

Literature share

---

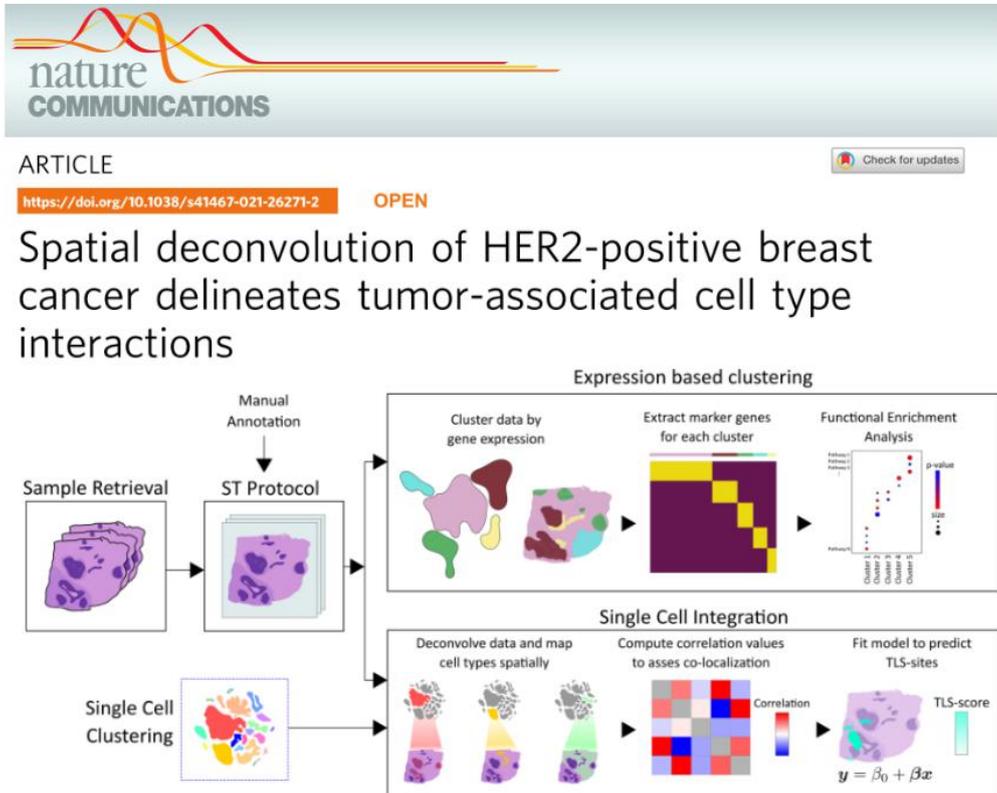


**空间/单细胞转录组联合全新解读人 Her2<sup>+</sup>  
乳腺癌肿瘤相关细胞空间位置的相互作用**

北京百迈客生物科技有限公司  
医学事业部  
2022年1月

# 空间/单细胞转录组联合全新解读人 Her2<sup>+</sup>乳腺癌肿瘤相关细胞空间位置的相互作用

——经典前沿文献分享



英文题目：Spatial deconvolution of HER2-positive breast cancer delineates tumor-associated cell type interactions

发表杂志：Nature Communications

影响因子：15

发表日期：20211014

发表单位：瑞典斯德哥尔摩 KTH 皇家理工学院基因技术部生命科学实验室

## 研究背景

转录组学和遗传学研究已经彻底改变了人们对癌症的认识，并导致了新的诊断和治疗工具的发展。单细胞 RNA 测序(scRNA-seq)技术的最新进展为肿瘤的细胞组成提供了广泛的见解。在几十年的临床和临床前研究的基础上，大量的 scRNA-seq 研究分析了肿瘤相关细胞，其中一些主要集中在癌细胞、免疫细胞或成纤维细胞。在这些研究中，细胞类型根据它们的分子分布被分裂成更细微的差别。这些细胞亚群共同形成复杂的生态系统，不断相互作用

用，控制肿瘤的进展和治疗结果；然而，关于**肿瘤相关细胞亚群如何和在哪里相互作用的许多基本机制仍未解决**。

乳腺癌是十大癌种之一，其死亡率居高不下。乳腺癌分为几个亚型，包括 HER2 阳性肿瘤，其定义是肿瘤细胞富集 HER2(人表皮生长因子受体 2)表达。估计 15%~20%的乳腺癌肿瘤为 HER2 阳性，这些肿瘤通常表现为侵袭性生长，需要强化治疗。靶向 HER2 治疗的引入大大改善，许多转移性 HER2 阳性乳腺肿瘤患者仍然由于对抗 HER2 治疗的最初或获得性耐药性而死于该疾病。三级淋巴样结构(TLSs)对 HER2 阳性肿瘤的治疗结果具有一定的预测能力，TLSs 是一种可在肿瘤等组织中异位形成的淋巴样结构。迄今为止，免疫检查点阻断治疗仅在临床上被批准用于治疗 TNBC，在 2021 年 9 月 6 日空间联合单细胞揭示了三阴乳腺癌（TNBC）最全面的细胞表型和肿瘤亚型，促进了 TNBC 的靶向治疗。因此，有必要了解 HER2 阳性肿瘤空间分子图谱和细胞组成相互作用的基本机制。

2021 年 10 月 14 日，瑞典斯德哥尔摩 KTH 皇家理工学院基因技术部生命科学实验室 Alma Andersson 团队，在国际期刊 *Nature Communications* 上发表了题为“Spatial deconvolution of HER2-positive breast cancer delineates tumor-associated cell type interactions”的研究论文，该团队利用**空间转录组（Spatial Transcriptomics）、单细胞转录组等技术，探索了 Her2 阳性乳腺肿瘤中的空间基因表达**；研究发现，基于空间基因表达的聚类能够实现数据驱动的**肿瘤注释和评估患者内部和患者间的异质性**，从中发现了免疫和肿瘤过程的共同基因表达特征；并结合整合单细胞数据构建了一个预测模型来推断三级淋巴样结构的存在。总之，结合不同的数据模式来**定义肿瘤中细胞相互作用的高分辨率时空图谱**，并提供了跨组织和疾病多维度研究手段。

## 研究方法

该课题的研究人员收集了来自 8 例 Her2+乳腺癌患者 36 份样本，通过空间转录组，构建了 Her2+乳腺癌患者免疫和肿瘤核心区域特征图谱，患者内部和患者间的异质性，并结合单细胞转录组数据（5 例 Her2+乳腺癌患者）联合建立三级淋巴结构（TLS）模型，有效对不同肿瘤进行预后诊疗。

空间转录组联合单细胞数据深度揭示了 I 型干扰素相关的巨噬细胞、T 细胞相互作用的高分辨率细胞状态共定位模式，基于空间异质性建立有效肿瘤预后模型，为肿瘤的诊疗提供有效手段。



图 1 研究思路

### 研究结论

- ◆ Her2+乳腺癌患者之间特有的空间基因表达图谱；
- ◆ 在空间位置上 CXCL9/10 表达的 M $\phi$ （巨噬细胞）与特定 T 细胞存在共定位，表明 M $\phi$ :CXCL10 可能将表达 IFIT1 的 T 细胞招募到特定的位置；
- ◆ 利用空间细胞异质性构建三级淋巴样结（TLS）构模型可以预测不同肿瘤的预后。

### 实验材料

- **材料：**空间转录组，8例 Her2+乳腺癌患者肿瘤组织区域，一共 36 张切片样本，每个患者 3 或 6 个切片；切片厚度为 16 $\mu$ m；单细胞转录组 5 例 Her2+乳腺癌患者。
- **方法：**scRNA-seq、空间转录组（**Spatial Transcriptomics**）、IHC 等。

## 研究结果

### 1. Her2<sup>+</sup>乳腺癌空间基因表达特征

本研究纳入了 **8 例** Her2<sup>+</sup>乳腺癌患者，探讨肿瘤内和样本间空间异质性。作者团队利用**空间转录组技术**检测 36 个组织切片的空间基因表达特征，并结合病理检测诊断对肿瘤区域进行功能注释。通过病理学家对肿瘤切片 HE 染色的形态进行检测，这些区域从形态学上可以划分为：**原位癌、浸润性癌、脂肪组织、免疫浸润或结缔组织**；同时空间转录组技术检测每个患者空间基因表达特征，依据这些特征基因通过降维聚类可以将肿瘤划分 **7 个不同功能区域 cluster**，这些基于表达 cluster 与病理学家标注的区域具有很高的一致性。

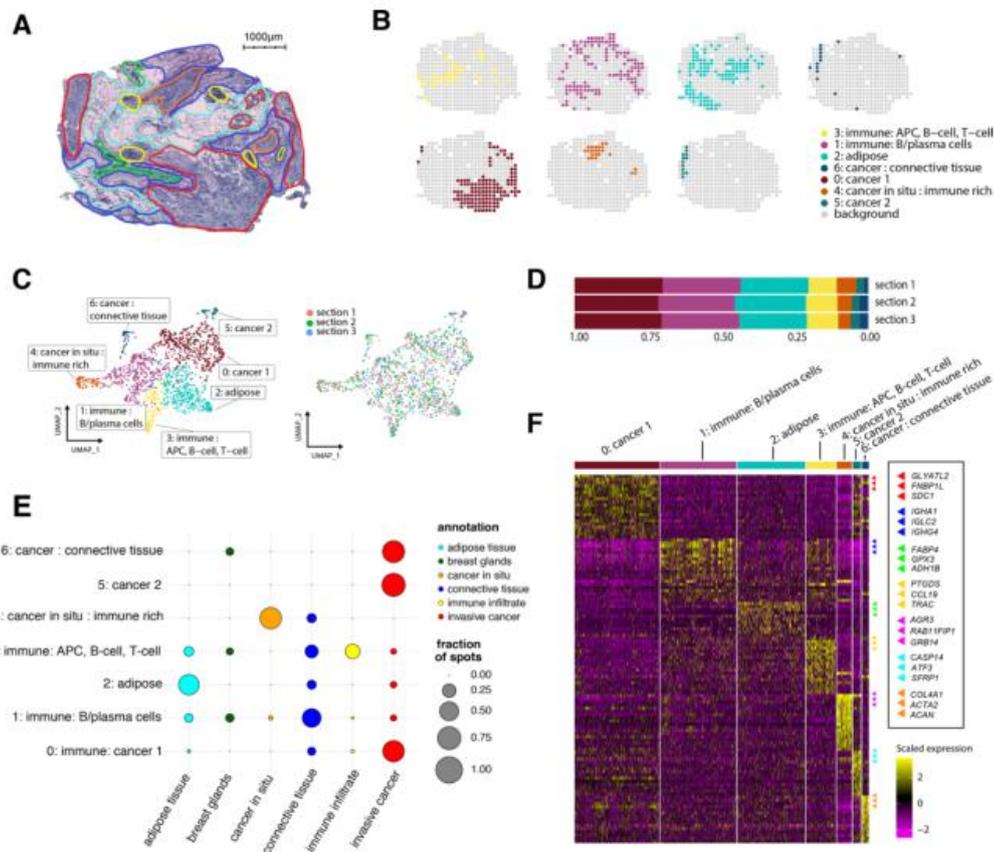


图 2. 肿瘤患者空间基因表达特征

通过计算属于每个簇的区域内 spot 的比例，将病理学家标注的区域与基于表达的簇关联起来。免疫相关过程丰富的簇与免疫浸润很好地重叠，而与癌症相关通路聚集的簇则落在癌区，结果表明病理学家对组织区域的注释和空间转录组的数据基因表达定义的不同区域簇之间建立了一致联系。值得注意的是，原位癌区域仅由三个物理上分离但注释相同的点组成，这证明了 ST 的敏感性，并验证了群集不仅是由物理上的邻近驱动的。在患者 H 中，标记为

原位癌的部分区域在所有重读中是一致的，存在两个基于不同表达特征的区域；一个(pHc1)与其他癌症区域重叠，而另一个(pHc4)为免疫过程富集，并与标注的免疫浸润区域在空间上排列。这些观察表明，空间转录组技术检测的基于表达的聚类捕获了可能被肉眼检查忽略的信号，因此，在一定程度情况下，提供了更深入和细致的组织功能研究和描述。

为了探索探讨患者内部和患者间的异质性，在大多数患者的转录组水平上观察到患者内部的异质性，除 2 例患者(B 和 H)外，所有患者都有超过一个簇标记为癌组织区域。鉴于 Her2 受体在该肿瘤研究中的重要作用，还检测了整个癌组织区域的 ERBB2(编码 Her2 受体)表达，观察到在同一患者中，不同癌区域组间 ERBB2 基因表达有显著差异。证实 ERBB2 的表达存在一定的空间异质性。患者 E 在两个空间分离的肿瘤病灶上(pEc3 和 pEc4)表现出不同的转录谱，两个簇均有 ERBB2 作为标记基因，富集于与细胞生长相关的通路，但其中一个簇(pEc3)显示出高度富集于与免疫反应相关的过程，而凋亡和调节途径在另一个癌组织区域(pEc4)富集。这些发现暗示一个肿瘤灶(pEc3)可能比另一个具有更高程度的浸润免疫细胞。因此，ST 分析使我们能够进一步用具有相似形态的不同分子在空间上划分割析不同功能组织区域。

## 2. 免疫与肿瘤核心区域的特征

为了评估 Her2<sup>+</sup>乳腺癌中普遍特征的存在，比较了患者之间的群体，根据他们的标记基因，观察到免疫区域跟肿瘤核心区域存在空间特定表达的基因集，如果两个集群共享大量的标记基因，那么它们应该被认为比相反的情况更相似。在大多数组织区域 cluster 中(至少 80%)存在的标记基因被认为是具有代表性的核心特征。有两个核心基因集与免疫相关：一组有 47 个基因，包括巨噬细胞(M $\phi$ )高表达的 APOE 和 C1Q 等，提示在相应的组织区域中可能包含肿瘤相关的 M $\phi$ ；第二组是有 55 个与淋巴细胞和 MHC I 类相关的基因(如 TRBC1, HLA, HLA-D)。第三个核心基因集由 11 个基因组成，其中几个基因与癌症和增殖生长相关的(如 ERBB2、EPCAM 和 CDH1)，为明确起见，上述的癌症超级基因集仅由癌症相关的簇组成，但并非所有这些簇都是这一组的成员。

## 3. 通过整合单细胞数据推断组织区域细胞类型

考虑到不同细胞类型之间的空间排列和相互作用模式对疾病进展和治疗的影响，文中想要绘制出每种细胞类型在组织中的空间分布。然而，ST 数据并不提供单细胞分辨率，也就是说，每个 spot 承载着几个可能不同类型的细胞，这意味着 spot 并不总是被分配给一个单

一的细胞类型。在捕获位置（原位）估计细胞类型丰度的一种常见策略是整合 ST 和单细胞/细胞核 RNA-seq 数据，以分解前者的混合观测，有效地将细胞类型映射到空间位置中，这种综合方法已经成功地应用于空间癌症数据。对于空间数据中的每个 spot，鉴定单细胞数据集中定义的每个细胞类型的细胞比例，产生一个  $n$  个点  $n$  个细胞类型的比例矩阵，从而解析每个组织区域含有的细胞类型丰度。

文中结合 5 个 Her2 阳性肿瘤的 scRNA-seq 数据集，主要有 8 种不同的细胞类型：髓系细胞、T 细胞、B 细胞、上皮细胞、浆细胞、内皮细胞、癌症相关成纤维细胞(CAFs)和血管周样细胞(PVL 细胞)。细胞亚型代表主要细胞类型的更精细的划分，如 M0 和 CD8+ T 细胞。反过来，最低层进一步将细胞层分解为不同细胞状态或亚群，如表达趋化因子的 M0 和表达 IFN- $\gamma$  的 T 细胞，根据以上依据将主要细胞大类分成不同细胞亚型小群。

人工注释的组织区域和单细胞转录组数据交互分析显示，在病理学家标注的区域检测细胞类型的富集/缺失，观察到几个明显的趋势，B 和 T 细胞在免疫浸润中富集，而癌症区域显示癌症相关细胞类型的富集和几种基质细胞类型的缺失。除患者 B 外，所有患者均在侵袭性癌区表现出 Her2 相关上皮细胞型的富集。相反，患者 B 在侵袭性癌区表现出 Her2 相关上皮细胞型的缺失和 LumB (LumB)型的富集。巧合的是，患者 B 也是唯一的孕酮受体阳性，与 LumB 分子亚型一致。综上所述，

空间转录组检测鉴定的组织区域和单细胞转录组数据交互分析表明，在 E 患者的两个空间分离的肿瘤病灶中，与凋亡和调节通路(pEc4)相关的簇在某些上皮细胞中富集，而在记忆 B 细胞中耗尽。相比之下，记忆性 B 细胞和 CD4+ T 细胞在免疫浸润的癌组织区域(pEc3)富集，而在其他癌组织区域的富集较弱或不富集。在患者 G 中，所有被标记为癌症区域细胞富集特征为：浆细胞富集较低，B 和 T 细胞富集缺失，有三个癌组织区域都是高度富集上皮细胞。

原位癌簇(pGc4)是 G 患者中唯一一个在所有细胞中富集树突状细胞的癌区域，同时也是肌成纤维细胞 CAFs 缺失。还观察了浆细胞免疫簇(pGc1)是如何向浆细胞富集的，而抗原呈递细胞(APC)免疫簇(pGc3)则表现出更强的 B 细胞、T 细胞和骨髓细胞的富集。PVL 细胞在混合性癌/结缔组织(pGc6)中过多，同时也显示出骨髓细胞、CAFs 和内皮细胞的富集。组织形态学、病理学家注释和基于表达的聚类一致，表明单细胞数据与组织形态保持高度一致，从而提供肿瘤组织空间切片组织区域包含的细胞类型的可靠映射。

为了进一步表明空间位置细胞异质性和多样性，发现免疫相关的空间区域比癌症区域更加异质性，这种效应在患者 A 中更为明显，当存在 APC 富集的区域时，往往表现出最高程度的多样性，而患者 B 的区域则是一个例外。

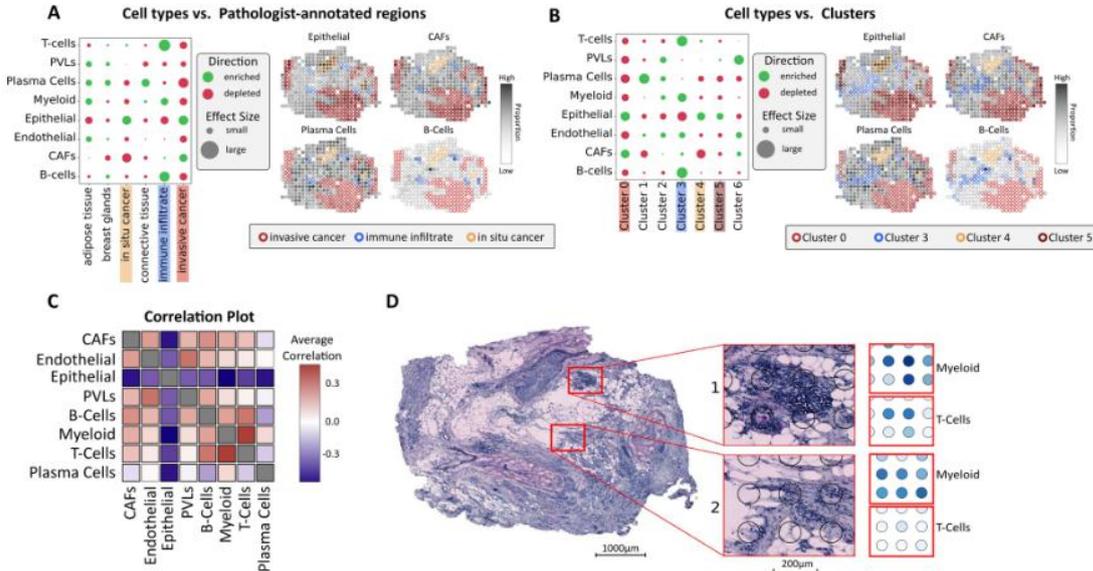


图 3. 从 scRNA-seq 数据中进行细胞类型的空间映射

#### 4. T 细胞和髓系细胞在空间区域的共定位

通过计算细胞类型与 spot 的 Pearson 相关性，空间上细胞映射被用来探索假定的细胞相互作用。两种细胞类型之间的正相关被认为是它们的共定位。在主要组织区域，所有患者中最显著的特征是上皮细胞与所有其他细胞类型之间的反相关。内皮细胞(主层)也表现出与 CAFs(除 G 外的所有患者)和血管周围细胞(除 F 外的所有患者)保持良好的共定位模式。细胞类型分辨率的增加揭示了癌症上皮-上皮细胞共定位是上皮细胞抗相关趋势的主要因素；成熟的腔管细胞(正常上皮细胞的一个亚群)总是与一种癌症类型共定位(患者 a 除外)，这可能表明接近腔管细胞或成熟的腔管表型；在免疫细胞群中，除 1 例患者(患者 A)外，所有患者的浆细胞与 B 细胞呈抗相关，这些发现表明 B 细胞和浆细胞在肿瘤内不同的位置。目前尚不清楚这些发现是否反映了肿瘤相关 B 细胞局部分化过程中的浆细胞迁移，或者浆细胞是否由肿瘤微环境外的 B 细胞发育而来。在 8 名患者中的 5 名观察到 B 细胞和 T 细胞(主要层)之间强度不同的共定位；G 和 H 患者表现出特别强的共定位信号，B 和 T 细胞分布有足够的重叠。

**实验观察到 T 细胞与骨髓细胞共定位**，因为 T 细胞和髓细胞之间的相互作用已经很好地建立起来，并且能深刻地影响它们各自的行为。最近的研究也揭示了 T 细胞和髓细胞类

型的实质性异质性，它们各自的亚群表现出不同的表达谱。当观察较细层的 T 细胞和髓细胞亚群时，可以观察到共定位的几种趋势：如 cDC2:CD1C、Mø1:EGR1 和 pDC:IRF7 之间的弱阳性信号与几种 CD4+ T 细胞群体，包括 Tfh 和 Treg，还在所有患者中观察到 Mø2: CXCL10 和 T 细胞状态(T 细胞:IFIT1)之间的显著相关性。

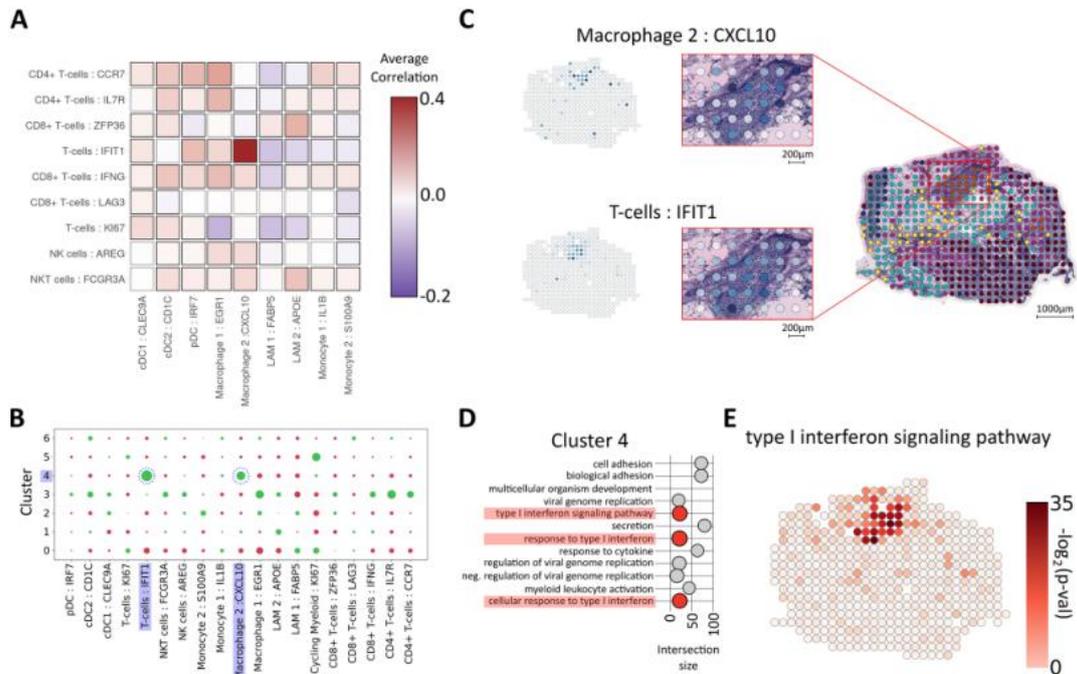


图 4. 骨髓细胞与 T 细胞在空间上共定位

## 5. I 型干扰素反应富集细胞类型

在 scRNA-seq 数据中，Mø2: CXCL10 表达了化学引诱剂 CXCL9 和 CXCL10 水平的增加，这两种趋化因子结合 CXCR3，通常在 T 细胞和 NK 细胞上特征表达，而表达 CXCL9/10 的肿瘤相关髓系细胞此前已被发现具有重要的免疫治疗诱导的抗肿瘤功能；此外，CXCL9/10 的表达可能是由 I 型干扰素刺激引起的。类似地，T 细胞的几个标记基因:IFIT1 状态也与 I 型干扰素反应有关，因此探讨空间位置上 I 型干扰素反应区域所富集的细胞类型。

空间数据中评估其与 Mø2: CXCL10 和 T- cell: IFIT1 细胞状态共定位信号的相关性，检查了聚类富集结果中的细胞类型，并注意到大多数患者至少有一个聚类(如 pGc4)同时富集 Mø2: CXCL10 和 T 细胞: IFIT1，根据聚类特性对每个样本的 spot 进行分层，出现了几个联合评分信号升高的聚类，如 pBc3、pDc5、pEc1 和 pGc4，这与聚类-细胞型富集结果一致，I 型干扰素反应相关通路在所有高联合评分的簇中都丰富。I 型干扰素通路高度富集的区域与 Mø2: CXCL10 和 T 细胞: IFIT1 存在的区域在空间上相关性，值得注意的是，I 型干扰素信号

与细胞状态的联合存在之间的关系似乎是不对称的，M $\phi$ 2: CXCL10 和 t 细胞: IFIT1 的联合定位通常发生在 I 型干扰素信号存在的情况下，ST2K 和 Visium 两种不同平台产生的截然不同的癌症(鳞状细胞癌，SCC)的数据集中显示了相同的信号，**结果表明空间区域的 I 型干扰素反应可能与 M $\phi$  诱导的特定 T 细胞亚群的招募有关。**

## 6. 构建三级淋巴样结构 (TLS) 预后模型

接下来，我们回到了 B 细胞和 t 细胞共定位的模式，更具体地说，这是如何与 TLS 相关的。免疫反应与临床结果和治疗反应的关系中，在癌症的背景下，TLS 是肿瘤抗原呈现给 T 细胞的位置之一，促进了更有针对性的抗肿瘤攻击。类似于计算 M $\phi$ 2: CXCL10 和 T 细胞: IFIT1 子集共定位的得分的方式来做这一点，从而产生了称为 TLS 得分的指标。阳性的 TLS 评分转化为 B 和 T 细胞都在一个位点被富集，负值则相反。正如 B 细胞和 T 细胞分布的重叠所预期的那样，患者 G 和 H 表现出小区域的高 TLS 评分(图 5A)，这里被认为是 TLS 类结构。并通过免疫组化验证了这种共定位模型结构，发现了不成熟 TLS 的特征，即 B 细胞被 T 细胞包围，但在 TLS 信号升高的区域缺乏明显的生发中心。

进一步评估基因表达如何与 TLS 评分相关，TLS 空间基因表达特征被富集的生物过程，对其进行了功能富集分析，其主要与细胞激活、分化和免疫反应或调节有关。并进行该模型预后评估验证，在 Visium 数据中观察到强烈的富集信号，与病理学家确定的可能是 TLS 部位的区域重叠，作为额外的测试，将此模型应用于其他组织类型的 ST 数据:发育性心脏、类风湿性关节炎和黑色素瘤等，前者未发现 TL-like 结构，而后面两个数据中如预期的那样发现了一些 TL-like 结构。因此，该模型的建立不仅可以推广到其他实验平台和外部数据，而且还可以重现大量 RNA-seq 研究中 TLS 关联的患者结果。

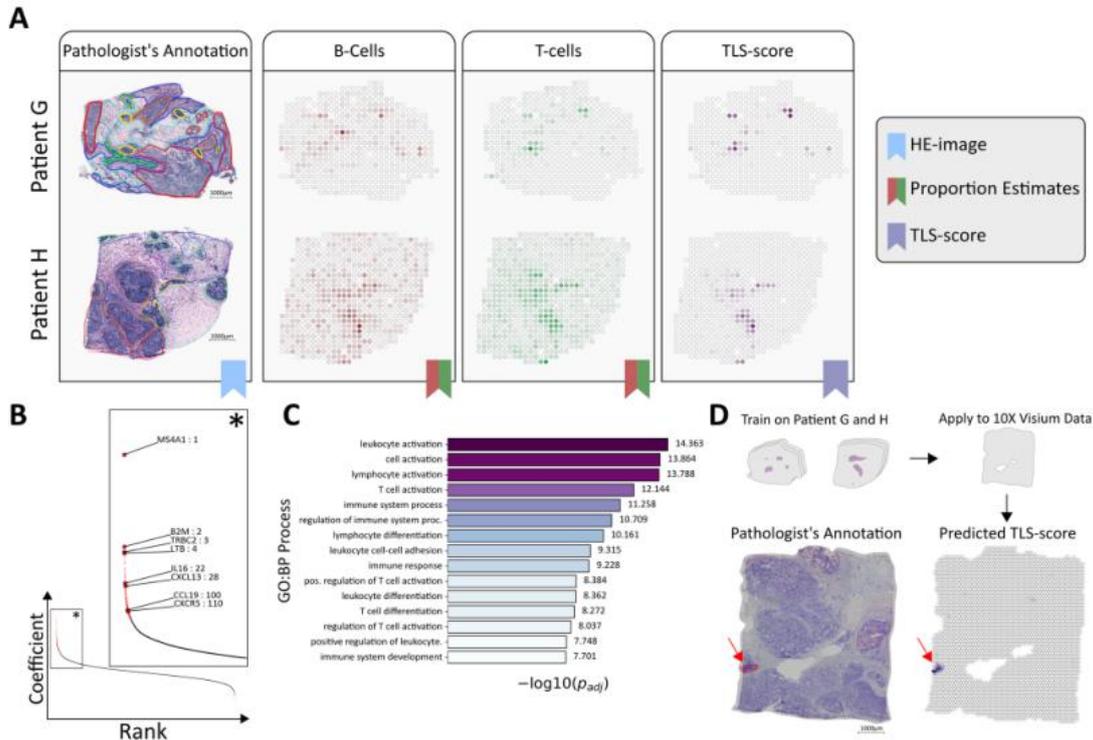


图 5. 三级淋巴样结构（TLS）的推断和预测

**总结：**

本文通过空间转录组、单细胞转录组等技术揭示 Her2+乳腺癌肿瘤相关细胞空间位置的相互作用，并构建了良好的三级淋巴结构（TLS）模型，证实此模型可用于肿瘤诊疗的预后观测功能。而细胞共定位模式可能与患者预后有关，用于评估肿瘤内药物反应的空间限制方式，以及研究功能相互作用。此外，能够评估多种细胞类型之间复杂的、非线性的和分层的相互作用的计算方法的发展将有利于任何前瞻性研究。总之，空间转录组数据的分析不仅增加了细胞在空间位置上信息，还互相印证了时空维度研究组织中细胞共定位模式，如果进一步探索，可能有助于更好地理解潜在的疾病机制，并为治疗打开新的有利位置。

**参考文献**

Andersson A, Larsson L, Stenbeck L, et al. Spatial deconvolution of HER2-positive breast cancer delineates tumor-associated cell type interactions. Nat Commun. 2021 Oct 14;12(1):6012. doi: 10.1038/s41467-021-26271-2.

原文下载链接: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34650042/>

## 百迈客简介

北京百迈客生物科技有限公司是具有高通量测序技术和生物信息学服务的高新技术企业，成立于 2009 年，利用目前最先进新一代测序平台，公司的产品已广泛应用于外显子测序、转录组测序、重测序、长链非编码 RNA 测序、小 RNA 测序、环状 RNA 测序、表观产品测序等领域，先后完成 SLAF-seq 高通量标记开发分型技术、遗传图谱构建软件 HighMap 等软件开发和 8 条生物信息分析业务线流程的构建。申请获得 30 多项发明专利，超过 150 项核心软件著作权。

耗资亿级资金组建了业界领先的、专业的、多层次、多选择的高通量二代、三代测序平台与高性能计算集群。截止现在，百迈客已拥 Nanopore 平台：PromethION-48、PromethION-β、GridION、MinION 测序仪；PacBio 平台：RS II、Sequel、sequel II 测序仪，为科研技术服务、医学基因诊断等提供了必要的通量基础。在确保覆盖度的同时，达到数据通量最大化，结合严格的质控体系、高水平的信息分析团队。同时百迈客与多个硬件供应商达成了战略合作关系，建立了与高通量测序平台相匹配的高性能计算平台，公司拥有国内一流的超大计算集群，总内存容量达到 40TB，总存储能力达到 6 PB，峰值计算能力达到 80T flops，7593cpu 核心，291 节点，为海量生物信息数据的存储、处理和后续分析提供了稳定、高效的硬件资源保障。百迈客成立八年以来，一直高度重视人才队伍的综合素质建设，持续引进了大量国内外知名院校的博士和硕士人才，目前已组建了一支具备生物学、遗传学、农学、医学、数学、计算机以及生物信息学等多学科背景的专业团队，目前硕士及以上学历人员占 70% 以上。

中国大陆首家通过 PromethION/GridION 双平台 DNA/RNA 全种类样本的公司；目前有 3 台 promethon，国内最多；各线 ONT 产品齐全：基因组、重测序、甲基化、全长和微生物 16S 全长及宏基因组等；



百迈客医学科研服务事业部，拥有强大的研发团队，团队负责人参与的单细胞转录组研究发表在 CELL 和 CELL STEM CELL 上，研究单细胞转录组测序研究成年小鼠前脑神经发生区域 CD133+/GFAP-室管膜(E)细胞的分子特征和用 TALENs 技术构建首个非人类灵长类动物模型的项目；研发部甲基化负责人参与了发表在 Brief Bioinform 和 Scientific Reports 杂志的多篇甲基化测序数据分析的研究；近日，中山大学中山眼科中心眼科学国家重点实验室等与北京百迈客生物科技有限公司合作的多组学研究（转录组&ATAC-SEQ）文章发表在 Nature Communications 上，探究成纤维细胞转化为诱导性神经干细胞的分子机制；百迈客又与中山大学中山医学院合作发表了 RNA-seq & ATAC-seq 多组学文章，研究了人类免疫缺陷病毒 1 型(HIV-1)潜伏感染的分子机制，文章发表在 Elife 杂志上。目前，百迈客医学科技服务团队已发表医学类文章百余篇，涉及转录组、lncRNA、circRNA、小 RNA 以及全外显子测序、全基因组重测序和简化甲基化 RRBS 测序助力同卵双胞胎 EWAS-BMI 关联研究及肥胖表观遗传机制研究等，同时具有 10x 单细胞转录组、空间转录组、单细胞核转录组、单细胞免疫组库、单细胞 ATAC-seq、单细胞 ATAC&GEX、单细胞全长转录组测序，实现 10x

平台全面优质服务，以及微生物多样性、微生物宏基因组、微生物基因组等多组学层面，研究发育调控机制、疾病/肿瘤发生发展机理、肿瘤分子分型、疾病治疗、分子标志物等，团队医学类研究文章影响因子累计 400+！百迈客医学科研服务事业部，是您值得信任和托付的团队，我们将竭诚为您服务，提供一对一专业方案设计及结果解读。

百迈客医学为您提供  
一对一专业方案设计  
及深度结果解读

长按识别关注

百迈客医学