

• 综述 •

单细胞转录组测序技术在胃癌肿瘤微环境重编程研究中的应用进展

胡非凡, 占 强, 安方梅*

南京医科大学附属无锡人民医院消化内科, 南京医科大学无锡医学中心, 国家消化系统疾病临床医学研究中心(西安)江苏省分中心, 江苏 无锡 214023

[摘要] 胃癌发病和肿瘤微环境重编程密切相关, 但肿瘤微环境的复杂性与异质性限制了胃癌的个体化精准诊疗。单细胞转录组测序技术从探讨肿瘤微环境重编程过程出发, 可在单细胞水平“描绘”胃癌中肿瘤微环境的“景观”, 深入探索肿瘤微环境各细胞亚型间的相互作用, 揭示肿瘤微环境调控胃癌进展与转移的免疫新机制, 探究肿瘤微环境诱导胃癌化疗耐药的分子机制, 挖掘肿瘤微环境中胃癌潜在的免疫治疗新靶点, 提供预测肿瘤微环境影响胃癌预后的新方法等, 为研究胃癌起源、发病机制、疾病进展以及免疫耐受等提供更全面、精准的证据。文章就单细胞转录组测序技术在胃癌微环境重编程研究中的应用现状作一综述, 力求为胃癌的精准诊治提供新思路。

[关键词] 胃癌; 肿瘤微环境; 单细胞转录组测序; 异质性

[中图分类号] R735.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2025)02-285-06

doi: 10.7655/NYDXBNSN240898

Progress of single-cell RNA sequencing technology in the study of tumor microenvironment reprogramming in gastric cancer

HU Feifan, ZHAN Qiang, AN Fangmei*

Department of Gastroenterology, the Affiliated Wuxi People's Hospital of Nanjing Medical University; Wuxi Medical Center, Nanjing Medical University; Jiangsu Branch of the National Clinical Research Center for Digestive Diseases; Wuxi 214023, China

[Abstract] Gastric cancer is closely related to the reprogramming of the tumor microenvironment, but the complexity and heterogeneity of the tumor microenvironment presents a significant challenge to the development of individualized and precise diagnose and treatment strategies for gastric cancer. Focusing on the reprogramming process of tumor microenvironment, single-cell sequencing technology can depict the “landscape” of the gastric cancer tumor microenvironment at the single-cell level, explore the interactions between cell subtypes and their components, reveal the novel immune mechanisms by which the tumor microenvironment regulates the progression and metastasis of gastric cancer, explore the molecular mechanism of chemo-resistance in the tumor microenvironment of gastric cancer, identify the potential immunotherapy targets for gastric cancer within the tumor microenvironment, and provide a new prediction method for the prognosis of gastric cancer. The technology will provide more comprehensive and precise evidence for the study of origin, pathogenesis, progression, and immune tolerance in gastric cancer. The following paper reviews the application of single-cell RNA sequencing technology in the reprogramming of the tumor microenvironment in gastric cancer and attempts to provide new ideas for the precise diagnosis and treatment of gastric cancer.

[Key words] gastric cancer; tumor microenvironment; single-cell RNA sequencing; heterogeneity

[J Nanjing Med Univ, 2025, 45(02): 285-290]

[基金项目] 江苏省自然科学基金(BK20211039); 无锡市双百拔尖人才项目(BJ2023008); 南京医科大学无锡医学中心专病队列和临床研究项目(WMCC202302); 南京医科大学无锡医学中心重点项目(WMCM202305)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: fangmeian@njmu.edu.cn(ORCID: 0000-0001-5392-2891)

胃癌(gastric cancer, GC)作为最常见的消化道恶性肿瘤之一,多见于东亚、东欧、南美洲人群,其癌症相关发病率及病死率在全球范围内均居于前列^[1]。GC是一种具有显著异质性的疾病,表现出高度的组织学、转录组和基因组变异,导致不同的临床特征和治疗反应^[2],因此深入探索GC异质性对于不同个体的精准诊治具有重要意义。

肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)作为影响肿瘤异质性的一个重要因素之一,在肿瘤进展中不断重编程,以选择最具适应性的细胞亚型^[3]。TME不仅由多种细胞类型组成,包括肿瘤细胞、成纤维细胞、免疫细胞、内皮细胞、脂肪细胞、神经元等,还涵盖了肿瘤细胞周边的淋巴管和脉管系统、细胞因子等^[4]。这些成分通过一个巨大的分子信息网络相互作用、相互交流。TME重编程与肿瘤异质性密切相关。深入探讨TME重编程对于掌握GC异质性及精准诊治意义重大,但因TME的复杂性,目前尚缺乏有效的研究手段。

随着研究技术的不断更新,转录组/蛋白组测序使得GC异质性的研究成为可能。传统的批量转录组测序技术将组织或者细胞群作为研究材料,从中获得不同基因表达谱的混合物。但是肿瘤细胞之间以及TME内的转录组程序存在高度异质性,由“稀有”细胞群或细胞类型驱动的肿瘤恶化的真正信号可能不会被批量RNA测序检测到^[5]。这一问题激发了新一代测序技术——单细胞转录组测序技术的诞生,单细胞转录组测序技术使得单细胞水平上的肿瘤转录组研究变为可能。

1 单细胞转录组测序在胃癌TME研究中的应用

1.1 单细胞转录组测序可“描绘”胃癌不同阶段的TME“景观”

根据Correa's级联反应,GC的发生发展是一种从非活动性或慢性活动性胃炎到癌前病变最后发展为胃腺癌的进展过程^[6]。目前大多数研究局限于胃癌或转移性胃癌等单一阶段,针对癌前病变以及多病变阶段的研究较少。Wang等^[7]研究了从胃炎到胃癌的整个过程中TME细胞组成的动态变化,该研究从43例受试者中提取了包括正常人群、慢性萎缩性胃炎、肠上皮化生、胃癌、腹腔转移等多种胃癌发展阶段的组织及胃癌患者和健康人群的外周血单个核细胞标本,对其进行单细胞转录组测序,发现不同组织群的免疫细胞和基质细胞的丰度及组成存在很大差异,说明在GC发展的不同阶段,都伴

随着TME的重编程。该研究全面分析了TME中免疫细胞及基质细胞亚群,展现了GC多病变阶段TME的细胞异质性。通过拟时序分析揭示随着GC进展,CD8⁺T细胞发生重编程,T细胞耗竭相关转录因子的表达增加以及抑制性免疫检查点基因上调;通过鉴定肿瘤相关巨噬细胞(tumor associated macrophage, TAM)亚群、树突状细胞(dendritic cell, DC)亚群发现随着GC进展,髓系细胞由免疫刺激状态转变为免疫抑制状态;通过对B细胞及浆细胞进行亚聚类分析发现胃癌前病变中IgA⁺浆细胞显著富集;通过对成纤维细胞、内皮细胞、血管平滑肌细胞、间皮细胞等基质细胞进行亚群鉴定,发现随着GC进展,基质细胞发生重编程,可能驱动肿瘤血管生成和免疫抑制信号。此外,一项胃癌前病变和早期GC的单细胞研究详细描绘了非萎缩性胃炎、慢性萎缩性胃炎、肠上皮化生、早期GC的胃黏膜单细胞图谱,发现早期GC细胞从起源上更接近化生干细胞样细胞(metaplastic stem-like cell, MSC),这提示GC细胞可能来源于化生微环境中的MSC^[8]。由此可见,单细胞转录组测序技术不但能很好地展现GC进展过程中TME细胞的动态变化,而且能以新的视角展现GC的细胞起源。

1.2 单细胞转录组测序可深入探索TME细胞与GC细胞间的相互作用

TME中的各种细胞亚型之间存在复杂的相互作用,这是引起TME重编程、导致TME异质性的重要原因之一,其中肿瘤相关基质细胞、巨噬细胞是TME中复杂细胞间相互作用的关键介质^[9-10]。Sun等^[11]利用单细胞转录组测序技术结合细胞间通讯分析技术确定肿瘤与正常组织中可能的细胞-细胞相互作用,发现肿瘤相关基质细胞与肿瘤血管生成密切相关,内皮细胞簇和平滑肌细胞簇表达高水平的Notch配体Jagged 1(JAG1)和δ样配体1(delta like ligand 1, DLL1),通过与Notch受体NOTCH1、NOTCH3、NOTCH4相互作用参与血管形成过程,同时平滑肌细胞簇通过自身表达的血管生成素2(angiotensin 2, ANGPT2)与内皮细胞簇表达的相应受体酪氨酸激酶(tyrosine kinase, TEK)结合调控内皮细胞的存活和迁移。Sathe等^[12]研究验证了这一结论,内皮细胞中存在显著的自分泌和旁分泌的血管生成调节因子Notch信号通路,还发现Notch信号通路也在成纤维细胞中存在。

目前许多研究已经证实肿瘤相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblast, CAF)和肿瘤细胞之间

的相互作用在肿瘤发生发展中起着关键作用, 而TME中的其他细胞和CAF间的相互影响被认为是促进肿瘤进展的另一个关键因素^[13]。Li等^[14]通过分析配体-受体介导的潜在的细胞间相互作用, 观察到GC样本中内皮细胞与成纤维细胞之间的相互作用, 并确定了由前列腺素因子(prostaglandin factor, PGF)、血管内皮生长因子A(vascular endothelial growth factor A, VEGFA)、血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)及其受体介导的尖状内皮细胞和成纤维细胞亚群之间的相互作用, 提示了成纤维细胞与肿瘤血管生成密切相关。

此外, TME中基质细胞与免疫细胞间的相互作用也十分复杂, Li等^[15]对8对胃癌及癌旁组织进行单细胞转录组测序, 分析了CAF各亚群间的特点以及CAF调控的TME成分之间的动态通讯, 发现炎症性CAF(inflammatory CAF, iCAF)通过分泌IL-6和CXCL12与T细胞相互作用, 而细胞外基质CAF(extracellular matrix CAF, eCAF)通过骨膜蛋白(peripostin, POSTN)与M2型巨噬细胞相互作用。提示iCAF和eCAF可以动员周围的免疫细胞发生重编程以构建有利于肿瘤生存的微环境。另有研究发现, TAM与肿瘤相关基质细胞通过受体-配体对(如CSF1-CSF1R、PROS1-AXL等)正反馈调控, 以维持亲肿瘤的微环境^[11]。由此可见, 在单细胞水平探究GC细胞亚群间的受体-配体相互作用, 可构建GC TME中基质细胞与免疫细胞相互作用的网络, 为选择肿瘤免疫治疗的新靶点提供新思路。

1.3 单细胞转录组测序可揭示TME调控GC进展与转移的免疫新机制

肿瘤进展过程中, 一方面肿瘤通过竞争代谢物, 分泌细胞外囊泡和细胞因子, 降低自身抗原表达, 抑制TME中的细胞毒性免疫细胞数量、功能, 从而产生免疫耐受, 另一方面大量促癌免疫细胞维持肿瘤生长并加速肿瘤进展, 进一步抑制细胞毒性免疫细胞的功能^[16]。Wang等^[17]使用单细胞转录组测序技术对3对GC及配对的淋巴结转移癌进行分析, 发现参与GC淋巴结转移过程的生物标志物包括Erb-B2受体酪氨酸激酶2(Erb-B2 receptor tyrosine kinase 2, ERBB2)、紧密连接蛋白11(claudin 11, CLDN11)和细胞周期蛋白依赖性激酶12(cyclin dependent kinase 12, CDK12), 以及原癌基因FOS和JUN。Huang等^[18]则聚焦GC的腹膜转移, 利用单细胞转录组测序技术发现在GC腹膜转移过程中DC比例减少, Treg细胞以及幼稚T细胞的比例增加, 而

单核细胞样DC[高表达CD14、CD163、纤维胶凝蛋白1(ficolin 1, FCN1)、MAF bZIP转录因子B(MAF bZIP transcription factor B, MAFB)、S100钙结合蛋白A9(S100A9)、免疫球蛋白G Fc段受体1A(high affinity immunoglobulin gamma Fc receptor 1A, FCGR1A), 而低表达CD1C和MHC-II]却表现出高度多样性和促血管生成表型, 使其抗原递呈能力降低, 促血管生成能力增加。这有助于腹膜转移癌的免疫抑制及促血管生成。

此外, 多项研究显示TME生态系统可以通过代谢重编程影响细胞脂质代谢活动, 导致免疫细胞功能障碍, 最终导致免疫抑制、免疫耐受, 促进肿瘤进展与免疫逃逸。Zhang等^[19]利用单细胞转录组测序与批量RNA测序技术获取数据库中的脂质代谢相关基因(lipid metabolism-related gene, LMRG), 发现谷胱甘肽过氧化物酶3(glutathione peroxidase 3, GPX3)和烟酰胺-N-甲基转移酶(nicotinamide N-methyltransferase, NNMT)作为肿瘤促进因子在GC进展中起着关键作用, 且M2巨噬细胞在高危组中明显聚集, 提示脂质代谢与TAM的M2极化相关。由此可见, 单细胞转录组测序技术为TME促GC肿瘤发展、发病机制的研究提供了可靠有力的工具, 相信以后随着单细胞转录组测序及相关技术的普及应用, GC发病新机制将会被不断揭示。

1.4 单细胞转录组测序为研究TME诱导GC化疗耐药的分子机制提供方法

新辅助化疗(neoadjuvant chemotherapy, NCT)作为无法进行根治性外科手术的GC患者的一项重要治疗方案, 旨在缩小肿瘤体积并降低肿瘤分期, 从而为一部分患者提供手术切除机会并提高整体预后^[20]。然而, 肿瘤在治疗期间对化疗药物产生耐药性, 对NCT提出了重大挑战, 了解GC化疗耐药性的机制有助于针对肿瘤耐药的新策略研发及提高GC患者的预后^[21]。TME在肿瘤化疗诱导耐药中起着重要作用, TME内的细胞异质性是导致GC化疗耐药的重要原因。Yin等^[22]利用公共数据库中不同胃黏膜病变阶段的单细胞转录组测序数据获取不同病变状态下成纤维细胞的数据信息, 分析其与5-氟尿嘧啶和顺铂治疗耐药相关基因的相关性, 发现CAF在TME中通过分泌肽基脯氨酰异构酶C(peptidylprolyl isomerase C, PPIC)影响葡萄糖代谢和氧化磷酸化、细胞外基质重塑, 导致GC化疗耐药。可见GC TME中的代谢重编程与细胞重编程是GC化疗耐药的重要机制。在GC中, CAF表现出高

度异质性,表达不同标志物的CAF亚群可能在GC耐药中发挥不同的作用^[23]。Jia等^[24]对50个原发性GC的单细胞转录组测序结果进行分析,定义了胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)阳性的CAF亚群IGF⁺CAF。他们通过细胞间通讯分析技术发现IGF1⁺CAF高表达胶原、纤连蛋白、Wnt配体,并与GC上皮细胞表面的相应受体结合,介导上皮间质转化的生物学过程,促进GC的侵袭与迁移,而IGF信号通路显著富集于化疗后疾病进展的GC样本中,提示IGF1⁺CAF可能通过介导GC上皮细胞的上皮间质转化导致肿瘤细胞获得化疗耐药表型。由此可见,单细胞转录组测序技术基于对TME中细胞进行分类及细胞间通讯分析为探究TME影响GC化疗耐药的分子机制提供了可能的研究方向。

1.5 单细胞转录组测序可挖掘TME中GC潜在的免疫治疗新靶点

虽然针对GC治疗的新方法如免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitor, ICI)、代谢抑制剂和免疫代谢的关键酶等已经被应用于GC的临床治疗中,如人表皮生长因子受体-2(human epidermal growth factor receptor-2, HER-2)单克隆抗体、程序性细胞死亡受体-1(programmed cell death receptor-1, PD-1)单克隆抗体以及程序性细胞死亡受体-配体1(programmed cell death receptor-ligand 1, PD-L1)单克隆抗体等,但是晚期GC患者的治疗获益仍有限^[25-26]。因此,寻找新的免疫治疗靶点以提高疗效尤为重要。Fan等^[27]对20例GC腹膜转移样本进行单细胞转录组测序,发现性别决定区Y框9(sex determining region Y-box 9, SOX9)在GC及腹膜转移癌中显著上调,与GC的不良预后显著相关,并且与GC的干性、侵袭性和转移有关。该研究还发现SOX9在抑制CD8⁺T细胞应答和白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor, LIF)介导的巨噬细胞M2极化中起关键作用。针对SOX9或LIF/白血病抑制因子受体(leukemia inhibitory factor receptor, LIFR)的集落刺激因子1受体(colony-stimulating factor-1 receptor, CSF1R)的抑制剂PLX3397以及针对LIFR的抑制剂EC359已经进入临床研发阶段,研究发现使用PLX3397和EC359联合阻断M2型巨噬细胞中的CSF1R和LIF/LIFR,可以显著抑制M2型巨噬细胞标志物趋化因子配体2(chemokine ligand 2, CCL2)和IL-10,增加SOX9高表达GC细胞的T细胞应答,这为GC腹膜转移癌患者的治疗提供了新思路。Park等^[28]同样对单细胞转录组测序结果分析

发现肌动蛋白 $\alpha 2$ (actin alpha 2, ACTA2)的表达与GC ICI的反应相关,并定位到了CAF,他们发现CAF中 α -平滑肌肌动蛋白(alpha-smooth muscle actin, α -SMA)表达水平较高,且相比ICI应答者,无应答者CAF中ACTA2低表达,提示ACTA2在CAF中的表达与ICI反应有关。此外,靶向髓系细胞检查点作为目前ICI的辅助治疗也是目前新兴的治疗方案。补体激活片段C5a受体1(complement component 5a receptor 1, C5aR1)作为髓系检查点,具有调节TAM的免疫抑制特性和CD8⁺T细胞免疫耐受的作用,阻断C5aR1可以促使TAM重编程,显著逆转T细胞耗竭,重新激活CD8⁺T细胞的细胞毒性以增强对GC的抗肿瘤免疫,在与PD-1抗体联合时可以协同增强CD8⁺T细胞再激活和诱导肿瘤细胞凋亡^[29]。上述研究表明,单细胞转录组测序技术能够更好地在单细胞水平发现与肿瘤免疫应答相关的特异性基因,为GC免疫治疗新药的研发提供有价值的新靶点,具有重要的临床意义。

1.6 单细胞转录组测序可提供预测TME影响GC预后的新方法

虽然GC的治疗效果随着免疫靶向药物的问世有所改善,但其预后仍不理想,晚期GC患者的5年相对生存率低于10%^[30]。批量RNA测序技术提供了整体水平上影响GC预后的基因特征,但其忽视了TME的异质性及分子相互作用的复杂性。单细胞转录组测序技术为鉴定TME中的不同免疫细胞亚群提供单细胞水平的依据,从而为预测GC患者的预后提供新方法^[31]。Sun等^[32]整合GC单细胞转录组测序数据及批量RNA测序数据,构建了1个由12个基因组成的NK细胞相关特征基因集(NK cell related characteristic gene set, NKCAS),区分高、低风险组,并将NKCAS与临床病理学特征整合后,来预测GC患者的生存结局。结果显示低风险组存在较高的NK细胞及CD8⁺T细胞浸润,风险评分也与炎症活动呈负相关。Li等^[33]也利用类似的方式构建了7个基因组成的巨噬细胞标志物基因集(macrophage marker gene signature, MMGS),建立了基于MMGS的风险评分模型以预测GC患者的预后。除了固有免疫细胞,适应性免疫细胞也与GC预后密切相关。Cai等^[34]通过分析单细胞转录组测序和空间转录组测序数据确定了GC细胞与B细胞之间发生显著串扰,GC浸润的CD20⁺B细胞发生重编程,更倾向于分化为表达IL-10和IL-35的抑制性B细胞,提示CD20⁺B细胞具有独特的免疫抑制功能。后续

该研究通过分析配体-受体对,发现 LAMA/CD44 信号轴的表达是免疫治疗和GC 预后的预测指标。上述研究表明,单细胞转录组测序技术可揭示影响GC 预后的TME 免疫细胞亚群变化,从而构建更科学的模型,对临床GC 患者个体化治疗及干预有一定的指导意义。

2 单细胞转录组测序技术在研究TME 与GC 中的不足与展望

单细胞转录组测序技术可在单细胞水平绘制GC 不同阶段的TME 细胞图谱,并可构建庞大的细胞间相互作用网络,对解释GC 的异质性、探索GC 进展与转移新机制以及挖掘GC 免疫治疗新靶点均具有重要作用。但是,单细胞转录组测序技术目前仍然存在不足之处。第一、单细胞转录组测序技术不能反映上游调控网络及下游功能。近几年来单细胞多模态组学分析逐渐兴起,未来能够形成以单细胞转录组测序技术为核心的多组学网络,能够更好地剖析TME 的异质性。第二、单细胞转录组测序技术的成本高昂,限制了其在临床研究领域的应用。当未来随着单细胞转录组测序技术的成本降低及普遍应用,才有可能真正进入临床实践,切实解决临床问题。第三、单细胞转录组测序技术丢失了关键的空间信息,尚不能完全体现肿瘤发生发展过程中真实的细胞功能、病理变化情况。

未来,单细胞转录组测序技术将加深从细胞病因学角度对疾病的理解,为临床提供更具疗效的分子靶点,促进新药研发。此外,利用单细胞转录组测序技术发现的新型生物标志物可构建患者的预后分层模型,协助临床诊治决策,促进个体化精准医学的发展。未来的测序技术将提供单细胞水平上的空间多组学测序^[35],通过解构TME 中细胞生态位的复杂空间结构,帮助进一步理解肿瘤的免疫耐受与转移机制。随着单细胞转录组测序技术成本的降低及标准化流程的形成,其将在临床实践中推广,相信可为GC 患者的个体化诊疗提供强有力的数据支撑。

利益冲突声明:

所有作者均声明不存在利益冲突。

Conflict of Interests:

All authors declare no conflict of interests.

作者贡献声明:

胡非凡负责撰写论文,占强和安方梅负责论文修改、论文审阅、经费支持。

Author's Contributions:

HU Feifan was responsible for writing - original draft. ZHAN Qiang and AN Fangmei were responsible for reviewing, editing, and funding acquisition.

[参考文献]

- [1] SMYTH E C, NILSSON M, GRABSCH H I, et al. Gastric cancer[J]. *Lancet*, 2020, 396(10251): 635-648
- [2] KUMAR V, RAMNARAYANAN K, SUNDAR R, et al. Single - cell atlas of lineage states, tumor microenvironment, and subtype-specific expression programs in gastric cancer[J]. *Cancer Discov*, 2022, 12(3): 670-691
- [3] ZHANG A P, MIAO K, SUN H, et al. Tumor heterogeneity reshapes the tumor microenvironment to influence drug resistance[J]. *Int J Biol Sci*, 2022, 18(7): 3019-3033
- [4] ELHANANI O, BEN-URI R, KEREN L. Spatial profiling technologies illuminate the tumor microenvironment [J]. *Cancer Cell*, 2023, 41(3): 404-420
- [5] LI X M, WANG C Y. From bulk, single - cell to spatial RNA sequencing[J]. *Int J Oral Sci*, 2021, 13(1): 36
- [6] LIU Q S, TANG J Y, CHEN S L, et al. Berberine for gastric cancer prevention and treatment: multi - step actions on the Correa's cascade underlie its therapeutic effects[J]. *Pharmacol Res*, 2022, 184: 106440
- [7] WANG R P, SONG S M, QIN J J, et al. Evolution of immune and stromal cell states and ecotypes during gastric adenocarcinoma progression [J]. *Cancer Cell*, 2023, 41(8): 1407-1426
- [8] ZHANG P, YANG M R, ZHANG Y D, et al. Dissecting the single - cell transcriptome network underlying gastric premalignant lesions and early gastric cancer [J]. *Cell Rep*, 2020, 30(12): 4317
- [9] ZHANG J Q, HU C, ZHANG R L, et al. The role of macrophages in gastric cancer [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1282176
- [10] GONG W J, MARTIN T A, SANDERS A J, et al. Location, function and role of stromal cell-derived factors and possible implications in cancer (review) [J]. *Int J Mol Med*, 2021, 47(2): 435-443
- [11] SUN K Y, XU R D, MA F H, et al. scRNA-seq of gastric tumor shows complex intercellular interaction with an alternative T cell exhaustion trajectory [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 4943
- [12] SATHE A, GRIMES S M, LAU B T, et al. Single-cell genomic characterization reveals the cellular reprogramming of the gastric tumor microenvironment [J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(11): 2640-2653
- [13] MAO X Q, XU J, WANG W, et al. Crosstalk between cancer-associated fibroblasts and immune cells in the tumor

- microenvironment: new findings and future perspectives [J]. *Mol Cancer*, 2021, 20(1): 131
- [14] LI Y M, HU X D, LIN R C, et al. Single-cell landscape reveals active cell subtypes and their interaction in the tumor microenvironment of gastric cancer[J]. *Theranostics*, 2022, 12(8): 3818–3833
- [15] LI X C, SUN Z, PENG G X, et al. Single-cell RNA sequencing reveals a pro-invasive cancer-associated fibroblast subgroup associated with poor clinical outcomes in patients with gastric cancer [J]. *Theranostics*, 2022, 12(2): 620–638
- [16] LIU Y D, LI C F, LU Y P, et al. Tumor microenvironment-mediated immune tolerance in development and treatment of gastric cancer [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1016817
- [17] WANG B, ZHANG Y Y, QING T, et al. Comprehensive analysis of metastatic gastric cancer tumour cells using single-cell RNA-seq[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 1141
- [18] HUANG X Z, PANG M J, LI J Y, et al. Single-cell sequencing of ascites fluid illustrates heterogeneity and therapy-induced evolution during gastric cancer peritoneal metastasis[J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 822
- [19] ZHANG J Z, WANG H, TIAN Y, et al. Discovery of a novel lipid metabolism-related gene signature to predict outcomes and the tumor immune microenvironment in gastric cancer by integrated analysis of single-cell and bulk RNA sequencing[J]. *Lipids Health Dis*, 2023, 22(1): 212
- [20] HU J W, YANG Y P, MA Y C, et al. Survival benefits from neoadjuvant treatment in gastric cancer: a systematic review and meta-analysis [J]. *Syst Rev*, 2022, 11(1): 136
- [21] MARIN J J G, PEREZ-SILVA L, MACIAS R I R, et al. Molecular bases of mechanisms accounting for drug resistance in gastric adenocarcinoma [J]. *Cancers*, 2020, 12(8): 2116
- [22] YIN H H, SUN L L, YUAN Y, et al. PPIC-labeled CAFs: key players in neoadjuvant chemotherapy resistance for gastric cancer[J]. *Transl Oncol*, 2024, 48: 102080
- [23] LU Y F, JIN Z J, HOU J Y, et al. Calponin 1 increases cancer-associated fibroblasts-mediated matrix stiffness to promote chemoresistance in gastric cancer[J]. *Matrix Biol*, 2023, 115: 1–15
- [24] JIA X Y, LI Z T, ZHOU R Y, et al. Single cell and bulk RNA sequencing identifies tumor microenvironment subtypes and chemoresistance-related IGF1⁺ cancer-associated fibroblast in gastric cancer[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2024, 1870(4): 167123
- [25] ZHAO L, LIU Y Y, ZHANG S M, et al. Impacts and mechanisms of metabolic reprogramming of tumor microenvironment for immunotherapy in gastric cancer [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(4): 378
- [26] JANJIGIAN Y Y, SHITARA K, MOEHLER M, et al. First-line nivolumab plus chemotherapy versus chemotherapy alone for advanced gastric, gastro-oesophageal junction, and oesophageal adenocarcinoma (CheckMate 649): a randomised, open-label, phase 3 trial [J]. *Lancet*, 2021, 398(10294): 27–40
- [27] FAN Y B, LI Y, YAO X D, et al. Epithelial SOX9 drives progression and metastases of gastric adenocarcinoma by promoting immunosuppressive tumour microenvironment [J]. *Gut*, 2023, 72(4): 624–637
- [28] PARK S, KARALIS J D, HONG C J, et al. ACTA2 expression predicts survival and is associated with response to immune checkpoint inhibitors in gastric cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2023, 29(6): 1077–1085
- [29] ZHANG P R, GU Y, WANG J T, et al. Complement receptor C5aR1 blockade reprograms tumor-associated macrophages and synergizes with anti-PD-1 therapy in gastric cancer [J]. *Int J Cancer*, 2023, 153(1): 224–237
- [30] YANG L, YING X J, LIU S, et al. Gastric cancer: epidemiology, risk factors and prevention strategies [J]. *Chin J Cancer Res*, 2020, 32(6): 695–704
- [31] DENG G H, ZHANG X, CHEN Y L, et al. Single-cell transcriptome sequencing reveals heterogeneity of gastric cancer: progress and prospects [J]. *Front Oncol*, 2023, 13: 1074268
- [32] SUN J R, KONG C F, YE Y X, et al. Integrated analysis of single-cell and bulk RNA-sequencing reveals a novel signature based on NK cell marker genes to predict prognosis and immunotherapy response in gastric cancer [J]. *Sci Rep*, 2024, 14(1): 7648
- [33] LI Z P, CHEN H, CHEN Z Q, et al. Bioinformatics analysis reveals prognostic significance of the macrophage marker gene signature in gastric adenocarcinoma [J]. *Front Biosci*, 2024, 29(5): 172
- [34] CAI X, YANG J R, GUO Y S, et al. Re-analysis of single cell and spatial transcriptomics data reveals B cell landscape in gastric cancer microenvironment and its potential crosstalk with tumor cells for clinical prognosis [J]. *J Transl Med*, 2024, 22(1): 807
- [35] WANG S, SUN S T, ZHANG X Y, et al. The evolution of single-cell RNA sequencing technology and application: progress and perspectives [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(3): 2943

[收稿日期] 2024-08-27

(本文编辑:陈汐敏)