

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2023 年 1 月 28 日 第 31 卷 第 2 期 (Volume 31 Number 2)



2 / 2023

ISSN 1009-3079



《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议、开放获取和在线出版的学术刊物。本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录。



文献综述

- 41 肠上皮化生在Barrett's食管进展为食管腺癌中作用的研究进展
李海素, 褚传莲
- 48 单细胞转录组测序技术在胃癌研究中的应用
张鑫, 王艳春, 刘纯杰

临床研究

- 56 生物电阻抗法测定体脂率、内脏脂肪面积及静息代谢率与代谢相关脂肪性肝病的关系
贺登花, 张勇湛, 徐亮, 裴佳佳, 张颖, 闫忠芳
- 66 可自行调节挂线在高位复杂性肛瘘中的临床应用
沈军权, 徐焕军, 周海涛

临床实践

- 73 胆囊神经内分泌癌的影像表现与病理特征分析
赵蕾, 杨青

病例报告

- 80 脾动脉主干栓塞序贯肝脾微波消融治疗 II b期肝癌并门静脉高压症1例
吴宇旋, 陈现现, 刘育齐, 王忠富, 徐涛, 张定国

消 息

- 72 《代谢相关脂肪性肝病肝外并发症》书讯
79 《世界华人消化杂志》栏目设置
84 《世界华人消化杂志》修回稿须知

封面故事

孙学刚, 教授, 博士生导师, “全国高校黄大年式教师团队”南方医科大学中西医结合教师团队核心成员, 担任中华中医药学会中医基础理论分会副主任委员、肿瘤分会常委. 长期以肿瘤微环境及转移前微环境的病机与病证本质为研究重心, 倡导构建以肿瘤微环境病机为核心的辨证框架, 探讨中医经典方剂防治结直肠癌生长与转移的免疫调控机制. 获多项国家自然科学基金项目资助.

本期责任人

编务 张砚梁; 送审编辑 张砚梁; 组版编辑 张砚梁; 英文编辑 王天奇;
形式规范审核编辑部主任 郭旭; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2023-01-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

共同主编

党双锁, 博士, 教授, 研究员, 主任医师, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

郭晓钟, 博士, 教授, 110840, 辽宁省沈阳市, 北部战区总医院消化内科

霍丽娟, 博士, 主任医师, 030001, 山西省太原市, 山西医科大学第一医院消化内科

江学良, 博士, 教授, 250001, 山东省济南市, 山东中医药大学第二附属医院消化中心

田艳涛, 博士, 教授, 主任医师, 100021, 北京市, 国

家癌症中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院胰胃外科

王小众, 博士, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科

姚登福, 博士, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 博士, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

<https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

编辑部

王金磊, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路
62号, 远洋国际中心D座903室
电话: +86-10-85381901

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<https://www.baishideng.com>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者和编者之间的信息反馈交流.

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

定价

每期136.00元 全年24期3264.00元

© 2023 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.



Contents

Volume 31 Number 2 January 28, 2023

REVIEW

- 41 Intestinal metaplasia in progression of Barrett's esophagus to esophageal adenocarcinoma

Li HS, Chu CL

- 48 Application of single-cell transcriptome sequencing in gastric cancer

Zhang X, Wang YC, Liu CJ

CLINICAL RESEARCH

- 56 Relationship between metabolic associated fatty liver disease and body fat ratio, visceral fat area, and resting metabolic rate estimated by bioelectrical impedance analysis

He DH, Zhang YZ, Xu L, Pei JJ, Zhang Y, Yan ZF

- 66 Clinical application of self-adjustable seton in high complex anal fistula

Shen JQ, Xu HJ, Zhou HT

CLINICAL PRACTICE

- 73 Imaging manifestations and pathological features of neuroendocrine carcinoma of the gallbladder

Zhao L, Yang Q

CASE REPORT

- 80 Treatment of stage IIb hepatocellular carcinoma with portal hypertension by sequential therapy of main splenic artery embolization and liver and spleen microwave ablation: A case report

Wu YX, Chen XX, Liu YQ, Wang ZF, Xu T, Zhang DG

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 31 Number 2 January 28, 2023

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Xue-Gang Sun, Professor, Doctoral Supervisor, School of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, No. 1838 Guangzhoudadaobei, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China. sgx_smu@126.com

Indexed/Abstracted by

Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, Abstract Journals, Scopus, CNKI, CSTJ and Superstar Journals Database.

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Yan-Liang Zhang*

Review Editor: *Yan-Liang Zhang*

Production Editor: *Yan-Liang Zhang*

English Language Editor: *Tian-Qi Wang*

Proof Editor: *Xu Guo*

Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date January 28, 2023

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

CO-EDITORS-IN-CHIEF

Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, The Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Xiao-Zhong Guo, Professor, Department of Gastroenterology, North Theater General Hospital, Shenyang 110840, Liaoning Province, China

Li-Juan Huo, Chief Physician, Department of Gastroenterology, The First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

Xue-Liang Jiang, Professor, Digestive Center of The Second Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250001, Shandong Province, China

Yan-Tao Tian, Professor, Chief Physician, National Cancer Center/Department of Pancreatic and Gastric Surgery, Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing

100021, China

Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Beijing Electric Power Hospital, Capital Medical University, Beijing 100073, China

EDITORIAL BOARD MEMBERS

All editorial board members resources online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

EDITORIAL OFFICE

Jin-Lei Wang, Director

World Chinese Journal of Digestology

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-85381901

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 136 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2023 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this open access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT

All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, but not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/Nav/36>. If you do not have web access, please contact the editorial office.

单细胞转录组测序技术在胃癌研究中的应用

张鑫, 王艳春, 刘纯杰

张鑫, 王艳春, 刘纯杰, 军事医学研究院生物工程研究所 北京市 100071

张鑫, 解放军总医院医疗保障中心药剂科 北京市 100853

张鑫, 副主任药师, 主要从事幽门螺杆菌感染相关胃癌肿瘤微环境与免疫治疗研究。

基金项目: “艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治” 科技重大专项课题, No. 2018ZX10101003-005-005.

作者贡献分布: 本文综述由张鑫完成; 刘纯杰、王艳春审核。

通讯作者: 刘纯杰, 博士, 研究员, 100071, 北京市丰台区东大街20号, 军事科学院军事医学研究院生物工程研究所. liucj317@163.com

收稿日期: 2022-11-04

修回日期: 2022-11-30

接受日期: 2022-12-21

在线出版日期: 2023-01-28

Application of single-cell transcriptome sequencing in gastric cancer

Xin Zhang, Yan-Chun Wang, Chun-Jie Liu

Xin Zhang, Yan-Chun Wang, Chun-Jie Liu, Institute of Biotechnology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071, China

Xin Zhang, Department of Pharmacy, Medical Supplies Center, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Supported by: National Science and Technology Major Project for Prevention and Treatment of Infectious Diseases, No. 2018ZX10101003-005-005.

Corresponding author: Chun-Jie Liu, PhD, Professor, Institute of Biotechnology, Academy of Military Medical Sciences, No. 20 Dongda Street, Fengtai District, Beijing 100071, China. liucj317@163.com

Received: 2022-11-04

Revised: 2022-11-30

Accepted: 2022-12-21

Published online: 2023-01-28

Abstract

Gastric cancer (GC) is the fifth most common cancer worldwide and the third leading cause of cancer death. With the development of single-cell RNA-sequencing (scRNA-seq) technology, the research on GC has gradually developed from the histopathological level to the transcriptional level. In this paper, we discuss the principle of scRNA-seq technology and its application in GC research, including the transcriptional characteristics and origin of GC precancerous lesions, intratumor heterogeneity of primary tumors, tumor microenvironment, and metastatic dissemination.

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Single-cell transcriptome sequencing; Precancerous lesions; Tumor heterogeneity; Tumor microenvironment; Tumor metastasis

Citation: Zhang X, Wang YC, Liu CJ. Application of single-cell transcriptome sequencing in gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2023; 31(2): 48-55

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i2/48.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v31.i2.48>

摘要

胃癌(gastric cancer, GC)发病率居全球常见癌症第五位, 死亡率居第三位。随着单细胞RNA测序(single-cell RNA-sequencing, scRNA-seq)技术的发展, 人们对GC的研究已经开始逐渐从组织病理学水平发展到单细胞转录水平。本文对scRNA-seq技术原理及其在GC研究中的应用, 包括其在揭示GC癌前病变的转录特征与起源、原发性肿瘤的瘤内异质性、肿瘤微环境和转移性播散等方面的应用进行了综述。

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing

Group Inc. All rights reserved.

关键词: 胃癌; 单细胞转录组测序; 癌前病变; 肿瘤异质性; 肿瘤微环境; 肿瘤转移

核心提要: 单细胞转录组测序技术已成功应用于研究胃癌的癌前病变、肿瘤异质性、肿瘤微环境和转移性播散等方面, 我们对已发表的研究进行了全面的分析, 总结这一技术在胃癌研究中的优势, 以评估我们已经取得的进展和未来的方向。

文献来源: 张鑫, 王艳春, 刘纯杰. 单细胞转录组测序技术在胃癌研究中的应用. 世界华人消化杂志. 2023; 31(2): 48–55

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i2/48.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v31.i2.48>

0 引言

胃癌(gastric cancer, GC)发病率居全球癌症第五位, 死亡率居第三位^[1]. GC的病例分型方法有很多, 最常用的是Laurén分型和世界卫生组织(World Health Organization, WHO)分型. Laurén分型根据腺细胞的形态、分化和内聚性将GCs分为肠型、弥漫型和混合型^[2]. 肠型GC发生前, 胃黏膜发生一系列变化, 称为Correa级联反应, 先后通过炎症、化生、异型增生, 最终进展为腺癌^[3]. 弥漫性GC通常表现出低分化状态, 缺乏细胞间黏附, 呈现弥漫性侵袭性生长模式. WHO基于组织病理学特征将GC分为腺癌、壁细胞癌、乳头状癌、管状癌、黏液腺癌、印戒细胞癌和低黏附性癌等^[4]. 尽管这些分类方法简单明了, 但过度依赖主观辨别, 并且忽视了复杂的背景因素, 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)和EB病毒(epstein-Barr virus, EBV)感染^[5]. 虽然对胃癌研究进展迅速, 但在单细胞转录水平的研究还很有限.

单细胞RNA测序(single-cell RNA-sequencing, scRNA-seq)是在单细胞水平对转录组进行扩增与测序, 通常对分离的单细胞直接裂解进行cDNA反转录和扩增, 而后对cDNA扩增产物进行建库测序. 该方法于2009年^[6]首次用于哺乳动物细胞的测序与分析, 并在其后的十几年中取得了快速发展. 最初的研究该方法仅限于一次对少数细胞进行测序, 但随着高通量系统的开发, 包括纳米孔^[7,8]、微滴^[9,10]和微流体平台^[11]的开发, 使得它可以对数千个细胞进行并行测序, 同时降低了成本. 独特分子标识符(unique molecular identifiers, UMI)的使用^[12], 极大地提高了scRNA-seq的数据质量和可重复性^[13]. 目前, 10×Genomics微滴系统已成为高通量scRNA-seq最广泛使用的平台, 能够在单个实验中分析多达10000个细胞^[10], 已经广泛应用于癌症研究.

scRNA-seq需要将活细胞悬浮液作为输入材料, 在组织活细胞悬液制备过程中, 每种组织类型(如乳腺、胰腺、肝脏、胃)需要不同的分离方案. 全血、培养细胞及流式分选细胞均可用于scRNA-seq, 不需要进行解离, 但需要有足够的细胞数. 10×Genomics技术适用于直径小于40 μm-50 μm的活细胞, 如细胞直径超出此范围, 需采用其他方法进行测序, 例如Smart-seq2. 10×Genomics批量单细胞测序只有3'端约98 bp, 平均15 M-30 M数据量, 一般每个细胞检出约3000个基因, 并不能做到全长测^[15].

迄今为止, 利用scRNA-seq技术开展的胃癌研究可大致分为四个主要领域: (1)癌前病变的转录特征与来源; (2)原发性肿瘤的瘤内异质性(intratumor heterogeneity, ITH); (3)肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME); (4)转移性播散. 在这些研究中, scRNA-seq方法通常用于分析癌前病变的来源和转录特征, TME中的细胞类型和细胞状态, 以及肿瘤细胞的亚型等. 分析TME中的细胞状态可以揭示不同的基质细胞和免疫细胞类型是如何被重新编程的, 反映出可能促进或抑制肿瘤生长的不同生物学功能. 同样, scRNA-seq方法可以通过分析增殖、干细胞、缺氧、上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)、代谢和其他肿瘤标志的基因特征, 深入了解肿瘤细胞的表型多样性. scRNA-seq相对于批量RNA-seq的优势在于能够进行细胞类型特异性差异表达分析, 以确定TME中的细胞类型是否在治疗或进展等条件下表达不同的基因. 下面就scRNA-seq技术在GC研究中上述四个方面的应用研究进展进行综述.

1 癌前病变的转录特征与来源

认识癌前病变的特征与来源, 对于阐明肿瘤发病机制, 阻断肿瘤发生, 治愈疾病具有重要意义. 慢性*H. pylori*感染和自身免疫性胃炎患者均容易发生胃萎缩和化生, 能够显著增加患胃腺癌的风险^[15,16]. 它们引起胃癌发生与一些对最终恶性转化至关重要的癌前事件密切相关: 壁细胞丢失(萎缩)、黏液颈细胞增生、解痉肽表达化生(spasmolytic polypeptide-expressing metaplasia, SPEM)和肠上皮化生(intestinal metaplasia, IM)^[3,17]. SPEM的细胞和分子生物学特性受到了人们特别的关注, 它被认为是肠化生、异型增生和腺癌的潜在细胞来源^[18,19]. 而慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)和IM是肠型GC的主要癌前病变^[20]. 细胞类型的转换在从癌前病变到癌变的级联反应中起着关键作用. SPEM可由成熟的主细胞产生, 这些主细胞进行细胞重编程(也被称为“回生”), 涉及细胞结构降解、祖细胞相关基因激活和重新进入细胞周期^[21]. 在慢性炎症过程中, 颈黏膜细胞也可能表现出可塑性, 并发生SPEM病变. CAG表现为壁细胞和产

生胃蛋白酶原主细胞的丧失, 而IM表现为肠道特异性细胞类型的出现, 包括杯状细胞和肠细胞^[22-24]。

Bockerstett等^[25]用小鼠模型, 应用scRNA-seq技术对SPEM转录特征和细胞来源进行了研究。他们建立了胃黏膜慢性炎症损伤和急性药物损伤小鼠模型。研究确定了主要的小鼠胃组织细胞谱系以及SPEM和增生性/肥大性粘液颈部细胞, 证实了健康胃组织中不存在SPEM细胞。同时研究还认为SPEM应该包括不表达成熟主细胞转录本(如Gif)的三叶形因子2(trefoil factor 2, *TF2*)⁺粘蛋白6(mucin 6, *MUC6*)⁺细胞, 且不论是药物, 还是慢性炎症介导的壁细胞缺失, 所诱导的SPEM转录程序几乎是相同的, 与病因无关; 但慢性炎症环境中的SPEM细胞还表达一些独特的与免疫调节相关的转录本。Bockerstett等^[26]还建立了*H. pylori*感染的B6小鼠模型, 并进行了scRNA-seq分析。经转录组和免疫荧光分析表明, 胃动蛋白-3(gastrophilin 3, *GKN3*)在健康小鼠胃组织中表达缺失, 而在自身免疫性胃炎和*H. pylori*感染性胃组织中的SPEM细胞中有特异性表达。人胃组织样本的免疫荧光染色与小鼠结果一致, *GKN3*在健康人胃体中未检测到, 但在慢性萎缩性胃炎期间的胃体组织中能够诱导表达。在炎症过程中, 颈黏膜细胞和主细胞均能够转变为缺乏SPEM或肠道细胞相关转录本的黏液表型, 这表明这些细胞尚未形成SPEM, 处于“前SPEM”细胞类型, 拟时间轨迹分析确定这两种细胞类型可能参与了表达特异分子Gkn3的SPEM细胞形成。这一研究扩大了对炎症诱导的SPEM起源的理解。

还有研究者应用scRNA-seq技术对人胃组织进行癌前病变分析。Zhang等^[27]的研究数据显示, 与正常胃组织相比, 在癌组织和慢性胃炎黏膜组织样本中很少检测到表达氢/钾离子交换ATP酶 α 肽(ATPase H⁺/K⁺ transporting subunit alpha, *ATP4A*)和氢/钾离子交换ATP酶 β 肽(ATPase H⁺/K⁺ transporting subunit beta, *ATP4B*)的壁细胞, 表明胃壁细胞缺失。拟时间轨迹轴和特定代表基因的拟时间表达动力学分析表明, 主细胞可以呈现一种转分化为黏膜颈细胞, 然后转化为SPEM的细胞分化路径, 为胃主细胞向*MUC6*⁺*TF2*⁺特征的SPEM转变提供了分子证据。另有一项研究^[28]对人胃癌前病变和早期胃癌的单细胞转录图谱进行了详细分析。研究综合对各类细胞在癌前和早癌中转录特征的分析表明: (1)腺体黏液细胞在化生过程中倾向于获得肠干细胞样表型; (2)Hes家族BHLH转录因子6可用于标记前杯状细胞簇, 帮助鉴定早期化生; (3)嗅觉受体家族51亚家族E成员1是早期恶性肿瘤中独特内分泌细胞的标记; (4)激肽释放酶10基因可以作为癌细胞特异性分子标记物, 能够在临床实践中准确识别早期GC。Kumar等^[29]建构的包含20万个细胞的GC单

细胞图谱发现了一种新型和罕见的细胞型(STF4)。该型细胞表达与内皮细胞(质膜囊泡相关蛋白)和成纤维细胞(G蛋白信号调节器5)相关的标记物, 可能正在经历内皮间质转化(endothelial-mesenchymal transition, EndoMT), 这是内皮细胞获得间质或肌成纤维细胞表型的过程。EndoMT与TME可塑性、抗肿瘤治疗耐药以及转化生长因子- β 和骨形成蛋白信号转导有关。KLF转录因子2(KLF transcription factor 2, *KLF2*)是一种可以调节浆细胞归巢的基因, 研究发现*KLF2*基因高表达的上皮细胞可能与弥漫型GC中的浆细胞募集有关。

综上所述, 胃上皮细胞中的主细胞、颈黏膜细胞、内皮细胞等均可能在外来刺激下发生转录特征改变进而发展成为癌细胞, 利用scRNA-seq技术鉴定和验证这些改变, 可能有助于发现GC的起源, 进而为临床上预防GC发生和进展提供一些有效的参考资料, 减少恶性GC的发生。

2 原发性胃腺癌转录异质性

肿瘤异质性与肿瘤的发生、发展和复发密切相关; 它是肿瘤生物学行为的一个基本特征, 不同的发病过程、自然进化和干预反应可能产生新的分子表型。分子表型可以揭示与临床特征、治疗反应、肿瘤耐药性和预后相关的广泛个体差异^[30]。肿瘤驱动基因和靶向这些基因的药物发现为攻克肿瘤提供了可能性, 但是异质性的存在使得肿瘤治疗具有挑战性。因此, 准确理解肿瘤异质性, 制定合理的肿瘤治疗方案成为精准医学的重点。

scRNA-seq技术的发展为揭示单个细胞的转录特征提供了一种有效的手段, 并为探索肿瘤内异质性开辟了一种新方法^[31]。肿瘤内异质性是指在第一次细胞恶性转化后, 每个子代都可能获得新的基因突变和分子表型, 因此肿瘤是不同克隆肿瘤细胞的混合物^[30]。胃腺癌(gastric adenocarcinoma, GA)是一种异质性恶性疾病的原型, 具有多种亚型和临床表现^[10]。单纯依赖组织病理学的诊断分类方法已经无法满足临床需求, 在分子水平上分析肿瘤行为对于分析GA异质性越来越重要。癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)^[32]基因分型提出了一种新的分子分类, 将GA分为四个亚型: EBV阳性型肿瘤、微卫星不稳定型肿瘤、基因组稳定型肿瘤和染色体不稳定型肿瘤。这项研究分析整合了大量数据, 系统地揭示了四种亚型的分子特征, 并首次揭示了EBV感染是GA分类的一个重要因素, 但模糊了不同细胞亚群的分子特征。

Zhang等^[27]的研究揭示了肿瘤内部和肿瘤之间分化程度的高度多样性, 并确定了具有不同表达谱的五个GA细胞亚组。细胞分化程度与GA预后相关, 低分化

程度可预测GA预后不良. 五个GA细胞亚组中三个亚组表现出不同的分化程度, 这与Laurén分型的组织病理学特征非常吻合. 另外两个亚组显示出独特的转录特征: 一个是表达主细胞标记物(例如胃脂肪酶F和胃蛋白酶原C)和环指蛋白43的亚组, 与胃底腺型GA一致. 另一个亚组是EBV感染亚组, 它们特异性表达免疫相关标记基因淋巴细胞抗原-6(lymphocyte antigen 6, *Ly6*)家族成员(如*LY6K*)和主要组织相容性复合物II类(major histocompatibility complex- II, *MHC-II*)基因(*HLA-DPA1*和*HLA-DPBI*). Kim等^[33]的研究也发现肠型和弥漫型癌细胞具有不同的化生细胞谱系: 肠型癌细胞沿着肠化生谱系分化, 而弥漫型癌细胞类似于新生途径; 研究还发现了一种独特的癌细胞群, 即上皮-肌成纤维细胞转变(epithelial-myofibroblast transition, EmyoT)型, 其特征是正常上皮细胞在癌变过程中转分化为肌成纤维细胞, 并与不良的临床预后相关. Sathe等^[34]的研究结果显示肿瘤上皮细胞有拷贝数改变, 并定义了GC1和GC2两种上皮细胞, 分别代表肿瘤特异性上皮细胞和化生类细胞. GC1型细胞的EMT和Kirsten大鼠肉瘤病毒癌基因同源性信号通路明显上调. GC2型细胞显著增加了胃癌标记基因角蛋白7和角蛋白17、SRY-Box转录因子4和Hes家族BHLH转录因子1的表达, 这些基因与化发病机制有关^[28]. 与正常细胞相比, GC1和GC2均具有包括Myc、DNA修复和Notch信号通路上调.

Xiang等^[35]也通过scRNA-seq探讨了GC细胞分化方面的异质性. 研究通过细胞分化轨迹分析确定了三个具有不同分化状态的亚群, 基于GC分化相关基因(GC Differentiation-related Genes, GDRG)的分子分型, 成功地预测了患者的总生存率(overall survival, OS)、临床病理特征、免疫浸润状态和免疫检查点基因表达. 亚型I的OS最好, 亚型II的OS次之, 亚型III的OS最差. 亚型I含有更多记忆激活的CD4⁺T细胞、M0巨噬细胞和激活的NK细胞, 这些特征与更好的OS相关; 亚型II/III有更多的记忆静息CD4⁺T细胞、静息肥大细胞和幼稚B细胞, 这些细胞的较高浸润密度与较差的OS相关. 研究通过多变量Cox回归分析和方差分析生成八个GDRG相关的预测信号, 结合风险评分(risk scoring, RS)和临床病理特征预测3年和5年的OS, 并通过GDRG的RS特征与预后临床病理特征相结合, 构建了临床病理-基因组列线图, 该列线图具有很强的预测性能和较高的准确性. 这项研究强调了GC细胞分化对预测患者临床结果和潜在免疫治疗反应的意义.

scRNA-seq技术在研究肿瘤异质性方面具有独特的优势, 但还缺乏统一的可用于临床分型标准. 相信随着该技术的不断成熟和测序数据量的不断增加, 准确定义

肿瘤的异质性将进一步推进GC的精准治疗.

3 胃癌肿瘤微环境

TME是一种包含多种细胞类型的细胞环境, 如成纤维细胞、内皮细胞和免疫细胞. TME的细胞特征在肿瘤增殖和转移中起着重要作用. TME影响肿瘤细胞存活以及对免疫检查点阻断等治疗的反应, 它的主要组成部分是免疫细胞的多样化和失调的细胞状态^[36]. 虽然阻断免疫检查点蛋白(cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4, CTLA4)和程序性细胞死亡受体1(programmed cell death protein 1, PD-1)的抗体已被批准用于治疗多种癌症^[37], 但部分癌症患者从这些治疗中获益甚微. 导致这种抗体治疗研究的局限性的主要原因是无法描述单个细胞对检查点抑制剂的反应能力. 因此, 以scRNA-seq为基础的TME分析为肿瘤细胞在其起源组织内的生长、免疫浸润和细胞间相互作用提供了更为精确的细胞图像特征.

3.1 免疫细胞 GC-TME中的免疫细胞主要包括T细胞、B细胞、巨噬细胞、树突状细胞(dendritic cells, DCs)等. 耗竭的T细胞(exhausted T cells, TEx)和调节性T细胞(regulatory T cells, Treg)富集是GC免疫抑制的重要特征. Sathe等^[34]的研究发现与正常组织相比, TEx表达多个免疫检查点[细胞程序性死亡蛋白1(programmed cell death 1, PDCD1)、T细胞免疫球蛋白和ITIM结构域(T cell immunoglobulin and ITIM domain, TIGIT)、CD96、甲型肝炎病毒细胞受体2(hepatitis A virus cellular receptor 2, HAVCR2)、淋巴细胞活化基因3、CTLA4、V-set免疫调节受体]蛋白, 这些检查点的表达水平是免疫抑制程度的一个指标. 研究还发现胃TME中Treg显著富集, 也提示了一种重要的免疫抑制模式. Li等^[38]也发现Tregs细胞在胃肿瘤组织中显著富集, 免疫抑制相关基因的表达增加(例如卵蛋白、半乳糖凝集素1、双特异性磷酸酶4和白细胞介素2受体 α); 还观察到一个特殊的耗竭CD8⁺T细胞簇, 他的特点是耗竭标记物*PDCD1*、*CTLA4*、*HAVCR2*、淋巴细胞活化基因3(lymphocyte-activation gene 3, *LAG-3*)和*TIGIT*表达水平低, 这可能是胃癌患者免疫治疗获益有限的分子水平证据. Sun^[39]发现白介素17(interleukin 17, IL-17)⁺CD8⁺T细胞可能通过细胞因子IL17、IL22和IL26促进肿瘤生长; 这类细胞可能起源于组织驻留记忆T细胞, 并分化为耗竭状态, 可能是T细胞溶解耗竭路径之外的替代耗竭路径.

Fu等^[40]研究发现与正常样本相比, 干扰素调节因子8(interferon regulatory factor 8, IRF8)在耗竭的CD8⁺T细胞中下调. IRF8的下调与短期OS相关, 在免疫系统细胞中起负调节作用. GC患者外周血中分离的Treg的赖氨酸去甲基酶5D (lysine demethylase 5D, *KDM5D*)和肾上

腺素受体 $\beta 2$ (adrenoceptor beta 2, *ADRB2*)表达上调, 并且*KDM5D*和*ADRB2*的高表达与GC不良预后相关, 表明*KDM5D*和*ADRB2*可以作为循环血液中的非侵入性标记物来监测GC患者的预后. 转录因子免疫球蛋白 κ J区的重组信号结合蛋白(recombination signal binding protein for immunoglobulin kappa J region, RBPJ)在肿瘤浸润性Treg中过度表达, RBPJ可能主要通过调节DNA修复、转移和缺氧来抑制癌症进展. B细胞通过产生 γ 干扰素、C-C基趋化因子配体3(C-C motif chemokine ligand 3, CCL3)、IL-8等细胞因子发挥免疫调节功能. 研究还发现NK细胞、DC细胞和巨噬细胞在启动抗肿瘤T细胞免疫中起着关键作用, 是新型胃癌免疫治疗干预的重要靶点.

B细胞在TME中的作用也逐渐被认识, 他们的表型和功能可能与患者对免疫治疗的相应有关. Jia等^[41]的TME研究发现GC组织包含大量的黏膜相关淋巴样组织(mucosal associated lymphoid tissue, MALT)-B细胞, 这些组织具有成熟的三级淋巴结构(mature tertiary lymphatic structures, mTLSs), 而外周血样本中几乎没有MALT-B细胞. MALT-B细胞是一类IgA⁺浆细胞, 呈现补体激活通路相关基因的高表达. 另外, 自然杀伤T(natural killer T, NKT)细胞也主要存在于伴有mTLSs的GC组织中. 与正常TLSs相比, mTLSs组织中可以富集更多类型的免疫细胞, 且mTLSs组织密度高于正常TLSs组织. 该研究为有TLS的GC-TME中免疫细胞和肿瘤细胞的特点提供了新的见解, 并强调了IgA介导的体液免疫在伴有TLS的GC患者中的潜在重要性.

通常认为巨噬细胞表型可以表现为M1或M2, 分别具有抗肿瘤和促肿瘤功能, 但GC-TME巨噬细胞在转录上是异质的, 并不符合二元M1/M2模式. Sathe等^[34]的研究显示巨噬细胞的异质性与热休克蛋白家族基因、凝血酶敏感蛋白1、趋化因子(包括CCL20、CCL18、CCL3、基质金属蛋白酶基因、补体家族和细胞周期调节基因)的表达差异有关. Zhang等^[28]的研究发现巨噬细胞可能是IL-1B和前列腺素内过氧化物合酶2(prostaglandin-endoperoxide synthase 2, PTGS2)的主要来源, 前者的基因型具有更大的GC风险^[42], 而PTGS2在通过激活NK- κ B介导炎症过程中起着关键作用^[43], 表明炎症微环境中的巨噬细胞在促进胃肿瘤发生中起着关键作用. Li等^[38]定义了一种可能由单核细胞衍生而来肿瘤相关巨噬细胞亚群, 这一亚群显示出高活性的血管生成、刺猬信号传导、上皮间充质转化、NF- κ B通路和IL10信号传导, 表明它在癌症免疫和进展的重塑中具有重要作用.

上述GC-TME研究主要集中在对肿瘤组织和正常组织或外周血细胞所做的静态差异表达分析, Yin等^[44]利用单细胞测序分析生成了多个所处疾病不同阶段TME

细胞的动态转录组图. 该研究包含三例非萎缩性胃炎(non-atrophic gastritis, NAG), 3例CAG, 6例IM和3例GC样本, 对除上皮细胞外的T细胞、B细胞、巨噬细胞、肥大细胞、成纤维细胞、内皮细胞和周细胞进行了各阶段的差异基因分析. 在NAG-CAG-IM-GC变化过程中, 巨噬细胞参与趋化、抗原呈递和凋亡调节, 并在TME中重构, 参与氧化磷酸化和ATP生成, 以促进GC进展. 在正常、癌前期和癌症阶段, 部分CD8⁺T细胞被耗竭和处于免疫抑制状态, 而另一部分主导免疫反应的激活, 以抵抗肿瘤细胞. Treg和NKT细胞主要存在于肿瘤组织中. B细胞在炎症期积极参与免疫应答, 但在癌症阶段失去功能, 有诱导凋亡的倾向.

3.2 肿瘤相关成纤维细胞 除免疫细胞外, 肿瘤相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblasts, CAFs)也是TME的重要成分, 是肿瘤治疗的潜在靶点, 通过调节细胞外基质成分影响肿瘤的生长、迁移和侵袭. Li等^[45]对GC中CAF亚群的分类、功能、激活阶段和空间分布进行了较全面的分析. 研究通过对8对GC和邻近黏膜样本进行单细胞RNA测序, 分析CAF亚群的特征和受CAF亚群调控的TME组分之间的动态变化. 研究结果显示CAF表现为肿瘤内异质性, 四个CAF子集中的两个CAF亚组, 即炎症性CAF(inflammatory CAFs, iCAF)和细胞外基质CAF(extracellular matrix CAFs, eCAF), 在GC-TME中与邻近的免疫细胞亚组相互作用. iCAF通过分泌IL-6和C-X-C基趋化因子配体12(C-X-C motif chemokine ligand, CXCL12)与T细胞相互作用, 而eCAF通过表达骨膜蛋白与M2巨噬细胞相关联. eCAF作为一种侵袭性CAF细胞亚类, 降低了胃癌患者的总生存时间. 这一研究表明, iCAF和eCAF不仅具有增强的侵袭活性, 还能动员周围免疫细胞构建有利于肿瘤的微环境. 因此, 抑制它们的激活是一种很有前途的治疗GC的策略. Kumar等^[29]的研究发现以抑制素 β A和成纤维细胞活化蛋白 α 基因共表达升高为标志的CAF亚群在肿瘤进展过程中数量不断增加, 可作为不良临床预后的预测因素.

3.3 化疗对GC-TME的影响 scRNA-seq除了常用于研究GC-TME的静态单细胞表达图谱和疾病变化过程的动态单细胞图谱外, 还可以用于研究化疗前后TME的变化. 化疗在进展期胃癌的一线治疗中普遍采用, 但不同患者对化疗的反应各不相同. 为了进一步研究标准化疗方案(氟嘧啶+铂制剂)对TME的影响, Kim等^[46]对来自治疗前和治疗后成对的人表皮生长因子受体-2(human epidermal growth factor receptor-2, HER2)阳性和HER2阴性胃癌患者样本进行了全外显子组测序、全转录组测序和单细胞转录组测序, 定义了含铂类药物的化疗方案治疗后TME相关的特征. 化疗期间的TME重塑, 包括NK细胞招

募、肿瘤相关巨噬细胞减少、M1巨噬细胞极化和效应T细胞浸润增加。在化疗无应答者中可以观察到细胞程序性死亡-配体1的表达或调节降低或者缺失,且患者在治疗中出现Wnt信号通路增强、B细胞浸润增加、表达LAG-3的T细胞数量增多以及树突状细胞外流,而在早期的治疗取样中各组没有观察到显著的基因组变化。该研究提供了一份使用标准细胞毒性药物化疗方案引起的TME变化图谱,但缺乏功能验证,也没有解释为什么尽管基线TME和基因组组成相似,但一些患者未能良好地重构他们的TME,从而导致化疗无应答。

肿瘤微环境是一种非常复杂且动态的生态系统,是肿瘤赖以生存的“土壤”。随着免疫检查点抑制剂类药物的大量上市,肿瘤的治疗已经进入免疫治疗时代。但是由于缺乏准确的预测肿瘤免疫反应的标志物,临床患者获益不同,scRNA-seq技术作为研究TME的强大工具,势必在预测肿瘤免疫治疗反应的标志方面,为GC免疫疗法的精准治疗发挥重要作用。

4 GC转移性播散

GC如果在早期获得诊断,可进行手术切除并能够获得良好的治疗效果,但很多患者通常在晚期才能得到确诊,且对治疗有明显的耐药性^[47]。转移的常见部位是腹膜腔,形成腹膜转移癌(peritoneal carcinomatosis, PC);晚期GC患者对改善性治疗干预的需求很高^[48,49]。腹腔转移的GC患者的临床症状严重,总生存期不足6 mo。在临床上,因为患者没有常规分层,治疗主要依靠经验,合理规范的治疗方法非常有限。

Wang等^[50]对15例GA患者的PC进行了单细胞转录组分析,深入研究了恶性PC细胞的ITH,并确定了与患者生存率的显著相关性。该研究使用晚期GA患者收集的冷冻保存PC细胞进行scRNA-seq,结果发现17q拷贝数的增加几乎只限于胃黏膜细胞,并且与较差的存活率相关。根据肿瘤细胞谱系组成将PC样本分为两个主要亚型:胃优势型(主要是胃细胞系)和胃肠混合型(混合胃和结肠样细胞),PC的来源细胞分类与患者生存期密切相关:所有6例胃肠混合型患者均为长期存活者,而8例胃优势型患者中有6例为短期存活者。这些结果表明,PC肿瘤细胞的转录组学特征可以预测患者的生存率,且独立于组织病理学特征。胃肠混合型肿瘤在免疫学上更为活跃,例如防御素、IL-7信号传导,补体级联、IL6/JAK/STAT3信号和干扰素 α/γ 相关信号通路得到富集。胃肠混合型肿瘤有更好的临床结果可能部分原因是肿瘤具有更积极有效的免疫反应,包括较高水平的B细胞和M1极化^[51,52],较低水平的成纤维细胞和M2样巨噬细胞,以及较高的溶细胞活性。胃优势型肿瘤细胞中显著富集并与较短生

存期相关的信号通路包括细胞周期、DNA修复、PI3K/AKT/mTOR、mTORC1、Wnt、NF- κ B和代谢重编程,这些主要是致癌的。研究还建立了一个独立于临床变量,并在多个大规模GA队列中推导和验证的12个基因的预后特征,它们对GA癌变和进展至关重要,并可用于患者分层。

晚期GC患者由于无法进行手术切除,不易获得胃组织进行研究分析,但针对外周血液或腹水等比较容易获得的体液组织进行scRNA-seq,可能会对患者疾病进展的动态检测和疗效分析有一定助益。

5 结论

scRNA-seq是一项很有前途的新技术,可提供单个细胞的转录组分析,是一种探索胃癌及其肿瘤环境内在复杂性的强大工具。然而,作为一项新近发展起来的技术,scRNA-seq仍然存在一些局限性:(1)细胞完整性和细胞活力对随后的单细胞分析都是必要的,因此不能应用于保存或处理不佳的临床标本的分析;(2)考虑到细胞捕获技术和产量的限制,单细胞技术通常只对肿瘤组织或正常组织的部分采样进行分析,被测序的细胞在多大程度上代表了整个肿瘤微环境中的细胞还不清楚;(3)单细胞测序成本相对较高,限制了对大队列肿瘤样本开展研究。迄今为止,大多数单细胞研究仅包括少数患者,影响对肿瘤临床特征和结果的准确描述;(4)研究结果大多缺乏生物学验证,包括细胞生物学分析和动物模型的体内分析。

目前单细胞技术在胃癌中的研究多数用于基础研究,其潜在的临床应用,包括疾病的早期检测、准确诊断、风险分层、动态监测、疗效分析和预后评估尚未实现。因此,制定标准化的单细胞临床样品处理、降低分析成本、简化后续数据分析和结果的可视化方法,向临床医生和患者解释分析结果,为临床决策提供有价值的信息等,是单细胞技术趋于完善和走向临床应用需要解决的问题。此外,整合scRNA-seq与空间单细胞测序、单细胞蛋白质组学和单细胞表观基因组学也是未来的研究方向。

6 参考文献

- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2018; 68: 394-424 [PMID: 30207593 DOI: 10.3322/caac.21492]
- Lauren P. The two histological main types of gastric carcinoma: diffuse and so-called intestinal-type carcinoma. An attempt at a histo-clinical classification. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1965; 64: 31-49 [PMID: 14320675 DOI: 10.1111/apm.1965.64.1.31]
- Correa P, Piazuelo MB. The gastric precancerous cascade. *J Dig Dis* 2012; 13: 2-9 [PMID: 22188910 DOI: 10.1111/j.1751-

- 2980.2011.00550.x]
- 4 Nagtegaal ID, Odze RD, Klimstra D, Paradis V, Rugge M, Schirmacher P, Washington KM, Carneiro F, Cree IA; WHO Classification of Tumours Editorial Board. The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system. *Histopathology* 2020; 76: 182-188 [PMID: 31433515 DOI: 10.1111/his.13975]
- 5 Liang Q, Yao X, Tang S, Zhang J, Yau TO, Li X, Tang CM, Kang W, Lung RW, Li JW, Chan TF, Xing R, Lu Y, Lo KW, Wong N, To KF, Yu C, Chan FK, Sung JJ, Yu J. Integrative identification of Epstein-Barr virus-associated mutations and epigenetic alterations in gastric cancer. *Gastroenterology* 2014; 147: 1350-62.e4 [PMID: 25173755 DOI: 10.1053/j.gastro.2014.08.036]
- 6 Tang F, Barbacioru C, Wang Y, Nordman E, Lee C, Xu N, Wang X, Bodeau J, Tuch BB, Siddiqui A, Lao K, Surani MA. mRNA-Seq whole-transcriptome analysis of a single cell. *Nat Methods* 2009; 6: 377-382 [PMID: 19349980 DOI: 10.1038/nmeth.1315]
- 7 Fan HC, Fu GK, Fodor SP. Expression profiling. Combinatorial labeling of single cells for gene expression cytometry. *Science* 2015; 347: 1258367 [PMID: 25657253 DOI: 10.1126/science.1258367]
- 8 Gierahn TM, Wadsworth MH 2nd, Hughes TK, Bryson BD, Butler A, Satija R, Fortune S, Love JC, Shalek AK. Seq-Well: portable, low-cost RNA sequencing of single cells at high throughput. *Nat Methods* 2017; 14: 395-398 [PMID: 28192419 DOI: 10.1038/nmeth.4179]
- 9 Lan F, Demaree B, Ahmed N, Abate AR. Single-cell genome sequencing at ultra-high-throughput with microfluidic droplet barcoding. *Nat Biotechnol* 2017; 35: 640-646 [PMID: 28553940 DOI: 10.1038/nbt.3880]
- 10 Macosko EZ, Basu A, Satija R, Nemesh J, Shekhar K, Goldman M, Tirosh I, Bialas AR, Kamitaki N, Martersteck EM, Trombetta JJ, Weitz DA, Sanes JR, Shalek AK, Regev A, McCarroll SA. Highly Parallel Genome-wide Expression Profiling of Individual Cells Using Nanoliter Droplets. *Cell* 2015; 161: 1202-1214 [PMID: 26000488 DOI: 10.1016/j.cell.2015.05.002]
- 11 Wang J, Fan HC, Behr B, Quake SR. Genome-wide single-cell analysis of recombination activity and de novo mutation rates in human sperm. *Cell* 2012; 150: 402-412 [PMID: 22817899 DOI: 10.1016/j.cell.2012.06.030]
- 12 Islam S, Zeisel A, Joost S, La Manno G, Zajac P, Kasper M, Lönnberg P, Linnarsson S. Quantitative single-cell RNA-seq with unique molecular identifiers. *Nat Methods* 2014; 11: 163-166 [PMID: 24363023 DOI: 10.1038/nmeth.2772]
- 13 Gawad C, Koh W, Quake SR. Dissecting the clonal origins of childhood acute lymphoblastic leukemia by single-cell genomics. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111: 17947-17952 [PMID: 25425670 DOI: 10.1073/pnas.1420822111]
- 14 Lim B, Lin Y, Navin N. Advancing Cancer Research and Medicine with Single-Cell Genomics. *Cancer Cell* 2020; 37: 456-470 [PMID: 32289270 DOI: 10.1016/j.ccell.2020.03.008]
- 15 Jeong S, Choi E, Petersen CP, Roland JT, Federico A, Ippolito R, D'Armiento FP, Nardone G, Nagano O, Saya H, Romano M, Goldenring JR. Distinct metaplastic and inflammatory phenotypes in autoimmune and adenocarcinoma-associated chronic atrophic gastritis. *United European Gastroenterol J* 2017; 5: 37-44 [PMID: 28405320 DOI: 10.1177/2050640616644142]
- 16 Butcher LD, den Hartog G, Ernst PB, Crowe SE. Oxidative Stress Resulting From Helicobacter pylori Infection Contributes to Gastric Carcinogenesis. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* 2017; 3: 316-322 [PMID: 28462373 DOI: 10.1016/j.jcmgh.2017.02.002]
- 17 Correa P. A human model of gastric carcinogenesis. *Cancer Res* 1988; 48: 3554-3560 [PMID: 3288329]
- 18 Lennerz JK, Kim SH, Oates EL, Huh WJ, Doherty JM, Tian X, Bredemeyer AJ, Goldenring JR, Lauwers GY, Shin YK, Mills JC. The transcription factor MIST1 is a novel human gastric chief cell marker whose expression is lost in metaplasia, dysplasia, and carcinoma. *Am J Pathol* 2010; 177: 1514-1533 [PMID: 20709804 DOI: 10.2353/ajpath.2010.100328]
- 19 Weis VG, Goldenring JR. Current understanding of SPEM and its standing in the preneoplastic process. *Gastric Cancer* 2009; 12: 189-197 [PMID: 20047123 DOI: 10.1007/s10120-009-0527-6]
- 20 Tan P, Yeoh KG. Genetics and Molecular Pathogenesis of Gastric Adenocarcinoma. *Gastroenterology* 2015; 149: 1153-1162.e3 [PMID: 26073375 DOI: 10.1053/j.gastro.2015.05.059]
- 21 Willet SG, Lewis MA, Miao ZF, Liu D, Radyk MD, Cunningham RL, Burclaff J, Sibbel G, Lo HG, Blanc V, Davidson NO, Wang ZN, Mills JC. Regenerative proliferation of differentiated cells by mTORC1-dependent paligenesis. *EMBO J* 2018; 37 [PMID: 29467218 DOI: 10.15252/embj.201798311]
- 22 Fox JG, Wang TC. Inflammation, atrophy, and gastric cancer. *J Clin Invest* 2007; 117: 60-69 [PMID: 17200707 DOI: 10.1172/JCI30111]
- 23 Mutoh H, Sakurai S, Satoh K, Osawa H, Hakamata Y, Takeuchi T, Sugano K. Cdx1 induced intestinal metaplasia in the transgenic mouse stomach: comparative study with Cdx2 transgenic mice. *Gut* 2004; 53: 1416-1423 [PMID: 15361487 DOI: 10.1136/gut.2003.032482]
- 24 Birchenough GM, Johansson ME, Gustafsson JK, Bergström JH, Hansson GC. New developments in goblet cell mucus secretion and function. *Mucosal Immunol* 2015; 8: 712-719 [PMID: 25872481 DOI: 10.1038/mi.2015.32]
- 25 Bockerstett KA, Lewis SA, Wolf KJ, Noto CN, Jackson NM, Ford EL, Ahn TH, DiPaolo RJ. Single-cell transcriptional analyses of spasmodic polypeptide-expressing metaplasia arising from acute drug injury and chronic inflammation in the stomach. *Gut* 2020; 69: 1027-1038 [PMID: 31481545 DOI: 10.1136/gutjnl-2019-318930]
- 26 Bockerstett KA, Lewis SA, Noto CN, Ford EL, Saenz JB, Jackson NM, Ahn TH, Mills JC, DiPaolo RJ. Single-Cell Transcriptional Analyses Identify Lineage-Specific Epithelial Responses to Inflammation and Metaplastic Development in the Gastric Corpus. *Gastroenterology* 2020; 159: 2116-2129.e4 [PMID: 32835664 DOI: 10.1053/j.gastro.2020.08.027]
- 27 Zhang M, Hu S, Min M, Ni Y, Lu Z, Sun X, Wu J, Liu B, Ying X, Liu Y. Dissecting transcriptional heterogeneity in primary gastric adenocarcinoma by single cell RNA sequencing. *Gut* 2021; 70: 464-475 [PMID: 32532891 DOI: 10.1136/gutjnl-2019-320368]
- 28 Zhang P, Yang M, Zhang Y, Xiao S, Lai X, Tan A, Du S, Li S. Dissecting the Single-Cell Transcriptome Network Underlying Gastric Premalignant Lesions and Early Gastric Cancer. *Cell Rep* 2019; 27: 1934-1947.e5 [PMID: 31067475 DOI: 10.1016/j.celrep.2019.04.052]
- 29 Kumar V, Ramnarayanan K, Sundar R, Padmanabhan N, Srivastava S, Koiwa M, Yasuda T, Koh V, Huang KK, Tay ST, Ho SWT, Tan ALK, Ishimoto T, Kim G, Shabbir A, Chen Q, Zhang B, Xu S, Lam KP, Lum HY, Teh M, Yong WP, So JBY, Tan P. Single-Cell Atlas of Lineage States, Tumor Microenvironment, and Subtype-Specific Expression Programs in Gastric Cancer. *Cancer Discov* 2022; 12: 670-691 [PMID: 34642171 DOI: 10.1158/2159-8290.CD-21-0683]
- 30 Dagogo-Jack I, Shaw AT. Tumour heterogeneity and resistance to cancer therapies. *Nat Rev Clin Oncol* 2018; 15: 81-94 [PMID: 29115304 DOI: 10.1038/nrclinonc.2017.166]
- 31 Lovett M. The applications of single-cell genomics. *Hum Mol Genet* 2013; 22: R22-R26 [PMID: 23922233 DOI: 10.1093/hmg/ddt377]
- 32 Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature* 2014; 513: 202-209 [PMID: 25079317 DOI: 10.1038/nature13480]
- 33 Kim J, Park C, Kim KH, Kim EH, Kim H, Woo JK, Seong JK, Nam KT, Lee YC, Cho SY. Single-cell analysis of gastric precancerous and cancer lesions reveals cell lineage diversity and

- intratumoral heterogeneity. *NPJ Precis Oncol* 2022; 6: 9 [PMID: 35087207 DOI: 10.1038/s41698-022-00251-1]
- 34 Sathe A, Grimes SM, Lau BT, Chen J, Suarez C, Huang RJ, Poultides G, Ji HP. Single-Cell Genomic Characterization Reveals the Cellular Reprogramming of the Gastric Tumor Microenvironment. *Clin Cancer Res* 2020; 26: 2640-2653 [PMID: 32060101 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-19-3231]
 - 35 Xiang R, Rong Y, Ge Y, Song W, Ren J, Fu T. Cell differentiation trajectory predicts patient potential immunotherapy response and prognosis in gastric cancer. *Aging (Albany NY)* 2021; 13: 5928-5945 [PMID: 33612483 DOI: 10.18632/aging.202515]
 - 36 Sade-Feldman M, Yizhak K, Bjorgaard SL, Ray JP, de Boer CG, Jenkins RW, Lieb DJ, Chen JH, Frederick DT, Barzily-Rokni M, Freeman SS, Reuben A, Hoover PJ, Villani AC, Ivanova E, Portell A, Lizotte PH, Aref AR, Eliane JP, Hammond MR, Vitzthum H, Blackmon SM, Li B, Gopalakrishnan V, Reddy SM, Cooper ZA, Paweletz CP, Barbie DA, Stemmer-Rachamimov A, Flaherty KT, Wargo JA, Boland GM, Sullivan RJ, Getz G, Hacohen N. Defining T Cell States Associated with Response to Checkpoint Immunotherapy in Melanoma. *Cell* 2019; 176: 404 [PMID: 30633907 DOI: 10.1016/j.cell.2018.12.034]
 - 37 Dougall WC, Kurtulus S, Smyth MJ, Anderson AC. TIGIT and CD96: new checkpoint receptor targets for cancer immunotherapy. *Immunol Rev* 2017; 276: 112-120 [PMID: 28258695 DOI: 10.1111/immr.12518]
 - 38 Li Y, Hu X, Lin R, Zhou G, Zhao D, Zhang Y, Li W, Zhang Y, Ma P, Ren H, Liao X, Niu P, Wang T, Zhang X, Wang W, Gao R, Li Q, Church G, He J, Chen Y. Single-cell landscape reveals active cell subtypes and their interaction in the tumor microenvironment of gastric cancer. *Theranostics* 2022; 12: 3818-3833 [PMID: 35664061 DOI: 10.7150/thno.71833]
 - 39 Sun K, Xu R, Ma F, Yang N, Li Y, Sun X, Jin P, Kang W, Jia L, Xiong J, Hu H, Tian Y, Lan X. scRNA-seq of gastric tumor shows complex intercellular interaction with an alternative T cell exhaustion trajectory. *Nat Commun* 2022; 13: 4943 [PMID: 35999201 DOI: 10.1038/s41467-022-32627-z]
 - 40 Fu K, Hui B, Wang Q, Lu C, Shi W, Zhang Z, Rong D, Zhang B, Tian Z, Tang W, Cao H, Wang X, Chen Z. Single-cell RNA sequencing of immune cells in gastric cancer patients. *Aging (Albany NY)* 2020; 12: 2747-2763 [PMID: 32039830 DOI: 10.18632/aging.102774]
 - 41 Jia L, Wang T, Zhao Y, Zhang S, Ba T, Kuai X, Wang B, Zhang N, Zhao W, Yang Z, Qiao H. Single-cell profiling of infiltrating B cells and tertiary lymphoid structures in the TME of gastric adenocarcinomas. *Oncoimmunology* 2021; 10: 1969767 [PMID: 34513317 DOI: 10.1080/2162402X.2021.1969767]
 - 42 Kamangar F, Cheng C, Abnet CC, Rabkin CS. Interleukin-1B polymorphisms and gastric cancer risk—a meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; 15: 1920-1928 [PMID: 17035400 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-06-0267]
 - 43 Cheng J, Fan XM. Role of cyclooxygenase-2 in gastric cancer development and progression. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 7361-7368 [PMID: 24259966 DOI: 10.3748/wjg.v19.i42.7361]
 - 44 Yin H, Guo R, Zhang H, Liu S, Gong Y, Yuan Y. A Dynamic Transcriptome Map of Different Tissue Microenvironment Cells Identified During Gastric Cancer Development Using Single-Cell RNA Sequencing. *Front Immunol* 2021; 12: 728169
 - 45 Li X, Sun Z, Peng G, Xiao Y, Guo J, Wu B, Li X, Zhou W, Li J, Li Z, Bai C, Zhao L, Han Q, Zhao RC, Wang X. Single-cell RNA sequencing reveals a pro-invasive cancer-associated fibroblast subgroup associated with poor clinical outcomes in patients with gastric cancer. *Theranostics* 2022; 12: 620-638 [PMID: 34976204 DOI: 10.7150/thno.60540]
 - 46 Kim R, An M, Lee H, Mehta A, Heo YJ, Kim KM, Lee SY, Moon J, Kim ST, Min BH, Kim TJ, Rha SY, Kang WK, Park WY, Klempner SJ, Lee J. Early Tumor-Immune Microenvironmental Remodeling and Response to First-Line Fluoropyrimidine and Platinum Chemotherapy in Advanced Gastric Cancer. *Cancer Discov* 2022; 12: 984-1001 [PMID: 34933901 DOI: 10.1158/2159-8290.CD-21-0888]
 - 47 Ikoma N, Das P, Hofstetter W, Ajani JA, Estrella JS, Chen HC, Wang X, Callender RA, Zhu C, Roland CL, Fournier KF, Cormier JN, Mansfield P, Badgwell BD. Preoperative chemoradiation therapy induces primary-tumor complete response more frequently than chemotherapy alone in gastric cancer: analyses of the National Cancer Database 2006-2014 using propensity score matching. *Gastric Cancer* 2018; 21: 1004-1013 [PMID: 29730720 DOI: 10.1007/s10120-018-0832-z]
 - 48 Mizrak Kaya D, Nogueras-González GM, Harada K, Amlashi FG, Roy-Chowdhuri S, Estrella JS, Das P, Lee JH, Weston B, Bhutani MS, Matamoros A Jr, Thomas I, Lin Q, Badgwell BD, Ajani JA. Risk of peritoneal metastases in patients who had negative peritoneal staging and received therapy for localized gastric adenocarcinoma. *J Surg Oncol* 2018; 117: 678-684 [PMID: 29205363 DOI: 10.1002/jso.24912]
 - 49 Shiozaki H, Elimova E, Slack RS, Chen HC, Staerkel GA, Sneige N, Shimodaira Y, Sagebiel T, Lee JH, Bhutani MS, Das P, Mansfield PF, Estrella JS, Badgwell BD, Ajani JA. Prognosis of gastric adenocarcinoma patients with various burdens of peritoneal metastases. *J Surg Oncol* 2016; 113: 29-35 [PMID: 26603684 DOI: 10.1002/jso.24087]
 - 50 Wang R, Dang M, Harada K, Han G, Wang F, Pool Pizzi M, Zhao M, Tatlonghari G, Zhang S, Hao D, Lu Y, Zhao S, Badgwell BD, Blum Murphy M, Shanbhag N, Estrella JS, Roy-Chowdhuri S, Abdelhakeem AAF, Wang Y, Peng G, Hanash S, Calin GA, Song X, Chu Y, Zhang J, Li M, Chen K, Lazar AJ, Futreal A, Song S, Ajani JA, Wang L. Single-cell dissection of intratumoral heterogeneity and lineage diversity in metastatic gastric adenocarcinoma. *Nat Med* 2021; 27: 141-151 [PMID: 33398161 DOI: 10.1038/s41591-020-1125-8]
 - 51 Najafi M, Hashemi Goradel N, Farhood B, Salehi E, Nashtaei MS, Khanlarkhani N, Khezri Z, Majidpoor J, Abouzaripour M, Habibi M, Kashani IR, Mortezaee K. Macrophage polarity in cancer: A review. *J Cell Biochem* 2019; 120: 2756-2765 [PMID: 30270458 DOI: 10.1002/jcb.27646]
 - 52 Kaneda MM, Messer KS, Ralainirina N, Li H, Leem CJ, Gorjestani S, Woo G, Nguyen AV, Figueiredo CC, Foubert P, Schmid MC, Pink M, Winkler DG, Rausch M, Palombella VJ, Kutok J, McGovern K, Frazer KA, Wu X, Karin M, Sasik R, Cohen EE, Varner JA. PI3K γ is a molecular switch that controls immune suppression. *Nature* 2016; 539: 437-442 [PMID: 27642729 DOI: 10.1038/nature19834]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,
CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
https://www.wjgnet.com



ISSN 1009-3079

