

单细胞测序技术下特发性肺纤维化中关键驱动细胞类型的发现

马铂源, 汪志斌, 芦秀丽*

(辽宁大学生命科学院, 沈阳 110036)

摘要: 特发性肺纤维化(idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)是一种进行性、致死性的间质性肺疾病,患者临床预后极差。纤维化肺组织的细胞组成具有高度异质性,且该异质性具有随疾病进展发生动态变化的特征。与此同时,肺部免疫微环境紊乱、细胞间相互作用异常,均在IPF的发生发展中发挥关键作用。IPF病理特征的高度复杂性,成为当前IPF临床治疗与药物研发面临的核心问题。近年来,单细胞RNA测序(single-cell RNA sequencing, scRNA-seq)技术已成为生命科学领域的重要研究工具之一。该技术能够在单细胞分辨率下实现组织细胞类型的精准分群与功能分析,系统揭示组织微环境中的细胞组成,为解析IPF复杂的细胞类群特征与病理微环境提供了高效的技术手段。本文通过系统梳理scRNA-seq技术在IPF研究领域的最新文献,重点阐述近年新发现的、在肺纤维化进展中发挥驱动作用的细胞亚群,同时补充介导纤维化微环境形成的免疫细胞、周细胞、内皮细胞和间皮细胞等非经典效应细胞参与纤维化进程的相关研究突破,明确上述各类细胞在IPF发生和发展中的功能特征与机制。本综述旨在为IPF病理机制的深度解析、疾病关键治疗靶点的筛选,以及后续基础研究向临床转化提供系统的科学依据与理论参考。

关键词: 单细胞RNA测序;特发性肺纤维化;细胞类型;细胞异质性

中图分类号: Q-33; R563

文献标识码: A

Discovery and identification of key driver cell types in idiopathic pulmonary fibrosis based on single-cell sequencing technology

MA Bo-Yuan, WANG Zhi-Bin, LU Xiu-Li*

(School of Life Sciences, Liaoning University, Shenyang 110036, China)

Abstract: Idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) is a chronic, progressive, and ultimately fatal fibrosing interstitial lung disease of unknown etiology, pathologically defined as usual interstitial lung disease, with a persistently dismal prognosis. Currently approved antifibrotic agents (nintedanib and pirfenidone) only attenuate disease progression rather than halt or reverse fibrotic remodeling, leaving a critical unmet clinical need for curative therapeutic targets and strategies. The formidable challenges in IPF research stem from the extraordinary complexity of its pathobiology: profound cellular heterogeneity in fibrotic lungs that undergo dynamic lineage reprogramming with disease progression, dysregulated immune microenvironment, and maladaptive intercellular crosstalk that drives the self-sustaining fibrogenic cascade. Unlike bulk RNA sequencing that masks cell-type-specific transcriptomic signatures, single-cell RNA sequencing (scRNA-seq) enables unbiased, high-resolution transcriptomic profiling of individual cells, offering an unparalleled tool to decode cellular heterogeneity and the complex tissue microenvironment in IPF. This review systematically synthesizes the cutting-edge breakthroughs of scRNA-seq in IPF research in recent years. We focus on elaborating newly identified, functionally non-redundant cell subpopulations that act as core drivers of IPF progression, including heterogeneous profibrotic myofibroblast subsets and aberrantly reprogrammed alveolar epithelial cell populations. Meanwhile, we summarize scRNA-seq-derived insights into immune microenvironment dysregulation, as well as the pathogenic roles of non-classical effector cells including pericytes, endothelial cells and mesothelial cells during fibrogenesis, with clarification of their lineage origin, functional characteristics and pathological mechanisms. Finally, we propose that scRNA-seq will continue to transform IPF research by identifying novel cell-type-specific therapeutic targets and

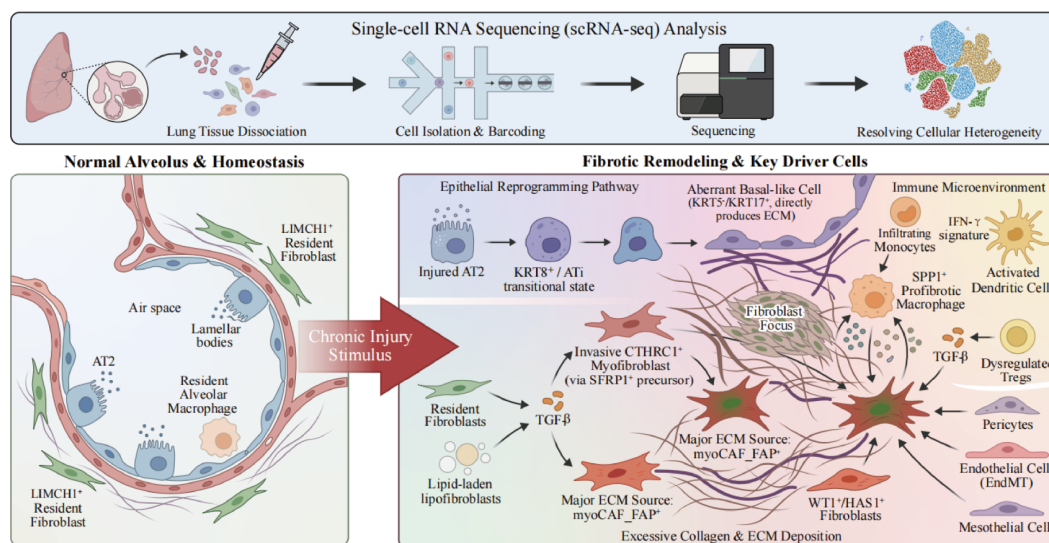
收稿日期: 2025-10-18; 修回日期: 2026-03-14

基金项目: 国家自然科学基金项目(82470798)

*通信作者: E-mail: luxiuli@lnu.edu.cn

predictive biomarkers. We further recommend that integrating scRNA-seq with spatial multi-omics and in vitro functional verification will be indispensable to translate these discoveries into clinical practice, ultimately accelerating the development of disease-modifying therapies for IPF.

scRNA-seq Reveals Key Driver Cells & Interactions in Idiopathic Pulmonary Fibrosis (IPF) Pathology.



Key words: single-cell RNA sequencing; idiopathic pulmonary fibrosis; cell types; cell heterogeneity

1 特发性肺纤维化的分子机制

特发性肺纤维化(idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)是一种进行性、致死性的慢性间质性肺部疾病,患者确诊后的中位生存期仅3~5年^[1]。IPF患者多伴随咳嗽、乏力、肌肉萎缩等躯体症状,同时常因消瘦、药物不良反应以及对不良预后的恐惧,伴发抑郁、焦虑等负性情绪;上述症状随疾病进展持续加重,最终导致患者运动耐量下降、生活质量显著降低^[2]。近年来,IPF的临床治疗取得了一定进展,吡非尼酮、尼达尼布等抗纤维化药物的临床应用,在一定程度上延缓了肺纤维化进程,改善了患者临床症状。但上述药物仅能延缓疾病进程,无法逆转已经形成的纤维化病变,患者的临床治疗手段仍十分有限^[3]。

截至目前,靶向治疗IPF的药物研发尚未取得突破性进展,肺移植仍是中晚期患者的主要治疗手段;但受供体短缺、治疗费用高昂、术后免疫排斥及并发症等诸多因素限制,大多数IPF患者无法从中获益。因此,深入阐明IPF发生发展的分子机制,是突破当前临床诊疗困境的关键。肺纤维化的病理本质是多分子、多通路、多细胞协同紊乱的复杂网络异常。在肺组织初始损伤后,肺泡上皮细胞释放损伤相关信号,募集并激活免疫细胞,促使其释放以转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)为核心的促炎、促纤维化细胞因子;上述信号进一步驱动成纤

维细胞异常活化与增殖、Ⅱ型肺泡上皮细胞(alveolar type II epithelial cells, AT2)发生上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT),同时引发细胞外基质(extracellular matrix, ECM)合成与降解失衡,叠加氧化应激、内质网应激介导的细胞损伤级联反应,最终导致肺间质瘢痕形成,造成纤维化病变的持续发展并难以逆转^[4]。IPF的病理特征为肺间质纤维性病灶的形成,其主要由异常增殖的成纤维细胞与肌成纤维细胞组成;而肌成纤维细胞作为纤维化进展的核心效应细胞,其确切来源尚未完全阐明^[5]。目前认为,纤维化肺组织内部的肌成纤维细胞由多种前体细胞转分化而来,正常肺组织中常驻的成纤维细胞大量活化并转分化为肌成纤维细胞,而肺泡上皮细胞也是肌成纤维细胞的重要来源之一。此外,内皮细胞、脂成纤维细胞、骨髓来源的细胞也能通过转分化过程参与肌成纤维细胞的生成^[6-8]。因此,精准解析肌成纤维细胞的来源,鉴定驱动IPF进展的关键细胞亚群,阐明病理微环境中的细胞间相互作用,对于深入揭示IPF的发病机制、开发新型预防与治疗策略具有重要的理论价值与临床指导意义。

2 单细胞RNA测序技术

单细胞RNA测序(single-cell RNA sequencing,

scRNA-seq)是一种具有高通量与单细胞分辨率的转录组测序技术。传统批量转录组测序(bulk RNA sequencing, bulk RNA-seq)将组织中的细胞群体视为均质样本,对组织匀浆中的全细胞混合物进行测序,最终仅能获得组织整体的平均基因表达谱,完全掩盖了细胞群体内单个细胞的基因表达异质性,无法区分不同细胞亚群的分子特征与功能差异^[9]。与之相比,scRNA-seq通过微流控、梯度稀释、荧光激活细胞分选等技术实现单细胞的精准分离与捕获,在单细胞分辨率下完成转录组的测序,获取单个细胞的mRNA表达水平;基于各细胞的基因表达特征,对大量测序数据进行无监督聚类分析,精准识别组织中未被注释的细胞亚群与稀有细胞群,从而高效挖掘在复杂疾病发生发展中发挥关键调控作用的核心细胞类型,系统解析病理微环境中细胞间的相互作用与调控网络。自2009年北京汤富酬团队首次实现小鼠卵裂球单细胞水平的转录组测序以来,一系列关键技术突破持续推动scRNA-seq技术的升级与发展^[10]:2012年,SMART-seq技术的问世实现了单细胞水平的全长转录本测序,突破了早期技术仅能检测转录本3'端mRNA的局限;2013年,SMART-seq2技术进一步优化了测序灵敏度、准确性与检测效率,成为低通量单细胞全长转录组研究的标准;2015年,Drop-seq与inDROP技术基于微流控液滴包裹体系实现了超高通量单细胞测序,大幅降低了单细胞测序的成本,推动该技术进入规模化应用阶段;2017年,10× Genomics商业化平台依托高稳定性的微流控单细胞分选系统与超高通量测序能力,进一

步提升了单细胞测序的效率与可重复性,成为目前全球应用最广泛的scRNA-seq技术平台^[11];2018年,CITE-seq技术实现了单细胞水平转录组与蛋白质表达谱的同步检测,打破了转录调控与蛋白质表型关联分析的壁垒;2019年,以Visium为代表的空间转录组技术通过原位捕获策略,完整保留了组织中细胞的空间位置信息,弥补了传统scRNA-seq丢失组织空间原位信息的短板;2022年,Stereo-seq等新一代空间转录组技术将空间分辨率提升至亚细胞水平,实现了组织原位微环境的超高精度解析;2023年,scGPT、Geneformer等单细胞大数据预训练模型的问世,推动单细胞研究范式从传统的数据统计分析向人工智能驱动的功能预测与机制挖掘转变;2024年,高分辨率空间蛋白质组学技术取得突破,实现了组织原位蛋白质功能调控网络的精准定量与系统解析;2025年,单细胞全长多组学技术(如scISOr-ATAC)与整合空间原位信息的深度学习模型日趋成熟,不仅极大深化了对可变剪接、表观遗传协同调控机制的认知,更为解析复杂疾病的病理演变轨迹、细胞异质性与药物响应特征提供了更精准的分析工具。截至目前,以scRNA-seq为核心的单细胞与空间多组学技术体系,已成为解析细胞异质性、揭示生命活动基本调控规律、阐明复杂疾病病理机制、推动基础医学研究向临床诊疗转化的重要工具(图1)。

3 单细胞RNA测序技术识别IPF中肌成纤维细胞及其亚群

已有大量的IPF病理机制相关研究证实,肺部的

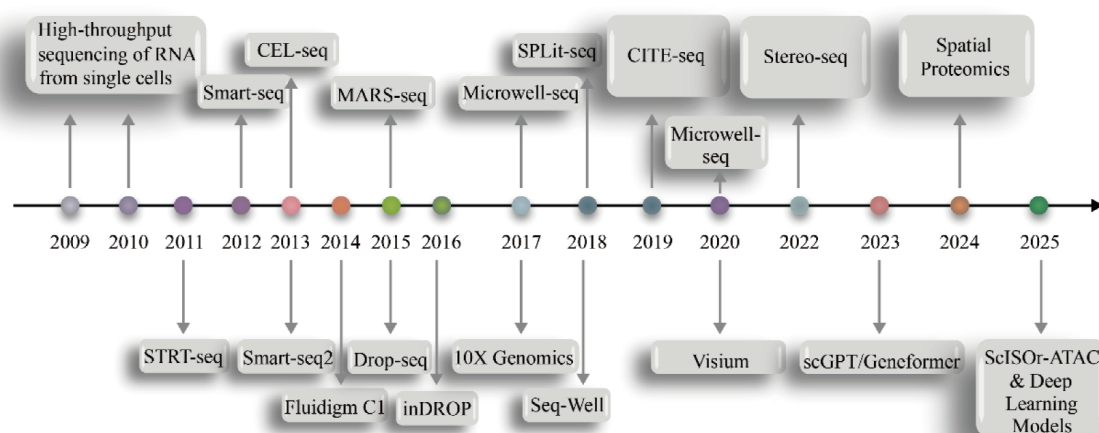


图1 单细胞RNA测序技术发展的时间轴

Figure 1 Timeline of the development of single-cell RNA sequencing technology

肌成纤维细胞是IPF发生发展的核心效应细胞,其异常活化是肺纤维化进展的标志性病理事件。异常活化的肌成纤维细胞大量分泌胶原蛋白,诱导细胞外基质(extracellular matrix, ECM)过度沉积,最终引发肺组织不可逆的瘢痕形成、肺泡结构破坏与功能丧失^[12,13];同时,肌成纤维细胞还会通过自分泌TGF- β 进一步放大促纤维化的级联反应,加速纤维化进程^[14]。尽管如此,IPF中介导纤维化进程的肌成纤维细胞亚群及其致病机制尚未完全阐明。Zhang等^[15]通过scRNA-seq技术将肺组织成纤维细胞鉴定为3个主要亚群:ICAF_CXCL12亚群、myoCAF_FAP亚群与LIMCH1⁺成纤维细胞亚群。其中,ICAF_CXCL12亚群高度表达IL6、IL33、CXCL12等炎症相关基因;myoCAF_FAP亚群高度表达肌成纤维细胞标志性基因ACTA2,是纤维化肺组织中ECM的主要来源;而高度表达黏附相关分子ITGAI的LIMCH1⁺成纤维细胞亚群,在IPF患者肺组织中的占比显著降低。单细胞拟时序轨迹分析证实,IPF患者肺组织中LIMCH1⁺成纤维细胞具有向myoCAF_FAP亚群和ICAF_CXCL12亚群分化的潜能,表明IPF病理进程中存在成纤维细胞向促炎、促纤维化亚群的表型转化。成纤维细胞亚群间的表型转换与病理性亚群的出现,是驱动肺纤维化进展的重要环节。另有研究证实,在成纤维细胞向致病性肌成纤维细胞转分化的过程中,存在一类SFRP1⁺中间态成纤维细胞群;空间转录组分析显示,该细胞群在肺纤维化早期定位于支气管周围、血管外膜及肺泡区域^[16]。该细胞类型本身不表达肌成纤维细胞标志性分子,不具备典型肌成纤维细胞的功能特征,但在TGF- β 等促纤维化信号刺激下,可转分化为高侵袭性CTHRC1⁺肌成纤维细胞。CTHRC1是一种分泌型细胞外基质糖蛋白,主要定位于上皮-间质界面,广泛参与胚胎发育、组织损伤修复、器官纤维化及肿瘤侵袭转移等多种生理病理过程。与此一致,Watanabe等^[17]整合scRNA-seq与空间转录组技术发现,WNT5A⁺CTHRC1⁺肌成纤维细胞定位于纤维化微环境中的成纤维细胞生态位,是驱动肺纤维化进展的关键细胞亚群。Liu等^[18]通过整合分析已发表的肺纤维化(包括IPF、硅肺)、系统性硬化症及新型冠状病毒感染患者的肺组织单细胞测序数据后发现,脂成纤维细胞与EBF1⁺成纤维细胞同样是纤维化肺组织中ECM沉积的重要来源,且二者均具有较强的收缩能力。此外,靶向促进肌

成纤维细胞向脂成纤维细胞重编程的药物能有效促进肺纤维化病变消退^[19]。这表明脂成纤维细胞在IPF病理进程的不同阶段发挥促纤维化或抗纤维化的双向作用。Lingampally等^[20]通过对比小鼠与人类肺纤维化进展与消退的病理过程发现,脂成纤维细胞标志性基因(LIMCH1、APOE)的表达缺失,可能是导致IPF纤维化病变不可逆的核心机制之一,这一结论与Zhang等^[15]发现的IPF肺组织中LIMCH1⁺成纤维细胞亚群占比显著降低的研究结果高度一致。现有功能研究证实,LIMCH1可通过蛋白质间相互作用调控细胞骨架组装,维持细胞形态与结构稳态,同时参与应力纤维的组装与稳定、促进黏着斑成熟,进而抑制细胞的迁移能力;其表达缺失会导致细胞骨架调控紊乱,增强细胞的可塑性与迁移侵袭能力,进而促进纤维化进展^[21]。除上述经典的成纤维细胞与肌成纤维细胞亚群外,scRNA-seq技术还鉴定出多个既往未被报道、同样在ECM沉积与纤维化进展中发挥重要作用的新型成纤维细胞亚群。Habermann等^[22]在IPF患者肺组织中,鉴定出一类高表达透明质酸合酶1(hyaluronan synthase 1, HAS1)的成纤维细胞亚群。该亚群几乎特异性地存在于纤维化肺组织中,定位于纤维化病变最严重的肺外周与胸膜下区域,其促纤维化功能与核因子- κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)信号通路的异常激活密切相关^[23]。Vemulapalli等^[24]利用scRNA-seq技术,在IPF患者肺组织远端纤维化病灶中,鉴定并验证了一个全新的、特异性富集的WT1⁺肌成纤维细胞亚群。WT1是一种多功能转录因子,广泛参与胚胎发育、细胞稳态维持与肿瘤发生等过程。功能富集分析显示,该亚群中促纤维化相关信号通路显著上调,其致病功能与ECM合成能力增强、异常细胞清除障碍相关。而Karki等^[25]的研究证实,WT1表达缺失可诱导间皮细胞向肌成纤维细胞转分化,表明WT1在不同细胞类型中发挥差异化的调控作用,进一步印证了IPF中肌成纤维细胞来源的多样性与分子机制的复杂性。

综上,scRNA-seq深化了对IPF病理进程中成纤维细胞异质性的认知,证实了肺纤维化的进展并非单一细胞类型的异常增殖,而是多种成纤维细胞亚群的动态演变、表型转换与功能重编程的结果。IPF中肌成纤维细胞具有来源广泛、表型与功能高度异质性的特征,而肺组织成纤维细胞从稳态表型向促

炎、促纤维化表型的轨迹偏移,正是驱动肺纤维化持续进展、病变不可逆的生物学基础。

4 单细胞RNA测序技术揭示上皮细胞在IPF中的作用

scRNA-seq相关研究证实,肺纤维化进程中存在肺泡上皮细胞数量显著减少、气道上皮细胞异常扩增的特征性改变^[26];同时,肺泡上皮细胞在纤维化病理微环境中展现出极强的可塑性,这种可塑性甚至突破了上皮与间充质细胞间的传统边界与功能壁垒^[27]。正常肺组织的肺泡区域主要包含两类上皮细胞:扁平状的I型肺泡上皮细胞(alveolar type I epithelial cells, AT1)与立方形的II型肺泡上皮细胞(alveolar type II epithelial cells, AT2)。其中,AT2细胞兼具肺泡上皮干细胞功能,是生理状态下肺泡上皮更新、损伤后修复的关键细胞。而在IPF患者的肺组织中,AT2细胞持续经历反复的异常损伤-修复循环,逐步发生表型重编程,最终获得促纤维化特性^[28,29]。Strunz等^[30]通过RNA velocity拟时序分析发现,小鼠肺组织在慢性损伤条件下,出现了一种Krt8⁺肺泡上皮细胞;该细胞群来源于活化的AT2细胞与气道上皮细胞,具备向AT1细胞分化的潜能,其分化进程严格受肺泡生态位的调控。Habermann等^[22]通过拟时序轨迹分析,证实了肺组织中存在过渡态的AT2细胞亚群,该亚群对应AT2细胞向AT1细胞分化过程中的中间状态。多项scRNA-seq数据分析均证实,IPF患者肺组织中存在大量未被注释的异常上皮细胞,这类细胞同时表达AT1、AT2细胞标志物,以及原本仅在气道上皮细胞中特异性表达的分子;这种异常的杂合表型表明,在慢性损伤微环境下,肺上皮细胞的正常分化程序发生严重紊乱^[31]。该结论与Adams等^[32]的研究发现高度一致。研究者通过对比IPF患者、慢性阻塞性肺疾病患者与健康人群的肺组织样本,在IPF患者肺组织中鉴定出一群异常基底样细胞,该细胞群定位于肌成纤维细胞病灶表面的上皮层,同时表达上皮细胞与基底细胞的分子标志物。此外,Habermann等^[22]在IPF肺组织中还鉴定出一群既往未被报道的分子特征为KRT5⁻/KRT17⁺的独特上皮细胞亚群;该上皮细胞表达多种胶原蛋白、N-钙黏蛋白及其他ECM组分,直接参与纤维化病变的进程。Adams等^[33]进一步发现了肺泡过渡中间态细胞(alveolar transition intermediate

cells, ATi),该细胞群构成了正常肺泡上皮细胞向异常基底样细胞转分化的中间状态。ATi细胞的发现为“IPF中异常基底样细胞来源于肺泡上皮细胞”的假说提供了直接的细胞证据。上述研究共同证实,IPF中的异常基底样细胞由肺泡上皮细胞转分化而来,并获得肌成纤维细胞的促纤维化功能,可能是直接驱动纤维化进展的关键效应上皮细胞;同时,这一发现也为IPF病理进程中EMT的存在提供了细胞学证据。此外,利用scRNA-seq技术还在IPF患者肺组织中鉴定出一群异常扩增的SCGB3A2⁺分泌细胞亚群。SCGB3A2通常被认为是气道上皮细胞的特异性标志物,但该细胞群并非正常的气道上皮细胞,而是同时表达NKX2-1、HOPX等肺泡上皮细胞特征基因,呈现出气道与肺泡上皮的共同特征。这一发现进一步证实,IPF病理微环境能够广泛激活肺上皮细胞的可塑性,最终导致多种异常上皮细胞表型的出现^[34]。

综上,上述研究充分证实,IPF肺组织中肺泡上皮细胞的正常损伤修复稳态被彻底打破。在慢性损伤微环境中,AT2细胞无法完成向AT1细胞的正常分化成熟,而是阻滞于以Krt8⁺细胞或ATi细胞为特征的过渡状态。这类分化受阻的过渡态上皮细胞展现出极强的可塑性,并发生异常转分化获得促纤维化表型;而这种广泛的上皮细胞重塑与正常分化程序的紊乱,正是驱动肺泡结构破坏、肺功能进行性丧失的病理基础。

5 单细胞RNA测序技术对免疫微环境的解析

scRNA-seq系统揭示了IPF肺组织免疫微环境的高度复杂性及变化特征。已有研究证实,IPF的病理免疫过程并非单纯的非特异性炎症反应,而是由多种高度特化的免疫细胞亚群通过复杂的细胞间相互作用共同驱动纤维化的发生发展过程。

scRNA-seq技术解析了IPF肺组织中免疫细胞的高度异质性。在生理状态下,肺组织巨噬细胞主要包含3个亚型:组织驻留型肺泡巨噬细胞、肺间质巨噬细胞,以及病理状态下募集的单核细胞来源间质巨噬细胞,各亚型在肺组织损伤修复与再生过程中发挥截然不同的调控作用^[35]。Wang等^[36]在博来霉素诱导的小鼠肺纤维化模型中,鉴定出一群具有促纤维化表型的单核细胞来源间质巨噬细胞亚群;细胞通讯分析证实,该巨噬细胞亚群与成纤维

细胞之间存在活跃的配体-受体互作,共同构成了促纤维化信号调控网络。Morse等^[37]通过scRNA-seq技术发现,*SPPI*⁺巨噬细胞在纤维化肺组织中显著增殖,且特异性地定位于异常活化的成纤维细胞灶周边区域;功能富集分析显示,该细胞群的基因表达谱高度富集创伤修复、ECM重塑相关通路,具备直接激活肌成纤维细胞的促纤维化功能。Zhang等^[15]通过单细胞拟时序轨迹分析进一步证实,具有促纤维化作用的*SPPI*⁺巨噬细胞由肺泡巨噬细胞转分化而来,揭示了IPF病理微环境可介导巨噬细胞发生表型重编程,进而获得促纤维化功能的机制。树突状细胞(dendritic cells, DC)在IPF患者肺组织中的数量也显著升高,且多处于高度活化状态;转录组分析显示,其基因表达谱显著富集抗原加工与呈递相关通路,同时表现出强烈的干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)应答特征^[38]。上述结果表明,DC在IPF病理进程中发挥关键调控作用,其可能通过呈递自身抗原或环境抗原,介导免疫反应的持续激活,进而驱动肺组织慢性炎症与纤维化进展。此外,IFN- γ 信号也被证实参与调控巨噬细胞的活化与表型重编程^[39],进一步导致促纤维化的级联反应。综上,IPF肺组织中并非巨噬细胞整体数量的增加,而是具有特定转录特征的促纤维化巨噬细胞亚群的特异性富集,这一特征证实纤维化病理微环境能够主动介导组织驻留或外周招募的巨噬细胞发生重编程,使其获得促纤维化表型。因此,靶向巨噬细胞特异性亚群及其促纤维化信号通路,可为IPF的新型治疗策略开发提供重要方向。在T淋巴细胞层面,scRNA-seq分析证实,IPF患者肺组织中存在3群显著富集的记忆T细胞亚群,分别为*CD4*⁺驻留记忆T细胞、*CD8*⁺驻留记忆T细胞与*CD8*⁺效应记忆T细胞,其转录组特征均显著富集IFN- γ 相关信号通路。调节性T细胞(regulatory T cells, Treg)在IPF中的调控作用高度复杂,且呈疾病阶段依赖性;scRNA-seq分析发现,以*FOXP3*为特异性标志物的*CD4*⁺T-*FOXP3*亚群(Treg细胞)在IPF肺组织中的比例发生显著改变^[38]。Unterman等^[40]整合IPF患者外周血与肺组织的scRNA-seq数据,并通过流式细胞术证实,疾病进展期IPF患者的外周血与肺组织中,Treg细胞比例均显著升高。尽管Treg细胞在生理状态下主要发挥免疫抑制功能,但在IPF的慢性炎症病理微环境中,其功能失调,甚至通过分泌TGF- β 等促纤维化细胞因子,

直接推动纤维化进展。此外,自然杀伤细胞(natural killer cells, NK)的功能在终末期IPF肺组织中严重受损,导致其对肺内衰老细胞的清除能力下降,进而阻碍纤维化病变的消退^[34]。

综上,scRNA-seq系统揭示了IPF肺组织中免疫细胞的异质性特征、动态演变与促纤维化表型的转变。在IPF的病理进程中,免疫系统并非单纯的炎症激活,而是通过特定的免疫细胞亚群深度参与纤维化的发生与发展;肺内固有免疫与适应性免疫细胞均发生了从生理状态下的免疫监视、损伤修复,向促纤维化表型的转换。这种免疫微环境的特异性病理重塑,不仅深化了对IPF病理机制的认知,更为开发靶向特定免疫细胞亚群、免疫调节通路的新型抗纤维化疗法提供了关键的理论依据与潜在靶点。

6 其他细胞及其相互作用在IPF中的作用

scRNA-seq不仅系统重构了IPF病理进程中成纤维细胞与肺泡上皮细胞的细胞图谱,更为解析纤维化微环境中其他非经典效应细胞的病理功能与调控机制提供了全新视角。

周细胞是包绕于毛细血管与小静脉内皮外侧的壁细胞,属于间充质细胞,是维持肺血管结构与功能稳态的重要细胞;同时,周细胞也是肺组织肌成纤维细胞的重要前体来源之一,组织损伤发生后,周细胞从血管壁解离,发生定向迁移与表型转分化^[41],这一过程被定义为周细胞-肌成纤维细胞转分化(pericyte-to-myofibroblast transition, PMT)。在传统认知中,周细胞主要通过PMT过程发挥促纤维化作用,然而Sato等^[42]的研究发现,一类高度表达 β III-微管蛋白的周细胞亚群在纤维化肺组织中特异性富集,该亚群可能发挥负向调控纤维化进展的抗纤维化功能,打破了周细胞仅介导促纤维化效应的固有认知。Klouda等^[43]以*HIGD1B*作为新型周细胞标志物,在肺组织中鉴定出两群功能截然不同的周细胞亚群,二者在肺血管重塑过程中发挥差异化的调控作用:I型周细胞主要参与维持毛细血管稳态,而II型周细胞特异性富集于小动脉血管壁,在缺氧微环境下同时高度表达平滑肌细胞标志物与波形蛋白,该发现为IPF继发性肺动脉高压的病理机制解析提供了重要理论依据。血管内皮细胞也被证实是纤维化肺组织中肌成纤维细胞的重要前体细胞,直接参与纤维化病变的进展^[44]。基质Gla蛋白(matrix Gla

protein, MGP)是骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)的内源性拮抗剂,基于人与小鼠肺组织的scRNA-seq联合研究证实,内皮细胞中MGP的特异性表达缺失,异常激活TGF- β 信号通路,进而诱导内皮细胞向肌成纤维细胞转分化,驱动肺组织进行性纤维化;这一病理过程被定义为内皮-间充质转化(endothelial-to-mesenchymal transition, EndMT)^[45]。胸膜间皮细胞是覆盖于肺脏胸膜表面的单层上皮细胞,长期以来被认为是抑制纤维化进展的机械屏障,而最新研究证据证实,间皮细胞是肺纤维化病理进程的主动参与者。间皮细胞具有极强的可塑性,在特定病理刺激下发生转分化,生成肌成纤维细胞等多种细胞类型^[46]。Safwen等^[47]基于小鼠肺损伤模型,通过单细胞拟时序轨迹分析证实,肺损伤发生后,胸膜间皮细胞发生一系列的表型状态转换,产生多种具有不同功能特征的间皮细胞亚群,且各细胞亚群间能够相互转化;该结果表明,间皮细胞在肺组织损伤与修复的不同阶段,通过转变功能表型响应肺部微环境的病理变化。

综上,scRNA-seq进一步拓展了IPF的病理细胞图谱,系统揭示了周细胞、血管内皮细胞与胸膜间皮细胞在纤维化微环境中的异质性特征与主动调控作用(表1)。上述非经典效应细胞均具有极强的可塑性,在病理损伤刺激下发生表型转换,不仅能够分化为多种功能各异的细胞亚群,还能通过转分化直接生成肌成纤维细胞,进而加速肺纤维化的发展进程。

7 展望

scRNA-seq在单细胞分辨率下对细胞异质性与动态转化的系统解析,推动了IPF精准治疗的发展。该技术推动IPF的治疗策略从非特异性的广泛抑制,向精准靶向致病性细胞亚群转变,通过定位驱动纤维化进展的核心细胞亚群,为高特异性抗纤维化药物的研发提供了明确靶点。这种对纤维化微观病理演变规律的深度解析,不仅为破解IPF患者临床表型与预后的个体差异提供了可能,更为推动IPF治疗从单纯的症状缓解向纤维化病变逆转的根

表 1 文章中涉及的单细胞RNA测序研究

Table 1 Single-cell RNA sequencing studies included in this review

作者及发表年份	样本量	研究发现
Xie等 ^[7] , 2018	3个IPF样本, 6个健康样本	揭示小鼠肺纤维化中不同成纤维细胞亚群的作用, 为人类IPF成纤维细胞研究提供动物模型参考
Zhang等 ^[15] , 2025	5个IPF样本, 5个健康样本	鉴定出三种成纤维细胞亚群并确定其相互关系: ICAF_CXCL12亚群、myo-CAF_FAP亚群和LIMCHI ⁺ 亚群
Mayr等 ^[16] , 2024	5个IPF样本, 5个健康样本	SFRP1调节TGF- β 诱导的成纤维细胞侵袭和RHOA通路活性; CTHRC1 ⁺ 肌成纤维细胞的发现
Watanabe等 ^[17] , 2025	数据来自多个公共数据集	WNT5A ⁺ CTHRC1 ⁺ 肌成纤维细胞的定位以及对疾病发展的作用
Liu等 ^[18] , 2023	数据来自多个公共数据集	脂成纤维细胞和EBF1 ⁺ 成纤维细胞也是ECM沉积的重要来源
Lingampally等 ^[20] , 2025	3个IPF样本, 1个健康样本	在幼年小鼠肺纤维化的发展和消退过程中, 脂成纤维细胞到CTHRC1 ⁺ 肌成纤维细胞的可逆转换
Habermann等 ^[22] , 2020	24个IPF样本, 10个健康样本	肺上皮细胞的直接促纤维化作用; AT2的分化轨迹; 发现高表达HAS1的成纤维细胞亚群
Vemulapalli等 ^[24] , 2025	18个IPF样本, 11个健康样本	发现WT1 ⁺ 肌成纤维细胞亚群, 该亚群的促纤维化通路被上调
Karki等 ^[25] , 2014	数据来自多个公共数据集	发现间皮细胞在损伤后会经历一系列动态的状态转变, 出现多种新的间皮细胞亚群
Xu等 ^[26] , 2016	6个IPF样本, 3个健康样本	补充上皮细胞异质性的影响, 为上皮细胞相关机制研究提供数据支持
Strunz等 ^[30] , 2020	26个IPF样本, 4个健康样本	发现了小鼠体内新型的Krt8 ⁺ 肺泡上皮细胞, 该细胞群具备向AT1细胞分化的潜能, 其分化进程严格受肺泡生态位调控
Adams等 ^[32] , 2020	45个IPF样本, 24个慢性阻塞性肺疾病样本, 38个健康样本	发现定位于肌成纤维细胞病灶表面、同时表达气道上皮细胞和肺泡上皮细胞标志物的异常基底样细胞
Morse等 ^[37] , 2019	3个IPF样本, 3个健康样本	发现高表达SPPI的巨噬细胞在纤维化组织中增殖显著增加, 具有激活肌成纤维细胞的作用
Unterman等 ^[40] , 2024	25个IPF样本, 13个健康样本	发现调节性T细胞的数量变化以及功能的复杂性
Klouda等 ^[43] , 2025	数据来自多个公共数据集	发现HIGD1B是周细胞的新标志物、两种不同的周细胞类型和周细胞对肺纤维化的进展贡献
Obacz等 ^[46] , 2024	8个健康样本	对人类胸膜进行分析, 发现间质异质性, 并为间皮瘤体外模型提供参考

本性突破提供了坚实的科学依据。例如,scRNA-seq已精准鉴定出 $CTHRC1^+$ 、 $WT1^+$ 肌成纤维细胞等在IPF中发挥关键作用的细胞亚群;靶向干预 $SFRP1^+$ 中间态成纤维细胞向 $CTHRC1^+$ 肌成纤维细胞的转分化过程,有望实现肺纤维化进展的早期阻断;而靶向抑制 $KRT5^-/KRT17^+$ 促纤维化上皮细胞的ECM合成与分泌功能,也有望成为全新的抗纤维化治疗策略。

长期以来,肺泡上皮细胞能否通过EMT直接转分化为肌成纤维细胞,一直是IPF病理机制领域的争议性问题^[48]。而scRNA-seq技术的相关发现为该争议提供了全新的实验证据:IPF肺组织中 $KRT5^-/KRT17^+$ 上皮细胞直接合成并分泌ECM组分的现象,证实AT2细胞在保留部分上皮细胞特征的同时,转分化为异常基底样细胞;这类异常细胞不仅能直接获得促纤维化功能,还能通过旁分泌效应构建促纤维化微环境,进而激活成纤维细胞。除EMT外,EndMT、间皮-间充质转化(mesothelial-to-mesenchymal transition, MMT)同样是肺纤维化进展中肌成纤维细胞的重要来源,共同参与纤维化病变的发生发展。此外,尽管IPF病理进程中免疫炎症反应的具体调控机制尚未完全阐明,但已有研究充分证实,免疫相关信号通路在肺纤维化进展中发挥关键调控作用^[49],该过程必然伴随免疫细胞数量、功能表型与细胞间相互作用的异常改变。而scRNA-seq技术可精准解析免疫细胞的上述病理变化,为靶向抑制介导促纤维化过程、维持慢性炎症微环境的特定免疫细胞亚群提供了精准靶点,有望大幅提升IPF治疗的靶向性与有效性。

目前,基于scRNA-seq的IPF相关研究多集中于解析异常细胞表型与IPF的关联性,而要明确病理性细胞亚群与IPF发生发展的因果关系,仍需借助体外细胞模型、体内动物模型、基因编辑等手段开展深入的功能验证研究。在临床诊疗层面,当前IPF的诊断仍高度依赖排除性诊断与影像学特征,待影像学出现典型异常时,患者的肺功能多已发生不可逆损伤;目前IPF仍缺乏可用于早期诊断、预后分层的特异性分子标志物。同时,肺泡上皮细胞的生理性损伤修复过程为何会转变为异常纤维化进程,其核心机制也尚未得到完全阐明。因此,将scRNA-seq与空间转录组、蛋白质组学、表观遗传学等多组学技术深度整合,筛选并验证用于IPF早期

诊断的特异性分子标志物,系统解析IPF病理微环境中复杂的细胞间相互作用与调控网络,全面阐明IPF的发病机制,将是未来IPF基础与转化研究领域最具潜力的发展方向。

参考文献

- [1] Lederer DJ, Martinez FJ. Idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med*, 2018, 378: 1811–23.
- [2] 邢燕, 林凯洵, 徐海红, 等. 特发性肺纤维化患者肺康复治疗现状及展望. *实用心脑血管病杂志*, 2025, 33: 1–6.
Xing Y, Lin KX, Xu HH, et al. Current status and prospect of pulmonary rehabilitation treatment in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Pract J Cardiac Cerebral Pneumal Vasc Dis*, 2025, 33: 1–6.
- [3] 郭友芳, 张薇, 冯明发, 等. 特发性肺纤维化治疗进展. *临床肺科杂志*, 2021, 26: 1591–4.
Guo YF, Zhang W, Feng MF, et al. Research progress in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis. *J Clin Pulm Med*, 2021, 26: 1591–4.
- [4] 王学, 任丽君, 张英为, 等. 细胞衰老参与特发性肺纤维化分子发病机制的最新研究进展. *医学研究生学报*, 2021, 34: 1335–9.
Wang X, Ren LJ, Zhang YW, et al. Latest research progress on the role of cellular senescence in the molecular pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis. *J Med Postgrad*, 2021, 34: 1335–9.
- [5] 吴剑. 肺成纤维细胞在肺纤维化进程中的作用. *世界最新医学信息文摘*, 2016, 16: 76.
Wu J. The role of pulmonary fibroblasts in the progression of pulmonary fibrosis. *World Latest Med Inf*, 2016, 16: 76.
- [6] 朱媚, 蒋小岗. 肺肌成纤维细胞转化的研究新进展. *中国药理学通报*, 2023, 39: 1–4.
Zhu M, Jiang XG. New research progress in the transformation of pulmonary myofibroblasts. *Chin Pharmacol Bull*, 2023, 39: 1–4.
- [7] Xie T, Wang Y, Deng N, et al. Single-cell deconvolution of fibroblast heterogeneity in mouse pulmonary fibrosis. *Cell Rep*, 2018, 22: 3625–40.
- [8] Liu X, Rowan SC, Liang J, et al. Categorization of lung mesenchymal cells in development and fibrosis. *iScience*, 2021, 24: 102551.
- [9] 郑彬, 金观桥. 单细胞转录组技术在鼻咽癌研究中的应用的进展. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2025, 39: 889–93.
Zheng B, Jin GQ. Research progress in the application of single-cell transcriptome technology in nasopharyngeal

- carcinoma. *J Clin Otorhinolaryngol Head Neck Surg*, 2025, 39: 889–93.
- [10] Tang F, Barbacioru C, Wang Y, et al. mRNA-seq whole-transcriptome analysis of a single cell. *Nat Methods*, 2009, 6: 377–82.
- [11] 晁珊珊, 卜鹏程. 单细胞转录组测序技术发展及应用. *中国细胞生物学学报*, 2019, 41: 834–40.
- Chao SS, Bu PC. Development and application of single-cell transcriptome sequencing technology. *Chin J Cell Biol*, 2019, 41: 834–40.
- [12] Henderson NC, Rieder F, Wynn TA. Fibrosis: from mechanisms to medicines. *Nature*, 2020, 587: 555–66.
- [13] 刘理静, 钱红, 王乐, 等. LncRNA GAS5通过吸附miR-21促进ADAMTS-1介导的肺成纤维细胞 I、III 型胶原降解. *中国药理学通报*, 2020, 36: 1449–55.
- Liu LJ, Qian H, Wang L, et al. LncRNA GAS5 promotes ADAMTS-1-mediated degradation of type I and type III collagen in pulmonary fibroblasts by sponging miR-21. *Chin Pharmacol Bull*, 2020, 36: 1449–55.
- [14] Mei Q, Liu Z, Zuo H, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis: an update on pathogenesis. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 797292.
- [15] Zhang T, Hou Z, Ding Z, et al. Single-cell RNA-seq identifies cell subpopulations contributing to idiopathic pulmonary fibrosis in humans. *J Cell Mol Med*, 2025, 29: e70402.
- [16] Mayr CH, Sengupta A, Asgharpour S, et al. Sfrp1 inhibits lung fibroblast invasion during transition to injury-induced myofibroblasts. *Eur Respir J*, 2024, 63: 2301326.
- [17] Watanabe N, Yoshida M, Hirano Y, et al. Integrated spatial and single-cell transcriptomics reveal PAK kinase as a therapeutic target in fibroblastic foci and dense fibrosis of IPF. *Eur Respir J*, 2025, 66: 2500022.
- [18] Liu X, Dai K, Zhang X, et al. Multiple fibroblast subtypes contribute to matrix deposition in pulmonary fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2023, 69: 45–56.
- [19] Panagiotidis GD, Vazquez-Pacheco E, Chu X, et al. Revisiting pulmonary fibrosis: inflammatory dynamics of the lipofibroblast-to-inflammatory lipofibroblast-to-activated myofibroblast reversible switch. *Front Immunol*, 2025, 16: 1609509.
- [20] Lingampally A, Truchi M, Mauduit O, et al. Evidence for a lipofibroblast-to-Cthrc1⁺ myofibroblast reversible switch during the development and resolution of lung fibrosis in young mice. *Eur Respir J*, 2025, 65: 2300482.
- [21] Lin YH, Zhen YY, Chien KY, et al. LIMCH1 regulates nonmuscle myosin-II activity and suppresses cell migration. *Mol Biol Cell*, 2017, 28: 1054–65.
- [22] Habermann AC, Gutierrez AJ, Bui LT, et al. Single-cell RNA sequencing reveals profibrotic roles of distinct epithelial and mesenchymal lineages in pulmonary fibrosis. *Sci Adv*, 2020, 6: eaba1972.
- [23] Sieber P, Schäfer A, Lieberherr R, et al. NF-κB drives epithelial-mesenchymal mechanisms of lung fibrosis in a translational lung cell model. *JCI Insight*, 2023, 8: e154719.
- [24] Vemulapalli C, Ediga HH, Singh P, et al. Unraveling fibroblast and lung cell heterogeneity in fibrotic lesions through single-nucleus RNA sequencing. *Am J Respir Crit Care Med*, 2025, 211: A4721.
- [25] Karki S, Surolia R, Hock TD, et al. Wilms' tumor 1 (Wt1) regulates pleural mesothelial cell plasticity and transition into myofibroblasts in idiopathic pulmonary fibrosis. *FASEB J*, 2014, 28: 1122–31.
- [26] Xu Y, Mizuno T, Sridharan A, et al. Single-cell RNA sequencing identifies diverse roles of epithelial cells in idiopathic pulmonary fibrosis. *JCI Insight*, 2016, 1: e90558.
- [27] 李国杰, 邓轶方, 刘珉宇. 肺泡 II 型上皮细胞在特发性肺纤维化过程中的变化. *世界临床药物*, 2024, 45: 1187–91.
- Li GJ, Deng YF, Liu MY. Changes of alveolar type II epithelial cells in the progression of idiopathic pulmonary fibrosis. *World Clin Drugs*, 2024, 45: 1187–91.
- [28] Xie T, Lynn H, Parks WC, et al. Abnormal respiratory progenitors in fibrotic lung injury. *Stem Cell Res Ther*, 2022, 13: 64.
- [29] Liu RM, Liu G. Cell senescence and fibrotic lung diseases. *Exp Gerontol*, 2020, 132: 110836.
- [30] Strunz M, Simon LM, Ansari M, et al. Alveolar regeneration through a Krt8⁺ transitional stem cell state that persists in human lung fibrosis. *Nat Commun*, 2020, 11: 3559.
- [31] Hill C, Jones MG, Davies DE, et al. Epithelial-mesenchymal transition contributes to pulmonary fibrosis via aberrant epithelial/fibroblastic cross-talk. *J Lung Health Dis*, 2019, 3: 31–5.
- [32] Adams TS, Schupp JC, Poli S, et al. Single-cell RNA-seq reveals ectopic and aberrant lung-resident cell populations in idiopathic pulmonary fibrosis. *Sci Adv*, 2020, 6: eaba1983.
- [33] Adams TS, Schupp JC, Balayev A, et al. Alveolar epithelial cell plasticity and injury memory in human pulmonary fibrosis. *bioRxiv*, 2025, doi:10.1101/2025.06.10.658504.
- [34] Cruz T, Agudelo Garcia PA, Chamucero-Millares JA, et

- al. End stage idiopathic pulmonary fibrosis lung microenvironment promotes impaired NK activity. *J Immunol*, 2023, 211: 1073–81.
- [35] 冉林玉, 李强, 王飞龙. 肺巨噬细胞在肺损伤修复和再生中的作用. *生物医学转化*, 2023, 4: 21–4.
- Ran LY, Li Q, Wang FL. The role of pulmonary macrophages in lung injury repair and regeneration. *Biomed Transform*, 2023, 4: 21–4.
- [36] Wang S, Li J, Wu C, et al. Single-cell RNA sequencing reveals monocyte-derived interstitial macrophages with a pro-fibrotic phenotype in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Int J Mol Sci*, 2024, 25: 11669.
- [37] Morse C, Tabib T, Sembrat J, et al. Proliferating SPP1/MERTK-expressing macrophages in idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J*, 2019, 54: 1802441.
- [38] Serezani APM, Pascoalino BD, Bazzano JMR, et al. Multiplexed single-cell analysis identifies immune cell types enhanced in pulmonary fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2022, 67: 50–60.
- [39] Gray PW, Goeddel DV. Structure of the human immune interferon gene. *Nature*, 1982, 298: 859–63.
- [40] Unterman A, Zhao AY, Neumark N, et al. Single-cell profiling reveals immune aberrations in progressive idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*, 2024, 210: 484–96.
- [41] 李诗媛, 周敏, 丁利军. 血管周围干细胞在组织纤维化和损伤修复中的作用. *中国细胞生物学学报*, 2023, 45: 1248–56.
- Li SY, Zhou M, Ding LJ. The role of perivascular stem cells in tissue fibrosis and injury repair. *Chin J Cell Biol*, 2023, 45: 1248–56.
- [42] Sato R, Imamura K, Tsukui T, et al. β -III tubulin identifies anti-fibrotic state of pericytes in pulmonary fibrosis. *bioRxiv*, 2025, doi:10.1101/2025.04.15.648984.
- [43] Klouda T, Kim Y, Baek SH, et al. Specialized pericyte subtypes in the pulmonary capillaries. *EMBO J*, 2025, 44: 1074–106.
- [44] Hashimoto N, Phan SH, Imaizumi K, et al. Endothelial-mesenchymal transition in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2010, 43: 161–72.
- [45] Wu X, Zhang D, Qiao X, et al. Regulating the cell shift of endothelial cell-like myofibroblasts in pulmonary fibrosis. *Eur Respir J*, 2023, 61: 2201799.
- [46] Obacz J, Valer JA, Nibhani R, et al. Single-cell transcriptomic analysis of human pleura reveals stromal heterogeneity and informs in vitro models of mesothelioma. *Eur Respir J*, 2024, 63: 2300143.
- [47] Safwen K, Fischer A, Mück-Häusl M, et al. A mesothelial differentiation gateway drives fibrosis. *Nat Commun*, 2025, 16: 8295.
- [48] 邓玲玲, 欧阳博书, 魏颖, 等. 上皮间质转化在特发性肺纤维化及其信号通路中的研究进展. *复旦学报(医学版)*, 2022, 49: 614–9, 627.
- Deng LL, Ouyang BS, Wei Y, et al. Research progress of epithelial-mesenchymal transition in idiopathic pulmonary fibrosis and its related signaling pathways. *J Fudan Univ Med Sci*, 2022, 49: 614–9, 627.
- [49] Deng L, Huang T, Zhang L. T cells in idiopathic pulmonary fibrosis: crucial but controversial. *Cell Death Discov*, 2023, 9: 62.