

• 综 述 •

## 单细胞 RNA 测序及其在肺癌诊疗中的应用进展\*

全 念 综述, 陈 奎, 郭铭静, 张立群<sup>△</sup> 审核

陆军军医大学第二附属医院检验科, 重庆 400037

**摘 要:** 肺癌具有高度异质性, 其在我国恶性肿瘤中的发病率和死亡率均居第 1 位。传统的 RNA 测序技术只能反映样品的平均基因表达水平, 近年发展起来的单细胞 RNA 测序(scRNA-seq)技术通过识别不同的细胞亚群, 探索肿瘤异质性和解剖肿瘤微环境, 为理解复杂的肿瘤生物学铺平了道路。目前 scRNA-seq 技术在异质性、肿瘤微环境、生物标志物、治疗和耐药性等方面越来越多地应用于肺癌的研究。文章综述了 scRNA-seq 技术的基本发展过程及其在肺癌研究领域的应用现状。

**关键词:** 肺癌; 单细胞 RNA 测序; 肿瘤异质性; 肿瘤微环境; 生物标志物

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2024.08.021 **中图法分类号:** R734.2

**文章编号:** 1673-4130(2024)08-1001-05 **文献标志码:** A

## Advances in single-cell RNA sequencing and its applications in lung cancer\*

QUAN Nian, CHEN Kui, GUO Mingjing, ZHANG Liqun<sup>△</sup>Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital of  
Army Medical University, Chongqing 400037, China

**Abstract:** Lung cancer is highly heterogeneous and ranks the first in cancer incidence and mortality in China. Previous bulk RNA sequencing techniques can only reflect the average gene expression of the samples. The single-cell RNA sequencing (scRNA-seq) technology developed in recent years have paved the way for understanding complicated tumor biology by identifying different cell subpopulations, exploring tumor heterogeneity, and dissecting the tumor microenvironment. scRNA-seq technology has been increasingly used in lung cancer research to explore lung cancer from its heterogeneity, tumor microenvironment, biomarkers, therapy, and drug resistance. This review summarizes the basic processes and development of scRNA-seq techniques and their applications in the field of lung cancer research.

**Key words:** lung cancer; single-cell RNA sequencing; tumor heterogeneity; tumor microenvironment; biomarker

肺癌是最常见的癌症之一, 也是癌症相关死亡的主要原因, 每年约有 200 万新发病例和 176 万死亡病例<sup>[1]</sup>。据我国国家癌症中心统计, 2016 年我国肺癌发病率和死亡率均居恶性肿瘤首位, 其中新发病例约 82.8 万, 死亡病例约 65.7 万<sup>[2]</sup>。肺癌的 5 年生存率仅为 22.9%, 部分原因是大多数患者在初诊时已发展为晚期肺癌<sup>[3]</sup>。因此, 早诊断、早治疗是降低原发性肺癌患者死亡率的有效措施<sup>[4]</sup>。肺癌是一种具有广泛临床病理特征的异质性疾病, 目前对其了解尚不足<sup>[1,5]</sup>。低剂量计算机体层成像(LDCT)对早期发现小结节具有较高敏感性, 可将死亡率降低 20%; 然而, LDCT 的使用仍然受到高假阳性率、辐射暴露和高成

本的限制<sup>[6]</sup>。临床诊断需要组织活检以确定肿瘤组织学和分期, 然而收集组织活检的操作具有一定的局限性和风险<sup>[4]</sup>。

单细胞 RNA 测序(scRNA-seq)自 2009 年首次报道以来, 以单细胞分辨率分析转录组数据, scRNA-seq 正在成为人类癌症研究中使用的有力工具<sup>[7-8]</sup>。该技术提供单个肿瘤细胞的生物学信息, 分析肿瘤内表达异质性的决定因素, 并确定肿瘤疾病形成的分子基础<sup>[9]</sup>。本文从 scRNA-seq 技术的应用现状、肺癌异质性、肿瘤微环境、生物标志物、治疗和耐药性等方面综述其在肺癌诊疗中的应用进展, 并提出 scRNA-seq 技术的主要发展方向。

\* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81873981)。

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: 1434103777@qq.com。网络首发 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1176.R.20240223.1609.004.html>(2024-02-26)

## 1 scRNA-seq 技术概述

scRNA-seq 主要包括单细胞分离、裂解、逆转录、cDNA 扩增、文库制备、测序和数据分析等 7 个步骤<sup>[10]</sup>。单细胞分离是 scRNA-seq 的限制步骤,文库制备也是提高 scRNA-seq 研究通量的关键因素<sup>[11]</sup>。可用于分离单个细胞的方法包括梯度稀释、毛细管移液、激光捕获显微切割、微流控分离、荧光激活细胞分选、磁性激活细胞分选<sup>[12]</sup>,其中微流控分离平台因其高通量和低成本而成为主流方法<sup>[13]</sup>。

一般来说,scRNA-seq 分析方案可分为全长转录本测序方法和 3'/5'末端转录本测序方法<sup>[14]</sup>。全长转录本测序方法有 Quartz-Seq、Smart-Seq 和 Smart-Seq2 等,3'/5'末端转录本测序方法有 STRT-Seq、CEL-Seq、MARS-Seq、Drop-Seq 和 InDrop 等<sup>[12]</sup>。基于微流控和 Drop-Seq 的商用平台 10× Genomics Chromium 是使用最广泛的平台,具有高灵敏度和低技术噪声等优势<sup>[15]</sup>。

## 2 scRNA-seq 在肺癌中诊疗的应用

scRNA-seq 技术可以从肿瘤异质性、肿瘤微环境、细胞发育分化和细胞通讯等生物学方面对肺癌进行更深入地研究和理解,从而辅助肺癌诊断、肺癌发生、发展及转移、肺癌耐药和治疗及肺癌监测和预后。然而,scRNA-seq 预先把组织分解成单细胞悬液,会破坏组织的空间结构,从而丢失了空间和组织信息。为了弥补此缺陷,基于 scRNA-seq 的空间转录组测序(SRT)应运而生,并且 SRT 被《Nature Methods》评为 2020 年年度技术<sup>[16]</sup>。本部分拟从肺癌异质性、肿瘤微环境、肺癌监测,以及肺癌耐药和治疗等方面综述其重要进展。

**2.1 scRNA-seq 与肺癌异质性** 肿瘤异质性是恶性肿瘤的关键特征,也是癌症治疗和研究的重大障碍<sup>[17]</sup>。因此,迫切需要开发新方法,以精确检测肿瘤异质性的分子机制。MA 等<sup>[18]</sup>分析了来自肺腺癌(LUAD)患者和细胞系的 scRNA-seq 数据,以表征免疫反应相关基因的肿瘤内异质性,并证明了它们对免疫治疗疗效的潜在影响。干扰素  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) 信号通路基因与单个癌细胞中的其他基因(如 MHC II)异质表达和共调控。细胞系中 IFN- $\gamma$  信号通路中基因的下调对应于获得性抗性表型。此外,对两组肿瘤限制性抗原的分析揭示了它们在单细胞中表达的异质性。HE 等<sup>[19]</sup>对来自 7 个携带 EGFR 突变的 I/II 期 LUAD 样品和 5 个肿瘤邻近肺组织的共 125 674 个细胞进行了 scRNA-seq;通过拟时序分析发现,ELF3 是晚期肿瘤细胞中上调最多的基因之一,提示 ELF3 可能是 LUAD 未来药物发现的治疗靶点。TIAN 等<sup>[20]</sup>对来自 11 例小细胞肺癌(SCLC)患者原发肿瘤和匹配

正常邻近组织(NATs)的约 5 000 个细胞进行了高精度单细胞转录组学分析,揭示了 SCLC 中关键转录因子的肿瘤内异质性,以及相关的基因表达模式和功能。非神经内分泌肿瘤与 SCLC 炎症基因特征和免疫细胞浸润增加相关。ZHANG 等<sup>[21]</sup>建立了一个多组学图谱,整合了来自多个 LUAD 和肺鳞癌(LUSC)患者的 52 个 scRNA-seq 和 2 342 个公共传统 RNA 测序数据。LUAD 和 LUSC 含有在肺泡 II 型细胞(AT2)和基底细胞的亚簇中选择性地扩增,高百分比的成纤维细胞和 AT2 导致 LUAD 和 LUSC 的存活率低,这表明细胞组合在预测肺癌预后不良方面的潜在作用,包括亚群标记 AQP5 和 KPNA2 在内的 10 个基因的过表达进一步表明了其功能及作用,为肺癌的早期诊断和治疗提供了潜在的靶点。

**2.2 scRNA-seq 与肿瘤微环境** TME 由成纤维细胞、上皮细胞、内皮细胞和免疫细胞等基质细胞组成,在肿瘤的发生、进展和转移中起着至关重要的作用<sup>[19,22]</sup>。LAVIN 等<sup>[23]</sup>通过多重组织成像,以及肿瘤、非受累肺和血液的配对单细胞分析 18 例 LUAD 患者,发现 I 期肺腺癌病变已经有明显改变的 T 细胞和 NK 细胞区室。为确定 LUAD 中临床相关的微环境和癌症特征,BISCHOFF 等<sup>[24]</sup>将 scRNA-seq 应用于 10 个 LUAD 组织和 10 个正常对照组织,该研究揭示了反映组织学分级和致癌途径活性的异质癌细胞转录组,以及两种不同的微环境模式:CP<sup>2</sup>E 模式和 N<sup>3</sup>MC 模式。免疫激活的 CP<sup>2</sup>E 微环境由癌症相关肌成纤维细胞、促炎单核细胞来源的巨噬细胞、浆细胞样树突状细胞和耗竭的 CD8<sup>+</sup> T 细胞组成,预后不佳。相比之下,惰性 N<sup>3</sup>MC 微环境的特征是正常样肌成纤维细胞、非炎症性单核细胞来源的巨噬细胞、NK 细胞、髓样树突状细胞和常规 T 细胞,并且预后良好。为阐明非小细胞肺癌(NSCLC)中肿瘤相关巨噬细胞(TAM)的亚群组成和功能异质性,YANG 等<sup>[25]</sup>利用 scRNA-seq 技术结合 ssGSEA 分析、拟时序分析和场景分析对早期吸烟 NSCLC 患者进行了分析,在 NSCLC 患者的 TME 中发现了 2 种普遍存在的免疫抑制性 TAM:CCL18<sup>+</sup> 巨噬细胞和 SPP1<sup>+</sup> 巨噬细胞。CCL18<sup>+</sup> 巨噬细胞通过抑制炎症因子的产生发挥免疫抑制作用,并表现出高水平的脂肪酸氧化磷酸化代谢。相反,SPP1<sup>+</sup> 巨噬细胞的主要代谢途径是糖酵解,糖酵解通过促进血管生成和基质重塑促进肿瘤转移。WANG 等<sup>[26]</sup>对 40 个肿瘤样品和 19 例 NSCLC 患者的匹配的邻近正常组织的 72 475 个免疫细胞进行了 scRNA-seq,并绘制了系统的免疫细胞转录组图谱。基于 TCGA 对不同的细胞组成、差异表达基因(DEG)、细胞-细胞相互作用、拟时序轨迹、转录因子

和预后因子进行联合分析,揭示了细胞毒性和效应性 T 细胞、NK 细胞,以及不同的功能性巨噬细胞(M $\phi$ )亚型在 LUAD 和 LUSC 之间免疫微环境异质性中的中心作用。M $\phi$  的优势亚型在 LUAD 为 FABP4-M $\phi$ ,在 LUSC 为 SPP1-M $\phi$ 。LAMBRECHTS 等<sup>[27]</sup>对 5 例 NSCLC 患者的 84 341 个基质细胞进行了 scRNA-seq,并鉴定了 52 种基质细胞亚型,包括不同类型的肿瘤相关成纤维细胞、内皮细胞和迄今为止被认为是同质的肿瘤浸润免疫细胞。CLARKE 等<sup>[28]</sup>对肺癌患者肿瘤和正常肺组织中的组织驻留记忆 T 细胞(TRM)和非 TRM 细胞进行了单细胞和传统转录组分析,与表达 PD-1 的非 TRM 细胞相比,肿瘤中表达 PD-1 的 TRM 细胞被克隆扩增和富集,用于与细胞增殖和细胞毒性相关的转录本。这一特征在共表达 PD-1 和 TIM-3 的 TRM 细胞亚群中更为突出,该 PD-1<sup>+</sup> TIM-3<sup>+</sup> TRM 细胞亚群在 PD-1 抑制剂应答者和细胞毒性 T 细胞反应幅度更大的肿瘤中富集。为了在 NSCLC 患者中绘制由单核细胞、巨噬细胞、树突状细胞和中性粒细胞组成的 TIM, ZILIONIS 等<sup>[29]</sup>的研究应用 scRNA-seq 发现了 25 种 TIM 亚群,其中大多数在患者中同时表达,在比较人类和小鼠之间的 TIM 时,发现树突状细胞和单核细胞之间亚群结构的近乎完全一致,中性粒细胞亚群偏保守,以及巨噬细胞具有物种差异。

LU 等<sup>[30]</sup>使用 scRNA-seq 分析了肺磨玻璃结节腺癌(GGN-ADC)和实体腺癌(SADC)各 5 例患者的 60 459 个细胞。GGN-ADC 癌细胞中与细胞增殖相关的信号通路下调,基质细胞在 GGN-ADC 和 SADC 中具有不同的影响。在 GGN-ADC 中,血管生成的信号通路下调,成纤维细胞低表达胶原蛋白,免疫细胞更加活跃。与 SADC 相比,癌细胞和 TME 共同促进了 GGN-ADC 的生长。XING 等<sup>[31]</sup>对 16 个亚实体结节(SSN)样本、6 个相邻的正常肺组织(nLung)和 9 个伴有淋巴结转移的原发性 LUAD(mLUAD)样本进行了 scRNA-seq 分析。细胞毒性 NK T 细胞在 SSN 的 TME 中占主导地位,SSN 中的恶性细胞经历强烈的代谢重编程和免疫应激。在 SSN 中,内皮细胞的亚群组成与 mLUAD 相似,而成纤维细胞的亚型分布更像 nLung,表明内皮细胞在肿瘤发生的早期起着关键作用。LIU 等<sup>[32]</sup>分析来自 4 个纯毛玻璃结节(GGN)、4 个实性结节(SN)和 4 个正常组织的 76 762 个细胞的单细胞转录组谱,发现 NK 和 CD8<sup>+</sup> T 细胞介导的抗肿瘤免疫随着 LUAD 的进展而逐渐减弱,B 细胞介导的体液免疫在 SN 中更活跃。在从 GGN 到 SN 的进展过程中,一些特殊上皮细胞的增殖能力增加。此外,基质细胞和 M2 巨噬细胞可以帮助 LUAD

的进展。

**2.3 scRNA-seq 与肺癌监测** 大约 60% 的肺癌患者在最初诊断时具有远处转移,这是肺癌高病死率的主要原因<sup>[4]</sup>。所以,肺癌的早期诊断对治疗至关重要。KIM 等<sup>[33]</sup>用 scRNA-seq 对 34 例早期 LUAD 患者分析原发性肺肿瘤和正常肺组织中 CXCL1、CXCL2 和 CXCR2 的 mRNA,以及相关的表观遗传调节因子 miR-532-5p、miR-1266-3p 和 miR-3163 进行了定量检测,最终发现趋化因子 mRNA 与 miR-532-5p 和 miR-1266-3p 在早期原发性 LUAD 中呈负相关,特别需要指出的是,miR-532-5p 可在相应 LUAD 的血浆中定量;该研究证实了趋化因子基因 mRNA 和相应 microRNA 的数量差异可用作表征肺癌的分子标记。KIM 等<sup>[34]</sup>对 44 例患者的 208 506 个正常组织或早期至转移期癌症细胞进行了 scRNA-seq,确定了一种偏离正常分化轨迹并主导 LUAD 进展和转移期的癌细胞 tS2 亚型,TCGA 数据库分析证实 tS2 标记基因表达高表达的患者总体存活率较差。肿瘤、基质细胞和免疫细胞之间活跃的细胞群动力学和分子相互作用提供了促肿瘤和免疫抑制的微环境。TME 中的 mo-Mac 亚群具有免疫激活和调节的双重功能,向 T 细胞提供刺激和抑制信号,所以可以靶向 mo-Mac,以重新定向免疫激活。ZHANG 等<sup>[35]</sup>对 2 例肺腺癌 PDX 病例的原发和脑转移肿瘤组织中分离的肿瘤细胞进行基因差异表达分析(GSE69405),通过维恩图鉴定了肺腺癌脑转移的 4 个关键基因,包括 CKAP4、SERPIN1、SDC2 和 GNG11。

JIN 等<sup>[36]</sup>利用 LUAD 的 scRNA-seq 数据构建了 5 个基因(IDH2、ADRB2、SFTPC、CCDC69 和 CCND2)预后风险模型,风险评分与肿瘤浸润免疫细胞和肿瘤基因组异常之间存在相关性,具有较高风险评分的患者具有明显较低的免疫治疗应答率。XU 等<sup>[37]</sup>利用 LUAD 单细胞数据集 GSE149655 构建了基于 10 个基因(CCL20、CP、HLA-DRB5、RHOV、CYP4B1、BASP1、ACSL4、GNG7、CCDC50 和 SPATS2)的预后风险模型,评分越高预后越差。其中,HLA-DRB5 表达与 LUAD 风险呈负相关,CCDC50 表达与 LUAD 风险呈正相关。

**2.4 scRNA-seq 与肺癌耐药和治疗** 靶向癌症治疗的最大障碍是耐药性的必然出现<sup>[38]</sup>。所以,对肺癌耐药机制应进行更深入的研究。MAYNARD 等<sup>[5]</sup>对 30 例使用靶向治疗前和靶向治疗期间转移性肺癌患者的 49 个活检样本进行 scRNA-seq,阐明了单个肿瘤样品中丰富的突变和转录多样性,以及治疗期间癌细胞转录谱和 TME 组成的动态变化,揭示了纤溶酶原激活级联反应在较差临床结果和靶向治疗耐药性的

临床相关性和潜在作用。残余疾病(RD)治疗后存活的癌细胞表达了肺泡再生细胞特征,表明治疗诱导了原始细胞状态转变,而治疗中进行性疾病(PD)的癌细胞上调了尿蛋白、纤溶酶原和缝隙连接通路。RD 和免疫抑制细胞状态下存在活性 T 淋巴细胞和减少的巨噬细胞,以 PD 为特征,证明癌症和肿瘤微环境细胞表现出显著的治疗诱导的可塑性。ZHONG 等<sup>[39]</sup>对 Pembrolizumab 治疗前后肺癌患者的外周血单个核细胞进行 scRNA-seq,泛素介导的蛋白水解、细胞周期、自然杀伤细胞介导的细胞毒性被鉴定为 NKG7<sup>+</sup> NK T 细胞中的 PD-1 阻断反应途径,凋亡 Th1 和 Th2 细胞分化被认为是 Pembrolizumab 影响 NK T 细胞的途径。在基因水平上,在 TCGA 数据集验证后,ID2、PIK3CD、UQCRC1、MTOR、MZB1、IL7R 和 TRGC2 与 PD-1 表达呈显著相关性,这可作为 PD-L1 阴性 LUSC 患者的预测标志物,这些患者可受益于 Pembrolizumab。HE 等<sup>[22]</sup>分析了 LUAD3 个代表性单细胞 RNA-seq 数据集中昼夜节律破坏(CRD)在肿瘤中作用,结果显示高 CRD 评分与 LUAD 患者的不良预后,以及包括化疗和酪氨酸激酶抑制剂治疗在内的抗癌治疗的耐药性显著相关,其机制是 CRD 参与了恶性细胞作为持续细胞的转化,从而导致耐药性。对这些机制的更好理解可能会为将“基于生物钟的抗癌方法”纳入精准医学的治疗方案提供新的可能性。

3 总结与展望

scRNA-seq 技术以其高分辨率的特点为肺癌研究提供了新的研究手段,对肺癌的异质性、肿瘤微环境、早期诊断、侵袭和转移及治疗和耐药等方面进行探索,提升了对肺癌的认识。此外,scRNA-seq 与基因组、表观遗传组、蛋白组、代谢组、空间转录组学技术联合分析可以对肺癌组织进行更加深入和立体地分析,可以提供更加全面、完整的数据,加深肿瘤学家对肺癌发生、发展、治疗等的认识,为精准化和个体化治疗提供更为准确地指导。当然,scRNA-seq 技术在降低成本、优化检测过程,提升易用性和可及性,优化单细胞悬液的制备,提高扩增时覆盖率、降低错配率和减少噪音率,提高细胞捕获效率和测序深度,优化生物信息学算法等方面仍有改进空间。

总之,在促进 scRNA-seq 技术进步的同时,把其与其他组学或生物学技术相结合将进一步推进肺癌的研究及治疗。

参考文献

[1] THAI A A, SOLOMON B J, SEQUIST L V, et al. Lung cancer[J]. Lancet, 2021, 398(10299): 535-554.  
[2] QIU H, CAO S, XU R. Cancer incidence, mortality, and burden in China: a time-trend analysis and comparison

with the United States and United Kingdom based on the global epidemiological data released in 2020[J]. Cancer Commun (Lond), 2021, 41(10): 1037-1048.  
[3] WOOD D E, KAZEROONI E A, ABERLE D, et al. NC-CN guidelines® insights: lung cancer screening, version 1. 2022[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2022, 20(7): 754-764.  
[4] LI W, LIU J B, HOU L K, et al. Liquid biopsy in lung cancer: significance in diagnostics, prediction, and treatment monitoring[J]. Mol Cancer, 2022, 21(1): 25.  
[5] MAYNARD A, MCCOACH C E, ROTOW J K, et al. Therapy-induced evolution of human lung cancer revealed by single-cell RNA sequencing[J]. Cell, 2020, 182(5): 1232-1251. e22.  
[6] HUANG H, YANG Y, ZHU Y, et al. Blood protein biomarkers in lung cancer [J]. Cancer Lett, 2022, 551: 215886.  
[7] LI P H, KONG X Y, HE Y Z, et al. Recent developments in application of single-cell RNA sequencing in the tumour immune microenvironment and cancer therapy [J]. Mil Med Res, 2022, 9(1): 52.  
[8] LIU J, XU T, JIN Y, et al. Progress and clinical application of single-cell transcriptional sequencing technology in cancer research[J]. Front Oncol, 2020, 10: 593085.  
[9] HONG M, TAO S, ZHANG L, et al. RNA sequencing: new technologies and applications in cancer research[J]. J Hematol Oncol, 2020, 13(1): 166.  
[10] CAO Y, QIU Y, TU G, et al. Single-cell RNA sequencing in immunology[J]. Curr Genomics, 2020, 21(8): 564-575.  
[11] HE L, LU A, QIN L, et al. Application of single-cell RNA sequencing technology in liver diseases: a narrative review[J]. Ann Transl Med, 2021, 9(20): 1598.  
[12] CHONG Z X, HO W Y, YEAP S K, et al. Single-cell RNA sequencing in human lung cancer: applications, challenges, and pathway towards personalized therapy [J]. J Chin Med Assoc, 2021, 84(6): 563-576.  
[13] DING S, CHEN X, SHEN K. Single-cell RNA sequencing in breast cancer: understanding tumor heterogeneity and paving roads to individualized therapy[J]. Cancer Commun (Lond), 2020, 40(8): 329-344.  
[14] JIA Q, CHU H, JIN Z, et al. High-throughput single-cell sequencing in cancer research[J]. Signal Transduct Target Ther, 2022, 7(1): 145.  
[15] PAN Y, CAO W, MU Y, et al. Microfluidics facilitates the development of single-cell RNA sequencing[J]. Biosensors, 2022, 12(7): 450.  
[16] MARX V. Method of the year: spatially resolved transcriptomics[J]. Nat Methods, 2021, 18(1): 9-14.  
[17] BAI X, LI Y, ZENG X, et al. Single-cell sequencing technology in tumor research[J]. Clin Chim Acta, 2021, 518: 101-109.  
[18] MA K Y, SCHONNESEN A A, BROCK A, et al. Single-

- cell RNA sequencing of lung adenocarcinoma reveals heterogeneity of immune response-related genes[J]. JCI Insight, 2019, 4(4): e121387.
- [19] HE D, WANG D, LU P, et al. Single-cell RNA sequencing reveals heterogeneous tumor and immune cell populations in early-stage lung adenocarcinomas harboring EGFR mutations[J]. Oncogene, 2021, 40(2): 355-368.
- [20] TIAN Y, LI Q, YANG Z, et al. Single-cell transcriptomic profiling reveals the tumor heterogeneity of small-cell lung cancer[J]. Signal Transduct Target Ther, 2022, 7(1): 346.
- [21] ZHANG L, ZHANG Y, WANG C, et al. Integrated single-cell RNA sequencing analysis reveals distinct cellular and transcriptional modules associated with survival in lung cancer[J]. Signal Transduct Target Ther, 2022, 7(1): 9.
- [22] HE L, FAN Y, ZHANG Y, et al. Single-cell transcriptomic analysis reveals circadian rhythm disruption associated with poor prognosis and drug-resistance in lung adenocarcinoma[J]. J Pineal Res, 2022, 73(1): e12803.
- [23] LAVIN Y, KOBAYASHI S, LEADER A, et al. Innate immune landscape in early lung adenocarcinoma by paired single-cell analyses[J]. Cell, 2017, 169(4): 750-765. e17.
- [24] BISCHOFF P, TRINKS A, OBERMAYER B, et al. Single-cell RNA sequencing reveals distinct tumor microenvironmental patterns in lung adenocarcinoma[J]. Oncogene, 2021, 40(50): 6748-6758.
- [25] YANG Q, ZHANG H, WEI T, et al. Single-cell RNA sequencing reveals the heterogeneity of tumor-associated macrophage in non-small cell lung cancer and differences between sexes[J]. Front Immunol, 2021, 12: 756722.
- [26] WANG C, YU Q, SONG T, et al. The heterogeneous immune landscape between lung adenocarcinoma and squamous carcinoma revealed by single-cell RNA sequencing[J]. Signal Transduct Target Ther, 2022, 7(1): 289.
- [27] LAMBRECHTS D, WAUTERS E, BOECKX B, et al. Phenotype molding of stromal cells in the lung tumor microenvironment[J]. Nat Med, 2018, 24(8): 1277-1289.
- [28] CLARKE J, PANWAR B, MADRIGAL A, et al. Single-cell transcriptomic analysis of tissue-resident memory T cells in human lung cancer[J]. J Exp Med, 2019, 216(9): 2128-2149.
- [29] ZILIONIS R, ENGBLOM C, PFIRSCHKE C, et al. Single-cell transcriptomics of human and mouse lung cancers reveals conserved myeloid populations across individuals and species[J]. Immunity, 2019, 50(5): 1317-1334. e10.
- [30] LU T, YANG X, SHI Y, et al. Single-cell transcriptome atlas of lung adenocarcinoma featured with ground glass nodules[J]. Cell Discov, 2020, 6: 69.
- [31] XING X, YANG F, HUANG Q, et al. Decoding the multicellular ecosystem of lung adenocarcinoma manifested as pulmonary subsolid nodules by single-cell RNA sequencing[J]. Sci Adv, 2021, 7(5): eabd9738.
- [32] LIU B, WANG C, FANG Z, et al. Single-cell RNA sequencing reveals the cellular and molecular changes that contribute to the progression of lung adenocarcinoma[J]. Front Cell Develop Biol, 2022, 10: 927300.
- [33] KIM J, XU Z, MARIGNANI P A. Single-cell RNA sequencing for the identification of early-stage lung cancer biomarkers from circulating blood[J]. NPJ Genom Med, 2021, 6(1): 87.
- [34] KIM N, KIM H K, LEE K, et al. Single-cell RNA sequencing demonstrates the molecular and cellular reprogramming of metastatic lung adenocarcinoma[J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 2285.
- [35] ZHANG Z, CUI F, ZHOU M, et al. Single-cell RNA sequencing analysis identifies key genes in brain metastasis from lung adenocarcinoma[J]. Curr Gene Ther, 2021, 21(4): 338-348.
- [36] JIN X, HU Z, SUI Q, et al. A novel prognostic signature revealed the interaction of immune cells in tumor microenvironment based on single-cell RNA sequencing for lung adenocarcinoma[J]. J Immunol Res, 2022, 2022: 6555810.
- [37] XU Y, WANG Y, LIANG L, et al. Single-cell RNA sequencing analysis to explore immune cell heterogeneity and novel biomarkers for the prognosis of lung adenocarcinoma[J]. Front Genetics, 2022, 13: 975542.
- [38] LIM Z F, MA P C. Emerging insights of tumor heterogeneity and drug resistance mechanisms in lung cancer targeted therapy[J]. J Hematol Oncol, 2019, 12(1): 134.
- [39] ZHONG R, ZHANG Y, CHEN D, et al. Single-cell RNA sequencing reveals cellular and molecular immune profile in a Pembrolizumab-responsive PD-L1-negative lung cancer patient[J]. Cancer Immunol Immunother, 2021, 70(8): 2261-2274.

(收稿日期: 2023-09-06 修回日期: 2024-02-19)