

单细胞测序分析布氏菌病性关节炎的研究进展

白贺霞¹ 左明明² 盘晓芳² 韩璇雪² 王晓峰^{*1}

1. 新疆医科大学第四临床医学院 新疆 乌鲁木齐 830000

2. 新疆昌吉市人民医院 新疆 昌吉 831000

摘要：单细胞测序技术在研究布氏菌病性关节炎方面取得显著进展，揭示了病原体与宿主细胞间的复杂相互作用。该技术通过高通量分析揭示了不同细胞群体的异质性，帮助科学家们详细描绘了布鲁氏菌在宿主细胞内的感染过程和宿主免疫细胞的反应。单细胞 RNA 测序技术识别出感染过程中表达差异显著的基因，揭示了免疫细胞的激活状态和功能变化。此外，该技术还揭示了布鲁氏菌逃避免疫监视和在不同细胞类型中的定植模式。这些发现为开发新的诊断方法和治疗策略提供了重要依据，预示着单细胞测序技术将在布氏菌病性关节炎的研究中发挥越来越重要的作用。

关键词：单细胞测序；布氏菌病；关节痛

引言：

单细胞测序技术在研究布氏菌病性关节炎方面取得显著进展，有助于揭示其病理机制。该技术能分析单个细胞内的基因表达，揭示细胞间的异质性。研究集中在识别关节炎相关基因、研究布鲁氏菌在宿主细胞内的存活机制，以及分析免疫细胞的动态变化。尽管面临数据处理复杂和成本高的挑战，单细胞测序技术在疾病研究中具有广阔前景，有望为诊断和治疗提供新方法。随着技术进步和成本降低，其在布氏菌病性关节炎研究中的作用将更加重要。本文就其单细胞测序技术在布氏菌病性关节炎研究中相关研究进展进行系统性阐述。

1 单细胞测序分析相关研究

单细胞测序分析技术在现代生物医学研究中具有极其重要的地位。通过这种技术，科学家们能够对单个细胞内的基因表达、表观遗传特征以及细胞间的异质性进行深入研究。这不仅有助于揭示复杂的生物过程，还能疾病诊断和治疗提供新的思路和方法。因此对于该技术在相关领域的应用涉及有很多研究。我国学者董燕^[1]等人认为单细胞测序技术是能够在单个细胞的水平上对基因组进行高通量测序分析的一项新技术，与传统高通量测序相比，单细胞测序不仅能够分析相同表型细胞的遗传异质性，还能获取难以培养微生物的遗传信息，具有广阔的应用前景。单细胞测序技术的流程主要包括单细胞分离，细胞溶解与基因组 DNA 获取，全基因组扩增，测序与数据分析 4 个方面，以该技术流程为主线，分析了现有技术的优缺点，并对最新的改进办法进行了综述。之后对于该技术的实际应用得到了广泛的推广，我国学者阮浩宇^[2]等研究者将该技术应用在了脑脊液 (CSF) 检测在中枢神经系统疾病的诊断和治疗中，在采用了单细胞测序技术以后，相较于传统方法，该技术可获取 CSF 中单个细胞的表达谱，有利于 CSF 中细胞类群和异质性的研究以及低丰度细胞的发现。近年来 CSF 单细胞测序的相关研究主要集中在神经感染性疾

病，神经炎性和神经退行性疾病，以及脑膜转移等方面，充分体现了单细胞测序技术在中枢神经系统疾病研究中的优势和临床价值，为疾病的诊断和治疗提供新的方向。另外就是我国的学者谷文静^[3]等人对于血液系统疾病的研究也是采用了细胞序列分析研究，由于血液系统恶性疾病具有高度异质性，传统批量测序技术难以识别异质性细胞群体，可能丢失在疾病克隆演变中起重要作用的信息。单细胞测序技术的迅速发展，使其可在单个细胞水平进行全基因组，转录组及表观遗传组学分析，有利于揭示肿瘤异质性，追踪细胞谱系，理解肿瘤克隆演变的复杂机制，从而使肿瘤的早期识别，治疗指导，预后评估与复发监测成为可能。拟就单细胞测序技术的原理，检测流程，存在的挑战及未来发展方向进行综述，并且探讨其在血液系统恶性疾病克隆演变方面的研究进展及应用价值。该技术在乳腺癌方面的应用和研究也是使用的比较广泛。我国学者杨帅^[4]等人认为对于传统高通量测序技术对乳腺癌的发生发展，精确分型，诊断及治疗方面提供了重要参考，但仍有局限性，无法揭示肿瘤内异质性。与传统测序技术相比，单细胞测序技术在灵敏度，准确度和工作效率方面都得到极大的提高，该技术可以分析复杂混合细胞中单个细胞的分子生物学信息，应用在肿瘤异质性方面展现出极大的优越性，包

括从单细胞层面解析乳腺癌转录组图谱,探索乳腺癌微环境异质性,探索乳腺癌转移与耐药发生机制,探索乳腺癌克隆异质性及其演化研究。本文对近年来单细胞测序技术在乳腺癌中的相关研究进展进行综述,旨在为乳腺癌单细胞测序技术研究提供理论参考。

综上所述,对于单细胞测序分析相关研究人们应用十分的广泛,不管是在实验室还是在临床上对于乳腺癌患者使用、血液系统的疾病研究该技术都是起到很大的研究作用。

2 布氏菌病性关节炎的相关研究

布鲁氏菌病(Brucellosis, Brucellosis)是一种重要的人兽共患传染病,其主要特征是布鲁氏细菌引起的持续发热、多汗、乏力、周身酸痛,慢性化后会表现为脊柱关节疼痛、肌肉挛缩、畸形、瘫痪等。布鲁氏菌是兼性胞内寄生菌,具有很强的致病性。

2.1 临床表现

布鲁菌病是一种可分为急、慢两大类的慢性病。急性期其中伴有发热的占 76.09%。在急性阶段,会表现为发热、乏力、多汗、周身肌肉关节酸痛,如果治疗不及时,进入慢性阶段,病情会逐渐恶化,感染会波及到特定的关节和脊柱,出现持续剧烈的疼痛。

2.2 病因病机

布鲁氏菌侵入人体后,被巨噬细胞吞噬,在局部淋巴结生长繁殖并形成感染灶,约 2~3 周后突破淋巴结屏障而侵入血液循环产生菌血症,表现出发热、乏力等感染中毒症状。进入血液循环的布鲁氏菌在肝、脾、骨髓、淋巴结等单核-吞噬细胞系统中形成新的感染灶,细菌繁殖再次入血,发热等症状再现,可在全身各脏器引起迁徙性病灶。布鲁氏菌在巨噬细胞内有特定的生存机制,通过阻断巨噬细胞凋亡、抑制 Th1 特异性免疫反应和抑制肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 的产生等免疫逃逸机制而受到保护,使病原体不易被清除^[5]。食用未经巴斯德消毒方法消毒的牛奶和奶酪,很容易感染布氏杆菌,接触反刍动物、畜肉的工人、兽医等为易感人群。

中医学认为,本病的基本病机是湿热之邪痹阻经脉、肌肉、关节,耗伤肝肾阴血,临床分为急性期、亚急性期、慢性期三期分型论治。

3 单细胞测序分析布氏菌病性关节炎的研究

近年来,单细胞测序技术在医学研究领域取得了显著进展,尤其是在感染性疾病的研究中显示出巨大的潜力。关节痛是布氏菌病患者常见的临床表现之一,严

重影响患者的生活质量。为了深入理解布氏菌病性关节炎的病理机制,研究人员利用单细胞测序技术对感染布氏菌的关节组织进行了详细的分析相关研究如下。

Wang Y, Yang S 等人的^[6]研究认为布鲁氏菌感染的全面免疫特征对于开发布鲁氏菌病的新治疗方法至关重要。本研究中,我们使用 35 例布病患者的 290369 个细胞进行了单细胞 RNA 测序,其中包括来自急性期、亚急性期和慢性期的 29 名布鲁氏菌病患者以及 6 名健康对照者。布鲁氏菌感染引起外周免疫细胞组成的显著变化,炎症是布鲁氏菌病的一个关键特征。急性患者的特征是由 S100A8/A9 的系统上调引起的潜在细胞因子风暴,主要是由于经典单核细胞。细胞因子风暴可能通过激活 S100A8/A9-TLR4-MyD88 信号通路介导。此外,单核细胞来源的骨髓抑制细胞可能是急性患者免疫失衡的原因。慢性期布病患者的特点是 Th1 反应失调,其特征是 IFN- γ 和 Th1 信号的表达减少以及高度衰竭状态。此外,布鲁氏菌感染具有抑制髓系细胞凋亡、抑制专业抗原呈递细胞和非专业 APC 抗原呈递以及诱导 CD8+T/NK 细胞衰竭的能力,随后潜在地导致慢性感染的建立。综上所述,我们的研究系统地解读了布鲁氏菌在感染不同阶段的协调免疫反应,这有助于全面了解布鲁氏菌病的免疫发病机制,并可能有助于开发新的有效治疗策略,特别是对慢性感染者。

易继海等人^[7]的项目拟以布鲁氏菌 2308 和布鲁氏菌 RB51 为材料,从 0、4、8、24 小时、24 小时和 24 小时以上三个方面,研究布鲁氏菌是通过何种机制调控 NF- κ B 的表达,从而影响其对炎性因子的调控。本课题将以布鲁氏菌为研究对象,研究布鲁氏菌强、弱毒力与其胞内存活之间的相关性。同时检测细胞因子 TNF- α , IL-1 β , IL-6 的表达量,并对胞内菌 CFU 进行计数,结果显示粗糙型牛布鲁氏菌 RB51 可以强烈激活 NF- κ B 信号通路,光滑型牛布鲁氏菌 2308 对其激活作用较弱;同时对 NF- κ B 信号通路的激活具有浓度依赖性,侵染时间为 8h 时光滑型牛布鲁氏菌 2308 和粗糙型牛布鲁氏菌 RB51 对我们前期研究发现 NF- κ B 在肝癌组织中高表达,且与炎症因子如 TNF- α , IL-1 β , IL-6 等有密切联系。NF- κ B 通路的抑制剂 BAY11-7082 对布鲁氏菌的生存至关重要, BAY11-7082 对其在胞内存存至关重要。

Ma H, Zhang N 等人^[8]单细胞测序技术能够对单个细胞内的基因表达进行高通量分析,从而揭示细胞间

的异质性。通过这种方法,研究人员可以详细地了解不同细胞类型在布氏菌病性关节炎中的作用。具体来说,单细胞测序技术可以帮助识别出在疾病过程中起关键作用的细胞亚群,揭示这些细胞在基因表达和信号传导方面的变化,从而为疾病的早期诊断和治疗提供新的思路。总之,单细胞测序技术在布氏菌病性关节炎的研究中具有广阔的应用前景。通过深入分析单个细胞的基因表达和功能,研究人员可以更好地理解疾病的病理机制,为

疾病的早期诊断和治疗提供科学依据

总之,单细胞测序技术在布氏菌病性关节炎的研究中显示出了巨大的应用潜力。通过揭示不同细胞群体在疾病中的作用,该技术有助于我们更深入地理解疾病的病理机制,并为开发新的治疗方法提供科学依据。未来,随着单细胞测序技术的不断发展和完善,其在感染性疾病研究中的应用前景将更加广阔。

结束语:

随着单细胞测序技术的不断发展和应用,研究者在揭示布氏菌病性关节炎的病理机制方面取得了显著进展。本文综述了近年来单细胞测序技术在布氏菌病性关节炎研究中的应用及其取得的成果,探讨了该技术在疾病诊断、治疗和预后评估中的潜力。通过对感染细胞的单细胞转录组分析,发现了一些关键的调控基因和信号通路,这些发现为理解布氏菌病性关节炎的发病机制提供了新的视角。单细胞测序技术在揭示免疫细胞在布氏菌病性关节炎中的作用方面也发挥了重要作用。通过单细胞RNA测序技术,详细分析了不同免疫细胞在感染过程中的动态变化,揭示了免疫细胞在疾病进展中的关键作用。这些发现不仅有助于理解疾病的免疫机制,还为开发新的免疫治疗策略提供了理论基础。

总之,单细胞测序技术在布氏菌病性关节炎的研究中取得了显著进展,为揭示疾病的分子机制、开发新的诊断和治疗方法提供了重要的科学依据。未来,随着单细胞测序技术的进一步完善和应用,相信在布氏菌病性关节炎的研究和临床应用中将取得更多的突破。

参考文献:

[1] 董燕,宋程程,黄鹤.单细胞测序技术研究进展

[J].化学工业与工程,2015,32(1):8.

[2] 阮浩宇,顾春荣,光明.单细胞测序技术在脑脊髓液细胞分析中的应用[J].中华检验医学杂志,2021,44(10):4.

[3] 谷文静,张磊.单细胞测序技术在血液系统恶性疾病克隆演变方面的研究进展[J].国际输血及血液学杂志,2018,41(5):6

[4] 杨帅,王新恒,吴佳乐,等.单细胞测序技术在乳腺癌中的研究进展[J].实用肿瘤学杂志,2023.

[5] 张丽丽."细菌学检验和血清学检验对布氏菌感染的诊断价值分析."中国实用医药 18.12(2023):102-104.doi:10.14163/j.cnki.11-5547/r.2023.12.029.

[6] Wang Y,Yang S,Han B ,et al.Single - cell Landscape Revealed Immune Characteristics Associated With Disease Phases in Brucellosis Patients[J].iMeta,

[7] 易继海,张俊波,李爽,等.NF- κ B 信号通路调控布鲁氏菌内存活分子机制的初步研究[J].中国畜牧兽医,2016,43(3):9.

[8] MaHaw,zhang N,liu J,et al. Pathological features of Brucella apodylits: A single-center study. AnnDiagnPathol,2022,58:151910.

课题:基于巨噬细胞与 NF-KB 信号通路的中药清热通络方治疗布鲁菌病性骨关节痛的临床及作用机制研究

作者简介:

白贺霞,女(1981.04-),汉族,新疆昌吉,博士研究生,主任医师,研究方向:布氏菌病的中医药防治

左明明,男(1986.09-),汉族,新疆昌吉,硕士研究生,副主任药师,研究方向:中药的研究

盘晓芳,女(1992.07-),汉族,新疆昌吉,硕士研究生,主治医师,研究方向:布氏菌病的中医药防治

韩璇雪,女(1993.03-),汉族,新疆昌吉,硕士研究生,主治医师,研究方向布氏菌病的中医药防治

通讯作者:王晓峰,女(1957.05-),汉族,新疆乌鲁木齐,主任医师,研究方向:心血管病的中医药防治