

# 单细胞测序技术在骨关节相关疾病中应用的研究进展<sup>▲</sup>

覃 洲<sup>1</sup> 凌永嫦<sup>2</sup> 黎承伟<sup>3</sup> 凌 鹏<sup>1</sup> 唐扬港<sup>1</sup> 陆定贵<sup>1\*</sup>

(右江民族医学院附属医院 1 骨科, 2 妇产科, 广西百色市 533000; 3 百色市人民医院骨科, 广西百色市 533000)

**【摘要】** 骨关节相关疾病种类较多, 主要包括炎症类(如类风湿性关节炎)、外伤或生理性疾病(如骨质疏松)等, 发病机制较复杂。单细胞测序主要包括转录组测序、表观基因组测序及全基因组测序, 能够较精细、准确地反映组织的状态。因此, 单细胞测序技术在发现和解析骨关节相关疾病发病机制方面有广阔的应用前景。文章针对单细胞测序技术在关节软骨细胞、髓核细胞、滑膜细胞和巨噬细胞中的应用进行综述, 为今后骨关节疾病发病机制的临床研究和基础研究提供理论依据。

**【关键词】** 单细胞测序; 骨关节疾病; 细胞; 发病机制

**【文章编号】** 1673-6575(2024)04-0439-05

DOI: 10.11864/j.issn.1673.2024.04.17

脊柱退变性疾病、脊髓损伤、骨关节退变性疾病、免疫相关性关节病、创伤、骨原发性肿瘤等是常见的骨科相关疾病<sup>[1-3]</sup>, 给患者个人、家庭和社会造成了巨大的负担。随着研究的深入越来越多的学者骨科相关疾病的分子机制及新的有效治疗手段进行了<sup>[4-5]</sup>探讨。

单细胞测序主要包括转录组测序、表观基因组测序及全基因组测序。单细胞转录组测序是指在单个细胞水平上对 RNA 进行高通量测序和分析的技术, 其可从表达量、细胞量及细胞组成等多个角度描述样本, 使研究人员能够了解转录组细胞间的变异, 识别不同的细胞类型, 并获得病理过程的新视角, 有助于全面了解疾病的病理生理学, 促进制订有效的治疗方案<sup>[6]</sup>。

转录组测序技术可以鉴别生物成分、识别新基因, 并阐明参与疾病过程的相关信号网络, 现已被用作研究骨科疾病的有力工具<sup>[7]</sup>, 但因其不能揭示特定细胞亚群或单细胞水平的基因表达差异, 限制了其在疾病病理生理学研究中的应用<sup>[8]</sup>。

在生物医学研究中, 单细胞测序与普通转录组测序相比具有四大优势<sup>[9-10]</sup>: (1) 可以揭示细胞异质性或特定的亚簇; (2) 可以描绘组织在生理和病理过程中不同细胞状态、转变和分化的轨迹; (3) 富集分析结果可用于构建异质性细胞的信号模型; (4) 可以揭示细胞群之间的调节网络。单细胞测序的发现提高了医者对疾病的整体理解, 从而为预防甚至治愈骨科相关疾病提供了有前景的方案。本文就单细胞测序技术在骨关节相关疾病研究中的应用进行概述。

<sup>▲</sup>基金项目: 广西自然科学基金项目(编号: 2023GXNSFAA026408)

\*通信作者

## 1 单细胞测序技术在关节软骨细胞中的应用

关节软骨主要由软骨细胞组成, 软骨细胞由间充质干细胞分化而来, 在细胞外基质代谢和维持软骨组织稳态中发挥重要作用。不同亚型软骨细胞的生理功能不同, 细胞的表型决定软骨能否发挥正常功能, 甚至影响骨关节功能。目前通过单细胞测序已经发现部分可能与骨关节疾病相关的细胞亚群, 但直接影响骨关节疾病发生发展的软骨细胞亚群仍需进一步研究明确。不同疾病单细胞拷贝数有差异, 因此可以通过单细胞 RNA 测序技术分析鉴定具有特定鉴别标记和转录因子的细胞亚群, 从而确定不同骨关节疾病的细胞类型, 从细胞分子的层面上阐明疾病的发生机制。

目前已发现关节软骨中的软骨细胞亚型包括肥大性软骨细胞、前肥大性软骨细胞和增生性软骨细胞。肥大性软骨细胞可调控软骨内周围基质的矿化, 前肥大性软骨细胞具有调节增生性分化的功能, 增生性软骨细胞主要分布于生长板增生性区域<sup>[11-12]</sup>。近年来有研究在骨关节炎中发现了衰老细胞, 其具有衰老相关分泌表型和细胞周期阻滞的特征, 清除衰老细胞可缓解创伤后骨关节炎<sup>[13]</sup>。

软骨祖细胞表达干细胞相关表面的标记, 并可多向分化, 因此其有维持细胞自我更新、促进软骨细胞修复的作用<sup>[14]</sup>。软骨祖细胞迁移至损伤部位后, 能分化成软骨细胞、成骨细胞<sup>[15]</sup>。迁移的软骨祖细胞募集到受伤的软骨后, 能够进行原位组织修复, 相对于非迁移的半月板细胞, 迁移的细胞更具成克隆性、过表达的祖细胞标记, 以及更大的侧群。基因表达谱分析结果表明, 与其他半月板细胞相比, 具有祖细胞特性的细胞簇与软骨祖细胞更为相似; 与关节

软骨一样,半月板损伤后调动了具有强大修复潜力的内在祖细胞群<sup>[16]</sup>。

某些基因的表达可调节软骨细胞的分化过程,并决定软骨分化所处的阶段,如软骨细胞从增殖期向肥大期分化时,肥大软骨细胞中碱性磷酸酶和Ⅰ型胶原蛋白基因的表达水平会显著增加<sup>[17]</sup>。在健康人的半月板中除了纤维软骨细胞、调节性软骨细胞、增殖前软骨细胞、软骨祖细胞和增殖纤维软骨细胞,还发现纤维软骨细胞祖细胞和内皮祖细胞2种具有祖细胞特性的新亚型,拟时序分析发现纤维软骨细胞祖细胞和内皮细胞处于细胞动态发育起始处<sup>[18]</sup>。

有学者认为关节炎软骨修复失败的原因与炎症环境相关,在炎症环境下软骨祖细胞无法从软骨深层迁移到表面修复损伤的软骨<sup>[19]</sup>。Grandi等<sup>[20]</sup>通过利用健康软骨和骨关节炎的软骨样品,建立单细胞图谱,揭示了不同的软骨细胞祖细胞和炎症调节亚群,共表达白细胞介素-1RI/肿瘤坏死因子RII的软骨细胞亚群可降低炎症反应,以CD24标记的炎症抑制亚群对炎症具有抵抗力。因此,有学者认为可以通过软骨细胞的分化来明确骨关节炎的发展进程<sup>[21]</sup>。

Ji等<sup>[22]</sup>对骨关节炎患者的1464个软骨细胞进行分析鉴定,明确3个新表型的细胞群:效应软骨细胞、调节性软骨细胞和稳态软骨细胞。效应软骨细胞可能通过氨基酸代谢、三羧酸循环和糖酵解等过程为细胞提供能量,参与软骨的合成和分解。调节性软骨细胞通过免疫调节间接参与代谢,其中一部分调节性软骨细胞也高水平表达免疫特异性的标志物,呈现与免疫细胞相似的功能,说明其可能参与调节免疫反应或炎症引起的代谢失衡。稳态软骨细胞表现出与细胞周期调节、代谢过程和发育相关基因的高表达,这意味着其可能在骨关节炎进展的背景下对昼夜节律时钟发挥作用。因保护性基因高度表达,这3个细胞群对骨关节炎进展具有保护作用。此外,Ji等<sup>[22]</sup>还鉴定了2个肥大软骨细胞亚群:肥大软骨细胞-A,其高表达与软骨发育和结缔组织发育相关的基因;肥大软骨细胞-B亚群,高表达与细胞外基质组织、骨化和矿化相关的基因。

Chou等<sup>[23]</sup>对膝关节炎组织进行单细胞测序,也鉴定出了调节性软骨细胞、纤维软骨细胞、稳态软骨细胞、肥大软骨细胞和肥大前软骨细胞;还发现了两种新的软骨细胞群体:修复性软骨细胞和前成纤维软骨细胞,前者因细胞外基质信号传导和胶原纤维组织相关基因的高表达而表现出高修复能力,后者因成纤维细胞相关基因和白细胞介素(interleukin, IL)-11的高表达可能在ERK信号传导中发挥重要作用。Zhang等<sup>[24]</sup>通过单细胞测序分析明确纤维软骨细胞主要存在于晚期骨关节炎中,并影响胶原蛋白的形

成,从而影响软骨的拉伸刚度和强度。由此可知,通过改变纤维软骨细胞的功能可促进胶原蛋白形成,为骨关节炎提供了新的治疗方向。

在青年人群的健康椎间盘中也分析鉴定出调节性软骨细胞、稳态软骨细胞和效应软骨细胞,这些胞外基质特征差异的软骨细胞亚群,为进一步探索软骨细胞维持椎间盘稳态的机制提供了新的视角<sup>[25]</sup>。

上述研究完善了软骨细胞的分类,发现了新的软骨细胞亚群,提高我们对骨关节炎的认识,但新的软骨细胞亚群在人体内的功能及发病机制有待进一步研究探索。

## 2 单细胞测序在关节髓核细胞中的应用

椎间盘退变被认为是导致腰痛的主要病理因素,了解人类椎间盘退变的分子机制对于制订椎间盘退变相关疾病的治疗策略至关重要。Ling等<sup>[26]</sup>通过单细胞RNA测序对切除的不同级别退变椎间盘进行有关椎间盘退变进展过程中的分子程序、谱系进展模式和细胞通信路径分析,发现了代谢稳态髓核细胞、黏附髓核细胞、炎症反应髓核细胞、内质网应激髓核细胞的新细胞亚型和细胞类型特异性基因特征,还鉴定了纤维软骨髓核细胞和CD70<sup>+</sup>、CD82<sup>+</sup>髓核细胞。椎间盘退变晚期,炎症反应髓核细胞和纤维软骨髓核细胞占髓核细胞的比例较高。Ling等<sup>[26]</sup>还鉴定了包括巨噬细胞、T细胞、骨髓祖细胞和中性粒细胞在内的免疫细胞,进一步分析表明,巨噬细胞和髓核细胞在进展过程中通过巨噬细胞迁移抑制因子和NF- $\kappa$ B信号通路发生显著的细胞间相互作用。此外,在椎间盘退变的进展过程中发现了巨噬细胞M1和M2细胞亚型的动态极化,基因集功能富集分析结果表明巨噬细胞极化在调节细胞代谢,特别是髓核祖细胞中具有重要作用。椎间盘退变晚期的髓核细胞主要由与炎症和内质网反应以及纤维软骨活性相关的细胞组成。此研究结果为在单细胞分辨率和相对全转录组规模下鉴定髓核细胞群提供了新的见解,并明确了免疫细胞和髓核细胞之间的细胞通信,以及与特定细胞亚群相关的判别标志。这些新发现为有效和功能性地操纵人类椎间盘退变相关的生物修复和医疗保健提供了参考。

Gan等<sup>[25]</sup>使用单细胞RNA测序技术分析健康椎间盘髓核、纤维环、软骨终板组织,鉴定出髓核祖细胞亚群、髓核祖细胞亚群特异性高表达间充质祖细胞标志物PDGFRA和中胚层来源间充质标志物PRRX1,提示髓核内可能存在具有干性潜能的细胞群体。进一步分析发现部分髓核祖细胞亚群高表达干性基因PROCR和软骨生成相关的重要转录因子SMAD3,同时应用免疫荧光染色证实了PROCR<sup>+</sup>细胞

内 p-SMAD3 高度活化。随后, 研究人员利用 PROCR 富集分析了髓核祖细胞群体, 发现该细胞群具有较强的体外克隆形成能力, 与拟时序分析结果一致, 体外实验证实 PROCR<sup>+</sup> 细胞具有成骨、成软骨和成脂三系分化能力。

椎间盘退变是由髓核细胞功能障碍和髓核祖细胞衰竭引起的。目前, 由于缺乏体内研究证实髓核细胞是否是异质的并且在整个人生阶段都含有髓核祖细胞, 髓核细胞在椎间盘退变期间的细胞应用受限。Gao 等<sup>[27]</sup> 的研究中, 纯化的髓核细胞的单细胞 RNA 测序用于绘制四个分子定义的群体, 并在小鼠和人类标本中鉴定出表达尿紧张素 II 受体的产后髓核祖细胞, 这些髓核祖细胞在椎间盘退变期间明显耗尽。谱系追踪表明, 尿紧张素 II 受体+髓核祖细胞优先位于髓核外围, 其利基因子 Tenascin-C 并产生功能性髓核细胞。这也证明了将具有生腱蛋白-C 的尿紧张素 II 受体联合髓核祖细胞移植到受伤的椎间盘中可以减轻椎间盘退变的进展。该研究提供了一个新的髓核细胞图谱, 确定了具有再生潜力的常驻髓核祖细胞, 并揭示了对椎间盘退变具有前景的诊断和治疗靶点。

### 3 单细胞测序在关节滑膜细胞中的应用

正常滑膜以滑膜成纤维细胞为主, 滑膜成纤维细胞充当破坏基质重塑和损伤滑膜组织的直接效应物, 是免疫炎症反应的重要角色<sup>[28]</sup>。滑膜细胞包括巨噬细胞样 A 型细胞和成纤维样 B 型细胞, 其分泌的滑液可减少关节软骨的吸收作用、吞噬功能和摩擦系数。单核巨噬细胞和滑膜成纤维细胞是骨关节破坏和炎症性关节疾病的影响因素<sup>[29]</sup>。

单细胞测序技术在关节滑膜组织中的应用, 可以分析鉴定出细胞异质性和表达差异。滑膜组织的改变是多数关节疾病(如结核性滑膜炎、类风湿性关节炎、创伤性滑膜炎等)发病机制及临床表现中的重要环节。正常滑膜组织与病变滑膜组织之间, 不同类型疾病的滑膜组织之间, 其细胞亚群类型是不同的。因此通过对不同时期滑膜组织进行测序分析, 得出疾病不同时期具有特异性基因表达的不同细胞亚群, 有助于对疾病进行科学分期。应用单细胞测序技术对大样本患者群体进行测序, 可以鉴定出一些特异性病理标记, 从而区分疾病不同的治疗反应和临床轨迹<sup>[30]</sup>。Donlin 等<sup>[31]</sup> 通过平行高维分析(包括质谱分析法、单细胞测序和大体积测序)研究类风湿性关节炎滑膜组织样本, 发现类风湿性关节炎滑膜组织中一些未知细胞的异质性和主要的细胞类型, 同时也揭示类风湿性关节炎特异的病理改变与不同的细胞类型之间有特定关系。

Stephenson 等<sup>[32]</sup> 对 5 例类风湿性关节炎患者的 20 387 个滑膜组织细胞进行单细胞转录组分析, 发现 13 个细胞亚群, 并确定了这些不同亚群成纤维细胞、NK 细胞和 T 细胞在滑膜中的空间位置, 首次展现出一个全面的滑膜组织细胞图谱。Mizoguchi 等<sup>[33]</sup> 利用单细胞 RNA 测序对骨关节炎和类风湿性关节炎患者的滑膜细胞亚群进行分析, 发现不同疾病的滑膜成纤维细胞位于滑膜的不同区域, 如骨关节炎中的滑膜成纤维细胞主要聚集在滑膜浅层且不聚集在血管周围; 而类风湿性关节炎中滑膜成纤维细胞主要分布在滑膜深层伴有淋巴细胞浸润的血管周围, 基因功能分析也揭示了其在破骨细胞形成和免疫细胞募集上的潜在作用。

Zhang 等<sup>[34]</sup> 利用流式细胞分选技术整合单细胞测序技术, 确定了 3 种 CD4<sup>+</sup> T 细胞亚群、3 种 CD8<sup>+</sup> T 细胞亚群、4 种单核细胞亚群、4 种成纤维细胞亚群和 4 种 B 细胞亚群的特征; 并在类风湿性关节炎滑膜中发现以下细胞状态的扩张: THY1(CD90)<sup>+</sup>HLA-DRA<sup>hi</sup> 亚成纤维细胞、IL-1B<sup>+</sup> 促炎单核细胞、ITGAX<sup>+</sup>TBX21<sup>+</sup> 自身免疫相关 B 细胞以及 PDCD1<sup>+</sup> 的外周辅助 T 细胞和滤泡辅助 T 细胞。以 GZMK<sup>+</sup>、GZMB<sup>+</sup>、GNLY<sup>+</sup> 为标志, 定义不同的 CD8<sup>+</sup> T 细胞亚群。将炎症介质定位到细胞源头, 例如表达 IL-6 的 THY1<sup>+</sup>HLA-DRA<sup>hi</sup> 成纤维细胞、产生 IL-1B 的促炎单核细胞等, 这些细胞群体可能是类风湿性关节炎发病机制的关键媒介。Zhang 等<sup>[34]</sup> 进一步分析在细胞亚群中共同或差异表达的与疾病相关基因如干扰素和炎症反应基因等, 以期寻找疾病干预或治疗靶点。

介导关节炎中炎症或组织损伤的不同成纤维细胞亚群的生物学功能也是学者研究的目标。研究发现, 在消退性和持续性关节炎的小鼠模型中, 成纤维细胞活化蛋白(Fibroblast activating protein- $\alpha$ , FAP)- $\alpha$  阳性成纤维细胞的缺失抑制了骨侵蚀和炎症<sup>[35]</sup>。单细胞转录分析确定了 2 个成纤维细胞 FAP $\alpha$ <sup>+</sup> 亚群, 局限于滑膜衬里层的 FAP $\alpha$ <sup>+</sup>THY1<sup>-</sup> 破坏性成纤维细胞和位于滑膜亚衬里的 FAP $\alpha$ <sup>+</sup>THY1<sup>+</sup> 免疫效应成纤维细胞。当过继转移到关节中时, FAP $\alpha$ <sup>+</sup>THY1<sup>-</sup> 成纤维细胞主要介导软骨和骨损伤, 而 FAP $\alpha$ <sup>+</sup>THY1<sup>+</sup> 成纤维细胞主要导致持续和更严重的炎症性关节炎。

Cai 等<sup>[36]</sup> 通过单细胞测序发现类风湿性关节炎和骨关节炎患者的滑膜成纤维细胞分为 3 个主要细胞亚群, 其中滑膜成纤维细胞亚群在类风湿性关节炎患者中的数量是骨关节炎患者的 3 倍, 两种疾病中滑膜成纤维细胞虽然具有异质性, 但是具有相似的转变过程, 因此这两种疾病可能存在重叠的发病机制。该研究还进一步明确了可能对类风湿性关节炎和骨关节炎中滑膜成纤维细胞功能状态具有一定调

节效应的信号通路,包括WNT信号通路、转化生长因子- $\beta$ 信号通路、Fc $\epsilon$ RI信号通路和ERBB信号通路等都可能成为潜在的治疗靶点。

#### 4 单细胞测序在关节巨噬细胞中的应用

巨噬细胞被认为与慢性炎症性疾病(如类风湿性关节炎)有关。有学者通过单细胞RNA测序技术分析骨关节炎,发现共有61种细胞因子和生长因子调节7种软骨细胞表型,产生IL-1 $\beta$ (骨关节炎中的经典致病性细胞因子)的滑膜细胞,其主要是炎性巨噬细胞和树突状细胞,具有与HLA-DQA1、HLA-DQA2、OLR1或TLR2对应的表面蛋白共表达的特征。消除这些致病性关节内细胞亚群的策略可能是人类骨关节炎的治疗选择<sup>[23]</sup>。

Culemann等<sup>[37]</sup>对健康和炎症关节内巨噬细胞亚群的起源、分化和组成进行时空分析,并探讨相关巨噬细胞在关节炎中的作用,发现有一组具有上皮细胞的典型的CX3CR1<sup>+</sup>巨噬细胞在滑膜内层形成动态膜状结构的免疫屏障,并在物理上隔离关节,限制炎症反应。嵌入滑膜组织的局部增殖的CX3CR1<sup>-</sup>单核细胞池维持CX3CR1<sup>+</sup>巨噬细胞数量,与募集的单核细胞衍生的巨噬细胞不同,这些单核细胞衍生形成的巨噬细胞会积极促进关节炎。

HBEGF<sup>+</sup>炎症巨噬细胞新发现于类风湿性关节炎中,这群细胞高表达生长因子EREG、HBEGF,以及促进炎症反应的基因PLAUR、NR4A3和CXCL2,因此干扰该群巨噬细胞-成纤维细胞作用轴也成为类风湿性关节炎治疗的新方向<sup>[38]</sup>。

在类风湿性关节炎中,无药物治疗时症状缓解的免疫调节机制尚未清楚。有研究者认为持续存在的滑膜组织巨噬细胞有利于缓解类风湿性关节炎的症状,其机制可能与滑膜组织巨噬细胞有助于关节维持稳态有关<sup>[39]</sup>。该学者通过单细胞转录组学分析了32 000个滑膜组织巨噬细胞,并鉴定了早期/活动性类风湿性关节炎、难治性/活动性类风湿性关节炎和持续缓解的类风湿性关节炎患者的表型变化。在具有不同稳态、调节和炎症功能的四个STM亚群中,每种临床特征由9个离散表型簇的不同频率决定。Alivernini等<sup>[40]</sup>研究得到的细胞图谱与对滑膜活荧光激活细胞分类的滑膜组织巨噬细胞进行的深表型、空间和功能分析相结合,揭示了两个滑膜组织巨噬细胞亚群(MerTKposTREM2high和MerTKposLYVE1pos),其独特的缓解转录组特征丰富了炎症的负调控因子。这些滑膜组织巨噬细胞是消炎脂质介体的有效生产者,并在体外诱导滑膜成纤维细胞的修复反应。缓解率低的MerTKpos滑膜组织巨噬细胞

与停止治疗后疾病发作风险增加相关。因此,MerTKpos滑膜组织巨噬细胞亚群的治疗性调节可能是类风湿性关节炎的潜在治疗策略。

总之,单细胞测序促进了骨关节疾病研究的巨大发展,并为这些疾病提供了新的潜在诊断、治疗方法。在骨关节疾病研究中,我们更应该从骨关节疾病的病理生理和组织微环境的动态变化,来识别疾病的调节亚群或特异性亚群;以及通过明确单细胞水平上不同亚群之间的相互作用,以确定关键的信号通路,特别是组织细胞和免疫细胞之间的信号通路。单细胞测序与其他新兴技术的结合,不仅可以解决单一技术的局限性,还将产生关于细胞身份的特殊信息,并实现更详细和准确的细胞分类,极大地增进我们对骨关节疾病发病机制的了解,并为其提供潜在的治疗方法。但是,单细胞测序的研究成果需要通过流式细胞术、谱系追踪、细胞功能研究和敲除动物实验等传统的生物技术进行更严格的验证,因此单纯的单中心单细胞数据不可避免地限制了骨关节疾病研究的范围和深度。期待今后世界各地的研究人员能够共享数据并进行合作,使单细胞测序技术在骨关节疾病研究中获得更多突破,以推动对骨关节疾病病理生理机制的研究进展。

#### 参 考 文 献

- [1] 熊依林,雷光华.骨关节炎的生物治疗年度进展2022[J].中华医学杂志,2023,103(16):1247-1252.
- [2] Lim PQX, Lithgow MJ, Kaminski MR, et al. Efficacy of non-surgical interventions for midfoot osteoarthritis: a systematic review[J]. Rheumatol Int, 2023, 43(8): 1409-1422.
- [3] 康新建,赵大伟,许海委,等.椎间盘退变的生物学治疗研究进展[J].中华骨科杂志,2023,43(4):263-268.
- [4] Guidelli GM, Viapiana O, Luciano N, et al. Efficacy and safety of baricitinib in 446 patients with rheumatoid arthritis: a real-life multicentre study[J]. Clin Exp Rheumatol, 2021, 39(4): 868-873.
- [5] Fan ZR, Ma JX, Wang Y, et al. Efficacy and safety of tanezumab administered as a fixed dosing regimen in patients with knee or hip osteoarthritis: a meta-analysis of randomized controlled phase III trials[J]. Clin Rheumatol, 2021, 40(6): 2155-2165.
- [6] Hedlund E, Deng QL. Single-cell RNA sequencing: Technical advancements and biological applications[J]. Mol Aspects Med, 2018, 59: 36-46.
- [7] 竺得洲,高杰,郑志杰,等.老年髋部骨折患者骨髓单个核细胞的单细胞转录组测序分析研究[J].中华创伤骨科杂志,2021,23(6):519-525.
- [8] Olsen TK, Baryawno N. Introduction to single-cell RNA sequencing[J]. Curr Protoc Mol Biol, 2018, 122(1): e57.
- [9] Shapiro E, Biezuner T, Linnarsson S. Single-cell sequencing-based technologies will revolutionize whole-organism

- science[J]. *Nat Rev Genet*, 2013, 14(9): 618–630.
- [10] Saliba AE, Westermann AJ, Gorski SA, et al. Single-cell RNA-seq: advances and future challenges[J]. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42(14): 8845–8860.
- [11] Prein C, Warmbold N, Farkas Z, et al. Structural and mechanical properties of the proliferative zone of the developing murine growth plate cartilage assessed by atomic force microscopy[J]. *Matrix Biol*, 2016, 50: 1–15.
- [12] Jeon OH, Kim C, Laberge RM, et al. Local clearance of senescent cells attenuates the development of post-traumatic osteoarthritis and creates a pro-regenerative environment [J]. *Nat Med*, 2017, 23(6): 775–781.
- [13] 段戡, 戴易, 宗亿洲, 等. 细胞衰老在骨关节炎中的研究进展[J]. *医学研究杂志*, 2023, 52(10): 6–9.
- [14] Mantripragada VP, Bova WA, Boehm C, et al. Progenitor cells from different zones of human cartilage and their correlation with histopathological osteoarthritis progression [J]. *J Orthop Res*, 2018, 36(6): 1728–1738.
- [15] Xia Z, Ma P, Wu N, et al. Altered function in cartilage derived mesenchymal stem cell leads to OA-related cartilage erosion[J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(2): 433–446.
- [16] Sun H, Wen X, Li H, et al. Single-cell RNA-seq analysis identifies meniscus progenitors and reveals the progression of meniscus degeneration[J]. *Ann Rheum Dis*, 2020, 79(3): 408–417.
- [17] Seol D, Zhou C, Brouillette MJ, et al. Characteristics of meniscus progenitor cells migrated from injured meniscus [J]. *J Orthop Res*, 2017, 35(9): 1966–1972.
- [18] Nishida T, Kubota S, Aoyama E, et al. Impaired glycolytic metabolism causes chondrocyte hypertrophy-like changes via promotion of phospho-Smad1/5/8 translocation into nucleus[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2013, 21(5): 700–709.
- [19] Jiang Y, Tuan RS. Origin and function of cartilage stem/progenitor cells in osteoarthritis[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2015, 11(4): 206–212.
- [20] Grandi FC, Baskar R, Smeriglio P, et al. Single-cell mass cytometry reveals cross-talk between inflammation-dampening and inflammation-amplifying cells in osteoarthritic cartilage [J]. *Sci Adv*, 2020, 6(11): eaay5352.
- [21] Guilak F, Nims RJ, Dicks A, et al. Osteoarthritis as a disease of the cartilage pericellular matrix[J]. *Matrix Biol*, 2018, 71/72: 40–50.
- [22] Ji Q, Zheng Y, Zhang G, et al. Single-cell RNA-seq analysis reveals the progression of human osteoarthritis [J]. *Ann Rheum Dis*, 2019, 78(1): 100–110.
- [23] Chou CH, Jain V, Gibson J, et al. Synovial cell cross-talk with cartilage plays a major role in the pathogenesis of osteoarthritis[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 10868.
- [24] Zhang X, Huang N, Huang R, et al. Single-cell RNA seq analysis identifies the biomarkers and differentiation of chondrocyte in human osteoarthritis[J]. *Am J Transl Res*, 2020, 12(11): 7326–7339.
- [25] Gan Y, He J, Zhu J, et al. Spatially defined single-cell transcriptional profiling characterizes diverse chondrocyte subtypes and nucleus pulposus progenitors in human intervertebral discs[J]. *Bone Res*, 2021, 9(1): 37.
- [26] Ling ZM, Liu Y, Wang Z, et al. Single-cell RNA-seq analysis reveals macrophage involved in the progression of human intervertebral disc degeneration[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 833420.
- [27] Gao B, Jiang B, Xing WH, et al. Discovery and application of postnatal nucleus pulposus progenitors essential for intervertebral disc homeostasis and degeneration[J]. *Adv Sci*, 2022, 9(13): e2104888.
- [28] Scott DL, Wolfe F, Huizinga TW. Rheumatoid arthritis [J]. *Lancet*, 2010, 376(9746): 1094–1108.
- [29] Firestein GS, McInnes IB. Immunopathogenesis of rheumatoid arthritis[J]. *Immunity*, 2017, 46(2): 183–196.
- [30] Rao DA, Gurish MF, Marshall JL, et al. Pathologically expanded peripheral T helper cell subset drives B cells in rheumatoid arthritis[J]. *Nature*, 2017, 542(7639): 110–114.
- [31] Donlin LT, Rao DA, Wei K, et al. Methods for high-dimensional analysis of cells dissociated from cryopreserved synovial tissue[J]. *Arthritis Res Ther*, 2018, 20(1): 139.
- [32] Stephenson W, Donlin LT, Butler A, et al. Single-cell RNA-seq of rheumatoid arthritis synovial tissue using low-cost microfluidic instrumentation[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 791.
- [33] Mizoguchi F, Slowikowski K, Wei K, et al. Functionally distinct disease-associated fibroblast subsets in rheumatoid arthritis[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 789.
- [34] Zhang F, Wei K, Slowikowski K, et al. Defining inflammatory cell states in rheumatoid arthritis joint synovial tissues by integrating single-cell transcriptomics and mass cytometry[J]. *Nat Immunol*, 2019, 20(7): 928–942.
- [35] Croft AP, Campos J, Jansen K, et al. Distinct fibroblast subsets drive inflammation and damage in arthritis[J]. *Nature*, 2019, 570(7760): 246–251.
- [36] Cai SZ, Ming BX, Ye C, et al. Similar transition processes in synovial fibroblasts from rheumatoid arthritis and osteoarthritis: a single-cell study[J]. *J Immunol Res*, 2019, 2019: 4080735.
- [37] Culemann S, Grüneboom A, Nicolás-Ávila JÁ, et al. Locally renewing resident synovial macrophages provide a protective barrier for the joint[J]. *Nature*, 2019, 572(7771): 670–675.
- [38] Kuo D, Ding J, Cohn IS, et al. HBEGF+ macrophages in rheumatoid arthritis induce fibroblast invasiveness[J]. *Sci Transl Med*, 2019, 11(491): eaau8587.
- [39] 柏林昆, 张改连, 苏雅珍. 滑膜巨噬细胞在类风湿关节炎中的研究进展[J]. *中华风湿病学杂志*, 2023, 27(6): 427–432.
- [40] Alivernini S, MacDonald L, Elmesmari A, et al. Distinct synovial tissue macrophage subsets regulate inflammation and remission in rheumatoid arthritis[J]. *Nat Med*, 2020, 26(8): 1295–1306.

(收稿日期:2024-03-22 修回日期:2024-06-09)