

· 脑胶质瘤分子病理研究专题 ·

THBS1在胶质母细胞瘤中的表达及功能研究

胡慧敏 李泽生 刘博涵 陈彦坤 彭大钊

100070 北京市神经外科研究所 首都医科大学附属北京天坛医院分子神经病理室(胡慧敏、刘博涵、陈彦坤、彭大钊); 300052 天津医科大学总医院 天津市神经病学研究所 教育部中枢神经损伤与再生重点实验室 天津市神经损伤变异与再生重点实验室(李泽生)

通信作者: 彭大钊, Email: pengdazhao819@163.com

DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2024.05.003

【摘要】 目的 研究 *THBS1* 在胶质母细胞瘤(GBM)中的表达水平及功能。方法 在癌症基因组图谱计划(TCGA)和中国脑胶质瘤基因组图谱计划(CGGA)_693、CGGA_325和CGGA_301数据集中提取数据,对基因表达数据进行标准化处理后,分析 *THBS1* 在低级别胶质瘤和GBM中的表达差异以及与异柠檬酸脱氢酶(*IDH*)突变、1p/19q共缺失状态和生存预后的关系。基于单细胞测序数据、空间转录组数据,分析 *THBS1* 在胶质瘤组织中的主要分布。采用CellCall算法和MAGIC算法进一步分析 *THBS1* 在细胞相互作用网络之中的功能和 *THBS1* 相关基因及其功能,采用CIBERSORTx算法分析 *THBS1* 与免疫细胞浸润的关系。结果 *THBS1* 在GBM组织中的表达水平高于正常组织,差异有统计学意义($P < 0.05$)。在CGGA和TCGA数据集中, *THBS1* 在GBM患者中的表达水平高于低级别胶质瘤,差异有统计学意义($P < 0.01$); *THBS1* 在 *IDH* 野生型和非1p/19q共缺失型患者中的表达水平分别高于 *IDH* 突变型和1p/19q共缺失型,差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。在CGGA_693和CGGA_325数据集中, *THBS1* 基因高表达患者的生存率低于低表达患者,差异有统计学意义($P < 0.01$)。单细胞测序数据分析显示, *THBS1* 主要在胶质瘤组织的单核/巨噬细胞中表达。空间转录组数据分析显示,表达 *THBS1* 的单核/巨噬细胞在空间方面与星形胶质细胞、肿瘤细胞、神经元、少突细胞、少突胶质细胞前体细胞存在共定位。*THBS1* 阴性的单核/巨噬细胞和 *THBS1* 阳性的单核/巨噬细胞与肿瘤细胞、神经元之间细胞通信的通路活性及所依赖的配体-受体途径不同。功能富集分析显示, *THBS1* 相关基因参与囊泡介导的转运、自噬、DNA结合转录因子活性的调节等生物过程。在4个数据集中, *THBS1* 高表达组的巨噬细胞M0丰度高于低表达组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 *THBS1* 在GBM中高表达,与患者较差的预后相关; *THBS1* 调控巨噬细胞M0浸润,表达 *THBS1* 的单核/巨噬细胞可能调控GBM的微环境,进而调控肿瘤发生。

【关键词】 胶质瘤; 胶质母细胞瘤; 预后; *THBS1*; 细胞通讯**基金项目:** 国家自然科学基金(81972816);北京市科技新星计划(20220484029);国家蛋白质科学基础设施(北京)北大分中心开放课题(KF-202301)**Expression and function of *THBS1* in glioblastoma** Hu Huimin, Li Zesheng, Liu Bohan, Chen Yankun, Peng Dazhao

Molecular Neuropathology Unit, Beijing Neurosurgical Institute & Beijing Tiantan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100070, China (Hu HM, Liu BH, Chen YK, Peng DZ); Tianjin Medical University General Hospital & Tianjin Institute of Neurology & Key Laboratory of Post-Neuroinjury Repair and Regeneration in Central Nervous System, Ministry of Education & Tianjin Key Laboratory of Neuroinjury Variation and Regeneration, Tianjin 300052, China (Li ZS)

Corresponding author: Peng Dazhao, Email: pengdazhao819@163.com

【Abstract】 Objective To explore the expression level and function of *THBS1* in glioblastoma (GBM). **Methods** The data was extracted from the Cancer Genome Atlas (TCGA) and Chinese Glioma Genome Atlas (CGGA)_693, CGGA_325 and CGGA_301 datasets. Gene expression data were normalized to analyze the differential expression of *THBS1* in low-grade gliomas and GBM, as well as its relationship with isocitrate dehydrogenase (*IDH*) mutations, 1p/19q codeletion, and survival prognosis. Based on single-cell sequencing data and spatial transcriptomic data, the distribution of *THBS1* in glioma tissue was analyzed. The CellCall algorithm and MAGIC algorithm were used to explore the function of *THBS1* in the cell-cell

communication, *THBS1* related genes and their functions. The CIBERSORTx algorithm was used to analyze the relationship between *THBS1* and immune cell infiltration. **Results** The expression level of *THBS1* in GBM tissue was higher than that in normal tissue, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). In the CGGA and TCGA datasets, the expression level of *THBS1* in GBM patients was higher than that in low-grade gliomas, and the difference was statistically significant (both $P < 0.01$). The expression levels of *THBS1* in *IDH* wild-type and 1p/19q non-codeletion patients were higher than those in *IDH* mutant and 1p/19q codeletion patients, respectively, and the differences were statistically significant (both $P < 0.01$). In the CGGA_693 and CGGA-325 datasets, the survival rate of patients with high expression of *THBS1* gene was lower than that of patients with low expression, and the difference was statistically significant ($P < 0.01$). Single-cell sequencing data analysis showed that *THBS1* was mainly expressed in monocyte/macrophages of glioma tissue. Spatial transcriptome data analysis indicated that monocyte/macrophages expressing *THBS1* were spatially co-localized with astrocytes, tumor cells, neurons, oligodendrocytes, and oligodendrocyte precursor cells. The pathway activity and dependent ligand-receptor pathways of cell-cell communication between *THBS1* negative and *THBS1* positive monocytes/macrophages and tumor cells and neurons were different. Functional enrichment analysis showed that *THBS1* related genes were involved in biological processes such as vesicle mediated transport, autophagy, and regulation of DNA-binding transcription factor activity. In the four datasets, the abundance of macrophage M0 in the high expression group of *THBS1* was higher than that in the low expression group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusions** *THBS1* is highly expressed in GBM and is associated with poor prognosis in patients. *THBS1* regulates macrophage M0 infiltration, and monocytes/macrophages expressing *THBS1* may regulate the microenvironment of GBM, thereby regulating oncogenesis.

【Key words】 Glioma; Glioblastoma; Prognosis; *THBS1*; Cell communication

Fund programs: National Natural Science Foundation of China (81972816); Beijing Science and Technology Nova Plan (20220484029); Open Project of National Center for Protein Sciences at Peking University in Beijing (KF-202301)

胶质母细胞瘤(glioblastoma, GBM)是颅内最常见的原发性恶性肿瘤, 占所有胶质瘤的57%, 占CNS原发性恶性肿瘤的48%^[1]。尽管GBM的治疗取得了较大进展, 但原发肿瘤通常在切除后7~9个月复发^[2-3], 5年存活率仅为5.8%^[1]。因此, 明确GBM发生、发展的分子机制极为重要。

血小板反应蛋白-1(thrombospondin-1, *THBS1*)是细胞外基质的重要组成部分, 最初作为一种血管生成抑制因子被发现, 现已被证明参与调节多种肿瘤的发展^[4-5]。*THBS1*可以抑制内皮细胞的体外迁移, 抑制肿瘤的血管生成和诱导内皮细胞凋亡^[6], 与多种肿瘤的预后呈负相关^[5]。研究表明, *THBS1*能促进胶质瘤细胞侵袭和生长^[7]。*MYC*介导*PNO1*上调, *PNO1*能通过激活*THBS1/FAK/Akt*信号转导促进胶质瘤进展^[4]。*THBS1*是阿帕替尼潜在靶标, 靶向*THBS1*可抑制胶质瘤细胞增殖^[8]。在健康人脑组织中, *THBS1*能编码一种由星形胶质细胞分泌的突触发生因子^[9]。目前, 研究表明GBM肿瘤细胞与神经元之间存在相互作用网络, *THBS1*是神经元-胶质瘤细胞之间相互作用、介导神经回路重塑的重要因子^[10]。然而, *THBS1*在胶质瘤发生、发展中所涉及的基因表达变化和通路活性变化尚不清楚。本研究基于转录组数据、单细胞数据和空间转录组数据, 分析*THBS1*在胶质瘤中的表达情况及其与胶质

瘤预后的关系, 并探究*THBS1*潜在的功能, 以期为胶质瘤的治疗和预后评估提供可能的分子标志物。

一、资料与方法

1. 收集转录组数据及临床数据: 从癌症基因组图谱计划(the Cancer Genome Atlas, TCGA)和中国脑胶质瘤基因组图谱计划(Chinese Glioma Genome Atlas, CGGA)数据集中提取数据。在TCGA数据集中收集到702例胶质瘤样本。CGGA数据集分为CGGA_693(693例胶质瘤样本的RNA测序数据)、CGGA_325(325例胶质瘤样本的RNA测序数据)和CGGA_301(301例胶质瘤样本的微阵列数据)数据集, 对CGGA_693和CGGA_325数据集中的表达数据进行“log10FPKM”转化。

2. RNA的表达及生存预后分析: (1)通过在线数据库GEPIA2(gepia2.cancer-pku.cn/#index)^[11]比较*THBS1*在正常脑组织和GBM及低级别胶质瘤(low grade glioma, LGG)中的表达。(2)下载TCGA和CGGA数据集, 比较GBM和LGG患者的*THBS1*表达水平。(3)比较异柠檬酸脱氢酶1(isocitrate dehydrogenase 1, *IDH1*)突变型和野生型、1p/19q共缺失型和非1p/19q共缺失型胶质瘤患者的*THBS1*表达水平。(4)分析*THBS1*不同表达水平GBM患者的生存情况。

3. 空间转录组数据分析: 从GEO数据库(<https://>

www.ncbi.nlm.nih.gov/gds)^[12] 下载空间转录组数据 GSE194329。使用 Seurat(v4.0.1)R 包对空间转录组数据进行预处理: (1) 对数据进行线粒体 RNA 和核糖体 RNA 过滤, 并过滤在 < 10 个 spot 中表达的基因, 以保留高质量数据。(2) 采用 SPOTlight(v1.5.1) 包对空间转录组数据进行反卷积, SPOTlight 以基于随机种子的非负矩阵分解回归为核心, 使用细胞类型标志基因和非负最小二乘初始化, 以单细胞转录组数据作为参考数据集, 对空间转录组数据进行反卷积, 由此获得各种细胞类型在空间方面的表达分布。

4. 单细胞数据分析: 采用 TISCH 数据库(<https://tisch.comp-genomics.org/home/>) 分析 *THBS1* 的单细胞分布^[13]。单细胞转录组数据集 GSE84465 从 GEO 数据库下载^[14], 并使用 Seurat(v4.0.1)R 包进行分析。(1) 使用“NormalizeData”功能对数据进行标准化; (2) 使用“FindVariableFeatures”功能挑选表达水平变化最大的 2 000 种基因进行后续分析; (3) 使用“ScaleData”功能对以上 2 000 种基因进行归一化; (4) 使用“RunPCA”“FindNeighbors”“FindClusters”功能对细胞进行聚类分析; (5) 对细胞群进行注释; (6) 使用 ClusterGVis 包对每种细胞类型中的标志基因以及富集到的通路进行可视化。根据“counts(*THBS1*) > 0”将单核/巨噬细胞注释为 *THBS1* 阳性单核/巨噬细胞, 反之则为 *THBS1* 阴性单核/巨噬细胞。采用 CellCall 算法分析细胞间通讯^[15], 该算法还可通过 GSEA 分析检测细胞通信激活的下游转录因子。通过 MAGIC 算法在单细胞水平分析 *THBS1* 相关的基因及参与的通路, 根据 knnDREMI 对相关基因进行聚类, 按照 *THBS1* 低表达、中表达和高表达分别聚类为 Module 1 ~ 3^[16]。

5. 免疫浸润分析: 通过 CIBERSORTx 算法(<https://cibersortx.stanford.edu/index.php>)^[17] 分析 GBM 中 *THBS1* 的表达与多种免疫细胞丰度的关系。

6. 统计学方法: 采用 GraphPad Prism 8 和 R 语言对数据进行分析并绘制。计数资料用频数表示, 组间比较采用 χ^2 检验; 计量资料均符合正态分布, 组间比较采用独立样本 *t* 检验。采用 Kaplan-Meier 生存曲线分析 *THBS1* 基因表达水平与 GBM 患者预后的关系, 采用对数秩(Mantel-Cox) 检验进行比较。双侧检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

二、结果

1. *THBS1* mRNA 的表达分析: GEPIA2 在线数据库分析显示, *THBS1* 基因在 GBM 组织中的表达水平高于正常组织, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。LGG

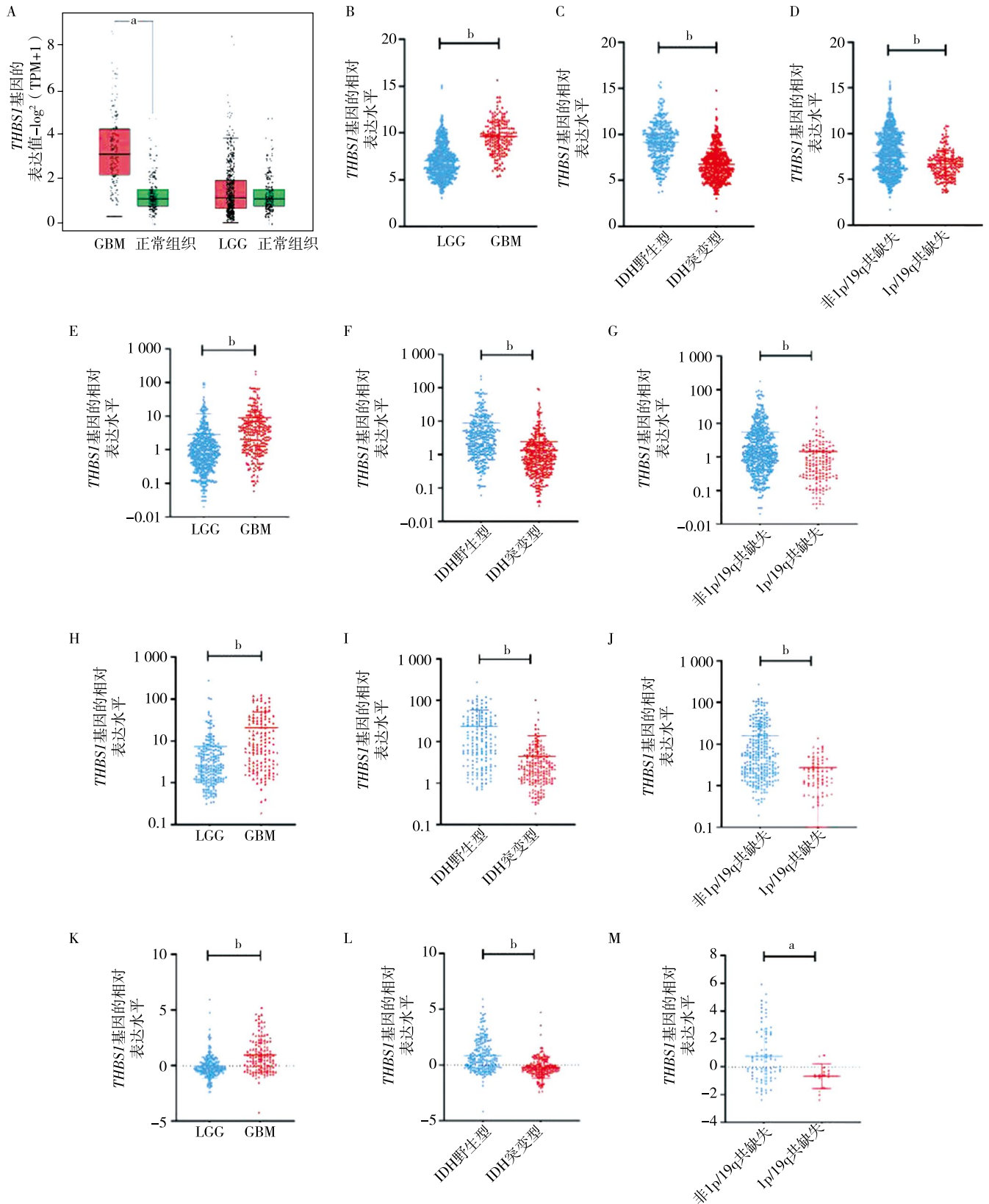
组织与正常组织的 *THBS1* 基因表达水平比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。在 TCGA、CGGA_693、CGGA_325 和 CGGA_301 数据集中, GBM 组织、*IDH* 野生型和非 1p/19q 共缺失型的 *THBS1* 基因表达水平分别高于 LGG 组织、*IDH* 突变型和 1p/19q 共缺失型, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见图 1。

2. *THBS1* 基因表达水平与 GBM 患者的生存预后分析: *THBS1* 基因在 GBM 组织中高表达, 进一步分析 *THBS1* 基因表达水平与 GBM 患者预后的关系。在 TCGA 数据集中, *THBS1* 基因高表达患者和低表达患者的生存率比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。在 CGGA_693 和 CGGA_325 数据集中, *THBS1* 基因高表达患者的生存率低于低表达患者, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。在 CGGA_301 数据集中, *THBS1* 基因高表达患者与低表达患者的生存率比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图 2。

3. *THBS1* 基因在 GBM 组织中的表达: 采用 TISCH 数据库分析, 在多个单细胞测序数据集中, *THBS1* 基因主要在单核/巨噬细胞中表达。此外, 在内皮细胞、恶性细胞和星形胶质细胞样恶性细胞中检测到 *THBS1* 基因, 而在 CD4⁺T 细胞、调节性 T 细胞和少突胶质细胞前体细胞等细胞中少有分布。GBM 组织的空间转录组数据分析显示, 表达 *THBS1* 基因的单核/巨噬细胞在空间方面与星形胶质细胞、肿瘤细胞、神经元、少突细胞、少突胶质细胞前体细胞共定位, 而与血管区较少存在共定位。见图 3。

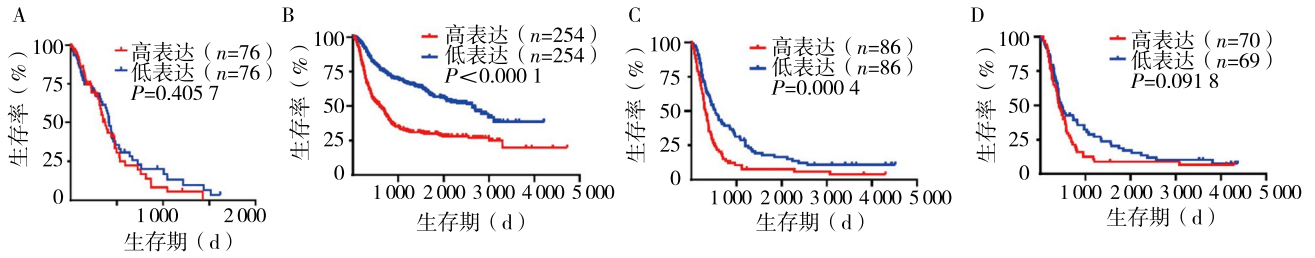
4. 细胞间通讯分析: *THBS1* 阳性单核/巨噬细胞与上述共定位细胞的细胞间通讯分析结果显示, *THBS1* 阳性和阴性的单核/巨噬细胞与不同细胞间通讯的通路活性不同。与 *THBS1* 阴性单核/巨噬细胞相比, *THBS1* 阳性单核/巨噬细胞与肿瘤细胞间信号会富集到 PI3K-Akt 信号通路, 未富集到 mTOR 信号通路、MAPK 信号通路和 Adipocytokine 信号通路。同时, 富集到的 Th17 细胞分化、Hippo 信号通路、FoxO 信号通路和细胞衰老等的通路活性增强, *THBS1* 阳性单核/巨噬细胞与神经元间通讯的 Jak-STAT 通路活性减弱。见图 4A。

THBS1 阳性和阴性的单核/巨噬细胞与不同细胞间的通讯途径不同。与 *THBS1* 阴性单核/巨噬细胞相比, *THBS1* 阳性单核/巨噬细胞与神经元间的通讯新出现了 EREG-EGFR、EREG-ERBB4、AREG-EGFR 途径, 并且与这些途径的相关性更强。与 *THBS1* 阴性单核/巨噬细胞相比, *THBS1* 阳性单核/巨噬细胞与肿瘤细胞间的通讯途径同样新出现了 EREG-



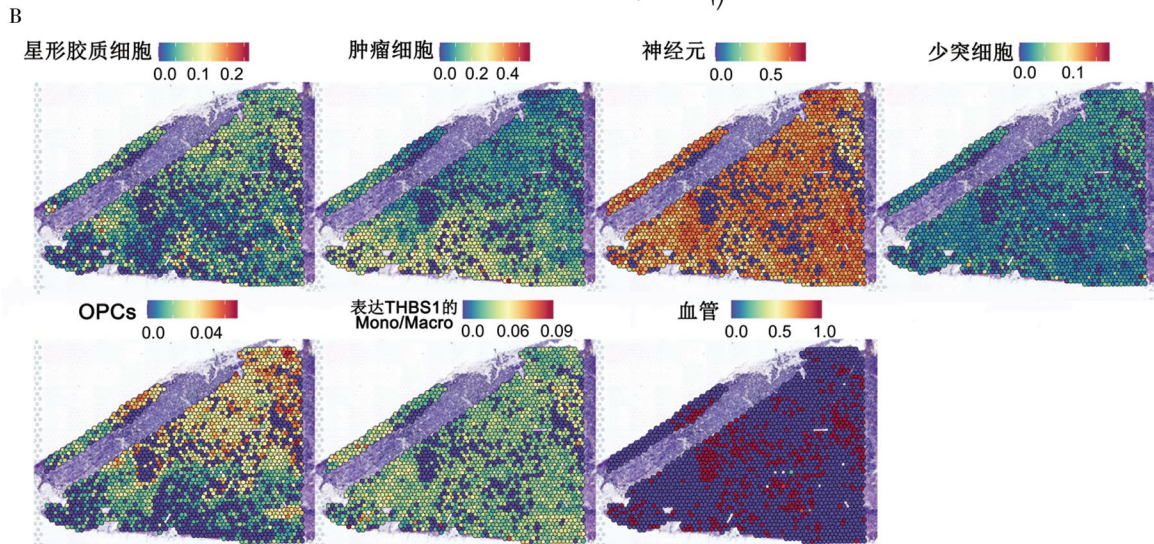
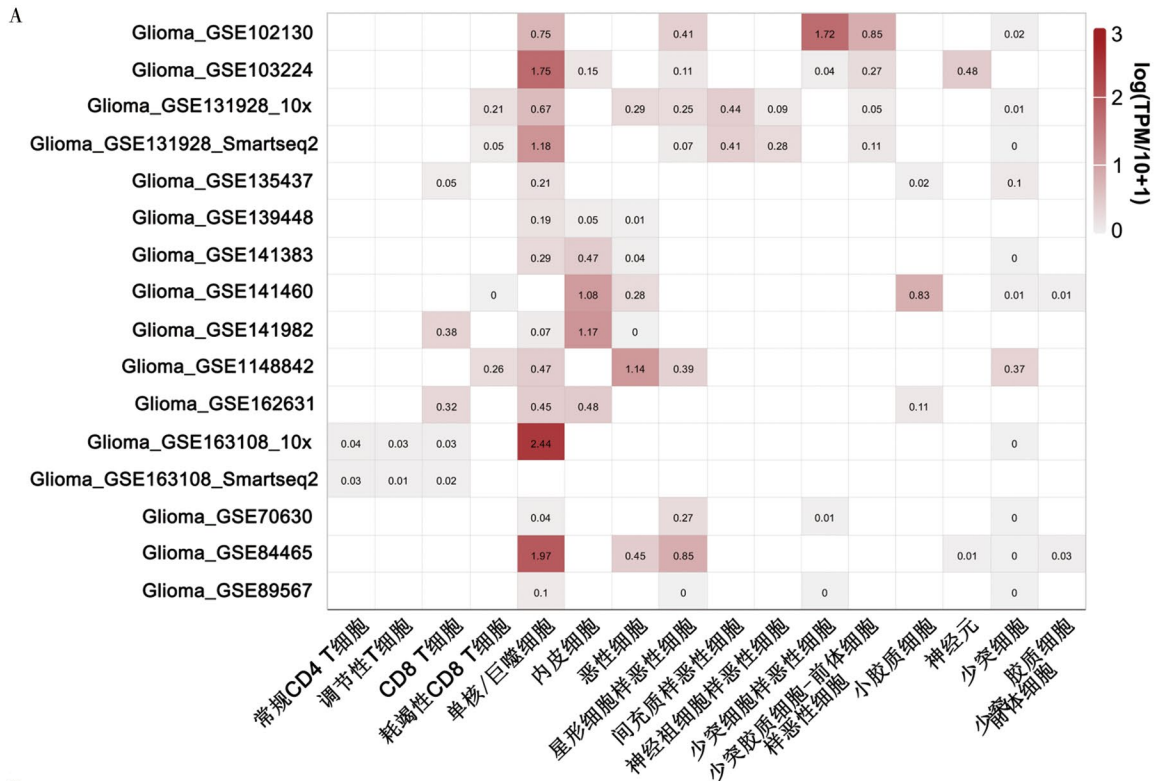
注: A 为正常脑组织与GBM、LGG中 *THBS1* 的表达水平比较; B ~ D 依次为TCGA数据集中, *THBS1* 在GBM和LGG、*IDH*突变型和野生型、1p/19q共缺失状态和非1p/19q共缺失状态中的表达水平差异; E ~ M 依次为CGGA_693、CGGA_325和CGGA_301数据集中, *THBS1* 在GBM和LGG、*IDH*突变型和野生型、1p/19q共缺失状态和非1p/19q共缺失状态中的表达水平差异; TCGA 癌症基因组图谱计划; CGGA 中国脑胶质瘤基因组图谱计划; *THBS1* 血小板反应蛋白-1; GBM 胶质母细胞瘤; LGG 低级别胶质瘤; * $P < 0.05$; ^b $P < 0.001$

图1 TCGA、CGGA数据集中 *THBS1* 基因的表达水平



注: A为TCGA数据集; B~D依次为CGGA_693、CGGA_325和CGGA_301数据集; TCGA 癌症基因组图谱计划; CGGA 中国脑胶质瘤基因组图谱计划; THBS1 血小板反应蛋白-1; GBM 胶质母细胞瘤

图2 在TCGA、CGGA数据集中不同THBS1基因表达水平的GBM患者的生存率比较



注: A为基于多个单细胞数据集分析THBS1在不同的细胞中的表达水平; B为基于空间转录组数据分析THBS1的空间分布; THBS1 血小板反应蛋白-1; OPCs 少突胶质细胞前体细胞

图3 THBS1在不同细胞中的分布及THBS1表达细胞的空间分布

EGFR、EREG-ERBB4、AREG-EGFR途径,但不依赖于IL1A-IL1RAP、INHBA-ACVR2A、TNF-TNFRSF1A途径。见图4B。通过GSEA分析细胞间通信下游的转录因子,显示THBS1阳性单核/巨噬细胞与肿瘤细胞、神经元细胞间的通信可以激活下游的转录因子。见图4C。

5. THBS1相关基因及功能分析:采用MAGIC算法分析THBS1的相关基因,根据THBS1的低、中和高表达,将相关基因聚类为Module 1~3。在与THBS1呈正相关和负相关的基因中,根据相关性的绝对值大小排序,结果显示与THBS1相关性最强的前60个基因均与THBS1呈正相关。功能富集分析显示,60个基因与囊泡介导的转运、自噬、DNA结合转录因子活性的调节、甘油三酯代谢过程、正向

调节蛋白磷酸化等功能有关。见图5。

6. THBS1表达与免疫细胞浸润的关系:CIBERSORTx算法分析结果显示,在4个数据集中,THBS1高表达组的巨噬细胞M0丰度高于低表达组,差异有统计学意义($P < 0.05$);在CGGA_693和CGGA_301数据集中,THBS1高表达组的巨噬细胞M1丰度高于低表达组,差异有统计学意义($P < 0.05$);在CGGA_693和CGGA_325数据集中,THBS1高表达组的巨噬细胞M2丰度低于低表达组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图6。

讨论 THBS1是一种血管生成抑制因子,是细胞外基质的重要组成部分,参与调节肿瘤的发展,与多种癌症的患者预后呈负相关^[4-5]。GBM是颅内最常见的原发性恶性肿瘤,具有侵袭性强、恶性程

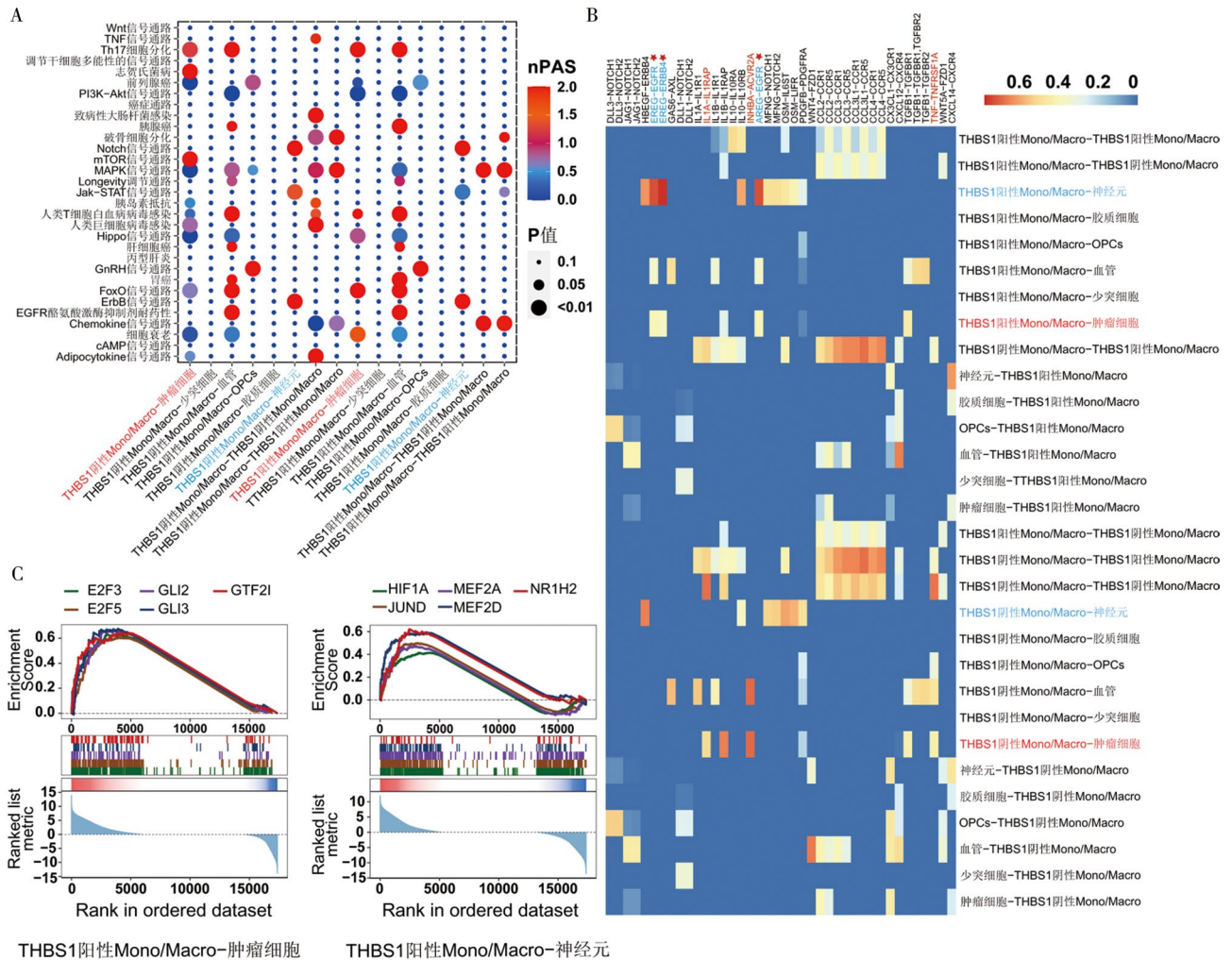
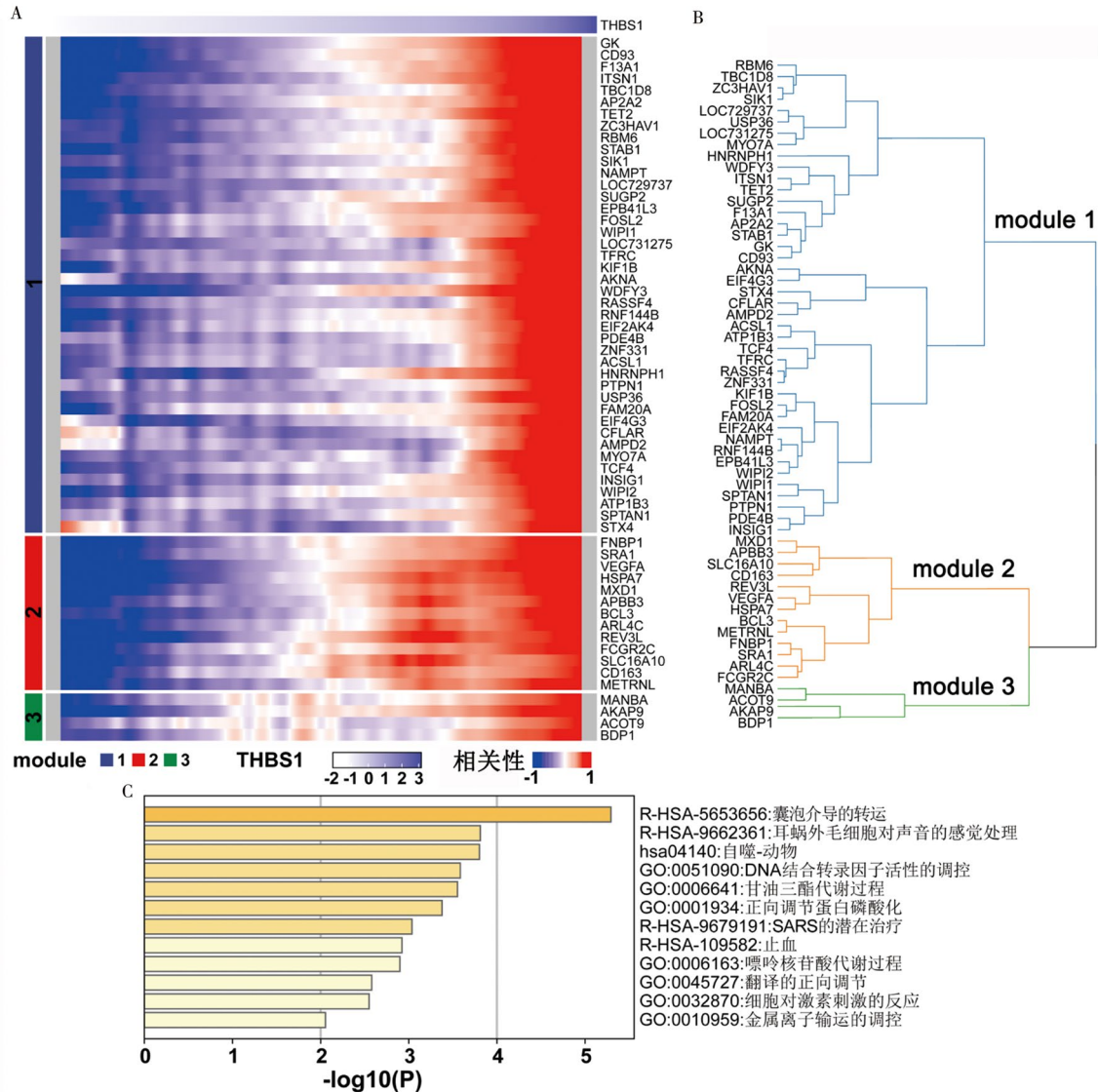


图4 THBS1阳性和阴性的单核/巨噬细胞与其他细胞的细胞通信分析

注: A为THBS1阳性和阴性的单核/巨噬细胞与其他细胞的细胞间通讯的通路活性差异; B为THBS1阳性和阴性的单核/巨噬细胞与其他细胞的细胞间通讯所依赖的途径,蓝色至红色(0~0.6)代表相互作用由弱至强变化; C为THBS1阳性的单核/巨噬细胞与肿瘤细胞、神经元细胞间通讯激活的下游转录因子; THBS1血小板反应蛋白-1; nPAS通路活性评分; Mono/Macro单核/巨噬细胞; OPCs少突胶质细胞前体细胞; enrichment score富集分数; ranked list metric排序度量; rank in ordered dataset有序数据集中的排序



注: A为与 *THBS1* 相关的基因热图; B为 *THBS1* 相关基因的聚类分析; C为 *THBS1* 相关基因的功能富集分析; *THBS1* 血小板反应蛋白-1

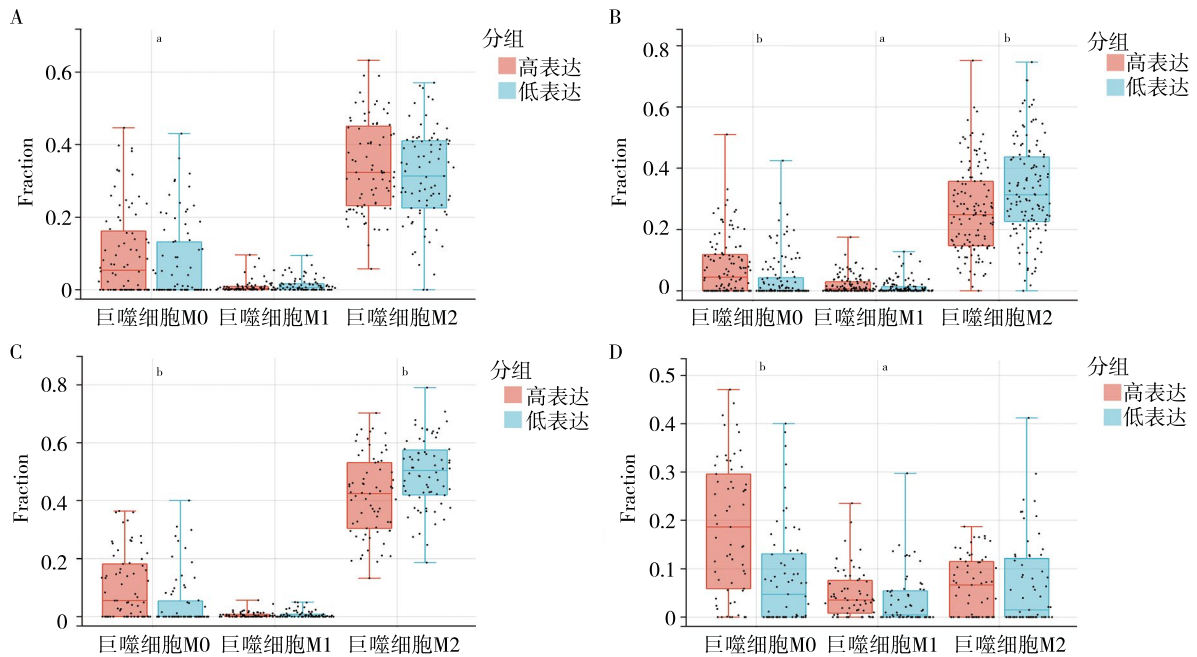
图5 *THBS1* 相关基因及其功能分析

度高、预后差、复发率高的特征^[1]。目前研究发现, *THBS1* 可促进胶质瘤的侵袭和生长^[4], 阿帕替尼能靶向 *THBS1* 进而抑制胶质瘤细胞增殖^[8]。此外, *THBS1* 还是介导胶质瘤细胞-神经元之间神经回路重塑的重要因子^[10]。因此, 研究 *THBS1* 基因在正常组织、LGG 和 GBM 组织中的表达差异、与 *IDH* 突变和 1p/19q 共缺失状态以及 GBM 患者预后的关系有助于明确 GBM 发生发展的全新分子机制, 为 GBM 患者的治疗和预后评估提供新的靶点和分子标志物。

本研究结果显示, *THBS1* 基因在 GBM 组织中的表达高于正常组织和 LGG, 在 LGG 中的表达与正常组织比较差异无统计学意义。 *IDH* 突变以及 1p/19q 共缺失状态是临床中判断胶质瘤预后的重要指标^[18-19], *IDH* 野生型和非 1p/19q 共缺失型胶质瘤患者预后较差。

本研究结果显示, *THBS1* 基因在 *IDH* 野生型和非 1p/19q 共缺失型胶质瘤中的表达更高, 提示 *THBS1* 在预后较差患者中的表达水平较高; 在 CGGA_693、CGGA_325 数据集中, *THBS1* 高表达的 GBM 患者的生存率低于低表达患者; 在 CGGA_301 数据集中, 虽然 *THBS1* 基因高表达患者与低表达患者的生存率比较, 差异无统计学意义, 但 *THBS1* 高表达 GBM 患者的患者预后仍然较差; 而在 TCGA 数据集中, 不同 *THBS1* 表达水平的 GBM 患者生存率比较, 差异无统计学意义, 这可能与 TCGA 与 CGGA 纳入的患者人种不同有关。未来可进一步分析研究 *THBS1* 在不同人种胶质瘤患者中的作用和意义。

本研究采用单细胞数据和空间转录组数据进行分析以进一步探究 *THBS1* 潜在的功能。结果显示,



注: A为TCGA数据集; B~D依次为CGGA_693、CGGA_325和CGGA_301数据集; TCGA 癌症基因组图谱计划; CGGA 中国脑胶质瘤基因组图谱计划; *THBS1* 血小板反应蛋白-1; * $P < 0.05$; ^b $P < 0.001$

图6 *THBS1* 表达与多种免疫细胞丰度关系的分析

THBS1 主要在单核/巨噬细胞中表达; 在GBM组织空间分布方面, 表达*THBS1*的单核/巨噬细胞与星形胶质细胞、肿瘤细胞、神经元、少突细胞及少突胶质细胞前体细胞共定位, 与血管区较少存在定位, 提示*THBS1*阳性的单核/巨噬细胞可能对GBM微环境有重要的调控作用。此外, 为进一步探究*THBS1*阳性的单核/巨噬细胞的潜在功能, 本研究采用CellCall算法分析其与上述共定位细胞是否存在细胞间相互作用网络, 结果显示*THBS1*阳性和阴性的单核/巨噬细胞与肿瘤细胞、神经元等细胞通信的激活通路不同。与*THBS1*阴性的单核/巨噬细胞不同, *THBS1*阳性的单核/巨噬细胞与肿瘤细胞、神经元细胞间的通信均出现新的途径, 即*EGFR*-*EGFR*、*EGFR*-*ERBB4*、*AREG*-*EGFR*途径, 促使下游相关的转录因子激活。这些*EGFR*信号通路的激活可能是*THBS1*阳性和阴性的单核/巨噬细胞与肿瘤细胞、神经元等细胞通信的*PI3K*-*Akt*信号通路、*mTOR*信号通路、*MAPK*信号通路和*Jak*-*STAT*通路活性不同的原因^[20-21], 但仍需实验进一步验证。本研究结果显示, *THBS1*相关基因参与囊泡介导的转运、自噬、DNA结合转录因子活性的调节等。*THBS1*参与神经元-胶质瘤细胞之间的相互作用介导的神经回路重塑^[10], 而*THBS1*阳性的单核/巨噬细胞与肿瘤细胞、神经元细胞间的通讯依赖于新的*EGFR*-*EGFR*、

EGFR-*ERBB4*和*AREG*-*EGFR*途径。这些结果提示, 表达*THBS1*的单核/巨噬细胞可能调控GBM的肿瘤微环境, 通过囊泡转运某些因子进而改变突触连接, 重塑GBM细胞与神经元之间的神经回路, 但目前尚缺乏足够的证据验证以上猜想。

*CIBERSORTx*算法分析结果显示, 4个数据集中*THBS1*高表达组的巨噬细胞M0丰度均高于低表达组, 而在CGGA_693和CGGA_325数据集中, *THBS1*高表达组的巨噬细胞M2丰度低于低表达组, 该结果一定程度上与之前认为的巨噬细胞M2浸润与肿瘤恶性特征有关的观点矛盾^[22]。相关研究表明, 胶质瘤相关巨噬细胞较为复杂, GBM中存在大量的巨噬细胞M0而不是巨噬细胞M1或M2浸润^[23-24]。*THBS1*的表达水平与巨噬细胞M0的浸润表现有关, 提示*THBS1*在调控GBM相关巨噬细胞的浸润中起作用。

本研究结果为GBM的研究提供了靶点和分子标志物, 初步探索了*THBS1*参与GBM发生、发展的潜在分子机制, 发现*THBS1*促进M0巨噬细胞的浸润, 表达*THBS1*的单核/巨噬细胞是调控GBM微环境的重要因素。*THBS1*可能在GBM的发生和进展中起关键作用, 对其作用机制进行充分的实验验证和深入解析有望为脑胶质瘤诊断和治疗的发展提供新的理论依据。

利益冲突 文章所有作者共同认可文章无相关利益冲突

作者贡献声明 数据分析、论文撰写为胡慧敏, 研究设计、数据分析为彭大钊, 提供分析工具为李泽生、刘博涵, 文献调研与整理为陈彦坤

参 考 文 献

- [1] Tan AC, Ashley DM, López GY, et al. Management of glioblastoma: state of the art and future directions[J]. *CA Cancer J Clin*, 2020, 70(4): 299-312. DOI: 10.3322/caac.21613.
- [2] McFaline-Figueroa JR, Lee EQ. Brain tumors[J]. *Am J Med*, 2018, 131(8): 874-882. DOI: 10.1016/j.amjmed.2017.12.039.
- [3] Seyfrid M, Maich WT, Shaikh VM, et al. CD70 as an actionable immunotherapeutic target in recurrent glioblastoma and its microenvironment[J]. *J Immunother Cancer*, 2022, 10(1): e003289. DOI: 10.1136/jitc-2021-003289.
- [4] Chen X, Guo ZQ, Cao D, et al. MYC-mediated upregulation of PNO1 promotes glioma tumorigenesis by activating THBS1/FAK/Akt signaling[J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(3): 244. DOI: 10.1038/s41419-021-03532-y.
- [5] Kaur S, Bronson SM, Pal-Nath D, et al. Functions of thrombospondin-1 in the tumor microenvironment[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(9): 4570. DOI: 10.3390/ijms22094570.
- [6] Jiménez B, Volpert OV, Crawford SE, et al. Signals leading to apoptosis-dependent inhibition of neovascularization by thrombospondin-1 [J]. *Nat Med*, 2000, 6(1): 41-48. DOI: 10.1038/71517.
- [7] Daubon T, Léon C, Clarke K, et al. Deciphering the complex role of thrombospondin-1 in glioblastoma development[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 1146. DOI: 10.1038/s41467-019-08480-y.
- [8] Yao H, Liu J, Zhang C, et al. Apatinib inhibits glioma cell malignancy in patient-derived orthotopic xenograft mouse model by targeting thrombospondin 1/myosin heavy chain 9 axis[J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(10): 927. DOI: 10.1038/s41419-021-04225-2.
- [9] Christopherson KS, Ullian EM, Stokes CC, et al. Thrombospondins are astrocyte-secreted proteins that promote CNS synaptogenesis[J]. *Cell*, 2005, 120(3): 421-433. DOI: 10.1016/j.cell.2004.12.020.
- [10] Krishna S, Choudhury A, Keough MB, et al. Glioblastoma remodelling of human neural circuits decreases survival[J]. *Nature*, 2023, 617(7961): 599-607. DOI: 10.1038/s41586-023-06036-1.
- [11] Tang Z, Kang B, Li C, et al. GEPIA2: an enhanced web server for large-scale expression profiling and interactive analysis[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(W1): W556-W560. DOI: 10.1093/nar/gkz430.
- [12] Ren Y, Huang Z, Zhou L, et al. Spatial transcriptomics reveals niche-specific enrichment and vulnerabilities of radial glial stem-like cells in malignant gliomas[J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 1028. DOI: 10.1038/s41467-023-36707-6.
- [13] Sun D, Wang J, Han Y, et al. TISCH: a comprehensive web resource enabling interactive single-cell transcriptome visualization of tumor microenvironment[J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(D1): D1420-D1430. DOI: 10.1093/nar/gkaa1020.
- [14] Darmanis S, Sloan SA, Croteo D, et al. Single-cell RNA-Seq analysis of infiltrating neoplastic cells at the migrating front of human glioblastoma[J]. *Cell Rep*, 2017, 21(5): 1399-1410. DOI: 10.1016/j.celrep.2017.10.030.
- [15] Zhang Y, Liu T, Hu X, et al. CellCall: integrating paired ligand-receptor and transcription factor activities for cell-cell communication[J]. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49(15): 8520-8534. DOI: 10.1093/nar/gkab638.
- [16] van Dijk D, Sharma R, Nainys J, et al. Recovering gene interactions from single-cell data using data diffusion[J]. *Cell*, 2018, 174(3): 716-729.e27. DOI: 10.1016/j.cell.2018.05.061.
- [17] Newman AM, Steen CB, Liu CL, et al. Determining cell type abundance and expression from bulk tissues with digital cytometry[J]. *Nat Biotechnol*, 2019, 37(7): 773-782. DOI: 10.1038/s41587-019-0114-2.
- [18] Louis DN, Perry A, Wesseling P, et al. The 2021 WHO classification of tumors of the central nervous system: a summary[J]. *Neuro Oncol*, 2021, 23(8): 1231-1251. DOI: 10.1093/neuonc/noab106.
- [19] 陈慧媛, 刘幸, 崔云, 等. 4级IDH突变型星形细胞瘤的分子病理学及组织病理学特征分析[J]. *神经疾病与精神卫生*, 2023, 23(5): 334-339. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2023.05.006.
Chen HY, Liu X, Cui Y, et al. Genetic alterations and histopathological features of IDH-mutant astrocytoma grade 4[J]. *Journal of Neuroscience and Mental Health*, 2023, 23(5): 334-339.
- [20] Le Rhun E, Preusser M, Roth P, et al. Molecular targeted therapy of glioblastoma[J]. *Cancer Treat Rev*, 2019, 80: 101896. DOI: 10.1016/j.ctrv.2019.101896.
- [21] Fan QW, Weiss WA. Targeting the RTK-PI3K-mTOR axis in malignant glioma: overcoming resistance[J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2010, 347: 279-296. DOI: 10.1007/82_2010_67.
- [22] Shen L, Li H, Shi Y, et al. M2 tumour-associated macrophages contribute to tumour progression via legumain remodelling the extracellular matrix in diffuse large B cell lymphoma[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 30347. DOI: 10.1038/srep30347.
- [23] Gabrusiewicz K, Rodriguez B, Wei J, et al. Glioblastoma-infiltrated innate immune cells resemble M0 macrophage phenotype[J]. *JCI Insight*, 2016, 1(2): e85841. DOI: 10.1172/jci.insight.85841.
- [24] Huang L, Wang Z, Chang Y, et al. EFEMP2 indicates assembly of M0 macrophage and more malignant phenotypes of glioma[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(9): 8397-8412. DOI: 10.18632/aging.103147.

(收稿日期: 2023-08-18)

(本文编辑: 郑圣洁)