

阿尔茨海默病的单细胞测序研究：细胞异质性的揭示与病理机制分析

胡昔奇¹, 夏鹰¹, 宋培培², 唐伟²

¹中南大学湘雅医学院附属海口医院, 海南省海口市 570208; ²日本国立国际医疗研究中心, 日本东京 162-8655

摘要: 阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种以不可逆的认知衰退和大脑病理变化为特征的神经退行性疾病, 全球受影响人数预计在2050年将达到1.5亿人。尽管AD的病理学特征如 β 淀粉样蛋白斑块和tau蛋白神经纤维缠结已被广泛研究, 确切病因仍不明了, 且患者的个体化差异显著。随着单细胞测序技术的快速发展, 研究人员能够在单细胞层面解析大脑不同细胞类型的基因表达差异, 揭示AD的复杂性与异质性。本文总结了单细胞测序在AD研究中的应用, 特别是在神经元和胶质细胞的功能变化中, 并展望了其在AD早期诊断与个性化治疗中的潜力与挑战。

关键词: 阿尔茨海默病 (AD), 单细胞测序, 神经元异质性, 胶质细胞, 个性化治疗, 细胞异质性

Single-cell sequencing in Alzheimer's disease research: Unveiling cellular heterogeneity and pathological mechanisms

Xiqi Hu¹, Ying Xia¹, Peipei Song², Wei Tang²

¹Haikou Affiliated Hospital of Central South University Xiangya School of Medicine, Haikou 570208, China; ²National Center for Global Health and Medicine, Tokyo 162-8655, Japan

Abstract: Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disorder characterized by irreversible cognitive decline and pathological changes in the brain. By 2050, it is estimated that 150 million people worldwide will be affected by AD. Although the pathological hallmarks of AD, such as amyloid- β plaques and tau protein neurofibrillary tangles, have been extensively studied, the precise cause of AD remains unclear. Moreover, there is significant individual variability in patients' disease progression and symptoms. With the rapid advancement of single-cell sequencing technology, researchers are now able to analyze gene expression at the single-cell level, revealing the complexity and heterogeneity of AD. This paper summarizes the application of single-cell sequencing in AD research, particularly focusing on the functional changes in neurons and glial cells, and discusses its potential for early diagnosis and personalized treatment of AD.

Keywords: Alzheimer's disease (AD), single-cell sequencing, neuronal heterogeneity, glial cells, personalized treatment, cellular heterogeneity

1. 引言

阿尔茨海默病 (AD) 是一种主要影响老年人的神经退行性疾病, 其特征为不可逆的认知功能衰退和大脑病理变化, 导致患者的记忆、语言、问题解决能力及执行功能逐渐衰退。在全球范围内, AD已成为导致老年人痴呆的最主要原因, 给患者及其家庭带来了沉重的负担。

随着人口老龄化的加剧, 预计到2050年, 全球将有1.5亿人受AD影响, 而目前这一数字约为5000万⁽¹⁾。

阿尔茨海默病的病理学特征包括大脑内的 β 淀粉样蛋白斑块和tau蛋白神经纤维缠结的形成, 这些病理特征通常伴随神经元的死亡和大脑区域萎缩⁽²⁾。然而, 尽管这些病理现象被广泛研究, AD的确切病因仍然不完全清楚。此外, AD表现出高度的个体化差异, 患者的症状进展和疾病路径也不同。为了应对这些挑战, 科学家们正在利用新的技术手段, 包括单细胞测序, 来揭示疾病的复杂性和异质性。

单细胞测序技术的发展允许研究人员精细地分析单个细胞的基因表达谱, 而不是简单地平均多个细胞的信号⁽³⁾。通过这种方式, 研究人员揭示细胞类型、亚型以及其功能的差异, 尤其是在神经退行性疾病如AD中, 这种差异被认为是关键的病理特征⁽⁴⁾。通过单细胞RNA测序, 研

收稿日期: 2024-9-7; 修回日期: 2024-10-11

基金项目: 海南省临床医学研究中心项目 (LCYX202206); 国家自然科学基金项目 (82460268)

通讯作者/Corresponding author: 夏鹰/Ying Xia, E-mail: xiaying008@163.com

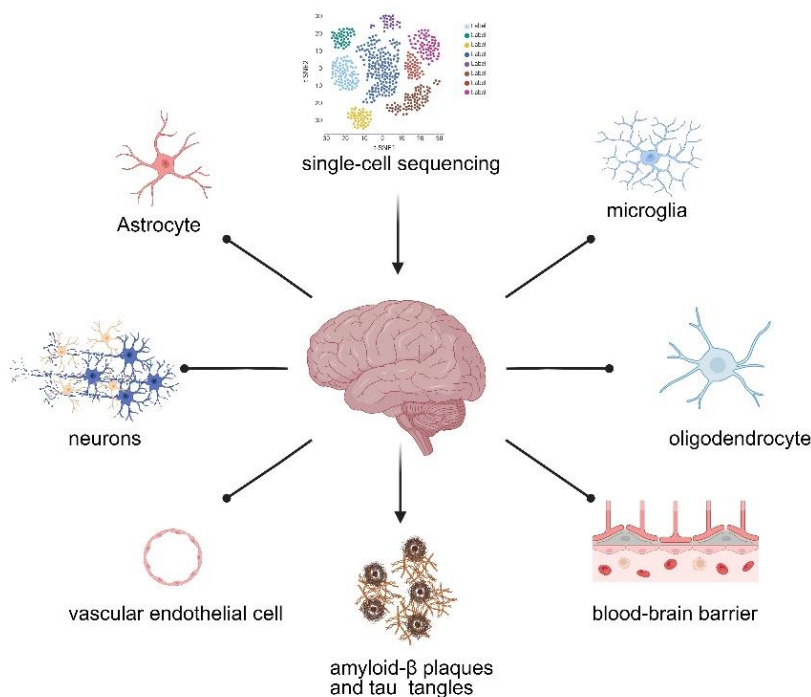


图1. 单细胞测序在阿尔茨海默病研究中的应用。

究人员可以在单个细胞水平上识别出特定的病理变化和细胞的响应状态，为进一步了解AD的发病机制提供了新的视角（图1）。

2. 单细胞测序技术概述

2.1. 单细胞测序的工作原理

单细胞测序是一种基因组学技术，它能够在单个细胞层面捕获转录组信息⁽⁵⁾。这与传统的批量测序不同，后者仅能检测样本中大量细胞的平均基因表达情况，而忽视了个体细胞之间的差异性。单细胞测序通过对分离的单个细胞进行mRNA提取和逆转录，从而生成cDNA，随后进行高通量测序以获得细胞的转录组信息。

该技术的工作流程通常包括四个步骤：单细胞分离、mRNA提取与逆转录、cDNA扩增及测序、数据分析。在AD研究中，这种方法可以用来解析大脑组织中的各类细胞，确定不同细胞类型及其亚型的基因表达变化，尤其是那些参与AD病理过程的神经元和胶质细胞^(6,7)。

2.2. 单细胞测序在神经系统研究中的应用

在神经科学领域，单细胞测序的应用取得了显著的进展。中枢神经系统由多种细胞类型组成，包括神经元、星形胶质细胞、小胶质细胞、少突胶质细胞和血管内皮细胞等。这些细胞在健康状态下相互作用以维持脑功能，而在AD等疾病状态下，这些细胞可能显示出不同的基因表达谱和功能变化⁽⁸⁾。

通过单细胞测序，研究人员能够捕捉到这些细胞之间的差异。例如，在AD患者的脑组织中，兴奋性神经元的

基因表达与正常人群相比发生了显著变化，这提示其在神经元丢失的过程中发挥了关键作用⁽⁹⁾。同时，胶质细胞，尤其是星形胶质细胞和小胶质细胞，也在AD的病理过程中表现出重要的功能失调⁽⁹⁾。星形胶质细胞可能在β淀粉样蛋白清除和神经元代谢支持方面发生异常，而小胶质细胞则作为大脑的免疫细胞，参与了炎症反应和神经元损伤的修复^(10,11)。

3. 单细胞测序揭示的阿尔茨海默病细胞异质性

3.1. 神经元异质性

神经元是大脑中主要的信号传递细胞，它们的功能损伤是AD的一个主要特征。单细胞测序技术揭示了AD患者脑内神经元的异质性。研究发现，在AD患者中，神经元亚型的基因表达谱显示出显著差异⁽¹²⁾。兴奋性神经元的数量和功能在AD早期阶段有所下降，这可能是导致认知功能下降的原因之一^(13,14)。尤其是海马区的神经元在AD病理过程中受到严重影响，而这一区域正是记忆形成和空间导航的关键脑区^(15,16)。

在AD患者中，一些神经元亚型表现出特定的基因表达变化，例如负责调控突触传递的基因出现了下调，而与应激反应相关的基因则上调^(8,17)。此外，一些研究表明，神经元的代谢功能和线粒体活性在AD患者中发生了明显的改变，这表明能量代谢障碍可能是AD病理的一个重要环节⁽¹⁸⁾。

3.2. 胶质细胞异质性

星形胶质细胞和小胶质细胞是脑中主要的非神经元细

胞类型，它们在维持脑内稳态和支持神经元功能中发挥着重要作用。通过单细胞测序技术，研究人员发现这些细胞在AD患者中表现出显著的异质性，尤其是在 β 淀粉样蛋白斑块和tau蛋白沉积周围⁽¹⁹⁾。

星形胶质细胞在AD中可能发挥了双重作用：一方面，它们通过清除毒性蛋白质和支持神经元存活来延缓病情^(11,20)；另一方面，在疾病晚期阶段，星形胶质细胞可能由于长期应激而功能失调，甚至参与了神经元的进一步损伤⁽¹⁸⁾。单细胞测序研究揭示，在AD患者中，星形胶质细胞中与炎症反应相关的基因显著上调，而与代谢支持相关的基因则下调⁽²⁰⁻²²⁾。

小胶质细胞作为大脑中的免疫细胞，在AD的病理过程中也起到至关重要的作用⁽²³⁾。它们在病理条件下被激活，释放出多种炎症因子并参与 β 淀粉样蛋白的清除⁽²¹⁾。然而，长期的炎症激活可能导致小胶质细胞功能失调，进而加剧神经元损伤。单细胞测序揭示了小胶质细胞亚型的异质性，一些亚型的功能与AD病理过程中的炎症反应密切相关，而其他亚型则与神经修复有关⁽²⁴⁾。

3.3. 血管内皮细胞与少突胶质细胞的异质性

除了神经元和胶质细胞，血管内皮细胞和少突胶质细胞在AD中的角色也逐渐受到关注。血脑屏障的完整性对于维持脑内稳态至关重要，而血管内皮细胞是血脑屏障的主要组成部分。在AD患者中，血脑屏障功能障碍被认为是疾病进展的一个关键环节⁽²⁵⁾。单细胞测序研究表明，AD患者脑内血管内皮细胞的基因表达谱发生了显著变化，尤其是在调控血管通透性和炎症反应的基因方面^(26,27)。

少突胶质细胞负责髓鞘的生成和维持，而髓鞘的完整性对神经信号的快速传导至关重要。在AD中，髓鞘的损伤和少突胶质细胞功能的失调可能是导致神经信号传导障碍和认知功能衰退的一个重要因素^(9,28,29)。单细胞测序分析显示，AD患者脑内少突胶质细胞的亚型分布发生了变化，一些亚型表现出髓鞘生成相关基因的下调，而其他亚型则与炎症反应相关⁽³⁰⁾。

4. 单细胞测序技术在AD研究中的前景

随着单细胞测序技术的不断进步，科学家们能够在更精细的层面上研究AD的病理过程。未来，该技术可能帮助揭示AD的早期生物标志物，从而实现早期诊断。此外，单细胞测序还可能为个体化治疗提供依据，因为每位患者的细胞异质性可能导致对治疗的不同响应。然而，单细胞测序技术也面临一些挑战。例如，数据的分析和解读需要强大的计算能力和复杂的算法。此外，由于AD患者的脑组织样本通常来自病情晚期的捐献者，如何获得早期AD患者的脑组织样本进行研究也是一个亟待解决的问题。

5. 结论

单细胞测序技术为我们揭示阿尔茨海默病的细胞异质性提供了强大的工具。通过该技术，研究人员能够深入了解不同细胞类型及其亚型在疾病进展中的角色，尤其

是神经元和胶质细胞的功能变化。未来，随着技术的不断进步和应用，单细胞测序有望为AD的早期诊断和个性化治疗提供新的思路 and 策略。

利益冲突：所有作者均声明不存在利益冲突。

致谢：无。

作者贡献声明：无。

参考文献

1. Li Z, Yang N, He L, *et al*. Global burden of dementia death from 1990 to 2019, with projections to 2050: An analysis of 2019 global burden of disease study. *J Prev Alzheimers Dis*. 2024;11:1013-1021.
2. Trejo-Lopez JA, Yachnis AT, Prokop S. Neuropathology of Alzheimer's disease. *Neurotherapeutics*. 2022;19:173-185.
3. Jovic D, Liang X, Zeng H, *et al* Single-cell RNA sequencing technologies and applications: A brief overview. *Clin Transl Med*. 2022;12:e694.
4. Keren-Shaul H, Spinrad A, Weiner A, *et al*. A unique microglia type associated with restricting development of Alzheimer's disease. *Cell*. 2017;169:1276-1290 e1217.
5. Stuart T, Satija R. Integrative single-cell analysis. *Nat Rev Genet*. 2019;20:257-272.
6. Scholl M, Lockhart SN, Schonhaut DR, *et al*. PET imaging of tau deposition in the aging human brain. *Neuron*. 2016;89:971-982.
7. Rosenberg AB, Roco CM, Muscat RA, *et al*. Single-cell profiling of the developing mouse brain and spinal cord with split-pool barcoding. *Science*. 2018;360:176-182.
8. Gazestani V, Kamath T, Nadaf NM, *et al*. Early Alzheimer's disease pathology in human cortex involves transient cell states. *Cell*. 2023;186:4438-4453 e4423.
9. Mathys H, Davila-Velderrain J, Peng Z, *et al*. Single-cell transcriptomic analysis of Alzheimer's disease. *Nature*. 2019;570:332-337.
10. Ndoja A, Reja R, Lee SH, *et al*. Ubiquitin ligase COP1 suppresses neuroinflammation by degrading c/EBP β in microglia. *Cell*. 2020;182:1156-1169.e1112.
11. Habib N, McCabe C, Medina S, *et al*. Disease-associated astrocytes in Alzheimer's disease and aging. *Nat Neurosci*. 2020;23:701-706.
12. Ahmadian Y, Miller KD. What is the dynamical regime of cerebral cortex? *Neuron*. 2021;109:3373-3391.
13. Gazestani V, Kamath T, Nadaf NM, *et al*. Early Alzheimer's disease pathology in human cortex involves transient cell states. *Cell*. 2023;186:4438-4453.e4423.
14. Leng K, Li E, Eser R, *et al*. Molecular characterization of selectively vulnerable neurons in Alzheimer's disease. *Nat Neurosci*. 2021;24:276-287.
15. Scaduto P, Lauterborn JC, Cox CD, *et al*. Functional excitatory to inhibitory synaptic imbalance and loss of cognitive performance in people with Alzheimer's disease neuropathologic change. *Acta Neuropathol*. 2023;145:303-324.
16. Lauterborn JC, Scaduto P, Cox CD, *et al*. Increased excitatory to inhibitory synaptic ratio in parietal cortex samples from individuals with Alzheimer's disease. *Nat Commun*. 2021;12:2603.
17. Turrigiano GG. The self-tuning neuron: Synaptic scaling of excitatory synapses. *Cell*. 2008;135:422-435.
18. Mathys H, Peng Z, Boix CA, *et al*. Single-cell atlas reveals

- correlates of high cognitive function, dementia, and resilience to Alzheimer's disease pathology. *Cell*. 2023;186:4365-4385 e4327.
19. Gerrits E, Brouwer N, Kooistra SM, *et al*. Distinct amyloid- β and tau-associated microglia profiles in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol*. 2021;141:681-696.
 20. Perez-Nievas BG, Serrano-Pozo A. Deciphering the astrocyte reaction in Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci*. 2018;10:114.
 21. Zhou Y, Song WM, Andhey PS, *et al*. Human and mouse single-nucleus transcriptomics reveal TREM2-dependent and TREM2-independent cellular responses in Alzheimer's disease. *Nat Med*. 2020;26:131-142.
 22. Ortinski PI, Dong J, Mungenast A, *et al*. Selective induction of astrocytic gliosis generates deficits in neuronal inhibition. *Nat Neurosci*. 2010;13:584-591.
 23. Mathys H, Adaiikkan C, Gao F, *et al*. Temporal tracking of microglia activation in neurodegeneration at single-cell resolution. *Cell Rep*. 2017;21:366-380.
 24. Gao C, Jiang J, Tan Y, *et al*. Microglia in neurodegenerative diseases: Mechanism and potential therapeutic targets. *Signal Transduct Target Ther*. 2023;8:359.
 25. Sweeney MD, Kisler K, Montagne A, *et al*. The role of brain vasculature in neurodegenerative disorders. *Nat Neurosci*. 2018;21:1318-1331.
 26. Sun N, Akay LA, Murdock MH, *et al*. Single-nucleus multiregion transcriptomic analysis of brain vasculature in Alzheimer's disease. *Nat Neurosci*. 2023;26:970-982.
 27. Sweeney MD, Montagne A, Sagare AP, *et al*. Vascular dysfunction-The disregarded partner of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2019;15:158-167.
 28. Grubman A, Chew G, Ouyang JF, *et al*. A single-cell atlas of entorhinal cortex from individuals with Alzheimer's disease reveals cell-type-specific gene expression regulation. *Nat Neurosci*. 2019;22:2087-2097.
 29. Lau SF, Cao H, Fu AKY, *et al*. Single-nucleus transcriptome analysis reveals dysregulation of angiogenic endothelial cells and neuroprotective glia in Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020;117:25800-25809.
 30. Simons M, Nave KA. Oligodendrocytes: Myelination and axonal support. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2015;8:a020479.
-
- 引用本文 / Article Citation:
- 胡昔奇, 夏鹰, 宋培培, 唐伟. 阿尔茨海默病的单细胞测序研究: 细胞异质性的揭示与病理机制分析. *医学新视角*. 2024;1(5):253-256. doi:10.5582/npjm.2024.01045
- Xiqi Hu, Ying Xia, Peipei Song, Wei Tang. Single-cell sequencing in Alzheimer's disease research: Unveiling cellular heterogeneity and pathological mechanisms. *The New Perspectives Journal of Medicine*. 2024;1(5):253-256. doi:10.5582/npjm.2024.01045