

单细胞测序在心肌梗死中的应用进展

苏昕宇¹ 顾逸淳² 李芃瑾² 沈浩然² 毛路³ 陈艾东^{2,4}

(1. 江苏大学京江学院, 江苏 镇江 212013; 2. 南京医科大学江苏省心血管病靶向干预研究国家级重点实验室, 江苏 南京 211166; 3. 东南大学附属中大医院, 江苏 南京 250012; 4. 杜伊斯堡-埃森大学神经生物学研究中心, 德国 埃森 45127)

【摘要】近年来,心血管疾病中由晚期动脉粥样硬化导致的心肌梗死(MI)成为全球主要的死亡原因之一。在MI中由于其细胞具有高度的异质性,目前在临床阶段一直无有效的靶向治疗策略。揭示单个细胞的基因结构和基因表达状态的单细胞测序技术正在各个领域飞速发展,并在MI的临床研究中逐渐被重视。现综述MI单细胞测序方法,并探讨MI细胞异质性、潜在的治疗靶点、心脏重构预后机制,有望为精准和靶向治疗提供依据。

【关键词】单细胞测序;心肌梗死;异质性;精准医学

【DOI】10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2024.06.009

Application of Single Cell Sequencing in Myocardial Infarction

SU Xinyu¹, GU Yichun², LI Pengjin², SHEN Haoran², MAO Lu³, CHEN Aidong^{2,4}

(1. Jingjiang College, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, Jiangsu, China; 2. Key Laboratory of Targeted Intervention of Cardiovascular Disease of Jiangsu Province, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, Jiangsu, China; 3. Zhongda Hospital Southeast University, Nanjing 250012, Jiangsu, China; 4. Neuroscience Institute, University of Duisburg Essen, Essen 45127, Germany)

【Abstract】In recent years, myocardial infarction (MI) caused by advanced atherosclerosis in cardiovascular diseases has become one of the major causes of death worldwide. Due to the high heterogeneity of its cells in MI, there has been no effective targeted therapy strategy in the clinical stage. Single cell sequencing technology, which aims to reveal the gene structure and expression status of individual cells, is rapidly developing in various fields and is gradually gaining attention in clinical research of MI. This article reviews the single cell sequencing methods of MI, and discusses the heterogeneity of MI cells, potential therapeutic targets, and the prognostic mechanism of cardiac remodeling, which is expected to provide a basis for precise and targeted treatment.

【Keywords】Single cell sequencing; Myocardial infarction; Heterogeneity; Precision medicine

目前心肌梗死(myocardial infarction, MI)在全球死亡原因中居于榜首,近年来,中国的发病率也在不断升高。此前,国际上对MI的临床研究都只局限在转录组测序,通过提取组织、器官或细胞研究mRNA的表达水平^[1]。为进一步提高治愈率,同时减少MI对于心脏的损害,优化预后效果,迫切需要一种新型技术,针对一种特定细胞的结构和功能详细探索,更加微观地研究和诊断MI发病的机制,由此来制定个体化的靶向治疗方案。

1 单细胞技术的概述

1.1 单细胞测序技术的起源

2009年,汤富酬教授^[2]对单个卵裂球和卵母细胞

的转录组进行测序,对单细胞测序(single cell sequencing, scRNA-seq)这一概念完成了首次诠释,创造了重大的技术突破。这项研究首次使用兼容的高通量RNA测序,为细胞测序开辟了新途径。

1.2 单细胞的分离和捕获

目前分离单细胞样品的方法主要包括有限稀释^[3]、显微操作^[4]、激光捕获显微切割(laser capture microdissection, LCM)^[5]、荧光激活细胞分选法^[3]和微流控技术^[3]。

有限稀释使用手动移液器或移液机器人来分离单个细胞,这种方法已经过时,因为它不能排除一些小细胞群。显微操作是通过结合显微镜和微量移液

器施加吸力,手动捕获单个细胞,但通过显微操作获得的细胞可能会遭受机械损伤。LCM 是当前一种先进的分离工具,样品在染色或者平衡后立即移动到 LCM 设备上去,以定向组织切片来切割单个细胞。该方法成功地保持了细胞形态和结构,并保留了空间位置信息。荧光激活细胞分选法通过在各种类型的流式细胞仪中细胞的特定表面分子,用荧光标签标记来对单个细胞进行分类。细胞流快速通过激光束以提供光激发,然后利用下游的光学检测器捕获具有特定信号的细胞。微流控技术在微观尺度上高通量控制流体,从而使庞大的群体分离出罕见的单细胞,具有精细的选择性和灵敏度^[6],但缺点是这种方法是固定芯片架构,将细胞的选择限制在一定尺寸的窗口内,局限性依旧存在^[7]。

1.3 单细胞的文库制备

scRNA-seq 的文库制备是 scRNA-seq 中最需攻关的难关,其中,最大的挑战是最大限度地减少 RNA 损失并提高信息精度^[2]。在将 RNA 转化为第一链互补脱氧核糖核酸(complementary DNA, cDNA)之后,所得的 cDNA 通过聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)或体外转录扩增。目前,有两种 PCR 扩增方法:一种是使用信号介导的核糖核酸扩增技术;另一种是将 cDNA 的 5' 末端与 poly(A) 或 poly(C) 连接起来,以在 PCR 中构建通用衔接子。而体外转录这种扩增方法和过程,需要对扩增的 RNA 进行额外一轮逆转录,这会导致额外的 3' 覆盖偏差。这两种方法都可能导致放大偏差。为了克服扩增相关偏差,引入了唯一分子标识符在逆转录步骤中对细胞内每个单独的 mRNA 分子进行条形码编码,从而提高 scRNA-seq 的定量性质并通过有效消除 PCR 扩增偏差来提高读取准确性。最终 PCR 产物的一条特殊链与特殊分子反向补体,并通过 DNA 连接酶与单链分子连接,获得单链环状 DNA 文库。

1.4 scRNA-seq 出现的一些固有方法学弊端及其局限性

scRNA-seq 出现的一些固有方法学弊端及其局限性表现在:第一,在 scRNA-seq 普及之路中,Adam 等^[8]发现,在 37 °C 下解离会引起细胞转录组的“人为变化”,导致结果不准确,其反应就是人工转录应激反应。该反应代表了在解离的过程中可能会诱导应激基因的表达,从而使细胞转录模式被人为改变,导致结果的不准确。为了解决该问题人们寻找到了更加精确的捕获方式,对单核 RNA 进行测序,但此法只能用于捕获和检测,可能无法对 mRNA 进行加工和各种生物学、工程学研究^[2]。scRNA-seq 的发展和应用依

旧任重而道远。第二,目前的 scRNA-seq 方法存在某些技术问题。传统的通量限制、确定适当细胞数量和测序深度的限制以及数据处理障碍是其重要的挑战。

MI 潜在发病机制实际上是冠状动脉粥样硬化。由此可知,将未来的研究建立在基于动脉粥样硬化模型的 MI 模型不失为一个可行的研究方向。同时,在目前的大多数研究中无法将高维转录组测序数据与蛋白质表达和成纤维细胞结构和功能测量相结合。即转录水平与蛋白质水平的相关性较差。未来仍需结合其他技术来更好地阐明健康和疾病状态的动态差异。

1.5 scRNA-seq 技术的前景

scRNA-seq 技术的发展为心血管疾病机制研究提供了新的视角。这种新技术已应用于人类发病机制的研究^[9]。现在,scRNA-seq 分析研究不仅可在单个细胞内使用分子信息,而且通过跨各种细胞和器官,具有允许在单个细胞水平上探索细胞信号传导的优势,从而鉴定潜在的新型细胞间通信^[10]。

scRNA-seq 技术与在细胞群水平上研究基因表达模式的批量 RNA 测序不同^[11],scRNA-seq 最显著的优势是能获得单个细胞的基因表达谱。它可以显示复杂和罕见的细胞群,揭示不同细胞类型之间的特异性差异。

研究一种细胞类型内的异质性,并发现传统的批量测序可能忽略的潜在的生物学过程是未来发展的前景。

2 MI 的概述

2.1 MI 的简要介绍

MI 是一种心血管疾病,是世界上主要的死亡原因之一^[12]。MI 是由于心脏长期缺血而引起的心肌永久性损伤,心脏缺血后可出现炎症、纤维化和左室功能障碍等病理状况。目前的手术方法足以增强心肌灌注,但无法逆转病理变化。

2.2 MI 后免疫细胞的作用及意义

心脏中主要的免疫细胞有巨噬细胞、树突状细胞、粒细胞、B 细胞、T 细胞以及自然杀伤细胞^[13]。在 MI 发生后,随着心肌细胞(cardiac muscle cell, CMC)死亡,梗死区域组织坏死,激活炎症反应。这些免疫细胞既可促进心肌凋亡和炎症的发生,又可促进受损心肌的再生。同时在 MI 后,心脏愈合所经历的三个重叠阶段(炎症、愈合和心脏重构)中,这些免疫细胞又会在不同的时段发挥不同的作用。但之后由于坏死的心肌炎症细胞被清除,形成肉芽组织,最终又转化为胶原瘢痕,虽然心脏可维持基本功能,但 MI 后不平衡或未解决的免疫反应会加重组织损伤,降低心脏

泵血功能,引发适应不良的心脏重构和心力衰竭的临床体征。因此,研究 MI 的免疫系统对于了解如何最好地平衡炎症过程以诱导修复同时防止过度心脏重构非常重要^[14]。

3 scRNA-seq 在 MI 中的应用

3.1 急性心肌梗死异质性的单细胞研究

在过去的几十年中,传统的分子生物学研究已经部分揭示了急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)的病理机制,但仍需进一步研究。Song 等^[15]使用 scRNA-seq 方法在单细胞水平上分析疾病异质性。基于 scRNA-seq 数据集,该实验确定了参与 AMI 进展的 5 个枢纽基因(*ATM*、*CARM1*、*CASP8*、*CASP3* 和 *PPARG*),也证明了 AMI 中细胞的异质性。

3.2 在 MI 后单细胞异质性方面的研究

细胞异质性是由周围微环境引起的细胞间转录组的适度变化,scRNA-seq 可有效地对其进行分析^[16]。

3.2.1 巨噬细胞的异质性

巨噬细胞的异质性对揭示 MI 的发病机制有重要意义。Bajpai 等^[17]最近在小鼠模型中通过闭塞冠状动脉左前降支诱导 MI 后 4 d,对分离的单核细胞和巨噬细胞进行了 scRNA-seq 分析。基于表达标志物的细胞聚类显示一组单核细胞和七组不同的巨噬细胞。发现组织驻留的 C-C 基序趋化因子受体 2(C-C chemokine receptor 2, CCR2)⁻和 CCR2⁺心脏巨噬细胞差异地协调单核细胞募集。这项实验证实了 MI 后心脏中巨噬细胞存在异质性。

通过这些细胞类型的配体和受体的单细胞表达水平,未来的研究可能有助于进一步阐明 MI 后参与炎症过程的细胞间的相互作用,推动未来配体相互作用的药物的开发,从而向精准医学领域迈进。

3.2.2 心外膜细胞和心肌成纤维细胞的异质性

2021 年, Hesse 等^[18]确定了 11 个转录方式不同的心外膜基质细胞(epicardial stromal cell, EpiSC)群体,并在 MI 后对其进行 scRNA-seq,解析了心外膜细胞的异质性。同时这种异质性与心肌成纤维细胞也相似。该研究把 EpiSC 群体分为 3 个不同的独立群体组,每个群体都包含一簇增殖细胞。I 组占受损心脏 EpiSC 部分的 26%,显示旁分泌因子分泌的一般特征,具有保护心脏的作用。II 组由 4 个细胞群组成,占 EpiSC 的 40%,主要表现了在先天免疫反应调节中的作用。同时 I 组和 II 组转录谱的细胞在 EpiSC 中通常普遍存在, I 组和 II 组也显示出最多的潜在配体-受体相互作用。而 III 组由 5 个细胞群组成,占有所有 EpiSC 的 34%,表现出成纤维细胞样表型,但显示预测的细

胞间相互作用数量最少,并表达较少数量的基因,表明细胞状态不太活跃。这些研究结果证明了,心外膜细胞和成纤维细胞的异质性是普遍存在的。MI 后伤口愈合、再生中的重要心外膜特性现在可归因于特定的细胞群。scRNA-seq 有助于破译单个心外膜细胞群相互作用以特异性刺激起源于心外膜的心脏修复过程的信号机制。

3.2.3 CMS 的异质性

Litviňuková 等^[19]在对 CMS 进行 scRNA-seq 后,确定了 5 种心室肌细胞(ventricular cardiomyocytes, vCM)(vCM₁ ~ vCM₅),其中 vCM₁ 占左心室 vCM 的 63.9%,占右心室 vCM 的 36.7%。vCM₂ 在右心室(39.9%)比左心室(9.1%)更富集。然而,vCM₁ 和 vCM₂ 之间的差异很小,表明左心室(富含 vCM₁)和右心室(富含 vCM₂)之间可能存在共享基因序列。在 vCM 中,vCM₂ 具有肌球蛋白基因肌球蛋白重链(myosin heavy chain, MYH)6 和钙黏蛋白 13 的最高表达。vCM₃ 和 vCM₄ 存在于所有心室区域。vCM₃ 转录谱类似于具有视黄酸响应性 SMC 基因富集(*MYH3*、*NEXN* 和 *CNN9*)的突出右心房群体。vCM₃ 还表达应激反应基因。vCM₅ (约 1%)由具有高水平 *DLC1* 和 *EBF2* 的细胞组成,调节棕色脂肪细胞分化和心脏起搏器活性,以及在神经元谱系(*SOX5*、*EBF1* 和 *KCNAB1*)中鉴定的转录本,还可能参与电生理学。该试验证明了 CMS 的异质性。

这些实验研究,在 MI 的发生和发展中起到了重要作用,为将来深入研究其发病和发展机制提供了理论依据。

3.3 单细胞在 MI 的临床诊断关键基因和药物靶点方面的研究

最近 scRNA-seq 的发展使探索单个细胞多样性不再是遥不可及的梦想^[7]。其重新定义了心脏细胞亚群。这些发现正在改变对细胞组成的理解,并可能有助于确定各种心脏病的潜在治疗靶点。

AMI 可发生于动脉粥样硬化性疾病患者,伴或不伴斑块破裂^[20]。目前,介导炎症斑块破裂的特定循环免疫细胞亚群仍然难以捉摸。Qian 等^[20]在症状发作后 6 h 内连续收集斑块纤维帽破裂和非斑块纤维帽破裂患者在冠状动脉造影前的外周动脉血样,运用 scRNA-seq,显示注释了 82 550 个细胞。基因表达的无监督组织显示 27 个簇和 6 种细胞类型,T 细胞(28 195, 34.16%)构成了 AMI 患者免疫细胞的主要群体,其次是单核细胞(24 910, 30.18%)、自然杀伤细胞(21 348, 25.86%)、B 细胞(6 383, 7.73%)、巨核细胞(1 379, 1.67%)和 CD34 细胞(335, 0.40%)。经典和非经典单核细胞构成主要的炎症细胞类型,*CCL5*、

TLR7 和 *CX3CR1* 等促炎基因在斑块破裂患者中显著上调,而中性粒细胞活化和脱颗粒基因 *FPR2*、*MMP9* 和 *CLEC4D* 在无斑块破裂患者的中间单核细胞中显著表达。

Qian 等^[20]还发现 CD4 效应 T 细胞可能通过产生一系列细胞因子和炎症相关趋化因子来促进斑块破裂,而 CD8 效应 T 细胞在无斑块破裂的患者中表达更多的效应分子,如颗粒酶 B、颗粒裂解肽和穿孔蛋白 1,这可能有助于斑块侵蚀的进展。此外,自然杀伤细胞和 B 细胞在激活炎症细胞和促进斑块破裂中趋化因子产生方面发挥了重要作用,细胞-细胞通信阐述了斑块破裂患者中由经典单核细胞的炎症激活主导的信号通路的特征。该研究表明,斑块破裂患者的循环免疫细胞表现出高度促炎的特征,而斑块侵蚀主要与中间单核细胞扩增、中性粒细胞活化和脱颗粒有关。这些发现可能为 AMI 患者的精确治疗提供新的靶点。

3.4 单细胞在 MI 的心脏重构、修复与保护方面的研究

心血管疾病是全球死亡的主要原因。由于心脏的再生能力有限,MI 等缺血事件导致 CMS 的永久性丧失和瘢痕组织的替代,最终可能导致心力衰竭。心脏修复主要包括由炎症反应到增殖反应的全过程^[21],前者是由不同种类的促炎白细胞和分子在心肌坏死刺激下引起,而后者则是由抗炎细胞、细胞因子和成纤维细胞引起。在 MI 后,心脏重构程度取决于炎症以及随后的心肌纤维化的个体化强度的平衡。所以尽管目前的技术可以通过供血重建来挽救心肌,但缺血再灌注的过程会造成心肌的损伤。Pezhouman 等^[21]运用 scRNA-seq 技术,在转录水平上获得第一生心区(first heart field, FHF)和第二生心区(second heart field, SHF)样本 CMS 之间的差异表达基因,同时通过区分双报告基因人胚胎干细胞系来报告 FHF 和 SHF 样 CMS 的分离,以揭示 *TBX5* 的关键作用及其对心脏成熟的下游影响。这些影响包括增加关键肉瘤结构基因的表达以及钙处理机制。该研究表明,FHF CMS 可能是更适合心脏再生的候选者。虽然代谢差异可能归因于 *TBX5* 表达,但研究并未显示这两个人群之间的差异。这些发现为进一步研究 *TBX5* 表达的调节作为调节体外心脏成熟的潜在方法铺平了道路,可作为更深入地了解心脏成熟过程以及开发更有效的心脏再生疗法的平台。

3.5 单细胞在 MI 的改善与预后方面的研究

2022 年 Zhou 等^[22]发现,以前的研究大多从不同状态的组织(如原发性和正常组织)中鉴定出具有高和低免疫浸润的疾病标志物,导致大家通常忽略了不

同细胞亚群之间的差异。他们认为组织病理学是 MI 的主要分子特征。于是在此前提下,他们采用 scRNA-seq 筛选 MI 相关分子生物标志物。该实验获得了 8 个细胞亚群,每个亚群都有不同的标记基因(例如, *TAGLN*、*MYL9*、*ACTA2*、*TPM2*、*RGS5*、*HIGD18B*、*NDUFA4L2*、*COX4I2* 和 *GJA4* 由亚群 2 和 3 共享;此外,亚群 2 特异性表达 *MYH11* 和钙调钙素 1;而亚群 3 特异性表达钙黏蛋白 5 和环六亚甲基二乙酰胺诱导蛋白 1)。基因在细胞簇中的表达量和比例存在差异,揭示了 MI 的免疫特征,并在单细胞水平上确定了 7 个 MI 的预后标志物, *SH3BP4* 与幼稚 B 细胞和活化的 CD43 记忆 T 细胞呈显著正相关, *SLC3A4* 与 $\gamma\delta$ T 细胞和 CD1 记忆性 T 细胞呈显著正相关, *LDOC2* 和 *PCBD4* 与活化的 CD4 记忆性 T 细胞显著正相关, *PCBD3* 与 $\gamma\delta$ T 细胞呈显著正相关,以及 3 个在 AMI 中表达的基因,这些为 MI 的分子特征和机制提供了新的认识。

4 展望

scRNA-seq 是一项真正革命性的技术,它极大地扩展了对各种生物体细胞中转录组的异质性和动力学的理解。综上所述,在 MI 中,首先,通过这种高分辨率的研究单个细胞的技术带我们了解了一些细胞前所未有的异质性,这可能将为临床设计个体化的医疗策略提供理论依据;其次,研究 MI 发生和发展过程中的动态细胞变化,未来则可能揭示新的诊断生物标志物以及识别可能被传统分析方法掩盖的新型治疗靶点;最后,scRNA-seq 的应用涉及了 MI 蛋白质组学和预后方面的研究,希望有助于追踪疾病的遗传起源以及对疾病表型进行分类,以促进精准医学的发展。总的来说,scRNA-seq 技术将极大地扩展我们在心脏细胞异质性、MI 发病机制和微环境相互作用方面的知识,并最终为心血管疾病的精准医疗奠定关键基础。

参考文献

- [1] 朱彬彬,刘亚慧,齐大屯,等.单细胞测序和空间转录组学在心血管疾病研究中的进展[J].中国心血管病研究,2022,20(6):497-502.
- [2] Jovic D, Liang X, Zeng H, et al. Single-cell RNA sequencing technologies and applications: a brief overview[J]. Clin Transl Med, 2022, 12(3): e694.
- [3] Pensold D, Zimmer-Bensch G. Methods for single-cell isolation and preparation[J]. Adv Exp Med Biol, 2020, 1255: 7-27.
- [4] Malter HE. Micromanipulation in assisted reproductive technology[J]. Reprod Biomed Online, 2016, 32(4): 339-347.
- [5] Datta S, Malhotra L, Dickerson R, et al. Laser capture microdissection: big data from small samples[J]. Histol Histopathol, 2015, 30(11): 1255-1269.
- [6] Reece A, Xia B, Jiang Z, et al. Microfluidic techniques for high throughput single cell analysis[J]. Curr Opin Biotechnol, 2016, 40: 90-96.
- [7] Li L, Wang M, Ma Q, et al. Progress of single-cell RNA sequencing technology in myocardial infarction research[J]. Front Cardiovasc Med, 2022, 9: 768834.

(下转第 524 页)

- [36] Sieira J, Conte G, Ciconte G, et al. A score model to predict risk of events in patients with Brugada syndrome[J]. *Eur Heart J*, 2017, 38(22):1756-1763.
- [37] Eckardt L. [Brugada syndrome: risk stratification and prevention of sudden cardiac death][J]. *Herzschrittmacherther Elektrophysiol*, 2020, 31(1):39-47.
- [38] Giustetto C, Cerrato N, Gribaudo E, et al. Atrial fibrillation in a large population with Brugada electrocardiographic pattern: prevalence, management, and correlation with prognosis[J]. *Heart Rhythm*, 2014, 11(2):259-265.
- [39] Al-Azaam B, Darbar D. Atrial fibrillation in inherited channelopathies[J]. *Card Electrophysiol Clin*, 2021, 13(1):155-163.
- [40] Bayrak F, Brugada P. Recent status in Brugada syndrome[J]. *Turk Kardiyol Dern Ars*, 2022, 50(2):137-144.
- [41] Kusano KF, Taniyama M, Nakamura K, et al. Atrial fibrillation in patients with Brugada syndrome relationships of gene mutation, electrophysiology, and clinical backgrounds[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2008, 51(12):1169-1175.
- [42] Iop L, Illiceto S, Civieri G, et al. Inherited and acquired rhythm disturbances in sick sinus syndrome, Brugada syndrome, and atrial fibrillation: lessons from preclinical modeling[J]. *Cells*, 2021, 10(11):3175.
- [43] Brugada J, Brugada R, Brugada P. Determinants of sudden cardiac death in individuals with the electrocardiographic pattern of Brugada syndrome and no previous cardiac arrest[J]. *Circulation*, 2003, 108(25):3092-3096.
- [44] Sroubek J, Probst V, Mazzanti A, et al. Programmed ventricular stimulation for risk stratification in the Brugada syndrome: a pooled analysis[J]. *Circulation*, 2016, 133(7):622-630.
- [45] Lee S, Zhou J, Chung CT, et al. Comparing the performance of published risk scores in Brugada syndrome: a multi-center cohort study[J]. *Curr Probl Cardiol*, 2022, 47(12):101381.
- [46] Wei HT, Liu W, Ma YR, et al. Performance of multiparametric models in patients with Brugada syndrome: a systematic review and meta-analysis[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2022, 9:859771.

收稿日期:2023-08-10

(上接第 518 页)

- [8] Adam M, Potter AS, Potter SS. Psychrophilic proteases dramatically reduce single-cell RNA-seq artifacts: a molecular atlas of kidney development[J]. *Development*, 2017, 144(19):3625-3632.
- [9] van den Brink SC, Sage F, Vértessy Á, et al. Single-cell sequencing reveals dissociation-induced gene expression in tissue subpopulations[J]. *Nat Methods*, 2017, 14(10):935-936.
- [10] Chen Z, Xu H, Li Y, et al. Single-cell RNA sequencing reveals immune cell dynamics and local intercellular communication in acute murine cardiac allograft rejection[J]. *Theranostics*, 2022, 12(14):6242-6257.
- [11] Gladka MM. Single-cell RNA sequencing of the adult mammalian heart-state-of-the-art and future perspectives[J]. *Curr Heart Fail Rep*, 2021, 18(2):64-70.
- [12] Tariq U, Gupta M, Pathak S, et al. Role of biomaterials in cardiac repair and regeneration: therapeutic intervention for myocardial infarction[J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2022, 8(8):3271-3298.
- [13] Steffens S, Nahrendorf M, Madonna R. Immune cells in cardiac homeostasis and disease: emerging insights from novel technologies[J]. *Eur Heart J*, 2022, 43(16):1533-1541.
- [14] van Blokland IV, Groot HE, Franke LH, et al. Translational insights from single-cell technologies across the cardiovascular disease continuum[J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2022, 32(3):127-135.
- [15] Song Z, Gao P, Zhong X, et al. Identification of five hub genes based on single-cell RNA sequencing data and network pharmacology in patients with acute myocardial infarction[J]. *Front Public Health*, 2022, 10:894129.
- [16] Skelly DA, Squiers GT, McLellan MA, et al. Single-cell transcriptional profiling reveals cellular diversity and intercommunication in the mouse heart[J]. *Cell Rep*, 2018, 22(3):600-610.
- [17] Bajpai G, Bredemeyer A, Li W, et al. Tissue resident CCR2⁻ and CCR2⁺ cardiac macrophages differentially orchestrate monocyte recruitment and fate specification following myocardial injury[J]. *Circ Res*, 2019, 124(2):263-278.
- [18] Hesse J, Owenier C, Lautwein T, et al. Single-cell transcriptomics defines heterogeneity of epicardial cells and fibroblasts within the infarcted murine heart[J]. *Elife*, 2021, 10:e65921.
- [19] Litviňuková M, Talavera-López C, Maatz H, et al. Cells of the adult human heart[J]. *Nature*, 2020, 588(7838):466-472.
- [20] Qian J, Gao Y, Lai Y, et al. Single-cell RNA sequencing of peripheral blood mononuclear cells from acute myocardial infarction[J]. *Front Immunol*, 2022, 13:908815.
- [21] Pezhouman A, Nguyen NB, Serce AJ, et al. Transcriptional, electrophysiological, and metabolic characterizations of hESC-derived first and second heart fields demonstrate a potential role of TBX5 in cardiomyocyte maturation[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9:787684.
- [22] Zhou J, Wen T, Li Q, et al. Single-cell sequencing revealed pivotal genes related to prognosis of myocardial infarction patients[J]. *Comput Math Methods Med*, 2022, 2022:6534126.

收稿日期:2023-08-29