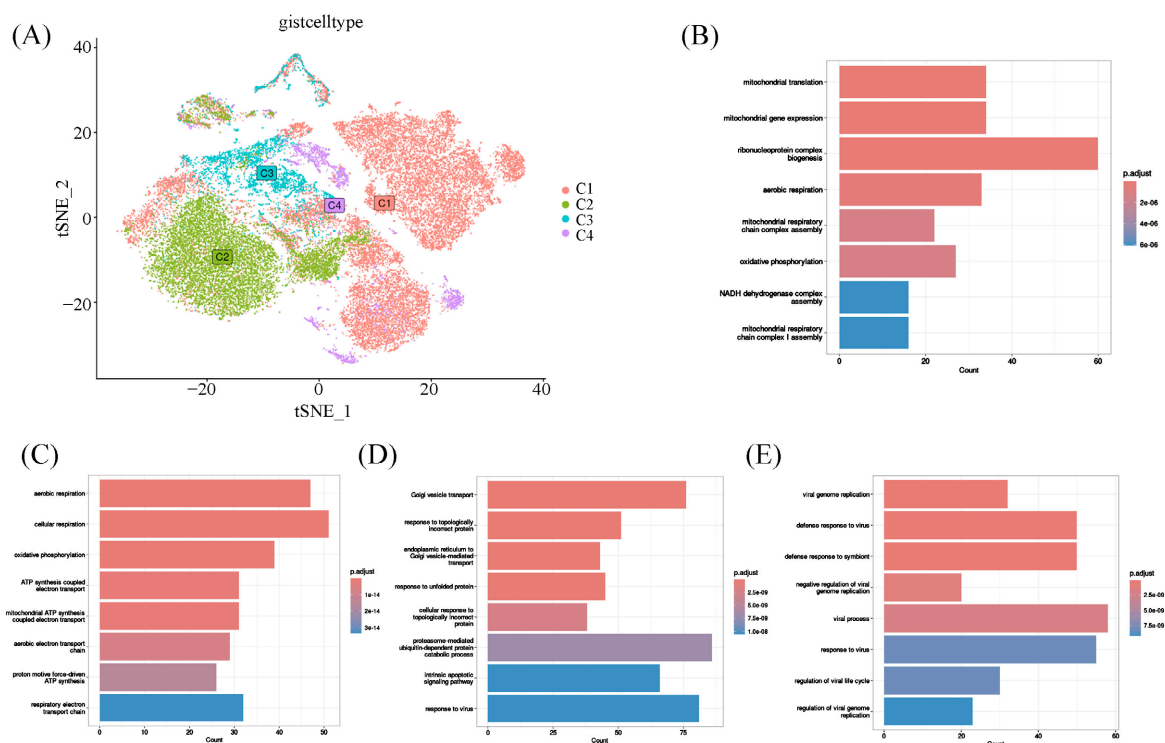
图 3. 拟时序分析提示 GIST TAM 亚群的潜在状态变化

进一步的密度分布分析显示,巨噬细胞亚群在拟时序轴上的分布存在动态变化(图 3(C))。其中,RTM-

TAMs 在拟时序早期占比较高, 随后逐渐减少; 而 Inflamm-TAMs、LA-TAMs 和 Angio-TAMs 在轨迹中后段的分布相对增加, 提示 RTM-TAMs 样状态可能与其他功能状态之间存在潜在演变联系。值得注意的是, IFN-TAMs 更多分布于拟时序后期。结合其在耐药样本中的相对富集特征, 提示不同 TAM 状态之间可能存在连续性变化, IFN-TAMs 相关状态可能出现在 TAM 状态变化的较后阶段。

3.4. GIST 肿瘤细胞亚群分析

为了进一步研究巨噬细胞对 GIST 的影响, 我们将 GIST 肿瘤细胞分为四组(C1、C2、C3 和 C4) (图 4(A))。我们对这四组 GIST 肿瘤细胞进行了差异基因分析, 并基于差异基因分析了富集通路。我们发现不同亚组的通路富集具有各自的特征。C1 主要富集于线粒体相关通路(如线粒体基因表达、蛋白质翻译和呼吸链复合体组装) (图 4(B)), C2 主要富集于细胞呼吸相关通路(包括细胞呼吸、氧化磷酸化、ATP 合成和电子传递) (图 4(C)), C3 主要富集于蛋白质结构调控和运输(包括高尔基体通路、内质网囊泡运输、蛋白质拓扑结构变化) (图 4(D)), C4 主要富集于病毒相关通路(图 4(E))。



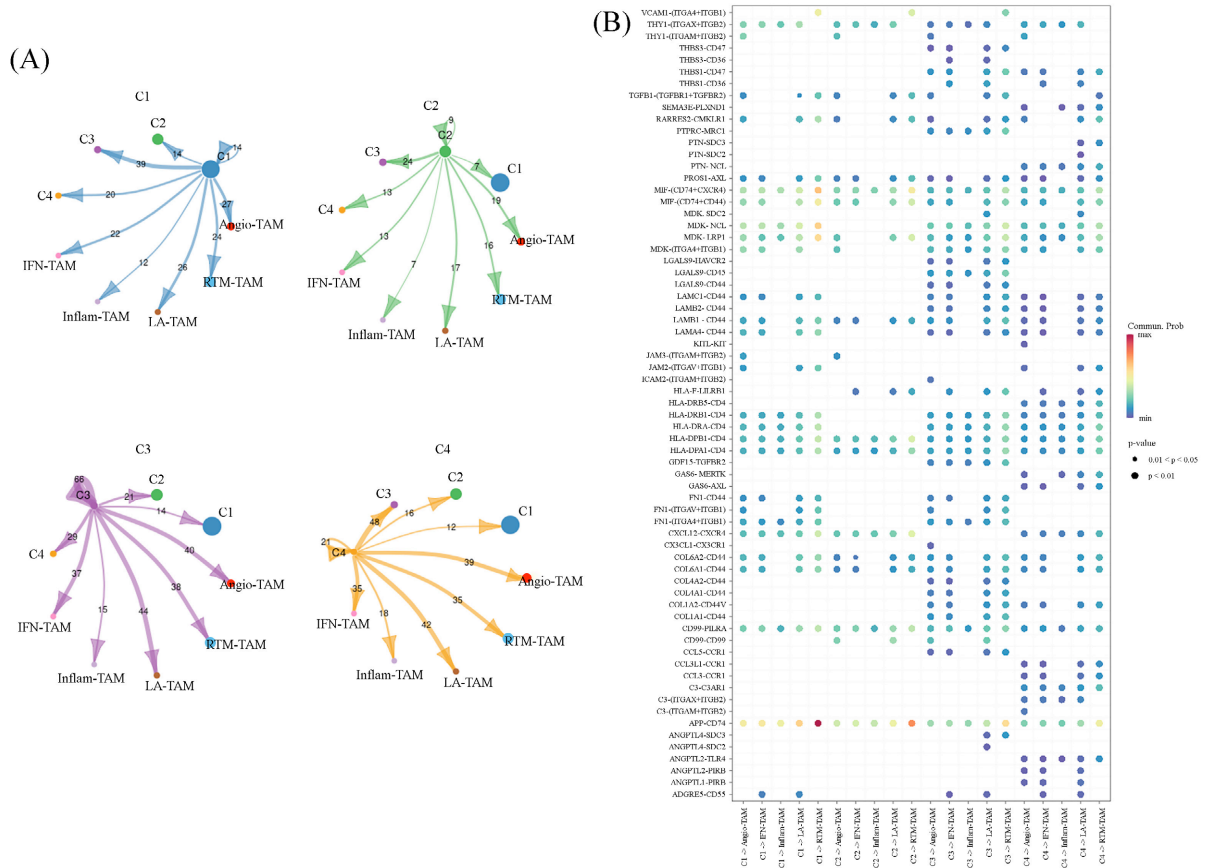
注: (A) 从 scRNA-seq 数据中提取肿瘤细胞后进行再聚类, 并采用 t-SNE 降维可视化, 识别 4 个肿瘤细胞亚群(依次为 C1、C2、C3、C4); (B)~(E) 各肿瘤细胞亚群的差异表达基因功能富集结果(GO 通路富集, 展示前 8 个通路)。横轴为富集到该条目的基因数(Count), 颜色表示校正后 P 值(p.adjust)。

Figure 4. Identification of GIST tumor cell subpopulations and their functional enrichment features
图 4. GIST 肿瘤细胞的亚群划分及功能富集特征

3.5. 细胞间通讯分析揭示了 TAM 与肿瘤细胞的相互作用

我们对 5 种巨噬细胞亚群和 4 种 GIST 肿瘤细胞亚群进行了细胞通讯分析。从肿瘤细胞与 TAM 的细胞间相互作用角度来看, 所有肿瘤细胞亚群与 Inflamm-TAMs 的细胞通讯均显示强度最弱(图 5(A)、图 5(B))。既往研究表明, TAM 在 GIST 耐药中发挥重要作用, 部分 TAM 可被肿瘤细胞来源的可溶性分子激活和极化, 从而促进肿瘤进展和转移[13]。细胞通讯分析显示, Inflamm-TAMs 与各肿瘤细胞亚群之间的预测互

作强度相对较弱，提示其可能较少受到肿瘤来源信号的重塑。所有 TAM 亚群均与 C3 亚群肿瘤细胞表现出最强的预测通讯强度(图 6(A)、图 6(B))，而 C3 亚群肿瘤细胞的主要通路富集于蛋白质的结构调控和转运，提示 TAM 与 C3 肿瘤细胞亚群之间可能存在与蛋白质加工和转运相关的互作特征。



注：(A) 以肿瘤细胞亚群为信号发送者，TAM 亚群为信号接收者的通讯网络示意图。箭头方向表示信号传递方向，连线粗细/旁注数字表示通讯强度。(B) 关键配体 - 受体对的气泡图。横轴为细胞互作对(肿瘤细胞亚群→TAM 亚群)，纵轴为配体 - 受体对名称；气泡颜色表示通讯概率大小，气泡大小表示统计显著性。

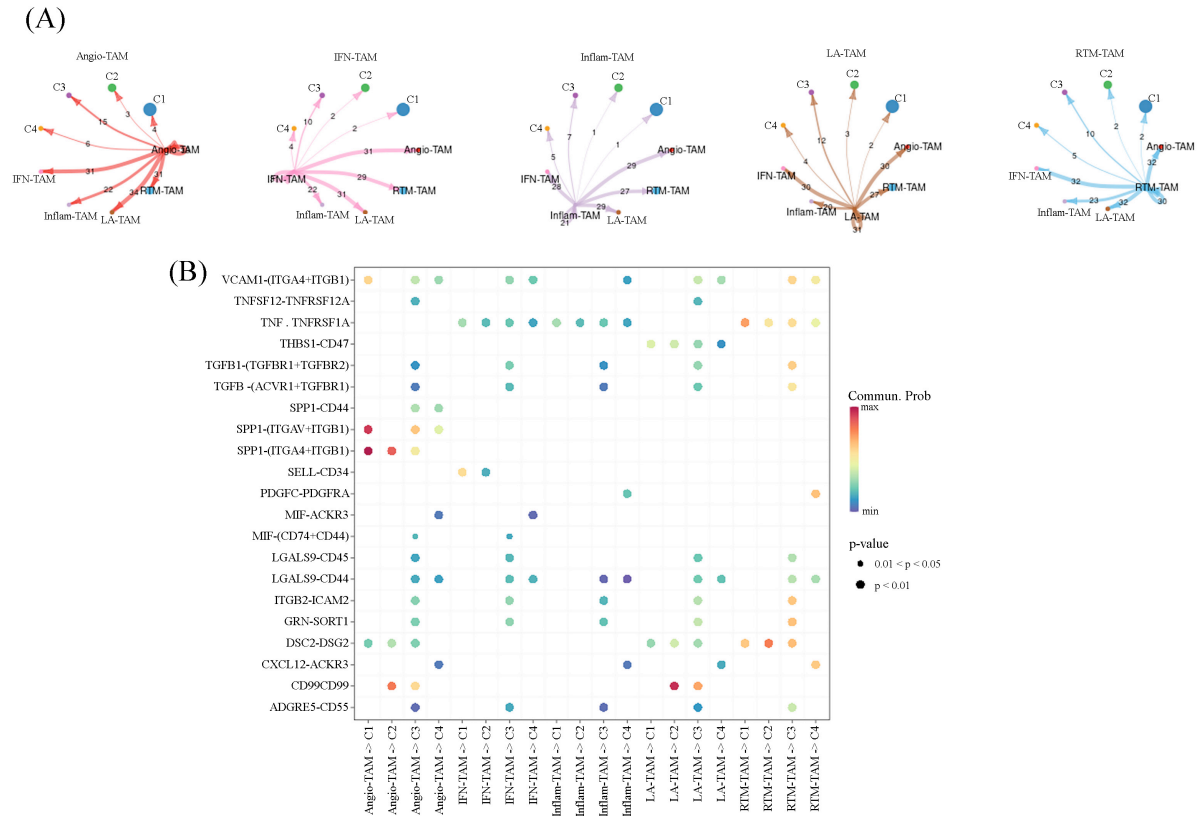
Figure 5. Cell-cell communication analysis of tumor cell subpopulations signaling to TAM subsets
图 5. 肿瘤细胞亚群作为信号发送者与 TAM 亚群的细胞通讯分析

4. 讨论

与该数据集原始发表研究主要从整体层面解析 GIST 伊马替尼耐药相关肿瘤免疫微环境不同，本研究进一步聚焦 TAMs 群体，对其内部转录异质性、功能状态及潜在演变趋势进行了更细化分析，并结合肿瘤细胞亚群的通讯特征，补充了 TAMs 在耐药相关微环境中的潜在作用。

巨噬细胞在肿瘤微环境中发挥着双重作用，既参与免疫激活，也参与免疫抑制。针对 TAM 表型可塑性可能为未来的 GIST 治疗提供一种有前景的策略[14]。GIST 患者长期接受伊马替尼治疗可使肿瘤内 TAM 转化为促肿瘤表型，降低 CD8T 细胞、树突状细胞和 MHC-I 的表达，从而减弱抗肿瘤治疗反应[5]。我们的分析进一步证实了 GIST 患者 TAM 的复杂性，不仅揭示了 TAM 亚群的异质性，还提示这些亚群可能具有时间依赖性的发育轨迹。传统 M1/M2 二分法难以充分反映 TAM 的连续性和功能多样性。本研究基于转录特征将 TAMs 进一步细分为 5 种状态，有助于更细致地描述 GIST 中 TAMs 的功能特点及其

与治疗反应的相关性。



注：(A) 以不同 TAM 亚群为信号发送者，肿瘤细胞亚群为信号接收者的通讯网络示意图。箭头方向表示信号传递方向，连线粗细/旁注数字表示通讯强度。(B) 关键配体 - 受体互作对的气泡图。横轴为细胞互作对(TAM 亚群→肿瘤细胞亚群)，纵轴为配体 - 受体对名称；气泡颜色表示通讯概率大小，气泡大小表示统计显著性。

Figure 6. Cell-cell communication analysis of TAM subsets signaling to tumor cell subpopulations
图 6. TAM 亚群作为信号发送者与肿瘤细胞亚群之间的细胞通讯分析

本研究发现，IFN-TAMs 在耐药样本中相对富集，而 Inflamm-TAMs 在敏感样本中相对富集，提示不同 TAM 状态与伊马替尼治疗反应之间存在相关性。

IFN-TAMs 高表达 IFIT3 和 IFITM1 等基因。既往研究显示，IFIT3 与免疫细胞募集及肿瘤相关免疫调节过程有关[15]-[17]。IFITM1 亦被报道参与炎症反应调控及肿瘤相关生物学过程[18][19]。因此，在治疗耐药样本中，高表达这些基因的 IFN-TAMs 出现富集，提示该亚群可能与相对免疫抑制性的微环境状态相关。另一方面，Inflamm-TAMs 高表达多种炎症趋化因子相关基因，例如 CXCL2、CXCL3 和 IL-1β。既往研究提示，这些分子与炎症细胞募集及抗肿瘤免疫调控有关[20]-[22]。结合 Inflamm-TAMs 在治疗敏感组中的相对富集，提示该亚群可能与相对活跃的炎症免疫状态相关。

拟时序分析显示，不同 TAM 亚群并非完全孤立，而可能呈现一定的连续状态分布。RTM-TAMs 更多位于拟时序早期，IFN-TAMs 则更多分布于拟时序后段，提示 TAMs 在 GIST 微环境中可能存在状态重塑过程。但拟时序分析反映的是基于转录相似性的潜在状态连续性，尚不能等同于真实的谱系演变方向。因而，IFN-TAMs 相关状态在耐药微环境中的作用及其生物学意义，仍需结合功能实验进一步验证。

关于肿瘤细胞，本研究发现的细胞亚群之间的通路差异不仅反映了 GIST 肿瘤细胞的转录异质性，也为解释不同肿瘤亚群治疗反应的差异提供了潜在的分子基础。我们发现与蛋白质转运调控密切相关的 C3

细胞和 TAMs 之间存在高强度的通讯, 提示巨噬细胞可能通过调节肿瘤蛋白质加工系统参与治疗反应的调节。GIST 肿瘤细胞通过多种信号通路调控巨噬细胞极化[23]。然而, Inflamm-TAMs 与肿瘤细胞之间较低的预测通讯水平, 提示其可能相对较少受到肿瘤来源信号的重塑。该结果为理解不同 TAM 状态与肿瘤细胞之间的相互作用方式提供了线索。

本研究仍存在一定局限性。首先, 本研究基于公开单细胞 RNA 测序数据进行二次分析, 样本量较小, 且样本来源同时包括原发灶、肝转移灶和腹膜转移灶, 可能存在病灶部位及个体差异带来的偏倚。其次, 拟时序分析和 CellChat 分析均基于计算模型推断, 其结果反映的是潜在状态连续性和可能的细胞互作关系, 尚不能等同于真实的谱系演变和功能性信号传递。最后, 尽管本研究观察到 IFN-TAMs 在耐药样本中相对富集, 但现有证据尚不足以区分其究竟是耐药形成的参与因素, 还是肿瘤细胞内在耐药改变重塑微环境后的继发表型, 因此不能排除反向因果的可能。同时, 本研究也缺乏独立队列及功能实验验证, 这一关联的方向性及其生物学意义仍需进一步研究明确。

5. 结论

基于单细胞 RNA 测序数据的分析表明, GIST 中 TAMs 具有明显异质性, 不同 TAM 亚群在伊马替尼敏感与耐药样本中的分布存在差异。拟时序分析和细胞通讯分析进一步提示, 不同 TAM 状态及其与肿瘤细胞的互作模式可能与 GIST 耐药相关微环境有关。这些结果有助于加深对 GIST 耐药相关微环境的认识。

基金项目

本研究受到国家自然科学基金项目胃癌“未病”的生物基础与数学表征的资助, 编号 T2341008。

参考文献

- [1] Demetri, G.D., von Mehren, M., Blanke, C.D., Van den Abbeele, A.D., Eisenberg, B., Roberts, P.J., *et al.* (2002) Efficacy and Safety of Imatinib Mesylate in Advanced Gastrointestinal Stromal Tumors. *New England Journal of Medicine*, **347**, 472-480. <https://doi.org/10.1056/nejmoa020461>
- [2] Verweij, J., Casali, P.G., Zalcberg, J., LeCesne, A., Reichardt, P., Blay, J., *et al.* (2004) Progression-Free Survival in Gastrointestinal Stromal Tumours with High-Dose Imatinib: Randomised Trial. *The Lancet*, **364**, 1127-1134. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(04\)17098-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(04)17098-0)
- [3] Di Vito, A., Ravegnini, G., Gorini, F., Aasen, T., Serrano, C., Benuzzi, E., *et al.* (2023) The Multifaceted Landscape behind Imatinib Resistance in Gastrointestinal Stromal Tumors (GISTs): A Lesson from Ripretinib. *Pharmacology & Therapeutics*, **248**, Article 108475. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2023.108475>
- [4] Li, B., Chen, H., Yang, S., Chen, F., Xu, L., Li, Y., *et al.* (2023) Advances in Immunology and Immunotherapy for Mesenchymal Gastrointestinal Cancers. *Molecular Cancer*, **22**, Article No. 71. <https://doi.org/10.1186/s12943-023-01770-6>
- [5] Cavnar, M.J., Zeng, S., Kim, T.S., Sorenson, E.C., Ocuin, L.M., Balachandran, V.P., *et al.* (2013) KIT Oncogene Inhibition Drives Intratumoral Macrophage M2 Polarization. *Journal of Experimental Medicine*, **210**, 2873-2886. <https://doi.org/10.1084/jem.20130875>
- [6] Zhang, J.Q., Zeng, S., Vitiello, G.A., Seifert, A.M., Medina, B.D., Beckman, M.J., *et al.* (2018) Macrophages and CD8+ T Cells Mediate the Antitumor Efficacy of Combined CD40 Ligation and Imatinib Therapy in Gastrointestinal Stromal Tumors. *Cancer Immunology Research*, **6**, 434-447. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.cir-17-0345>
- [7] Liu, X., Yu, J., Li, Y., Shi, H., Jiao, X., Liu, X., *et al.* (2024) Deciphering the Tumor Immune Microenvironment of Imatinib-Resistance in Advanced Gastrointestinal Stromal Tumors at Single-Cell Resolution. *Cell Death & Disease*, **15**, Article No. 190. <https://doi.org/10.1038/s41419-024-06571-3>
- [8] Ma, R., Black, A. and Qian, B. (2022) Macrophage Diversity in Cancer Revisited in the Era of Single-Cell Omics. *Trends in Immunology*, **43**, 546-563. <https://doi.org/10.1016/j.it.2022.04.008>
- [9] Butler, A., Hoffman, P., Smibert, P., Papalexi, E. and Satija, R. (2018) Integrating Single-Cell Transcriptomic Data across Different Conditions, Technologies, and Species. *Nature Biotechnology*, **36**, 411-420.

- <https://doi.org/10.1038/nbt.4096>
- [10] Hänzelmann, S., Castelo, R. and Guinney, J. (2013) GSVA: Gene Set Variation Analysis for Microarray and RNA-Seq Data. *BMC Bioinformatics*, **14**, Article No. 7. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-14-7>
- [11] Qiu, X., Mao, Q., Tang, Y., Wang, L., Chawla, R., Pliner, H.A., *et al.* (2017) Reversed Graph Embedding Resolves Complex Single-Cell Trajectories. *Nature Methods*, **14**, 979-982. <https://doi.org/10.1038/nmeth.4402>
- [12] Sadik, A., Somarribas Patterson, L.F., Öztürk, S., Mohapatra, S.R., Panitz, V., Secker, P.F., *et al.* (2020) IL4I1 Is a Metabolic Immune Checkpoint that Activates the AHR and Promotes Tumor Progression. *Cell*, **182**, 1252-1270.e34. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.07.038>
- [13] Zhang, W., Wang, M., Ji, C., Liu, X., Gu, B. and Dong, T. (2024) Macrophage Polarization in the Tumor Microenvironment: Emerging Roles and Therapeutic Potentials. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **177**, Article 116930. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2024.116930>
- [14] van Dongen, M., Savage, N.D.L., Jordanova, E.S., Briaire-de Bruijn, I.H., Walburg, K.V., Ottenhoff, T.H.M., *et al.* (2010) Anti-Inflammatory M2 Type Macrophages Characterize Metastasized and Tyrosine Kinase Inhibitor-Treated Gastrointestinal Stromal Tumors. *International Journal of Cancer*, **127**, 899-909. <https://doi.org/10.1002/ijc.25113>
- [15] Peng, D., Liang, M., Li, L., Yang, H., Fang, D., Chen, L., *et al.* (2024) Circ_BBS9 as an Early Diagnostic Biomarker for Lung Adenocarcinoma: Direct Interaction with IFIT3 in the Modulation of Tumor Immune Microenvironment. *Frontiers in Immunology*, **15**, Article ID: 1344954. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1344954>
- [16] Jia, Y., Zhang, B., Zhang, C., Kwong, D.L., Chang, Z., Li, S., *et al.* (2023) Single-Cell Transcriptomic Analysis of Primary and Metastatic Tumor Ecosystems in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Advanced Science*, **10**, e2204565. <https://doi.org/10.1002/advs.202204565>
- [17] Tan, X.F., Chen, Q., Hua, S.H. and Yip, G.W. (2021) Roles of Interferon Induced Protein with Tetratricopeptide Repeats (IFIT) Family in Cancer. *Current Medicinal Chemistry*, **28**, 5034-5047. <https://doi.org/10.2174/0929867328666210617105209>
- [18] Siegrist, F., Ebeling, M. and Certa, U. (2011) The Small Interferon-Induced Transmembrane Genes and Proteins. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, **31**, 183-197. <https://doi.org/10.1089/jir.2010.0112>
- [19] Wu, L., Tang, Q., Yin, X., Yan, D., Tang, M., Xin, J., *et al.* (2019) The Therapeutic Potential of Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells to Enhance Radiotherapy Effects on Hepatocellular Carcinoma. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, **7**, Article ID: 267. <https://doi.org/10.3389/fcell.2019.00267>
- [20] Tsao, D., Chang, H., Lin, C., Hsiung, S., Huang, S., Ho, S., *et al.* (2010) Gene Expression Profiles for Predicting the Efficacy of the Anticancer Drug 5-Fluorouracil in Breast Cancer. *DNA and Cell Biology*, **29**, 285-293. <https://doi.org/10.1089/dna.2009.1006>
- [21] Miossec, P. and Kolls, J.K. (2012) Targeting IL-17 and TH17 Cells in Chronic Inflammation. *Nature Reviews Drug Discovery*, **11**, 763-776. <https://doi.org/10.1038/nrd3794>
- [22] Cao, L.L. and Kagan, J.C. (2023) Targeting Innate Immune Pathways for Cancer Immunotherapy. *Immunity*, **56**, 2206-2217. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2023.07.018>
- [23] Xiao, S., Xu, R., Yang, Y., Zhao, R., Xie, Y., Lei, X., *et al.* (2024) Gastrointestinal Stromal Tumors Regulate Macrophage M2 Polarization through the MIF/CXCR4 Axis to Immune Escape. *Frontiers in Immunology*, **15**, Article ID: 1431535. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1431535>