

单细胞RNA测序技术的发展 及其在牙周炎研究中的应用与展望

郭瑞铭 邱伟 房付春

南方医科大学南方医院口腔科, 广州 510515

通信作者: 房付春, Email: fangfuchun@smu.edu.cn



房付春

【摘要】 单细胞RNA测序(scRNA-seq)技术是一种能够在单细胞分辨率下解析基因表达的强大工具,近年来在牙周炎研究中广泛应用,推动了对牙周组织中细胞异质性和病理进展机制的认识。本文回顾了scRNA-seq技术的发展历程,从早期尝试到成熟与多样化,并重点分析其在牙周炎研究中的应用现状。通过构建牙周组织单细胞图谱,研究者

揭示了细胞异质性,识别出与疾病进展和修复相关的关键细胞亚群及分子标志物。细胞异质性分析和拟时序分析进一步阐明了牙周炎中不同细胞的功能特性及疾病动态进程。细胞通讯分析则解析了细胞间信号网络,为疾病诊疗提供了新视角。这些研究揭示了牙周炎相关细胞亚群和关键分子机制,为疾病的精准诊断和靶向治疗提供了重要线索。此外,本文还展望了scRNA-seq技术在牙周领域的未来发展方向,包括空间转录组学、多组学整合、大数据和人工智能的应用,以及在精准诊疗中的前景。尽管scRNA-seq技术仍面临成本高、数据复杂性等挑战,但通过技术优化、数据整合及跨学科合作有望进一步推动牙周炎的研究,为精准医学和健康管理提供强有力支持。

【关键词】 单细胞RNA测序; 空间转录组学; 多组学; 牙周炎; 人工智能

基金项目: 国家自然科学基金(82270982,82470975); 广东省自然科学基金(2024A1515010840)

引用著录格式: 郭瑞铭,邱伟,房付春. 单细胞RNA测序技术的发展及其在牙周炎研究中的应用与展望[J/OL]. 中华口腔医学研究杂志(电子版), 2025, 19(2): 75-83.

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2025.02.001

Single - cell RNA sequencing in periodontal research: Technological development, applications, and future perspectives

Guo Ruiming, Qiu Wei, Fang Fuchun

Department of Stomatology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

Corresponding author: Fang Fuchun, Email: fangfuchun@smu.edu.cn

【Abstract】 Single-cell RNA sequencing (scRNA-seq) technology, a powerful tool able to analyze gene expression at single - cell resolution, has been widely used in periodontitis research in recent years, greatly advancing the understanding of cellular heterogeneity and mechanisms of pathological progression in periodontal tissues. Herein, we review the development of scRNA-seq technology from early attempts to maturity and diversification, and focus on the present progress of its application in periodontitis research. By constructing a single-cell atlas of periodontal tissues, the researchers revealed cellular heterogeneity and identified key cellular subpopulations and molecular markers associated with disease progression and repair. Cellular heterogeneity analysis and pseudotime analysis further elucidated the functional properties of different cells in periodontitis and the dynamic course of the disease. The cell-cell communication analysis resolved the intercellular signaling network, which provided new perspectives for disease diagnosis and treatment. These studies revealed the periodontitis - associated cell subpopulations and the key molecular mechanisms, which provided important clues for precise diagnosis and targeted treatment of the disease. In addition, this review provides an insight into the future direction of scRNA-seq in periodontics, including spatial transcriptomics, multi-omics integration, the application of big data and artificial intelligence, and the prospects for precision diagnosis and treatment. Although scRNA-seq still faces challenges such as high cost and data complexity, through technical optimization, data integration and interdisciplinary cooperation, this technology is expected to further advance the development of periodontitis research and strongly contribute to precision medicine and health management.

【Key words】 Single - cell RNA sequencing; Spatial transcriptomics; Multi - omics; Periodontitis; Artificial intelligence

Fund programs: National Natural Science Foundation of China (82270982, 82470975); Natural Science Foundation of Guangdong Province (2024A1515010840)

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1366.2025.02.001

牙周炎是一种慢性、破坏性炎症性疾病,主要影响牙龈、牙周膜和牙槽骨等牙周支持组织,是导致成人牙齿丧失的首要原因。牙周炎发病机制复杂,通常涉及细菌感染、宿主免疫反应、细胞间的相互作用和遗传等多方面因素^[1-2]。然而,传统的分子生物学手段难以解析牙周组织中高度异质性的细胞构成,以及各类细胞在疾病中的动态变化。这种局限性阻碍了研究者对牙周炎在细胞和分子层面的全面理解。

单细胞RNA测序(single-cell RNA sequencing, scRNA-seq)技术是近年来生物医学研究领域内的一大突破。通过捕获每个细胞的基因表达数据,从单一细胞层面揭示出细胞类型、亚群组成、基因表达模式和细胞间通讯等关键信息^[3]。在牙周炎研究中,scRNA-seq技术使研究人员可以在单细胞分辨率下分析不同细胞群体在健康与病理状态下的表现,为深入理解牙周炎的病理机制提供了新的视角^[4]。这种技术的应用能揭示牙周病的复杂生物学基础,有助于开发更为精准的诊断和治疗方法。

本文将系统回顾scRNA-seq技术的发展历程,重点介绍该技术在牙周炎研究中的应用和未来发展方向,展示其在揭示病理机制方面的独特优势。通过全面梳理scRNA-seq在牙周炎领域的研究进展和应用前景,以期为未来的研究提供参考和指导。

一、单细胞RNA测序技术的发展

scRNA-seq的概念源自传统的RNA测序技术,该技术自2008年起被广泛应用于分析复杂生物样本中的转录组。然而,传统RNA测序通常只能提供组织内混合细胞群体的平均信号,无法揭示细胞间的异质性。针对这一问题,科学家们开始探索能够从单个细胞中提取并测序RNA的方法(表1)。

1. 早期阶段(2009—2013年):2009年,Tang等^[5]首次成功地从一个单一的小鼠胚胎细胞中提取并测序了RNA,标志着单细胞转录组研究的开始。由于初始的测序方法灵敏度较低,存在扩增偏差和低通量等问题,Ramsköld等^[6]针对这些问题开发了SMART-seq (switching mechanism at 5' end of RNA template for reverse transcription sequencing),在提高

表1 单细胞RNA测序技术:发展历程、技术特点及应用场景

技术名称	时间	简介	优点	缺点	适用场景
Tang等 ^[5]	2009年	首个单细胞RNA测序技术,基于微量反转录和扩增	首次实现单细胞水平转录组测序	敏感性较低,易发生扩增偏差,低通量	初步探索单细胞水平的转录组特性
SMART-seq ^[6]	2012年	基于链末端捕获的RNA扩增方法,较高的转录覆盖	能捕获全长转录本	通量较低,成本较高	小规模高分辨率转录组分析
CEL-Seq ^[7]	2013年	基于线性扩增,加入细胞条形码和唯一分子标识符	定量能力强,可同时分析多个细胞,扩增倚倚较低	不能捕获全长转录本,测序深度较高时成本增加	大规模单细胞分析,如组织或器官分析
SMART-seq2 ^[8]	2014年	对SMART-seq优化,改进扩增效率	提高了灵敏度、准确性和覆盖率,同时扩增偏差降低	通量仍然较低,适合少量细胞分析	探索异质性强的细胞群体
Drop-seq ^[9]	2015年	基于微流控液滴技术,将单细胞包裹在液滴中进行文库制备	高通量,成本较低,适合大规模筛查	灵敏度较低,无法捕获全长转录本	高通量细胞异质性研究,如癌症或免疫细胞群体分析
InDrop ^[10]	2015年	将单个细胞与带有条形码的微珠包裹在液滴中,通过反转录生成带有唯一分子标识符的互补DNA	高通量,成本较低;灵敏度较高,提高了定量精确性,减少了扩增偏差;全程高自动化	无法捕获全长转录本;依赖滴液技术,实验室搭建门槛高,数据分析复杂	在预算有限的情况下,大规模单细胞转录组研究的理想选择
10 × Genomics Chromium ^[11]	2016年	基于微珠条形码的高通量技术	操作简便;覆盖率较高,灵敏度较好	需要专用设备;无法获得全长转录本	大规模转录组研究,适合组织或复杂细胞群体的异质性分析
Seq-Well ^[12]	2017年	基于微孔板的平板高通量RNA测序技术	成本低,实验室易于实现;适用于固定样本	灵敏度和捕获率低于液滴技术	低成本单细胞测序,适合大规模样本的初步筛查
SPLiT-seq ^[13]	2018年	基于分裂池策略的单细胞RNA测序技术	无需微流控设备,成本较低;可用于固定样本	测序深度有限,捕获效率较低	资源受限情况下的大规模样本分析
SMART-seq3 ^[14]	2020年	改进了全长转录本捕获能力和低表达基因的检测灵敏度	灵敏度极高;可实现高质量全长转录本测序	成本较高	深入研究特定细胞群体或解析少量细胞中的转录本特性

灵敏度、减少扩增偏差、提高通量以及改善数据质量方面发挥了关键作用。随后, Picelli等^[8]在2013年进一步改进了SMART-seq方法, 开发了SMART-seq2。相比第一代SMART-seq, SMART-seq2增强了互补脱氧核糖核酸(complementary DNA, cDNA)的扩增效率和测序灵敏度, 特别是在低丰度转录本的检测方面有了显著提升。

第一阶段的scRNA-seq技术确立了单细胞转录组测序的基本框架, 验证了单细胞分析的技术可行性, 为后续更高通量、更自动化的技术平台发展提供了基础。然而, 此阶段的技术主要依赖手动操作分离单细胞, 通量较低, 因此实验通常仅能分析数个到数十个细胞。同时, 实验流程的复杂性和高成本, 限制了其在更广泛研究中的应用。此外, 由于扩增效率不均, 单细胞数据容易产生偏倚。

2. 技术突破(2013—2015年): 2013年, Fluidigm公司推出了C1微流控平台, 这是首款商用的微流控单细胞RNA测序平台^[15]。该平台不仅减少了操作中的污染风险, 还使得流程更加自动化, 大大降低了人工分离带来的不确定性。2015年, Macosko等^[9]提出了基于微滴的高效单细胞分离与标记的Drop-seq(droplet-based single-cell RNA sequencing)技术。该技术不仅降低了单细胞RNA测序的技术门槛, 还使得组织水平的单细胞分析成为可能, 在单细胞基因组学研究中具有里程碑意义^[10]。

这一阶段的技术进步主要体现在微流控平台和微滴技术的引入上, 使得scRNA-seq技术在通量和效率上取得突破。但它们仍存在一定的局限性, 如测序通量相对较低, 或无法获取全长转录本的信息等, 限制了部分基因变异和转录后修饰的检测。

3. 技术成熟及多样化(2016年至今): 随着对数万甚至数十万个单细胞进行测序的需求增加, 新的平台和方法不断涌现。此阶段的主要进展在于10× Genomics Chromium、Seq-Well和InDrop等商用高通量平台的推出, 利用微滴生成系统将单细胞测序通量和数据精确度提升至新的水平^[10-12, 16]。其中, 10× Genomics平台的自动化程度高、数据一致性强, 极大地推动了细胞异质性在复杂生物系统中的研究。在此背景下, 相关分析软件(如Seurat、Monocle和Scanpy)迅速发展, 为大规模单细胞数据的聚类、可视化和轨迹分析等提供了标准化工具^[17-19]。此外, 针对某些细胞类型或样本中较难获得的细胞群体, 尤其是在细胞膜非常坚硬或者互相紧密连接的

组织, 开发了单核RNA测序(single-nucleus RNA sequencing, snRNA-seq)。在snRNA-seq中, RNA样本来源于细胞核, 而非完整的细胞, 导致它通常无法捕捉到细胞质中的RNA^[20]。

这一阶段标志着scRNA-seq从探索性研究工具转变为常规化的实验手段, 为更深入的细胞异质性和复杂组织、器官的单细胞图谱绘制提供了前所未有的便利。尽管如此, 这一阶段的技术依然存在一些局限性。例如, 高通量平台产生的海量数据对计算能力提出了较高要求, 尤其是存储和处理能力。此外, 数据的高噪声和批次效应依然是分析中需要考虑的关键问题。

二、单细胞RNA测序技术在牙周炎中的研究现状

1. 牙龈组织单细胞图谱: 通过构建健康人和牙周炎患者的牙龈组织单细胞图谱, 研究人员可以从细胞层面揭示疾病中的关键变化。多数研究表明, 牙龈组织主要的细胞类型组成为上皮细胞、基质细胞(包括成纤维细胞和内皮细胞)和免疫细胞。其中, 免疫细胞主要由T/NK细胞、B/浆细胞和髓系细胞(包括单核巨噬细胞、中性粒细胞和树突状细胞等)组成^[4, 21-22]。

通过健康与炎症牙龈的对比性图谱构建, 发现这些细胞类型在数量和功能上均表现出显著差异。研究表明, 在牙周炎组织中, 上皮细胞和基质细胞数量较健康组织减少, 而免疫细胞数量较健康组织普遍增多, 其中T细胞、B/浆细胞和中性粒细胞增幅较大^[4, 21-23]。值得注意的是, 中性粒细胞在牙周炎中的数量增加幅度最大, 表明中性粒细胞在牙周炎组织中显著浸润, 对牙周炎的发生、发展起着至关重要的作用^[22]。此外, 研究发现坏死性凋亡的基因集在牙龈成纤维细胞中评分最高, 且在牙周炎状态下升高最显著, 提示坏死性凋亡在牙周炎中显著激活, 并且主要发生在成纤维细胞^[24]。

通过分析单细胞图谱, 研究者能够鉴定出各类细胞的特征基因, 并进一步了解它们在炎症微环境中的功能变化。单细胞图谱不仅揭示了牙龈组织中不同细胞群体的分布, 还为探索细胞间相互作用和信号通路提供了数据支持。

2. 细胞异质性分析: 细胞异质性是指在同一种类的细胞群体中, 不同细胞表现出的基因表达、功能状态、代谢活动等方面的差异。这些细胞群体在不同的疾病阶段、不同的炎症微环境中, 可能会以不同的方式响应炎症、组织损伤和修复机制。

免疫细胞的组成和功能变化在牙周炎的炎症反应中起着重要作用。有研究在牙龈组织中鉴定出一个与中性粒细胞胞外诱捕网(neutrophil extracellular trap, NET)相关的中性粒细胞亚群,且该亚群在牙周炎中明显增多^[22]。除此之外,牙周炎中其他结构性细胞,如成纤维细胞、上皮细胞和内皮细胞等,也表现出显著的异质性^[4,25]。例如,有研究将角质形成细胞进一步分为沟内角质形成细胞(sulcular keratinocytes, SK)和结合角质形成细胞(junctional keratinocytes, JK),在牙周炎的状态下,SK和JK表现出明显的免疫激活特征,尤其是JK炎症因子的表达显著上调,表明它们可能促进免疫细胞的募集^[25]。

因此,通过异质性分析,研究者可以从细胞类型和基因表达水平等方面,精确地分析免疫细胞的亚群构成,揭示不同亚群在牙周炎中的作用,还有助于发现疾病相关的关键细胞亚群,为靶向治疗提供依据^[26]。

3. 拟时序分析:拟时序分析的核心思想是通过构建细胞状态的时间轨迹,推测细胞在某一特定生物学过程中的发展路径。有研究发现,成纤维细胞亚群中存在3个成骨细胞谱系的亚群,分别为间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)、前成骨细胞(pre-osteoblast, pre-OB)和成骨细胞(osteoblast, OB)。通过拟时序分析,不仅确认了MSC向OB分化的细胞轨迹,还发现另一条由pre-OB延伸出的细胞轨迹,其功能主要与细胞外基质分解有关^[27]。因此,通过拟时序分析,研究者可以揭示出在疾病不同阶段中,细胞的转录组和功能状态如何随时间的推移发生变化,并为疾病的干预提供潜在的靶点^[28]。

4. 细胞通讯分析:细胞通讯是多细胞生物的基本特征,通过协调不同细胞类型与组织之间的活动与信息交流,在各种生物过程中起着举足轻重的作用^[29]。近年来,基于scRNA-seq数据的细胞通讯分析方法层出不穷,如CellPhoneDB、CellChat和NicheNet等^[30-33]。许多研究都强调了基质细胞(尤其是成纤维细胞),对调节免疫细胞的趋化募集和炎症反应对牙周炎进展有着重要作用^[34-35]。例如,研究显示,成纤维细胞对NET相关中性粒细胞的通讯作用最强,并可能通过巨噬细胞迁移抑制因子(MIF)-CD74/CXC趋化因子受体4(CXCR4)配受体对促进中性粒细胞产生NET加重牙周炎的病理进展^[22]。此外,细胞通讯分析不仅揭示了牙周炎中的病理机制,还可能用于指导临床治疗策略的开发^[36]。

近年来,针对scRNA-seq数据的分析方法不断丰富和创新,除了上述常规的分析方法外,还有许多新兴方法应运而生。例如,转录因子调控网络构建方法能够解析关键转录因子及其调控的基因网络,揭示细胞命运决定的分子机制^[37];表型动力学建模技术通过动态建模追踪细胞状态的转变路径并量化状态间的转化速率,确定细胞重编程中的发育轨迹^[38]。此外,细胞周期状态精细解析、空间分布特性模拟、细胞能量代谢状态推断和信号通路动态活动推断等方法^[39-42],为解析细胞的功能状态、转录调控机制及其动态变化提供了新的思路。这些分析方法从多维度挖掘单细胞转录组数据中的深层次信息,为研究牙周炎的病理机制提供了强有力的工具。

三、单细胞RNA测序在牙周领域的未来趋势

1. 空间转录组学:传统的scRNA-seq由于细胞在分离过程中失去了原有的组织位置,难以重构细胞在空间维度上的相互关系。而空间转录组学(spatial transcriptomics)通过将基因表达数据与其在组织中的物理位置结合,不仅揭示了组织结构与细胞功能的关系,还为疾病中的细胞定位及其空间相互作用机制提供了重要见解。常见的技术包括10× Visium、Slide-seq、MERFISH(multiplexed error-robust fluorescence in situ hybridization)和Stereo-seq(SpaTial enhanced REsolution omics sequencing)等。不同技术在芯片原理和测序深度上存在差异。10× Visium基于捕获芯片,适用于大规模分析但分辨率有限;Slide-seq利用条形码微珠实现较高分辨率,但制备复杂;MERFISH通过荧光原位杂交提供超高分辨率,适合多基因检测,但成本和周期较长;Stereo-seq结合纳米芯片和高通量测序,具备亚细胞级分辨率和大范围覆盖,但成本较高^[43-46]。

已有研究显示,在牙周炎状态下,JK周围聚集了更多的先天性和适应性免疫细胞,并形成了特定的免疫微环境,JK邻近区域显示出PD-L1阳性的免疫抑制特性,而SK周围形成了三级淋巴结构,适应性免疫细胞在此更为活跃^[25]。还有研究发现,与健康人相比,IFI16基因的表达和炎症相关的信号通路在牙周炎患者的牙龈内皮细胞区域中显著上调^[47]。此外,空间转录组学和细胞通讯分析的结合,能够进一步揭示牙周炎中细胞间相互作用的空间特异性。例如,Caetano等^[48]的研究在牙龈组织上定位了一个罕见的致病成纤维细胞群体,通过CXCL8和CXCL10招募淋巴细胞,并可能通过ALOX5AP在病

理性血管生成中发挥作用。

空间转录组学在牙周炎研究中展示了巨大潜力,为理解复杂的炎症性微环境开辟了新的途径,但仍存在诸多局限。首先,分辨率与灵敏度的权衡是当前的主要局限之一,即便部分平台可实现单细胞或亚细胞级分辨率,但其检测灵敏度受限且捕获效率不足,影响数据完整性^[49]。其次,目前技术并非真正意义上的单细胞测序,而是通过细胞分割识别细胞边界并分配对应的数据,因此面临分辨率限制、图像质量依赖及多模态数据整合困难等挑战^[50]。此外,组织类型与样本特异性差异也影响数据可比性和应用推广^[51]。未来研究需聚焦提升灵敏度、降低成本及优化数据整合策略以促进其临床和研究应用。

2. 多组学联合分析:单一组学数据的局限性可能难以全面揭示复杂生物系统的动态变化,而多组学联合分析通过整合不同类型的组学数据,能够从多维度解读生物学过程,揭示不同分子层次之间的相互作用和调控关系^[52-53]。例如,Easter等^[25]通过使用 SAHMI (single - cell analysis of host - microbiome

interactions)方法,整合了单细胞转录组数据和微生物组学信息,首次在单细胞分辨率上揭示了宿主上皮细胞与牙周致病菌的相互作用,强调了细菌负载的细胞特异性和对炎症调控的作用。与此同时,单细胞多组学测序也在迅猛发展,可同时测定基因表达、表观遗传状态和蛋白表达水平等信息,全面解析细胞状态(表2)。

尽管多组学联合分析在生物医学和系统生物学研究中展现出巨大潜力,但在实际应用过程中仍面临诸多挑战与不足。首先,不同组学在数据获取、预处理和测序技术上存在显著差异,导致整合过程中的数据异质性问题和标准化困难,尤其是微生物组与宿主数据整合时,会面临基因变异性高和参考数据库不足的问题;其次,当前分析策略在设计时往往忽略组织特异性和细胞类型差异,限制了生物学解释力和临床应用价值;此外,现有整合工具多以统计方法为主,难以捕捉非线性关系,而机器学习等方法虽具潜力,但解释性较差,阻碍了临床应用^[64-65]。

表2 单细胞多组学测序技术:发展历程、技术特点及应用场景

技术名称	时间	简介	优点	缺点	适用场景
G&T-seq ^[54]	2015年	联合分析单细胞基因组和转录组	研究突变对转录组的影响	数据量大,需深度测序	癌症、遗传疾病等研究
scTrio-seq ^[55]	2016年	同时分析单细胞转录组、DNA甲基化和拷贝数变异	可解析基因表达、表观遗传调控和基因组变异的关联	实验流程复杂,数据处理难度大	癌症研究、基因组变异对转录调控的影响
CROP-seq ^[56]	2017年	将CRISPR-Cas9介导的基因编辑与单细胞转录组测序结合	可同时评估基因编辑对细胞转录组的影响	依赖高效的CRISPR工具,适用性受限	功能基因筛选、验证关键基因对细胞状态的影响
CITE-seq ^[57]	2017年	将单细胞转录组测序与蛋白质标记(基于抗体和DNA条形码)结合	同时分析转录组和表面蛋白表达,拓展表型信息	依赖抗体质量,无法检测所有蛋白	免疫细胞研究,解析表型多样性
REAP-seq ^[58]	2017年	类似于CITE-seq,结合转录组和表面蛋白测定	提供更多蛋白-转录组关联信息;通量较高	需要开发和验证高质量抗体	免疫学研究、药物靶点筛选
scM&T-seq ^[59]	2018年	联合单细胞转录组和DNA甲基化测序	同时获取转录组和DNA甲基化数据,以便研究基因调控	测序深度需求高;实验复杂	胚胎发育、癌症等领域中的基因-表观遗传互作研究
scNMT-seq ^[60]	2018年	联合单细胞转录组、DNA甲基化和组蛋白修饰测序	捕获多层次表观遗传信息和转录组,关联基因调控和表达	实验复杂;数据分析挑战大	研究基因表达与表观遗传状态的全景关系
sci-CAR ^[61]	2018年	结合转录组测序和染色质可及性测序,基于细胞索引技术	高通量,单次实验可分析上万个细胞	灵敏度有限,需要优化分辨率	表观遗传与基因表达关联分析,研究发育过程
Paired-seq ^[62]	2019年	同时分析单细胞转录组和染色质开放性,基于物理分离和分子索引	数据质量高;能关联染色质状态与转录动态	实验流程较复杂,依赖优化实验条件	单细胞水平上分析基因表达调控机制
DOGMA-seq ^[63]	2021年	允许共同测量来自同一细胞的染色质可及性、基因表达、蛋白质和细胞谱系,最后一项是通过线粒体DNA测量的	允许更全面的表型特征;可以从线粒体突变中进行系谱推断	可能会对RNA质量产生负面影响;实验复杂,数据分析挑战大	多层次剖析分化的表观遗传决定因素及其动态,构建全基因组调控模型

未来,通过对牙周炎患者的纵向采样和多组学分析,可以研究疾病进程中的动态分子变化,揭示疾病发生和发展的关键节点。针对上述不足之处,未来的多组学分析需在提高数据整合效率、增强生物学解释力和促进临床应用方面不断优化。

3. 大数据分析与人工智能:随着测序技术的快速发展,单细胞快速步入百万级、多组学的时代。近年来,单细胞的大数据整合处理成为各领域研究和算法开发的热点,并诞生了许多跨数据集或跨组织的单细胞研究^[66-68]。在牙周领域,有研究整合了4个不同的scRNA-seq数据集,涵盖了健康、牙龈炎和牙周炎3种状态的样本^[25]。这类整合分析多个来源的scRNA-seq数据能够有效弥补单个数据集的局限,收集更完整的细胞类型和生物信息,生成更全面、细致的细胞图谱。

现有数据不仅包含大量细胞和基因的信息,还涉及多组学的交互关系。因此,如何高效地处理、分析和挖掘有效信息,成为现代生命科学研究中的一大挑战。人工智能技术(特别是机器学习)在大数据分析中的应用日益广泛,显著提升了数据分析的效率和准确性(表3)。

未来,研究人员可构建牙周炎相关的开放式单细胞数据库,整合全球范围内的scRNA-seq和多组学数据,并通过云计算技术提供高效的数据存储和

分析环境。更重要的是,还可以将人工智能与临床数据结合,构建牙周炎的诊疗决策系统,推动单细胞技术在临床中的实际应用,为患者提供精准化的诊疗方案。

4. 临床诊治:单细胞技术通过揭示细胞层面的转录组信息,为牙周炎等复杂疾病的病理机制研究提供了前所未有的精细视角。通过识别特定的炎症相关基因或细胞亚群,研究人员有望开发出靶向的分子治疗手段。例如,研究发现高表达CD74的巨噬细胞在牙周炎的消退过程中显著增加,针对其扩增以促进炎症消退为牙周炎的治疗提供了新思路^[76]。将scRNA-seq与表观遗传组、蛋白质组或代谢组相结合,可实现更全面的患者分析。未来,这种多组学联合方法有望成为牙周炎精准医学的核心工具,为临床诊治提供更系统和深入的解决方案。

尽管scRNA-seq在牙周炎研究中展现了巨大的潜力,但其临床转化仍面临许多挑战,包括高昂的技术成本、数据分析的复杂性,不同研究间的数据差异性,以及在临床转化过程中可能遇到的适用性问题。未来需要开发更加经济、高效且标准化的流程,以降低技术门槛,推动其临床普及。

四、总结与展望

scRNA-seq技术为揭示细胞异质性和解析复杂疾病机制提供了前所未有的工具。在牙周炎研究

表3 基于人工智能的多组学整合:方法特点及应用场景

方法	时间	简介	优点	缺点	适用场景
totalVI ^[69]	2021年	使用变分自动编码器整合单细胞转录组和蛋白组数据	处理数据缺失能力强	结果解释性较低;需要较高的计算资源	CITE-seq数据整合分析,单细胞表型解析
GLUE ^[70]	2021年	基于图神经网络构建跨组学数据的联合嵌入模型,实现细胞特征的全面整合	适应性强,可整合多模态数据	需要高质量的标注数据;训练过程可能较慢	单细胞多组学分析,细胞类型分类,转录与表观遗传关联分析
BABEL ^[71]	2021年	利用对抗性生成网络实现单细胞数据模态的转换,并可以整合额外的单细胞数据模式	可用于模态预测和数据补全,提升跨组学数据整合能力	训练过程需要大量数据;模型稳定性依赖于参数选择	模态转换,单细胞数据补全和多组学预测
BindSC ^[72]	2022年	使用深度学习模型,通过稀疏编码解耦多组学数据(如RNA和ATAC)之间的特定和共享特征	提供跨模态的特征匹配能力,有助于分析转录调控机制	模型较为复杂;数据预处理要求高	转录组与染色质状态匹配分析,解析基因调控网络
MultiVI ^[73]	2023年	基于变分推断的深度学习框架,整合单细胞转录组和ATAC-seq(Assay for Transposase-Accessible Chromatin with high throughput sequencing)数据	对数据缺失有鲁棒性;可处理多模态和单模态数据	需要复杂的模型训练;结果解释性较低	单细胞转录组和ATAC-seq数据整合,多模态细胞表征
scMoGNN ^[74]	2022年	使用图神经网络对单细胞多组学数据建模,通过构建图节点表示整合RNA和ATAC数据	提供了高效的多组学整合分析能力,尤其适用于稀疏数据	图模型的参数调优复杂,计算资源需求高	单细胞转录组-ATAC数据整合,细胞异质性研究
DeepMAPS ^[75]	2023年	基于深度学习的框架,通过构建互作矩阵整合转录组和蛋白质组数据	可精确预测基因表达与蛋白水平的关联	数据处理复杂;模型参数选择对结果影响较大	转录-蛋白互作预测,多组学层次的生物网络重构

中,scRNA-seq已经广泛应用于绘制细胞图谱、分析细胞通讯网络以及探索疾病动态变化,推动了对这一复杂疾病的精准理解。这些研究揭示了牙周炎病程中的关键细胞亚群及其功能,挖掘了潜在的治疗靶点和诊断标志物,为个性化治疗提供了科学依据。然而,当前技术在成本、数据处理、空间信息解析及临床转化等方面仍面临诸多挑战,需要进一步优化与突破^[77]。

随着人工智能分析技术、算法优化和标准化流程的不断完善,scRNA-seq和空间转录组的分析能力将进一步提高,这将使得单细胞技术的应用更加高效和精准。未来的趋势是,随着这些技术的广泛推广,单细胞技术将为广大患者和医生提供更加便捷的服务。同时,随着技术的普及和成本的逐渐降低,单细胞技术将在未来医疗中扮演越来越重要的角色,推动精准医疗的应用并降低整体医疗费用,为疾病预防和治疗带来前所未有的机遇。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Moutsopoulos NM, Konkel JE. Tissue specific immunity at the oral mucosal barrier [J]. *Trends Immunol*, 2018, 39 (4) : 276-287. DOI:10.1016/j.it.2017.08.005.
- [2] Chapple ILC, Hirschfeld J, Kantarci A, et al. The role of the host: Neutrophil biology [J]. *Periodontology 2000*, 2023. DOI: 10.1111/prd.12490.
- [3] Papalexi E, Satija R. Single-cell RNA sequencing to explore immune cell heterogeneity [J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18(1) : 35-45. DOI:10.1038/nri.2017.76.
- [4] Williams DW, Greenwell-Wild T, Brenchley L, et al. Human oral mucosa cell atlas reveals a stromal-neutrophil axis regulating tissue immunity [J]. *Cell*, 2021, 184(15) : 4090-4104.e15. DOI: 10.1016/j.cell.2021.05.013.
- [5] Tang F, Barbacioru C, Wang Y, et al. mRNA-seq whole-transcriptome analysis of a single cell [J]. *Nat Methods*, 2009, 6 (5) : 377-382. DOI:10.1038/nmeth.1315.
- [6] Ramsköld D, Luo S, Wang YC, et al. Full-length mRNA-Seq from single-cell levels of RNA and individual circulating tumor cells [J]. *Nature Biotechnology*, 2012, 30 (8) : 777-782. DOI: 10.1038/nbt.2282.
- [7] Hashimshony T, Wagner F, Sher N, et al. CEL-seq: Single-cell RNA-seq by multiplexed linear amplification [J]. *Cell Rep*, 2012, 2(3) : 666-673. DOI:10.1016/j.celrep.2012.08.003.
- [8] Picelli S, Björklund ÅK, Faridani OR, et al. Smart-seq2 for sensitive full-length transcriptome profiling in single cells [J]. *Nat Methods*, 2013, 10 (11) : 1096-1098. DOI: 10.1038/nmeth.2639.
- [9] Macosko EZ, Basu A, Satija R, et al. Highly parallel genome-wide expression profiling of individual cells using nanoliter droplets [J]. *Cell*, 2015, 161 (5) : 1202-1214. DOI: 10.1016/j.cell.2015.05.002.
- [10] Klein AM, Mazutis L, Akartuna I, et al. Droplet barcoding for single-cell transcriptomics applied to embryonic stem cells [J]. *Cell*, 2015, 161(5) : 1187-1201. DOI:10.1016/j.cell.2015.04.044.
- [11] Dixit A, Parnas O, Li B, et al. Perturb-seq: Dissecting molecular circuits with scalable single-cell RNA profiling of pooled genetic screens [J]. *Cell*, 2016, 167(7) : 1853-1866.e17. DOI:10.1016/j.cell.2016.11.038.
- [12] Gierahn TM, Wadsworth MH, Hughes TK, et al. Seq-well: Portable, low-cost RNA sequencing of single cells at high throughput [J]. *Nat Methods*, 2017, 14 (4) : 395-398. DOI: 10.1038/nmeth.4179.
- [13] Rosenberg AB, Roco CM, Muscat RA, et al. Single-cell profiling of the developing mouse brain and spinal cord with split-pool barcoding [J]. *Science*, 2018, 360 (6385) : 176-182. DOI: 10.1126/science.aam8999.
- [14] Hagemann-Jensen M, Ziegenhain C, Chen P, et al. Single-cell RNA counting at allele and isoform resolution using smart-seq3 [J]. *Nat Biotechnol*, 2020, 38 (6) : 708-714. DOI: 10.1038/s41587-020-0497-0.
- [15] Tan SJ, Phan H, Gerry BM, et al. A microfluidic device for preparing next generation DNA sequencing libraries and for automating other laboratory protocols that require one or more column chromatography steps [J]. *PloS One*, 2013, 8(7) : e64084. DOI:10.1371/journal.pone.0064084.
- [16] Zhang X, Li T, Liu F, et al. Comparative analysis of droplet-based ultra-high-throughput single-cell RNA-seq systems [J]. *Molecular Cell*, 2019, 73(1) : 130-142.e5. DOI:10.1016/j.molcel.2018.10.020.
- [17] Satija R, Farrell JA, Gennert D, et al. Spatial reconstruction of single-cell gene expression data [J]. *Nat Biotechnol*, 2015, 33 (5) : 495-502. DOI:10.1038/nbt.3192.
- [18] Trapnell C, Cacchiarelli D, Grimsby J, et al. The dynamics and regulators of cell fate decisions are revealed by pseudotemporal ordering of single cells [J]. *Nature Biotechnology*, 2014, 32(4) : 381-386. DOI:10.1038/nbt.2859.
- [19] Wolf FA, Angerer P, Theis FJ. SCANPY: Large-scale single-cell gene expression data analysis [J]. *Genome Biol*, 2018, 19 (1) : 15. DOI:10.1186/s13059-017-1382-0.
- [20] Ding J, Adiconis X, Simmons SK, et al. Systematic comparison of single-cell and single-nucleus RNA-sequencing methods [J]. *Nat Biotechnol*, 2020, 38 (6) : 737-746. DOI: 10.1038/s41587-020-0465-8.
- [21] Qian SJ, Huang QR, Chen RY, et al. Single-cell RNA sequencing identifies new inflammation-promoting cell subsets in asian patients with chronic periodontitis [J]. *Front Immunol*, 2021, 12 : 711337. DOI:10.3389/fimmu.2021.711337.
- [22] Qiu W, Guo R, Yu H, et al. Single-cell atlas of human gingiva

- unveils a NETs - related neutrophil subpopulation regulating periodontal immunity [J]. *J Adv Res*, 2024; S2090 - 1232 (24) 00312-6. DOI:10.1016/j.jare.2024.07.028.
- [23] Agrafioti P, Morin-Baxter J, Tanagala KKK, et al. Decoding the role of macrophages in periodontitis and type 2 diabetes using single - cell RNA - sequencing [J]. *FASEB J*, 2022, 36 (2) : e22136. DOI:10.1096/fj.202101198R.
- [24] Zhang K, Chen X, Zhou R, et al. Inhibition of gingival fibroblast necroptosis mediated by RIPK3/MLKL attenuates periodontitis [J]. *J Clin Periodontol*, 2023, 50(9) :1264-1279. DOI: 10.1111/jcpe.13841.
- [25] Easter QT, Fernandes Matuck B, Beldorati Stark G, et al. Single-cell and spatially resolved interactomics of tooth - associated keratinocytes in periodontitis [J]. *Nat Commun*, 2024, 15 (1) : 5016. DOI:10.1038/s41467-024-49037-y.
- [26] Liu C, Xie J, Lin B, et al. Pan-cancer single-cell and spatial-resolved profiling reveals the immunosuppressive role of APOE+ macrophages in immune checkpoint inhibitor therapy [J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2024, 11 (23) : e2401061. DOI: 10.1002/advs.202401061.
- [27] Chen Y, Wang H, Yang Q, et al. Single-cell RNA landscape of the osteoimmunology microenvironment in periodontitis [J]. *Theranostics*, 2022,12(3):1074-1096. DOI:10.7150/thno.65694.
- [28] Liu Y, He S, Wang XL, et al. Tumour heterogeneity and intercellular networks of nasopharyngeal carcinoma at single cell resolution [J]. *Nat Commun*, 2021, 12 (1) : 741. DOI: 10.1038/s41467-021-21043-4.
- [29] Su J, Song Y, Zhu Z, et al. Cell - cell communication: New insights and clinical implications [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2024,9(1):196. DOI:10.1038/s41392-024-01888-z.
- [30] Jin S, Guerrero-Juarez CF, Zhang L, et al. Inference and analysis of cell - cell communication using CellChat [J]. *Nat Commun*, 2021,12(1):1088. DOI:10.1038/s41467-021-21246-9.
- [31] Efremova M, Vento-Tormo M, Teichmann SA, et al. CellPhoneDB: Inferring cell - cell communication from combined expression of multi-subunit ligand-receptor complexes [J]. *Nat Protoc*, 2020, 15(4) :1484-1506. DOI: 10.1038/s41596-020-0292-x.
- [32] Browaeys R, Saelens W, Saeys Y. NicheNet: Modeling intercellular communication by linking ligands to target genes [J]. *Nat Methods*, 2020, 17(2) : 159-162. DOI:10.1038/s41592-019-0667-5.
- [33] Armingol E, Baghdassarian HM, Lewis NE. The diversification of methods for studying cell-cell interactions and communication [J]. *Nat Rev Genet*, 2024, 25 (6) : 381 - 400. DOI: 10.1038/s41576-023-00685-8.
- [34] Mo JJ, Lai YR, Huang QR, et al. Single-cell sequencing identifies inflammation-promoting fibroblast-neutrophil interaction in peri-implantitis [J]. *J Clin Periodontol*, 2024, 51(2) :196-208. DOI: 10.1111/jcpe.13912.
- [35] Wang Q, Lin W, Zhou X, et al. Single-cell transcriptomic atlas of gingival mucosa in type 2 diabetes [J]. *J Dent Res*, 2022, 101 (13) :1654-1664. DOI:10.1177/00220345221092752.
- [36] Amrute JM, Luo X, Penna V, et al. Targeting immune-fibroblast cell communication in heart failure [J]. *Nature*, 2024, 635 (8038) :423-433. DOI:10.1038/s41586-024-08008-5.
- [37] Aibar S, González-Blas CB, Moerman T, et al. SCENIC: Single-cell regulatory network inference and clustering [J]. *Nat Methods*, 2017, 14(11) :1083-1086. DOI:10.1038/nmeth.4463.
- [38] Schiebinger G, Shu J, Tabaka M, et al. Optimal - transport analysis of single - cell gene expression identifies developmental trajectories in reprogramming [J]. *Cell*, 2019, 176(4) :928-943. e22. DOI:10.1016/j.cell.2019.01.006.
- [39] Scialdone A, Natarajan KN, Saraiva LR, et al. Computational assignment of cell-cycle stage from single-cell transcriptome data [J]. *Methods*, 2015, 85: 54-61. DOI: 10.1016/j.jmeth.2015.06.021.
- [40] Moriel N, Senel E, Friedman N, et al. NovoSpaRc: Flexible spatial reconstruction of single-cell gene expression with optimal transport [J]. *Nat Protoc*, 2021, 16 (9) : 4177 - 4200. DOI: 10.1038/s41596-021-00573-7.
- [41] Alghamdi N, Chang W, Dang P, et al. A graph neural network model to estimate cell-wise metabolic flux using single-cell RNA-seq data [J]. *Genome Res*, 2021, 31 (10) : 1867 - 1884. DOI: 10.1101/gr.271205.120.
- [42] Holland CH, Tanevski J, Perales-Patón J, et al. Robustness and applicability of transcription factor and pathway analysis tools on single - cell RNA - seq data [J]. *Genome Biol*, 2020, 21 (1) : 36. DOI:10.1186/s13059-020-1949-z.
- [43] Dixon EE, Wu H, Muto Y, et al. Spatially resolved transcriptomic analysis of acute kidney injury in a female murine model [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2022, 33 (2) : 279 - 289. DOI: 10.1681/ASN.2021081150.
- [44] Rodrigues SG, Stickels RR, Goeva A, et al. Slide - seq: A scalable technology for measuring genome - wide expression at high spatial resolution [J]. *Science*, 2019, 363 (6434) : 1463 - 1467. DOI:10.1126/science.aaw1219.
- [45] Chen KH, Boettiger AN, Moffitt JR, et al. Spatially resolved, highly multiplexed RNA profiling in single cells [J]. *Science*, 2015, 348(6233) :aaa6090. DOI:10.1126/science.aaa6090.
- [46] Chen A, Liao S, Cheng M, et al. Spatiotemporal transcriptomic atlas of mouse organogenesis using DNA nanoball - patterned arrays [J]. *Cell*, 2022, 185(10) :1777-1792.e21. DOI:10.1016/j.cell.2022.04.003.
- [47] Shen Z, Zhang R, Huang Y, et al. The spatial transcriptomic landscape of human gingiva in health and periodontitis [J]. *Sci China Life Sci*, 2024, 67(4) :720-732. DOI:10.1007/s11427-023-2467-1.
- [48] Caetano AJ, Redhead Y, Karim F, et al. Spatially resolved transcriptomics reveals pro - inflammatory fibroblast involved in lymphocyte recruitment through CXCL8 and CXCL10 [J]. *Elife*, 2023, 12: e81525. DOI:10.7554/eLife.81525.
- [49] Rao A, Barkley D, França GS, et al. Exploring tissue architecture

- using spatial transcriptomics[J]. *Nature*, 2021, 596(7871):211-220. DOI:10.1038/s41586-021-03634-9.
- [50] Chen H, Li D, Bar-Joseph Z. SCS: Cell segmentation for high-resolution spatial transcriptomics[J]. *Nat Methods*, 2023, 20(8):1237-1243. DOI:10.1038/s41592-023-01939-3.
- [51] Zhu J, Pang K, Hu B, et al. Custom microfluidic chip design enables cost-effective three-dimensional spatiotemporal transcriptomics with a wide field of view[J]. *Nat Genet*, 2024, 56(10):2259-2270. DOI:10.1038/s41588-024-01906-4.
- [52] Stuart T, Satija R. Integrative single-cell analysis[J]. *Nat Rev Genet*, 2019, 20(5):257-272. DOI:10.1038/s41576-019-0093-7.
- [53] Miao Z, Humphreys BD, McMahon AP, et al. Multi-omics integration in the age of million single-cell data[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2021, 17(11):710-724. DOI:10.1038/s41581-021-00463-x.
- [54] Macaulay IC, Haerty W, Kumar P, et al. G&T-seq: Parallel sequencing of single-cell genomes and transcriptomes[J]. *Nat Methods*, 2015, 12(6):519-522. DOI:10.1038/nmeth.3370.
- [55] Hou Y, Guo H, Cao C, et al. Single-cell triple omics sequencing reveals genetic, epigenetic, and transcriptomic heterogeneity in hepatocellular carcinomas[J]. *Cell Res*, 2016, 26(3):304-319. DOI:10.1038/cr.2016.23.
- [56] Datlinger P, Rendeiro AF, Schmid C, et al. Pooled CRISPR screening with single-cell transcriptome readout[J]. *Nat Methods*, 2017, 14(3):297-301. DOI:10.1038/nmeth.4177.
- [57] Stoeckius M, Hafemeister C, Stephenson W, et al. Simultaneous epitope and transcriptome measurement in single cells[J]. *Nat Methods*, 2017, 14(9):865-868. DOI:10.1038/nmeth.4380.
- [58] Peterson VM, Zhang KX, Kumar N, et al. Multiplexed quantification of proteins and transcripts in single cells[J]. *Nat Biotechnol*, 2017, 35(10):936-939. DOI:10.1038/nbt.3973.
- [59] Angermueller C, Clark SJ, Lee HJ, et al. Parallel single-cell sequencing links transcriptional and epigenetic heterogeneity[J]. *Nat Methods*, 2016, 13(3):229-232. DOI:10.1038/nmeth.3728.
- [60] Clark SJ, Argelaguet R, Kapourani CA, et al. scNMT-seq enables joint profiling of chromatin accessibility DNA methylation and transcription in single cells[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):781. DOI:10.1038/s41467-018-03149-4.
- [61] Cao J, Cusanovich DA, Ramani V, et al. Joint profiling of chromatin accessibility and gene expression in thousands of single cells[J]. *Science*, 2018, 361(6409):1380-1385. DOI:10.1126/science.aau0730.
- [62] Zhu C, Yu M, Huang H, et al. An ultra high-throughput method for single-cell joint analysis of open chromatin and transcriptome[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2019, 26(11):1063-1070. DOI:10.1038/s41594-019-0323-x.
- [63] Mimitou EP, Lareau CA, Chen KY, et al. Scalable, multimodal profiling of chromatin accessibility, gene expression and protein levels in single cells[J]. *Nat Biotechnol*, 2021, 39(10):1246-1258. DOI:10.1038/s41587-021-00927-2.
- [64] Picard M, Scott-Boyer MP, Bodein A, et al. Integration strategies of multi-omics data for machine learning analysis[J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2021, 19:3735-3746. DOI:10.1016/j.csbj.2021.06.030.
- [65] Hayes CN, Nakahara H, Ono A, et al. From omics to multi-omics: A review of advantages and tradeoffs[J]. *Genes (Basel)*, 2024, 15(12):1551. DOI:10.3390/genes15121551.
- [66] Butler A, Hoffman P, Smibert P, et al. Integrating single-cell transcriptomic data across different conditions, technologies, and species[J]. *Nat Biotechnol*, 2018, 36(5):411-420. DOI:10.1038/nbt.4096.
- [67] Buechler MB, Pradhan RN, Krishnamurty AT, et al. Cross-tissue organization of the fibroblast lineage[J]. *Nature*, 2021, 593(7860):575-579. DOI:10.1038/s41586-021-03549-5.
- [68] Xu C, Prete M, Webb S, et al. Automatic cell-type harmonization and integration across Human Cell Atlas datasets[J]. *Cell*, 2023, 186(26):5876-5891.e20. DOI:10.1016/j.cell.2023.11.026.
- [69] Gayoso A, Steier Z, Lopez R, et al. Joint probabilistic modeling of single-cell multi-omic data with total VI[J]. *Nat Methods*, 2021, 18(3):272-282. DOI:10.1038/s41592-020-01050-x.
- [70] Cao ZJ, Gao G. Multi-omics single-cell data integration and regulatory inference with graph-linked embedding[J]. *Nat Biotechnol*, 2022, 40(10):1458-1466. DOI:10.1038/s41587-022-01284-4.
- [71] Wu KE, Yost KE, Chang HY, et al. BABEL enables cross-modality translation between multiomic profiles at single-cell resolution[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2021, 118(15):e2023070118. DOI:10.1073/pnas.2023070118.
- [72] Dou J, Liang S, Mohanty V, et al. Bi-order multimodal integration of single-cell data[J]. *Genome Biol*, 2022, 23(1):112. DOI:10.1186/s13059-022-02679-x.
- [73] Ashuach T, Gabitto MI, Koodli RV, et al. Multi VI: Deep generative model for the integration of multimodal data[J]. *Nat Methods*, 2023, 20(8):1222-1231. DOI:10.1038/s41592-023-01909-9.
- [74] Wen H, Ding J, Jin W, et al. Graph neural networks for multimodal single-cell data integration[C]//Proceedings of the 28th ACM SIGKDD Conference on Knowledge Discovery and Data Mining, New York, NY, USA: Association for Computing Machinery, 2022: 4153 - 4163. <https://dl.acm.org/doi/10.1145/3534678.3539213>.
- [75] Ma A, Wang X, Li J, et al. Single-cell biological network inference using a heterogeneous graph transformer[J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1):964. DOI:10.1038/s41467-023-36559-0.
- [76] Cantalupo P, Diacou A, Park S, et al. Single-cell RNA-seq reveals a resolving immune phenotype in the oral mucosa[J]. *iScience*, 2024, 27(9):110735. DOI:10.1016/j.isci.2024.110735.
- [77] Lähnemann D, Köster J, Szczurek E, et al. Eleven grand challenges in single-cell data science[J]. *Genome Biol*, 2020, 21(1):31. DOI:10.1186/s13059-020-1926-6.

(收稿日期:2024-12-16)

(本文编辑:王嫚)