

## 基于单细胞 RNA 测序技术探讨胰腺癌异质性的研究进展

周聪雅<sup>1</sup>, 张帆<sup>2</sup>, 于娇<sup>1</sup>, 张高飞<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>陕西省人民医院放疗科 陕西西安

<sup>2</sup>陕西省人民医院肿瘤内科 陕西西安

**【摘要】**胰腺癌是致死率极高的恶性肿瘤，目前临床上针对胰腺癌的主要治疗手段为手术、放疗和化疗，由于其肿瘤异质性及肿瘤微环境（Tumor microenvironment, TME）异质性的存在，使得免疫治疗效果十分有限。传统的高通量测序存在无法揭示肿瘤异质性的局限性，而单细胞 RNA 测序（single-cell RNA sequencing, scRNA-seq）在单个细胞水平揭示同一肿瘤内不同细胞之间的变异程度与相互联系，达到从基因层面研究细胞之间变异程度的目的。其在探索肿瘤异质性、发现新的细胞亚群以及分析 TME 中细胞间相互作用关系方面具有很大优势。本研究就 scRNA-seq 在绘制胰腺癌图谱、挖掘胰腺癌肿瘤和 TME 异质性、鉴定关键细胞亚群以及提供新的治疗靶点等方面进行深入分析，scRNA-seq 鉴定 2 型导管细胞是胰腺癌的恶性细胞群，鉴定了 7 个肿瘤相关中性粒细胞（Tumor associated neutrophils, TANs）亚群，其中 TAN-1 为促肿瘤亚群，提出了靶向 CCL5/SDC1 轴可能对胰腺癌治疗有效；靶向 RIPK2 联合免疫治疗可能成为胰腺癌新型治疗策略，本研究旨在为胰腺癌 scRNA-seq 尝试开发研究提供理论参考。

**【关键词】**单细胞 RNA 测序；胰腺癌；肿瘤微环境；异质性；免疫治疗

**【基金项目】**陕西省自然科学基金项目(编号:2022JQ-923);陕西省科协青年人才托举项目(编号:20240341);陕西省人民医院孵化基金项目(编号:2023YJY-49)

**【收稿日期】**2025 年 7 月 22 日

**【出刊日期】**2025 年 8 月 28 日

**【DOI】**10.12208/ijcr.20250365

### Research progress on exploring the heterogeneity of pancreatic cancer based on single-cell RNA sequencing technology

Congya Zhou<sup>1</sup>, Fan Zhang<sup>2</sup>, Jiao Yu<sup>1</sup>, Gaofei Zhang<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Radiotherapy, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an, Shaanxi

<sup>2</sup>Oncology Department, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an, Shaanxi

**【Abstract】** Pancreatic cancer, a highly fatal malignant tumor, is currently treated through surgery, radiotherapy, and chemotherapy. The effectiveness of immunotherapy is limited due to the heterogeneity of the tumor and tumor microenvironment (TME). Traditional high-throughput sequencing fails to reveal tumor heterogeneity, while single-cell RNA sequencing (scRNA-seq) enables the study of genetic variation and interconnection between cells in the tumor. This technology has significant advantages in exploring tumor heterogeneity, identifying new cell subpopulations, and analyzing cell-cell interactions in the TME. This study provides an in-depth analysis of the role of scRNA-seq technology in mapping pancreatic cancer, exploring intratumoral and microenvironmental heterogeneity of tumor and TME, identifying key cell subclusters and providing new therapeutic targets. The study identified type 2 ductal cells as the malignant cell population in pancreatic cancer tissues and 7 tumor-associated neutrophil (TANs) subpopulations, among which TAN-1 is a tumor-promoting subpopulation. It was proposed that targeting the CCL5/SDC1 axis may be effective in the treatment of pancreatic cancer. Targeted RIPK2 combined with immunotherapy may become a new therapeutic strategy for pancreatic cancer. The findings aim to serve as a theoretical reference for further research on single-cell sequencing technology in pancreatic cancer.

\*通讯作者：张高飞

**【 Keywords 】** Single-cell RNA sequencing; Pancreatic cancer; Tumor microenvironment; Heterogeneity; Immunotherapy

胰腺癌是预后极差的恶性致死性肿瘤之一, 据 Siegel 等人 2025 年预测数据, 胰腺癌死亡率位于第 3 位<sup>[1]</sup>, 5 年生存率不足 5%, 预计到 2030 年将成为癌症死亡的第二大原因<sup>[2]</sup>。由于其缺乏早期诊断的可靠标志物、恶性程度高及放化疗耐药, 80-85% 的胰腺癌患者在诊断时已经出现转移, 丧失根治性手术切除的机会, 80% 的胰腺癌患者最终死于肿瘤转移<sup>[3]</sup>。目前临床上的主要治疗手段为手术、放疗、化疗和介入治疗<sup>[4-5]</sup>, 但治疗效果有限。与其它实体瘤不同, 由于其复杂的瘤内异质性以及肿瘤免疫抑制微环境的存在, 胰腺癌免疫治疗效果十分有限, 未来攻克胰腺癌免疫治疗的难点, 将为改善胰腺癌患者预后提供重要理论支持。

单细胞测序技术作为近年来新兴起来的测序技术, 主要有单细胞基因组测序 (single-cell DNA-sequencing, scDNA-seq)、单细胞 RNA 测序 (single-cell RNA sequencing, scRNA-seq)、转座酶可及染色质测序的单细胞分析 (single-cell assay for transposase-accessible chromatin sequencing, scATAC-seq) 以及单细胞 T 细胞受体测序 (single-cell T cell receptor sequencing, scTCR-seq) 等<sup>[6]</sup>。其中, scDNA-seq 是在利用单细胞测序技术在单细胞层面上分析其 DNA 信息的技术, 它能够提单细胞 DNA 信息, 解析遗传图谱<sup>[7]</sup>; scATAC-seq 通过能从表观遗传学角度来解析基因遗传信息<sup>[8]</sup>; scTCR-seq 在描述 T 细胞分化发育、绘制 T 细胞图谱中具有重要作用, 可以帮助我们理解 TCR 介导识别抗原特异性及免疫调节的机制<sup>[9]</sup>。由于目前研究及应用最广泛的是 scRNA-seq, 因此本文将重点阐述 scRNA-seq 技术及其在胰腺癌中的研究进展。相比传统的测序技术, scRNA-seq 测序能从单个细胞的水平揭示同一肿瘤内不同细胞之间的变异程度与相互联系, 达到从基因层面研究细胞之间变异程度的目的<sup>[10]</sup>。scRNA-seq 技术在探索肿瘤异质性、发现新的细胞亚群以及分析肿瘤微环境 (Tumor microenvironment, TME) 中细胞间相互作用关系方面具有很大优势, 目前在肿瘤、干细胞、微生物等多个研究领域被广泛应用。

### 1 scRNA-seq 技术概述

Tang 等人于 2009 首次报道了 scRNA-seq<sup>[11]</sup>, 一开始这项测序技术只能对不超过 100 个细胞进行研究, 随着高技术的快速发展, 目前已经可以对上万单个细胞的 RNA 信息进行解析。scRNA-seq 流程一般包括:

(1) 单细胞悬液制备; (2) 单细胞核酸扩增; (3) 测序文库制备; (4) 测序及数据分析。

#### 1.1 单细胞悬液制备

单细胞悬液制备是 scRNA-seq 的第一步, 也是最关键的一步。通常在获得肿瘤组织后先用不同的组织消化酶对组织进行消化, 以获得单细胞悬液, 之后通过微流控技术, 使每一个单独的细胞与唯一微珠结合, 随后通过油包裹, 形成独特的“油包水”的结构, 由于微珠中携带大量的唯一的细胞条形码和唯一分子标识符 (Unique molecular identifier, UMI), 可以用来标记不同的细胞和核酸。如此一来, 每一个细胞的每一个核酸就有了独特的标记。

#### 1.2 单细胞核酸扩增

由于单细胞中的 RNA 含量很低, 逆转录后无法直接进行后续建库测序, 需要扩增。在获得上述的细胞后, 通常先进行裂解, 以释放 mRNA, 在酶、dNTP、引物及缓冲液的作用下, mRNA 逆转录为 cDNA。目前常见的 DNA 扩增方法包括基于 PCR 的 DNA 片段扩增、基于位点置换扩增的 DNA 片段扩展以及基于多重退火环状循环扩增的 DNA 片段扩展。

#### 1.3 文库构建及测序分析

ScRNA-seq 文库构建包括以下几个步骤: (1) 用不同的酶对上述扩增的 cDNA 进行片段化; (2) 修复片段化的 DNA 并在其末端加入 A 核苷酸; (3) 将获得的样品纯化后测序。目前 scRNA-seq 有三种方法: 全长测序、5'端测序以及 3'端测序。5'端测序适用于低质量样本, 胰腺癌研究中常用 3'端测序以覆盖更多基因。scRNA-seq 分析过程大同小异, 主要涉及到质量控制、数据标准化及矫正、降维、差异表达及功能富集分析等。但由于 scRNA-seq 获得的是成千上万个单细胞 mRNA 的表达量, 对数据分析来说是强大的挑战, 耗时耗力, 需要专业的团队进行。

### 2 scRNA-seq 在胰腺癌研究中的应用

由于胰腺癌组织内细胞构成复杂, 存在高度异质性, 因此常规的二代测序会忽视细胞间的差异, 无法准确的揭示肿瘤组织里不同细胞的基因表达, 而 scRNA-seq 可以在单个细胞层面上揭示同一肿瘤内不同细胞之间的变异程度与相互联系, 达到从基因层面研究细胞之间变异程度的目的, 因此在多种肿瘤如乳腺癌、骨肉瘤、胆囊癌中被广泛研究<sup>[12-14]</sup>, 对胰腺癌的研究也在

不断深入, 本研究重点阐述 scRNA-seq 在揭示胰腺癌异质性方面的重要性, 总结 scRNA-seq 发现的胰腺癌组织中的细胞亚群如图 1 所示, 主要包括: 树突状细胞 (Dendritic Cells, DCs)、自然杀伤细胞 (Natural Killer Cells, NK cells)、调节性 T 细胞 (Regulatory T Cells, Tregs)、肿瘤相关巨噬细胞 (Tumor-associated macrophages, TAMs)、肿瘤相关中性粒细胞 (Tumor associated neutrophils, TANs)、炎症性肿瘤相关成纤维细胞 (Inflammatory tumor-associated fibroblasts, iCAFs)、肌纤维母细胞肿瘤相关成纤维细胞 (Myofibroblastic Tumor-Associated Fibroblasts, myFAFs) 和抗原呈递肿瘤相关成纤维细胞 (Antigen-Presenting Tumor-Associated Fibroblasts, apCAFs)。

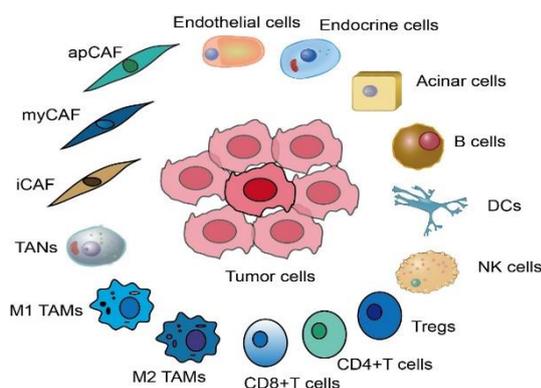


图 1 胰腺癌微环境中细胞亚群

DCs, 树突状细胞; NK cells, 自然杀伤细胞; Tregs, 调节性 T 细胞; TAMs, 肿瘤相关巨噬细胞; TANs, 肿瘤相关中性粒细胞; iCAF: 炎症性肿瘤相关成纤维细胞; myCAFs, 肌纤维母细胞肿瘤相关成纤维细胞; apCAFs, 抗原呈递肿瘤相关成纤维细胞。

### 2.1 揭示肿瘤异质性

肿瘤异质性是恶性肿瘤的特征之一, 是指肿瘤在生长过程中, 经过多次分裂增殖, 其子细胞呈现出分子生物学或基因方面的改变, 从而使肿瘤的生长速度、侵袭能力、对药物的敏感性、预后等各方面产生差异。传统的基因测序并不能深入到单细胞层面, 因此无法揭示肿瘤异质性并为肿瘤患者的个性化治疗提供依据。scRNA-seq 可以克服以上问题, 从单个细胞层面分析基因表达信息及调控网络, 揭示肿瘤异质性、指导肿瘤患者精准个体化治疗。Schlesinger 等人对不同发育阶段的胰腺癌小鼠模型进行 scRNA-seq, 发现胰腺癌腺泡细胞在小鼠胰腺癌形成的不同阶段存在异质性, 揭示了胰腺癌起源过程中的异质性<sup>[15]</sup>。研究者们还鉴定了从

早期上皮内瘤变到肿瘤晚期过程中胰腺癌的异质性, Peng 等人鉴定了胰腺癌组织中的 10 种细胞亚群, 通过 CNV 结合差异分析和功能富集, 鉴定 2 型导管细胞是胰腺癌组织的恶性细胞<sup>[16-17]</sup>。此外, Moncada 等人利用 scRNA-seq 联合空间转录组测序方式揭示了导管细胞、巨噬细胞、树突状细胞和胰腺癌细胞的亚群具有空间限制; 还发现胰腺癌细胞和应激相关的炎症成纤维细胞存在共定位, 表明胰腺癌 TME 中可能存在癌细胞和基质细胞的相互作用, 共同促进胰腺癌发生发展<sup>[18]</sup>。Fan 等人通过对 13 例胰腺癌患者的肿瘤细胞进行单细胞多组学测序, 发现异染色质失稳是胰腺癌发生过程的重要分子特征, 为胰腺导管腺癌的诊断和治疗提供了参考方案<sup>[19]</sup>。

除了对胰腺癌原发肿瘤研究, scRNA-seq 在胰腺癌转移中的应用也很普遍。Markov 等人筛选了胰腺癌异体移植小鼠模型中的循环肿瘤细胞 (Circulating tumor cells, CTCs), 进行了 scRNA-seq 后发现有关有丝分裂调控基因 BIRC5 在胰腺癌转移过程中明显上调, 抑制其表达可诱导胰腺癌死亡, 这一结果为筛选胰腺癌转移靶点奠定了一定的基础<sup>[20]</sup>。Makohon 等人对 4 例胰腺癌患者的 26 个转移组织进行了基因组测序, 发现胰腺癌驱动基因在原发组织和转移组织中出现了相同突变, 这一结果支持临床中对原发肿瘤和转移性肿瘤进行类似的靶向治疗<sup>[21]</sup>。Carstens 等人构建自发胰腺癌小鼠模型并进行 scRNA-seq, 发现相较于对照小鼠模型, 自发胰腺癌小鼠模型高表达基因富集的通路为免疫调节、代谢及上皮转移有关, 而上皮间质转化基因 Snail 与 Twist 是调节这些通路的关键节点; 表明了胰腺癌肝转移过程中上皮间质转化 (Epithelial to mesenchymal transition, EMT) 的异质性<sup>[22]</sup>。

### 2.2 揭示 TME 异质性

除了揭示肿瘤异质性, scRNA-seq 还可以揭示胰腺癌 TME 异质性。2021 年一项发表在《Cell》杂志上的研究发现: 改变胰腺癌的 TME 可以促使肿瘤细胞从一种状态转移到另一种状态, 这种转变可以影响药物敏感性<sup>[23]</sup>。基于 scRNA-seq 和微阵列的空间转录组分析, Xue 等人揭示了雪旺细胞群在胰腺癌 TME 中诱导肿瘤细胞和 CAFs 向更恶性亚型分化的事实, 通过对化疗前后的胰腺癌样本进行 scRNA-seq, 发现 TIGIT 是 CD8+T 细胞的主要抑制性检查点分子, 可能导致免疫治疗的耐药<sup>[24]</sup>。Elyada 等人采用 scRNA-seq 发现胰腺癌 TME 中存在 myCAFs、iCAFs 和 apCAFs。研究者们绘制了胰腺癌 TAN 细胞图谱, 鉴定了 7 个 TAN 亚

群: TAN-0、TAN-1、TAN-2、TAN-3、TAN-4、TAN-5 和 TAN-6, 其中 TAN-1 为促肿瘤亚群、并且揭示了 TANs 中高糖酵解活性与促肿瘤功能之间的关联, 证明了缺氧诱导和内质网应激诱导的 TAN-1 特征基因 BHLHE40 的激活是驱动 TANs 向促肿瘤表型发展的潜在机制<sup>[25]</sup>。Zhang 等研究人员用 scRNA-seq 分析了胰腺癌肝转移中的免疫抑制肿瘤微环境, 鉴定了胰腺癌肝转移组织中对促 TME 形成至关重要的基质细胞和免疫细胞的特定亚群, 包括 RGS5+CAF 亚群、CCL18+脂质相关巨噬细胞、S100A8+TANs 和 FOXP3+Tregs; 转移组织由于缺乏肿瘤-免疫细胞相互作用, 而有利于形成免疫抑制微环境<sup>[26]</sup>。Chen 等人鉴定了 8 个 T 细胞亚群, 发现胰腺癌肿瘤浸润 T 细胞 (Tumor Infiltrating Lymphocytes, TILs) 通过分泌趋化因子 CCL5 与癌细胞的 SDC1/4 配体-受体相互作用, 促进胰腺癌进展; 因此提出了靶向 CCL5/SDC1 轴可能是一种有效的胰腺癌治疗方法<sup>[27]</sup>。TME 在肿瘤发生发展、侵袭转移、免疫抑制等方面具有重要作用, CAFs 是 TME 中重要组成成分。Hutton 等人绘制了 18 个小鼠组织和 5 个自发肿瘤模型的间质组成, 揭示了正常组织和肿瘤间质的异质性, 并确定了胰腺癌 TME 中间充质细胞和免疫细胞亚群之间的协调关系。

研究者们利用单克隆抗体靶向 CD47 对人源性组织异种移植模型小鼠进行治疗, 采用 scRNA-seq 研究免疫治疗胰腺癌后 TME 的变化, 结果发现: CD47 表达与肿瘤浸润巨噬细胞的水平相关, 抗 CD47 免疫治疗可以重构胰腺癌的 TME, 不同胰腺癌细胞系建立的小鼠模型对联合抗 CD47 和抗 PD-L1 治疗效果不同, 这也证明不同的胰腺癌细胞系建立了不同的 TME 最终导致了免疫治疗效果的差异。为了探索胰腺癌免疫治疗靶点, Sang 等人通过体内 CRISPR 筛选, 确定 RIPK2 为胰腺癌免疫逃逸关键基因, scRNA-seq 发现抑制 RIPK2 可以破坏胰腺癌促纤维增生性 TME, 因此将靶向 RIPK2 与免疫治疗相结合, 可能成为胰腺癌患者潜在的新型治疗策略<sup>[28]</sup>。Zhou 等人利用原位移植瘤模型和 scRNA-seq 发现: 免疫治疗抵抗的肿瘤组织中耗竭 CD8+T 细胞和 M2 型 TAM 数量增多, 而免疫治疗响应的肿瘤组织中这两种细胞数量减少, 揭示了胰腺癌免疫治疗 TME 中 TAMs 的异质性。Fei 等人对消融处理后的小鼠胰腺癌组织 scRNA-seq 发现: 远处非消融处理肿瘤组织中效应性 T 细胞百分比升高, 而 Tregs、TAMs 和 TANs 等免疫抑制细胞百分比减少, 表明消融处理可以诱导远处非消融处理胰腺癌组织 TME

重塑, 这也为未来联合消融和免疫治疗提供依据。

Wang 等人通过分析胰腺癌原位肿瘤和肝转移肿瘤 scRNA-seq 发现: 胰腺癌肝转移 P2RX1-TANs (P2RX1 基因阴性的 TANs 细胞) 数量显著上升, P2RX1-TANs 高表达转录因子 Nrf2, 而 Nrf2 介导了 P2RX1-TANs 的 PD-L1 和 Arg1 等免疫抑制分子的表达, 免疫治疗可显著阻断 P2RX1-TANs 对肿瘤杀伤性 CD8+T 细胞的抑制作用。此研究揭示了 P2RX1-TANs 对胰腺癌肝转移免疫抑制微环境形成的调节作用, 为胰腺癌肝转移免疫治疗提供了新的思路和潜在靶标<sup>[29]</sup>。Lin 等人通过对 10 个胰腺癌组织和 6 个胰腺癌转移灶进行 scRNA-seq 后绘制了胰腺癌原发灶和转移灶的细胞图谱, 发现原发灶和转移灶中细胞成分的差异决定了不同的胰腺癌亚型, 并且与胰腺癌患者预后密切相关<sup>[30]</sup>。为了明确恒定自然杀伤 T 细胞 (Invariant natural killer T cells, iNKTs) 在胰腺癌肝转移中的作用, 研究者们采用 scRNA-seq 发现: 激活的 iNKTs 细胞通过增加 NK 和 T 细胞活力, 促进抗肿瘤效果。

### 3 结语与展望

近年来 scRNA-seq 在胰腺癌研究中取得了快速的进展, 其可以更精准的揭示胰腺癌内异质性、TME 异质性以及剖析不同细胞亚群的发育轨迹, 在胰腺癌发生发展、侵袭转移、放化疗耐药以及免疫治疗抵抗等研究方面发挥重要作用, 为未来胰腺癌患者个体化精准治疗提供了指导方向, 例如基于 scRNA-seq 发现的 RIPK2 靶点已在动物水平层面得到了阳性结果, 未来也期待进入临床试验; 基于 scRNA-seq 发现的 CCL5/SDC1 轴也在体外证明了 T 细胞可以通过 CCL5/SDC1 轴促进肿瘤细胞迁移, 靶向 CCL5/SDC1 轴可能是一种有效的胰腺癌治疗方法, 未来期待临床试验相关研究。有学者将其与空间转录组学结合, 揭示细胞的时空异质性, 能更深入的解析肿瘤。但是 scRNA-seq 仍有一定的局限性, 例如: 花费高、单细胞悬液制备困难、捕获分析的单细胞转录组无法反映肿瘤组织全貌等, 有极大的改进空间。未来可能将 scRNA-seq 和其它研究方法进行联合, 使我们更深入的了解胰腺癌的本质。

### 参考文献

- [1] Siegel RL, Kratzer TB, Giaquinto AN, et al. Cancer statistics, 2025 [J]. CA Cancer J Clin. 2025, 75(1):10-45.
- [2] Rahib L, Smith BD, Aizenberg R, et al. Projecting cancer

- incidence and deaths to 2030: the unexpected burden of thyroid, liver, and pancreas cancers in the United States [J]. *Cancer Res*, 2014, 74(11): 2913-2921.
- [3] Kolbeinsson HM, Chandana S, Wright GP, et al. Pancreatic Cancer: A Review of Current Treatment and Novel Therapies [J]. *J Invest Surg*, 2023, 36(1): 2129884.
- [4] Ansari D, Tingstedt B, Andersson B, et al. Pancreatic cancer: yesterday, today and tomorrow [J]. *Future Oncol*, 2016, 12(16): 1929-1946.
- [5] 王延磊,王政华. CT 引导下<sup>125</sup>I 粒子植入联合吉西他滨、卡培他滨治疗局部进展期胰腺癌临床疗效观察[J]. *陕西医学杂志*, 2020, 49(12): 1604-1607. Yanlei Wang, Zhenghua Wang. Clinical efficacy of CT-guided <sup>125</sup>I particle implantation combined with gemcitabine and capecitabine in treatment of locally advanced pancreatic cancer [J]. *Shaanxi Medical Journal*, 2020, 49(12): 1604-1607.
- [6] Zhang X, Marjani SL, Hu Z, et al. Single-Cell Sequencing for Precise Cancer Research: Progress and Prospects [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(6): 1305-1312.
- [7] Wang R, Lin DY, Jiang Y. SCOPE: A Normalization and Copy-Number Estimation Method for Single-Cell DNA Sequencing [J]. *Cell Syst*, 2020, 10(5): 445-452.
- [8] Shi P, Nie Y, Yang J, et al. Fundamental and practical approaches for single-cell ATAC-seq analysis [J]. *aBIOTECH*, 2022, 3(3): 212-223.
- [9] Nedwed AS, Helbich SS, Braband KL, et al. Using combined single-cell gene expression, TCR sequencing and cell surface protein barcoding to characterize and track CD4<sup>+</sup> T cell clones from murine tissues [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1241283.
- [10] Potter SS. Single-cell RNA sequencing for the study of development, physiology and disease [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2018, 14(8): 479-492.
- [11] Tang F, Barbacioru C, Wang Y, et al. mRNA-Seq whole-transcriptome analysis of a single cell [J]. *Nat Methods*, 2009, 6(5): 377-382.
- [12] Davis RT, Blake K, Ma D, et al. Transcriptional diversity and bioenergetic shift in human breast cancer metastasis revealed by single-cell RNA sequencing [J]. *Nat Cell Biol*, 2020, 22(3): 310-320.
- [13] Zhou Y, Yang D, Yang Q, et al. Single-cell RNA landscape of intratumoral heterogeneity and immunosuppressive microenvironment in advanced osteosarcoma [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 6322.
- [14] Wang J, Ren M, Yu J, et al. Single-cell RNA sequencing highlights the functional role of human endogenous retroviruses in gallbladder cancer [J]. *EBioMedicine*, 2022, 85: 104319.
- [15] Schlesinger Y, Yosefov-Levi O, Kolodkin-Gal D, et al. Single-cell transcriptomes of pancreatic preinvasive lesions and cancer reveal acinar metaplastic cells' heterogeneity [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 4516.
- [16] Bernard V, Semaan A, Huang J, et al. Single-Cell Transcriptomics of Pancreatic Cancer Precursors Demonstrates Epithelial and Microenvironmental Heterogeneity as an Early Event in Neoplastic Progression [J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(7): 2194-2205.
- [17] Peng J, Sun BF, Chen CY, et al. Single-cell RNA-seq highlights intra-tumoral heterogeneity and malignant progression in pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *Cell Res*, 2019, 29(9): 725-738.
- [18] Moncada R, Barkley D, Wagner F, et al. Integrating microarray-based spatial transcriptomics and single-cell RNA-seq reveals tissue architecture in pancreatic ductal adenocarcinomas [J]. *Nat Biotechnol*, 2020, 38(3): 333-342.
- [19] Fan X, Lu P, Wang H, et al. Integrated single-cell multiomics analysis reveals novel candidate markers for prognosis in human pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *Cell Discov*, 2022, 8(1): 13.
- [20] Dimitrov-Markov S, Perales-Patón J, Bockorny B, et al. Discovery of New Targets to Control Metastasis in Pancreatic Cancer by Single-cell Transcriptomics Analysis of Circulating Tumor Cells [J]. *Mol Cancer Ther*, 2020, 19(8): 1751-1760.
- [21] Makohon-Moore AP, Zhang M, Reiter JG, et al. Limited heterogeneity of known driver gene mutations among the metastases of individual patients with pancreatic cancer [J]. *Nat Genet*, 2017, 49(3): 358-366.
- [22] Carstens JL, Yang S, Correa de Sampaio P, et al. Stabilized

- epithelial phenotype of cancer cells in primary tumors leads to increased colonization of liver metastasis in pancreatic cancer [J]. *Cell Rep*, 2021, 35(2): 108990.
- [23] Raghavan S, Winter PS, Navia AW, et al. Microenvironment drives cell state, plasticity, and drug response in pancreatic cancer [J]. *Cell*, 2021, 184(25): 6119-6137.
- [24] Werba G, Weissinger D, Kawaler EA, et al. Single-cell RNA sequencing reveals the effects of chemotherapy on human pancreatic adenocarcinoma and its tumor microenvironment [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 797.
- [25] Wang L, Liu Y, Dai Y, et al. Single-cell RNA-seq analysis reveals BHLHE40-driven pro-tumour neutrophils with hyperactivated glycolysis in pancreatic tumour microenvironment [J]. *Gut*, 2023, 72(5): 958-971.
- [26] Zhang S, Fang W, Zhou S, et al. Single cell transcriptomic analyses implicate an immunosuppressive tumor microenvironment in pancreatic cancer liver metastasis [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 5123.
- [27] Chen K, Wang Y, Hou Y, et al. Single cell RNA-seq reveals the CCL5/SDC1 receptor-ligand interaction between T cells and tumor cells in pancreatic cancer [J]. *Cancer Lett*, 2022, 545: 215834.
- [28] Sang W, Zhou Y, Chen H, et al. Receptor-interacting protein kinase 2 is an immunotherapy target in pancreatic cancer [J]. *Cancer Discov*, 2024, 14(2):326-347.
- [29] Wang X, Hu LP, Qin WT, et al. Identification of a subset of immunosuppressive P2RX1-negative neutrophils in pancreatic cancer liver metastasis [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 174.
- [30] Lin W, Noel P, Borazanci EH, et al. Single-cell transcriptome analysis of tumor and stromal compartments of pancreatic ductal adenocarcinoma primary tumors and metastatic lesions [J]. *Genome Med*, 2020, 12(1): 80.

**版权声明:** ©2025 作者与开放获取期刊研究中心 (OAJRC) 所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。  
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



**OPEN ACCESS**