中国科学: 生命科学 2026 年 第 56 卷 第 10 期: 2394 ~ 2417
SCIENTIA SINICA Vitae lifecn.scichina.com
《中国科学》杂志社 SCIENCE CHINA PRESS
评 述

单细胞组学测序在弥漫性脑胶质瘤的研究进展

黄伟城[1,2,3†], 肖群[1,2,3†], 侯宇[1,4*], 王祥宇[2,3*], 刘庆[2,3*], 郭红山[1,5*]

1. 浙江大学, 良渚实验室, 杭州 311100
2. 中南大学, 湘雅医院神经外科, 长沙 410008
3. 中南大学, 芙蓉实验室, 长沙 410013
4. 浙江大学医学院附属儿童医院, 杭州 310051
5. 浙江大学医学院附属第一医院, 杭州 310006

† 同等贡献
* 联系人, E-mail: houyu@zju.edu.cn; wxymgh1989@csu.edu.cn; liuqingdr@csu.edu.cn; guohs@zju.edu.cn

收稿日期: 2026-02-06; 接受日期: 2026-02-27; 网络版发表日期: 2026-08-06
浙江省自然科学基金(批准号: LR24C060001, LQN25H160049)、国家自然科学基金(批准号: 82303362)和湖南省自然科学基金(批准号: 2025JJ60497)资助

摘要 弥漫性脑胶质瘤是一类具有高度侵袭性的恶性肿瘤, 其极大的生物学异质性是治疗抵抗和复发率居高不下的核心原因. 单细胞组学技术的兴起为揭示此类肿瘤的细胞多样性和微环境相互作用提供了单个细胞层面的分辨率. 近年研究显示, 胶质瘤内部存在多种共存的肿瘤细胞状态, 例如神经前体样、少突前体样、星形细胞样和间充质样细胞. 这些状态可在治疗压力下发生动态转换, 被认为是肿瘤逃逸和耐药的重要机制. 借助单细胞转录组测序、单细胞表观遗传测序等手段, 科学家全面描绘了初始和复发胶质瘤的细胞图谱, 发现复发肿瘤往往富集间充质样表型细胞, 并伴随免疫微环境成分的重塑(如T细胞浸润增加). 单细胞组学分析还揭示了肿瘤与其微环境的复杂互作, 肿瘤相关的反应性星形胶质细胞可塑造免疫抑制性环境, 促进肿瘤免疫逃逸; 肿瘤相关成纤维细胞等基质细胞通过旁分泌信号支持肿瘤生长. 这些发现帮助鉴定了全新的治疗靶点和生物标志物. 基于单细胞数据的风险分层模型也在探索中, 一些研究正在探索将特定肿瘤细胞状态的比例或空间分布与患者预后关联起来的可行性. 总之, 单细胞组学技术正从异质性、微环境、耐药机制到新靶点发现等方面, 加深了对弥漫性脑胶质瘤的认知, 并为精准医疗时代的个体化诊疗提供了关键数据支撑.

关键词 单细胞测序, 脑胶质瘤, 细胞异质性, 肿瘤微环境

脑胶质瘤是中枢神经系统(CNS)最常见的原发恶性肿瘤, 占所有CNS肿瘤约23%, 其中弥漫性胶质瘤具有较差的预后[1]. 弥漫性脑胶质瘤表现出独特的遗传变异、表观遗传变化和免疫微环境特征, 这导致其对传统治疗(手术、放疗、化疗)以及新兴的免疫疗法均存在一定程度的抵抗. 根据世界卫生组织(WHO)CNS 2021年版分类, 弥漫性脑胶质瘤分为成人型弥漫性脑胶质瘤、儿童型弥漫性低级别脑胶质瘤和儿童型弥漫性高级别脑胶质瘤三大亚型. 在临床与研究中亦常沿用WHO分级框架将脑胶质瘤概括为低级别脑胶质瘤

引用格式: 黄伟城, 肖群, 侯宇, 等. 单细胞组学测序在弥漫性脑胶质瘤的研究进展. 中国科学: 生命科学, 2026, 56: 2394–2417
Huang W C, Xiao Q, Hou Y, et al. Research progress of single-cell omics sequencing in diffuse glioma (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2026, 56: 2394–2417, doi: 10.1360/SSV-2026-0030

© 2026《中国科学》杂志社 www.scichina.com
https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2026-0030

(LGGs, WHO Ⅰ和Ⅱ级)和高级别脑胶质瘤(HGGs, WHOⅢ和Ⅳ级), 其中胶质母细胞瘤(GBM, WHOⅣ级)是最具侵袭性和最常见的恶性组织学类型之一, 预后极差, 中位生存期通常小于15个月, 五年生存率小于10%[2~5]. LGGs通常呈现出相对较长的生存期, 但随着时间的推移存在向更高级别进展的风险. 此外, 流行病学数据显示, 脑胶质瘤的整体发病率与年龄、性别及种族差异相关, 例如GBM在老年患者中更为常见, 而LGG则多见于年轻人[6,7].

现阶段, 脑胶质瘤的治疗策略主要依赖于手术、放疗和化疗[8]. 手术切除作为首选治疗手段, 旨在尽可能实现最大程度的安全切除, 但由于肿瘤具有明显的浸润性, 尤其当其位于功能区或近于重要神经结构时, 完全切除无疑会增大术后神经功能损害的风险[8,9]. 术后, 放疗与化疗(以替莫唑胺为主的烷化剂治疗)综合应用以延缓复发和延长生存时间, 但治疗方案的疗效依旧有限, 高复发率和耐药性问题长期困扰着临床医生[3,7]. 这些局限促使研究者不断探索新的检测手段和治疗策略, 以期实现早期准确诊断和个体化治疗. 此外, 近年来分子病理学的发展推动了脑胶质瘤的精细分类, 如IDH突变、1p/19q共缺失、MGMT启动子甲基化状态等分子标志物为预后和治疗决策提供了重要参考, 但在实际临床应用中仍面临检测时间长、标准化不足和异质性较高等问题[10]. 总体来看, 脑胶质瘤因其高度异质性和浸润性, 其治疗和预后评估一直是神经肿瘤学领域的重要难题, 需借助新技术从细胞层面解析肿瘤分子特征, 为精准治疗提供依据[11].

近年来, 单细胞组学技术的出现显著改变了肿瘤生物学的研究范式, 尤其是在揭示肿瘤细胞异质性方面, 这种异质性是导致治疗耐药性和肿瘤复发的重要因素. 本文综述了单细胞测序技术在脑胶质瘤中的最新进展, 重点介绍这些技术如何促进人们对胶质瘤细胞在基因组、转录组和表观遗传层面上的异质性理解. 本文详细介绍了各类单细胞测序技术, 并讨论其在弥漫性脑胶质瘤异质性研究中的应用. 整体框架如图1所示, 以弥漫性脑胶质瘤的WHO CNS5分子分类为出发点, 系统梳理单细胞及空间组学技术平台与关键分析方法, 并从肿瘤细胞异质性、微环境生态、耐药与复发机制及临床转化应用四个维度总结核心发现.

1 单细胞组学测序技术概述

单细胞组学测序技术自2009年汤富酬教授第一篇文章报道后[12], 近17年来, 单细胞水平的高通量测序技术发展迅速, 显著提升了对复杂组织和肿瘤的分子分析能力, 为揭示细胞内各分子层次的异质性提供了独有的分辨能力[13~15]. 单细胞组学技术可细致解析单个细胞的内在状态和功能. 单细胞组学涵盖了几种独特但互补的方法, 包括单细胞转录组学、表观基因组学、蛋白质组学、代谢组学, 以及整合性的单细胞多组学技术, 这些技术结合了单个细胞中不同分子层面的数据, 有助于解析单细胞内的分子调控网络. 各类单细胞技术的要点与适用性见表1.

1.1 单细胞转录组测序技术

单细胞RNA测序(scRNA-seq)可以对单个细胞的转录组进行定量分析, 用于探索细胞的多样性并识别稀有的细胞群体. 这种前沿的方法, 自2009年第一个scRNA-seq方案推出以来[12], 此后各种单细胞转录组测序技术迅速发展[13~15]. 基于孔板的方法(如Smart-seq2)、基于液滴的方法(如Drop-seq和10x Genomics)等技术已成为主流的scRNA-seq技术, 实现了高灵敏度和高通量地分析基因表达. 单细胞转录组学已成为研究肿瘤异质性的强大工具, 能够识别细胞状态、轨迹和可塑性, 从癌症干细胞样细胞到分化的肿瘤细胞, 它帮助识别了单一肿瘤内的多种共存基因表达状态. 这种异质性通常会被传统的批量测序方法所掩盖.

当处理无法轻易解离的冰冻或石蜡组织时, scRNA-seq的应用受到限制, 阻碍了对新细胞类型或与免疫和疾病相关的关键信息的探索. 为了解决这一难题, 后续开发了单核RNA测序(snRNA-seq)技术, 其中RNA测序实验是以细胞核进行的. 已经开发了几种snRNA-seq方法来分析从冷冻、石蜡固定样本中获得的单个细胞核中的RNA, 这些方法将转录组学分析的适用范围扩展到更广泛的样本类型和条件[16~20].

1.2 单细胞基因组学测序技术

单细胞DNA测序(scDNA-seq)通常需要对哺乳动物细胞中的两个基因组拷贝进行扩增, 这要求使用具有单分子检测能力和低偏倚的高灵敏度扩增技术. 2011年, Navin等人[21]通过将全基因组扩增(WGA)与

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2026-0030



图 1 单细胞组学在弥漫性脑胶质瘤中的技术-分析-产出全流程图. 以WHO CNS5弥漫性胶质瘤分子分类为背景, 展示从样本处理、组学技术平台、计算分析到生物学发现与临床转化的研究全流程

Figure 1 Workflow of single-cell and spatial omics in diffuse glioma: from technology and analysis to biological output. Using the WHO CNS5 molecular classification of diffuse gliomas as context, this figure illustrates the complete research workflow from sample processing, omics technology platforms, and computational analysis to biological discoveries and clinical translation

高通量测序技术相结合, 提出了单细胞全基因组测序技术(scWGS). 该技术通过在单细胞水平进行DNA测序, 能够深入研究单核苷酸变异、短插入或缺失以及拷贝数变异等多个方面的基因组特征. 由于单个细胞

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2026-0030

表 1 弥漫性胶质瘤研究常用单细胞技术概览

Table 1 Overview of single-cell technologies commonly used in diffuse glioma research

技术	检测层面	代表性平台/方法	优势	局限性
单细胞RNA测序	全细胞转录组	10x Genomics Chromium, Smart-seq2, Drop-seq, inDrop, sci-RNA-seq	成熟度高、数据库丰富、分析工具完善	需细胞悬液; 解离偏倚与掉落事件; 空间信息缺失
单核RNA测序	细胞核转录组	10x Genomics (nuclei), sNuc-seq, DroNc-seq	适用于冻存/难解离样本; 减少细胞损失	基因检测谱与scRNA略有差异; 需注意核/胞质偏倚
单细胞DNA测序	基因组(SNV/CNV)	DLP+, 10x CNV, Tapestri; WGA: MALBAC, MDA	直接检测基因组变异; 追踪克隆进化	WGA偏倚与掉失; 成本较高; 与表达耦合需多组学
单细胞ATAC测序	染色质可及性	10x Genomics scATAC, sci-ATAC-seq, dscATAC-seq, snATAC-seq	揭示调控元件活性; 推断TF活性	信号稀疏; 注释依赖参考; 跨批次整合挑战
单细胞DNA甲基化	表观遗传(DNA甲基化)	scRRBS, scBS-seq, snmC-seq, scWGBS	高分辨率甲基化图谱; 表观遗传记忆	覆盖稀疏; 解释依赖整合转录/可及性信息
单细胞CUT&Tag/CUT&RUN; Epi-CyTOF	表观遗传(组蛋白标记/染色质状态)	scCUT&Tag, scCUT&RUN, Epi-CyTOF, scChIP-seq	低背景、高信噪比; 直接读出染色质状态	技术门槛高; 可测标记有限; 样本与批次控制关键
单细胞蛋白组学	蛋白丰度/表面标志	CyTOF, CITE-seq, REAP-seq, SCoPE-MS, plexDIA	蛋白层功能验证	面板/抗体依赖; 与转录层一致性需验证
单细胞多组学(scTrio-seq, SHARE-seq, Multiome)	同一细胞多模态(DNA-RNA-表观)	SHARE-seq, scTrio-seq, 10x Multiome, SNARE-seq/SNARE-seq2, TEA-seq	多维度信息整合; 因果关系推断	成本与分析复杂度高; 标准化与可重复性要求更高
空间转录组学	原位转录组(保留空间位置信息)	10x Visium, Slide-seqV2, MERFISH, STARmap, 10x Xenium, seqFISH+	保留组织空间结构; 解析细胞间空间关系与微环境互作; 原位成像方法可达亚细胞分辨率	条形码捕获方法分辨率有限(多细胞混合); 原位成像方法可检测基因数受限; 成本较高

中的DNA含量极为微弱(约6 pg/细胞), 远低于常规测序仪的检测限, 因此在测序之前, 必须对单细胞中的全基因组DNA进行扩增, 以确保获得足够的样本量进行后续分析. 该扩增过程旨在生成覆盖度高的完整基因组, 以保证高通量测序能够获得准确且全面的结果. 随着技术的不断发展, WGA方法经历了显著的改进, 旨在更好地满足这些需求. 常用的扩增方法包括多重位点扩增(MDA)[22]和多重退火与环化扩增循环(MALBAC)[23]. 为进一步减少引物和扩增过程中的偏倚, 后来开发了基于转座子插入的线性扩增(LIANTI)技术, 该技术显示出极高的基因组扩增均匀性[24].

1.3 单细胞表观基因组测序技术

细胞类型特异性基因表达在很大程度上由表观基因组所限定. 表观基因组包含多个层面的修饰信息, 包括DNA甲基化、染色质状态、组蛋白修饰及三维染色质构象等, 共同构成调控系统. 这些特征通过影响调控元件的可达性与转录因子结合, 进而塑造细胞状态并参与状态转换过程. 单细胞表观基因组测序可在细胞分辨率下描述调控景观, 从而将单个细胞间"转录表型差异"进一步追溯到其潜在的调控基础.

首项单细胞甲基化技术于2013年基于简并亚硫酸氢盐测序(scRRBS)开发[25], 此后各样单细胞甲基化技术取得快速进展[26~30]. 这些方法有助于揭示不同细胞群体之间的稳定表观标记差异, 并可用于追踪肿瘤细胞状态与谱系相关的甲基化重塑.

单细胞ATAC-seq和单细胞DNase-seq等方法能够对单个细胞的染色质可及性进行剖析, 该技术使用超活性酶(如Tn5转座酶、DNase I等), 对开放染色质区域的DNA进行捕获和测序, 从而识别潜在的转录因子结合位点和调控元件[31~35]. Buenrostro等人[36]首次报道的scATAC-seq方法, 为后续基于液滴、微孔板和池分拆索引的高通量scATAC-seq技术奠定了基础.

为了在单个细胞中分析组蛋白修饰, 研究人员已开发出多种方法, 主要分为两类: (ⅰ) 基于ChIP-seq技术, 包括Drop-ChIP[37]和itChIP-seq[38]等; (ⅱ) 基于CUT&RUN和CUT&Tag技术[39,40], 如scChIC-seq[41], uli-CUT&RUN[42]和scCUT&Tag[43,44]等.

高分辨率染色体构象捕获(Hi-C)是一种对批量样本进行染色质结构捕获的经典方法[45]. 基于此方法, scHi-C被开发用于在单细胞水平捕获染色质结构[46], 后续更多的方法被开发出来[47~50]. 单细胞Hi-C提供三

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2026-0030

维基因组相关信息，这些方法对于理解肿瘤进化和胶质瘤内细胞分化的表观遗传学基础至关重要.

1.4 单细胞蛋白组及代谢组测序技术

尽管基于核酸的单细胞检测方法在过去十年中主导了这一领域，但单细胞蛋白质组学和代谢组学的技术也取得了重要进展. 基于检测原理的不同，当前单细胞蛋白质组学方法可分为以下几类: (ⅰ) 基于抗体检测方法，如飞行时间细胞分析(CyTOF)[51,52]等; (ⅱ) 基于PCR测序检测方法，如CITE-seq[53]，REAP-seq[54]; (ⅲ) 质谱(MS)检测方法，如nanoPOTS[55]，SCoPE2[56]. 质谱分析凭借其高准确性的优势，已成为大规模蛋白质组学分析的主流工具.

与此同时，单细胞代谢组学的创新方法正在被开发，以捕捉代谢特征. 捕捉代谢物的快速代谢过程、区分代谢分子多样性、提升检测灵敏度和选择性以及提高检测阈值，均为单细胞代谢组学研究中不可避免的挑战. 尽管如此，在单细胞代谢组学研究过程中，涌现出不少技术[57,58]. 这些技术提供了细胞不同状态下的综合图像，弥补了转录组和DNA分析的不足.

1.5 单细胞多组学测序技术

最具潜力的进展或许来自将多个组学层面数据整合到同一细胞中的方法. 单细胞多组学测序技术通过同时获取同一细胞，包括转录组、基因组、表观基因组、蛋白质组及代谢组学等在内的至少两个维度的信息，实现数据的多维整合，进一步揭示细胞内分子调控的全貌，为细胞功能及中心法则提供整体视角. 单细胞多组学技术在测量有限样本时具有显著优势，可实现无需样本分割进行单独检测的全面多维分析，这有望降低整体研究成本. 单组学方法为多组学研究奠定了基础. 如scTrio-seq技术，将基因组学(DNA拷贝数)、转录组学和表观基因组学数据结合起来，以提供更全面的细胞状态和谱系关系的视角[59]. 这些技术通过并行或顺序处理同一单细胞中的DNA和RNA，从而直接关联基因组突变、基因表达谱和表观遗传修饰[60~66]. 通过这些整合数据集获得的见解有助于深入理解胶质瘤异质性，并可能指导个体化治疗策略的制定.

1.6 空间转录组学技术

上述单细胞组学技术均需将组织解离为单细胞悬液，该过程会丢失细胞在组织中的原始空间位置信息. 空间转录组学技术可在保留组织空间结构的条件下对基因表达进行原位检测，用于解析细胞间的空间关系与微环境互作.

目前空间转录组学技术主要包括两大类. 第一类为基于空间条形码捕获的方法. 2016年，Ståhl等人[67]提出在组织切片下方排列带有位置编码的寡核苷酸探针阵列，捕获组织释放的mRNA，实现全转录组水平的空间表达谱分析. 该方法经商业化改进后形成10x Genomics Visium平台，将捕获点尺寸缩小至约55 μm，但每个捕获点通常仍包含多个细胞的信号. Stickels等人[68]开发的Slide-seqV2将条形码寡核苷酸附着于随机排列的微珠上，使空间分辨率提升至约10 μm，接近单细胞水平. 第二类为基于原位成像的方法，包括基于荧光原位杂交的MERFISH和seqFISH+，以及基于原位测序的STARmap等，通过对预先选定的基因面板进行多轮杂交或测序成像，可达到亚细胞分辨率，但可同时检测的基因数量受限[69,70]. 近年来以10x Genomics Xenium为代表的新一代原位平台在检测通量与灵敏度方面有所改进. 各类单细胞及空间组学技术的要点与适用性见表1.

2 单细胞组学解析胶质瘤中肿瘤细胞的异质性与调控特征

弥漫性脑胶质瘤的生物学与临床表现高度依赖于分子分型. WHO中枢神经系统肿瘤第五版(CNS5)将成人型弥漫性胶质瘤主要归为: IDH突变星形细胞瘤、IDH突变且1p/19q共缺失的少突胶质细胞瘤，以及IDH野生型胶质母细胞瘤; 同时还单列了多种儿童型弥漫性高级别胶质瘤(如H3相关改变)等[5,9~11,71]. 这种以驱动事件与分子标志为核心的框架，为单细胞图谱的比较研究提供了“共同坐标系”，也提示人们应在不同分型/年龄层中分别解读异质性与微环境特征.

单细胞组学的核心贡献在于解析分子分型同一类肿瘤内恶性细胞的谱系与可塑性. 同时可刻画免疫、血管及胶质细胞等微环境成分的状态. 以sc/snRNA-seq为代表的研究显示，GBM等弥漫性胶质瘤恶性细胞并非静态亚型，而是在不同转录与表型状态之间动态转换; 这些状态与肿瘤干性、侵袭、代谢应激以及治疗耐受密切相关[72~76].

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2026-0030

在研究设计上，弥漫性脑胶质瘤具有显著的“空间-时间”异质性: 同一患者不同取样区域(肿瘤核心/缺氧区/血管龛/浸润边缘)以及治疗前后(初治/复发)常呈现不同的细胞状态与微环境组成. 因此, 单细胞研究越来越强调多区域取样、纵向配对与临床信息联动(分子分型、治疗方案、随访结局), 以避免结论仅反映取样偏倚，并促进可转化的生物标志物与分层模型构建[77,78].

以弥漫性脑胶质瘤为例，单细胞组学技术在脑胶质瘤中的应用为肿瘤异质性、演化和对常规治疗的耐药机制提供了新的见解. 本节回顾了单细胞测序技术如何被用于解析胶质瘤中肿瘤细胞的分子异质性，重点讨论三个主要方面: 基因组异质性、基因表达异质性和表观遗传异质性.

2.1 基因组异质性

脑胶质瘤研究中的一个关键挑战是肿瘤之间以及同一肿瘤内存在着广泛的基因组异质性. 单细胞基因组测序使人们能够检测到可能对肿瘤的起始、进展和治疗耐药性至关重要的遗传变异. 异柠檬酸脱氢酶(IDH)关键基因的突变被公认为胶质瘤发生的驱动因素之一. 2008年，Parsons等人在胶质瘤细胞瘤的外显子测序研究中首次报道了异柠檬酸脱氢酶突变[79]，随后的研究发现超过70%的WHO Ⅱ和Ⅲ级有IDH突变[80], 这一发现对胶质瘤的治疗及分型意义深远. IDH突变神经胶质瘤包括少突胶质细胞瘤和星形细胞瘤. 这两种神经胶质瘤类型在组织学和遗传学上有所不同. 星形细胞瘤细胞包含频繁的*TP53*基因突变和*ATRX*基因错义突变[81~84]，重要的是，*ATRX*突变与1p/19q共缺失是互斥的, 后者是少突胶质细胞瘤的分子标志[85], 少突胶质细胞瘤细胞特异性具有染色体共缺失1p/19q.

IDH野生型胶质母细胞瘤的重要特征之一是具有复杂的遗传景观，且伴随有很强的瘤间和瘤内异质性[86,87]. 特征拷贝数变异包括7号染色体的增加和10号染色体的缺失[85,88~91]，这些事件被认为代表了其发病机制中最早的遗传改变[92]. 胶质母细胞瘤的另一个特征是受体酪氨酸激酶(RTK)的扩增和重排，包括EGFR, PDGFRA及罕见的MET[88,93~95]. 尽管这些遗传事件已经被研究多年并被证明可以驱动异常信号转导/激活异常信号通路，但它们被酪氨酸激酶抑制剂(TKI)抑制尚未显示出显著的临床疗效. 这种缺乏治疗效果有许多可能的解释，其中RTK改变的肿瘤异质性代表了一个重要的挑战，对TKI的耐药性可以通过同一肿瘤的不同细胞中不同类别RTK的扩增和/或突变而发生, 这得到了一些EGFR扩增的胶质母细胞瘤也含有PDGFRA扩增的肿瘤细胞的观察结果的支持[71]. 单细胞基因组方法能更合理地解释耐药性的产生，单细胞DNA和RNA测序工作以及来自一个肿瘤内不同区域的DNA和RNA的批量分析表明，EGFR变体具有显著的瘤内异质性[72,96~98]，在同一个单个胶质母细胞瘤细胞中发现了两种共存的EGFR变体[96]，同时不同的EGFR变异存在于不同的单个细胞[72]或同一肿瘤的不同区域[98].

H3K27M突变在弥漫中线脑胶质瘤中很常见，并且在调节基因表达和维持染色体稳定性方面起关键作用，但每个患者特有的其他相关突变也会影响肿瘤的进展，从而导致不同程度的不良预后[99,100]. H3.3K27M和H3.1K27M肿瘤相关的突变模式不同，并且与IDH突变互斥[89]. *TP53*基因突变在H3.3K27M肿瘤中更常见，它们被认为通过破坏p53蛋白功能来促进肿瘤的发展和进展[101]. 相比之下，H3.1K27M肿瘤经常发生*ACVR1*基因突变，其特征是ACVR1蛋白中34位(G34R)的甘氨酸被精氨酸取代[102,103].

2.2 基因表达异质性

除了基因组变异，脑胶质瘤细胞的基因表达谱也存在显著的异质性. 这种转录组异质性是肿瘤内功能多样性的基础，具体体现在细胞的形态、增殖能力、分化状态和治疗敏感性等方面.

IDH野生型胶质母细胞瘤的整体转录组谱系分析能够识别患者间的差异，这为基于肿瘤微环境(TME)依赖性特征的TCGA亚型分类(神经型、神经前体型、经典型和间质型)奠定了基础[73,104]. 然而，单细胞转录组学研究揭示了这些亚型在同一肿瘤内共存，个体的肿瘤细胞表现出混合型或过渡状态. 这些发现强调了脑胶质瘤是动态生态系统的观点，具体体现为细胞状态是动态变化的，受到内在遗传因素和肿瘤微环境外源性信号的共同影响. 近年研究应用单细胞或者单核RNA-seq捕获GBM患者的转录组特征，彻底改变了人们对潜在分子异质性的理解. GBM患者中恶性细胞状态特征汇总见表2, 状态谱与TME互作框架见图2.

Patel等人[72]的初步研究首先表明, GBM由不同亚

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2026-0030

表 2 脑胶质瘤恶性细胞状态特征汇总

Table 2 Summary of malignant cell state signatures in brain glioma

细胞状态	特征性标志基因	关键转录因子	相关信号通路	发育对应细胞	富集的胶质瘤类型	临床预后关联	与TME互作	状态转换驱动因素
神经前体样	*SOX2*, *SOX4*, *ASCL1*, *DLL3*, *DCX*(NPC2亚型), *STMN2*(NPC2亚型)	SOX2, ASCL1, OLIG2	Notch, Wnt, SHH	神经干细胞/放射状胶质细胞	IDH突变型胶质瘤	与干细胞特性相关	血管周围龛位定植	干细胞信号激活
少突胶质前体样	*OLIG1*, *OLIG2*, *PDGFRA*, *SOX10*, *NKX2-2*	OLIG2, SOX10, NKX2-2	PDGF, SHH, PI3K-AKT	少突胶质前体细胞	IDH突变型少突胶质细胞瘤	相对较好预后	髓鞘相关信号	分化信号
星形胶质样	*GFAP*, *AQP4*, *SLC1A2*, *SLC1A3*, *ALDH1L1*	SOX9, NFIA, NFIB	JAK-STAT, Notch	成熟星形胶质细胞	IDH突变型星形细胞瘤	中等预后	与反应性星形胶质细胞互作	微环境诱导
间充质样	*CD44*, *CHI3L1*, *VIM*, *ANXA1*, *ANXA2*, *LGALS3*	CEBPB, CEBPD, STAT3, FOSL2	NF-κB, TNF-α, TGF-β, 缺氧信号	损伤/炎症反应相关细胞程	GBM(尤其复发/治疗后)	不良预后, 治疗耐药	招募TAM, 促进免疫抑制	缺氧、炎症、放疗、TMZ

型的肿瘤细胞组成, 具有多个中间特征细胞, 证实不同表型间存在细胞状态转换. 与干性、缺氧和静止相关的特征揭示了连续的表达梯度变化, 而非不同的细胞亚群结构变化. 利用scRNA-seq和细胞谱系追踪与功能测定相结合, Neftel等人[105]最终证明了基于四种单细胞转录组特征的细胞转变, 这些特征包括星形胶质细胞样(AC-like)、神经祖细胞样(NPC-like)、少突胶质细胞祖细胞样(OPC-like)和间充质样(MES-like), 这些肿瘤细胞状态表现出高度的可塑性, 并且受TME的影响.

Couturier等人[106]对53586个成人胶质母细胞瘤细胞和22637个正常人胎儿脑细胞进行了scRNA-seq, 并将发育中的人脑与肿瘤恶性细胞的谱系层次结构进行了比较. 作者发现了四个癌细胞谱系, 它们与Neftel等人描述的状态框架非常相似. 此外, 在这些谱系的交叉处发现了第五种细胞类型, 具有祖细胞样转录组, 功能类似于顶端神经胶质瘤干细胞. 在正常发育的人脑中, 该细胞簇最接近的转录组是神经胶质祖细胞(GPC)[105]. 祖细胞类型GPC和OPC都表达PDGFRA和OLIG2, 但Nestin的表达仅限于GPC[106]. 最近的研究进一步描述了胶质母细胞瘤不同的细胞程序, 包括增殖、干性和神经发育程序[107]、细胞特化、代谢[108]、损伤反应等[109].

IDH突变型星形细胞瘤和IDH突变型少突胶质细胞瘤呈现相近的神经胶质细胞谱系和发育层次结构, 提示二者可能具有共同的祖细胞样起源或共享的发育程序[110,111]. 这两种脑胶质瘤大体由三个恶性细胞亚群组成: 沿星形胶质细胞分化的非增殖细胞和沿少突胶质细胞谱系分化的非增殖细胞, 以及类似于神经干细胞/祖细胞的增殖未分化细胞[110]. 在最具侵袭性的高级别IDH突变型神经胶质瘤中, 干细胞样细胞的比例增加, 与肿瘤恶性进展一致[111].

在H3K27M相关的弥漫性中线胶质瘤中, 单细胞转录组研究识别出多种恶性细胞状态, 包括细胞周期类细胞、星形胶质细胞分化(AC-like)、少突胶质细胞分化(OC-like)和少突胶质细胞前体细胞样细胞(OPC-like). 整体上, 肿瘤往往以OPC样细胞为主, 而分化程度更高的恶性细胞占比偏少. OPC样细胞比其分化程度更高的细胞表现出更大的增殖潜力. 近期随着研究中的样本量与分析规模扩大, 进一步在该类肿瘤中鉴定到间充质样(MES-like)转录状态, 提示其细胞状态谱可能比早期认识的更为复杂[112].

2.3 表观遗传异质性

DNA甲基化、组蛋白修饰和染色质重塑等表观遗传机制对于塑造动态基因表达至关重要, 脑胶质瘤的表观遗传景观是决定细胞表型和可塑性的关键因素. 单细胞表观基因组学方法, 包括DNA甲基化、染色质可及性和组蛋白修饰分析为人们提供了有关驱动脑胶质瘤异质性的调控网络的新见解.

2.3.1 DNA甲基化模式

DNA甲基化是影响基因表达和基因组稳定性的关键表观遗传修饰. 在脑胶质瘤中, DNA甲基化模式

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2026-0030

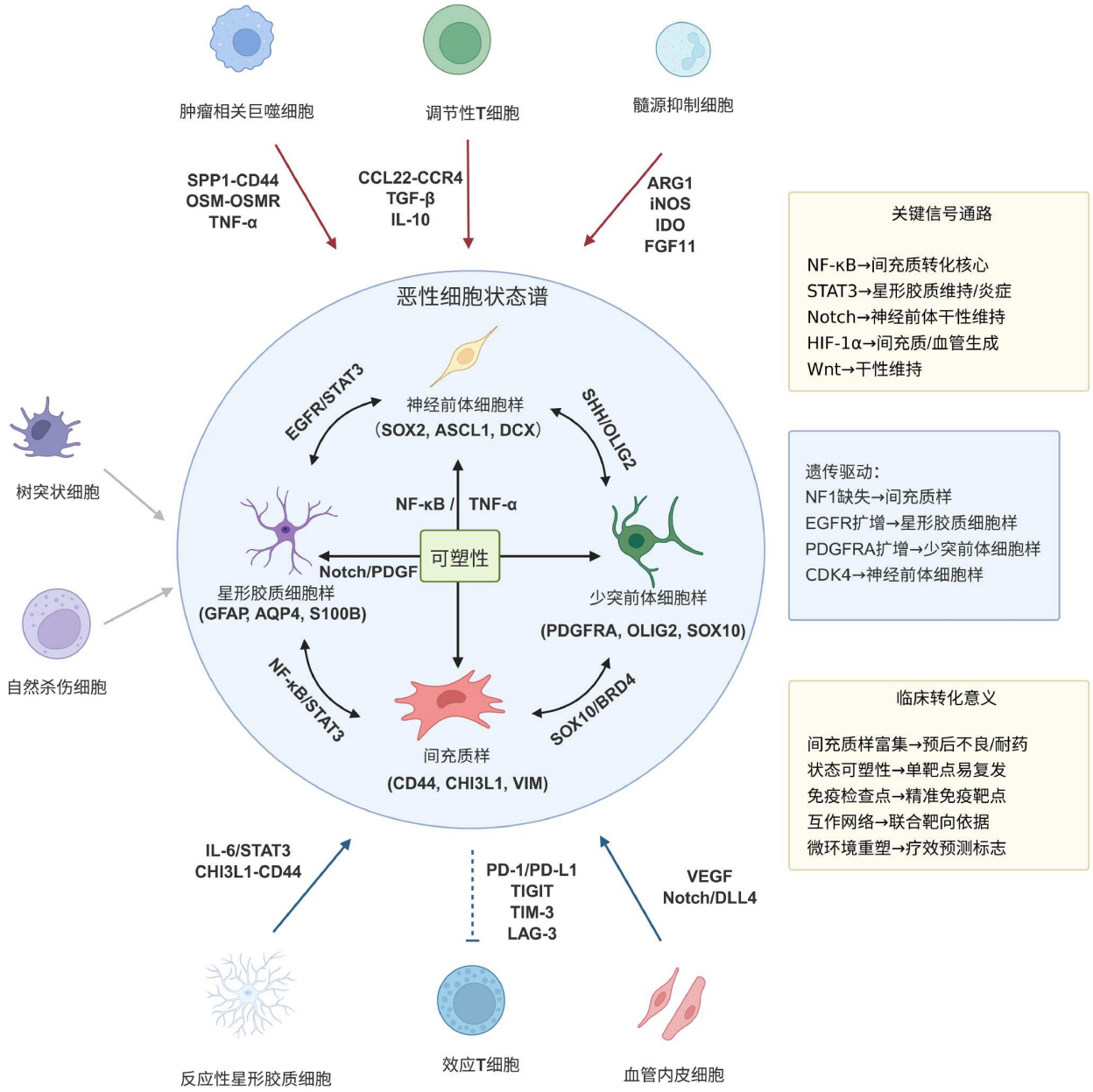


图 2　脑胶质瘤细胞状态谱与肿瘤微环境互作网络. 中心为四种恶性细胞状态及其可塑性转换, 外围为微环境细胞成分及其与肿瘤细胞的关键分子互作, 右侧汇总核心信号通路与临床意义

Figure 2　Malignant cell state spectrum and tumor microenvironment interaction network in glioma. The center depicts four malignant cell states and their plastic transitions; the periphery shows TME cellular components and key molecular interactions with tumor cells; the right panels summarize core signaling pathways and clinical implications

在不同亚型之间甚至同一肿瘤内的细胞之间差异显著. 脑胶质瘤CpG岛甲基化表型(G-CIMP), 由Noushmehr等人[74]于2010年首先在胶质母细胞瘤中描述, 并在低级别脑胶质瘤中进一步验证, 该表型表现为广泛的CpG岛高甲基化, 并与更年轻的发病年龄及相对更好的预后相关. Malta等人[113]研究发现, G-CIMP在低级别胶质瘤中更加常见, 且存在G-CIMP的患者总体生存结局更佳.

成人脑胶质瘤G-CIMP表型与IDH突变密切相关, 突变的IDH可以催化α-酮戊二酸(α-KG)生成2-羟基戊

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2026-0030

二酸(2-HG), 二者结构相似, 2-HG竞争性抑制α-KG, 并且抑制依赖α-KG的DNA去甲基化酶10-11-易位-甲基胞嘧啶双加氧酶(TET)活性, 导致基因组高甲基化[114]. O^6-甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶(MGMT)启动子甲基化是与IDH突变相关的CIMP表型的一部分. 在约40%的原发性(IDH野生型)胶质母细胞瘤中也可观察到MGMT启动子甲基化, 但其导致MGMT表达沉默的机制尚不清楚[115]. 替莫唑胺是脑胶质瘤的一线化疗药物, 可诱导肿瘤细胞DNA甲基化, 促进O^6-和N^7-甲基鸟嘌呤形成, 阻止DNA合成和修复, 抑制肿瘤生长[116]. MGMT启动子甲基化亦可降低DNA修复作用, 使其对替莫唑胺更敏感. 因此认为, 脑胶质瘤MGMT启动子甲基化水平可以预测替莫唑胺疗效[117].

Ceccarelli等人[75]合并来自两个甲基化平台的数据集, 分析了932例弥漫性脑胶质瘤大量DNA甲基化数据, 将其分为6种不同的肿瘤亚型(LGm1~LGm6). LGm1~LGm3在IDH突变的肿瘤中富集, 并显示全基因组高甲基化, 而LGm4~LGm6在GBM肿瘤中富集, 这些亚类在很大程度上与转录组亚型相关. 与转录组状态类似, 不同的DNA甲基化谱不仅存在于空间分离的肿瘤区, 而且存在于不同表型状态的单细胞水平上[118~121]. Chaligne等人[118]的单细胞数据分析表明, IDH突变型神经胶质瘤包含具有LGm1~LGm3 DNA甲基化亚型的细胞, 而IDH野生型GBM显示包含LGm4~LGm5亚型细胞. LGm4细胞代表AC样和MES样状态, 而LGm5细胞大多是NPC样和OPC样, 突出了这些状态在DNA甲基化水平上的相似之处. 在此基础上, 进一步从功能模块层面对差异甲基化区域进行注释可见, 这些差异并非随机分布, 而是集中于与细胞谱系和干细胞样程序相关的关键调控元件. 由多梳抑制复合物2(PRC2, 负责沉积H3K27me3抑制性标记)调控的启动子区域与干细胞特性通路相关, 显示出强烈的低甲基化及低DNA甲基化紊乱(*HOX*基因及其他含Homeobox结构域的基因、谱系特异性转录因子及生长因子)[118,122]. 值得注意的是, NPC/OPC样状态中*PRC2*靶基因的DNA低甲基化程度较AC/MES状态略高, 这与染色质可及性增强及活性组蛋白标记(如H3K4me3和H3K27ac)增加相关[118].

2.3.2 染色质可及性

染色质可及性反映了特定基因调控区域(包括增强子、启动子及转录因子结合位点)在细胞中处于开放或闭合状态, 是决定细胞表型及可塑性的关键表观遗传特征. 在单细胞水平上进行的染色质可及性检测使研究人员能够绘制出在不同脑胶质瘤细胞群体中活跃的调控元件. 单细胞水平scATAC-seq在脑胶质瘤研究中大幅推动了对肿瘤细胞状态调控网络的理解. 不同的染色质可及性模式可在同一肿瘤内的不同亚群中观察到, 证实了表观遗传重编程是脑胶质瘤异质性的重要驱动因素.

在弥漫性脑胶质瘤中, scATAC-seq揭示出不同恶性细胞亚群之间存在显著的染色质开放度差异. 例如, Sundaram等人[123]对8种原发人类癌症的74个肿瘤样本进行单细胞染色质可及性测序, 后续通过分析GBM的两例样本, 发现在细胞间的染色质可及性上存在显著差异, 各样本内部出现多个细胞群集. 其中一个样本识别出三个主要的亚克隆群体. 胶质母细胞瘤的单细胞ATAC分析识别出肿瘤中复杂的亚克隆结构, 展示出单细胞染色质可及性数据在深入探索肿瘤异质性中的重要性. Tome-Garcia等人[124]通过ATAC-seq比较脑干胶质瘤来源的胶质瘤干细胞(GSCs)与正常神经干/祖细胞(neural stem/progenitor cells, NSPCs), 发现GSCs中差异开放的染色质区域主要分布在细胞迁移相关基因上. 基序motif分析显示转录因子TEAD1在这些区域显著富集, 提示其可能参与增强GSCs的迁移与侵袭能力. Wang等人[125]收集GBM肿瘤核心(TC)与肿瘤周边浸润区(PTB)的成对组织并进行snATAC-seq分析. 结果显示, 尽管转录因子AP-1在所有GBM细胞状态中均具活性, 但其活性自TC向PTB明显下降; 相反, 转录因子BACH1在PTB区呈更高活性. 功能研究进一步证实, 同时抑制激活蛋白-1(activator protein-1, AP-1)与BTB和CNC同源物1(BTB and CNC homolog 1, BACH1)相比单一靶向能更显著地延缓肿瘤生长并延长小鼠生存期. 该研究揭示了浸润性GBM细胞的重要表观遗传差异, 并强调了针对不同空间区域细胞异质性的联合靶向治疗策略的潜力. Liu等人[112]为解析H3K27M型弥漫中线胶质瘤(diffuse midline glioma, DMG)的细胞异质性, 利用snATAC-seq绘制8例肿瘤的染色质可及性图谱, 并与单细胞转录组数据进行整合. 通过结合scRNA-seq推断的转录因子活性与snATAC-seq的motif富集结果, 作者重建了跨细胞状态的调控网络, 鉴定出65个状态特异性转录因子. 进一步分析显示, 不同细胞

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2026-0030

状态中基因表达、染色质开放程度与特异转录因子富集高度一致，例如AC-like细胞中标志基因*ITPKB*的激活与SOX9/NFATC4/RFX3等调控因子相匹配. 研究建立了DMG细胞状态与表观遗传调控的关联框架.

2.3.3　组蛋白修饰

组蛋白修饰(包括甲基化、乙酰化等)通过动态调控染色质的构象与可及性，构成了决定脑胶质瘤细胞身份与可塑性的核心表观遗传代码，是脑胶质瘤表观遗传异质性的另一关键维度. 传统的大量细胞测序技术掩盖了肿瘤内部复杂的表观异质性，而新兴的单细胞组蛋白修饰测序技术(如scCUT&Tag)及单细胞表观蛋白质谱流式(Epi-CyTOF)的出现[43,44,126]，使研究者首次能够以单细胞分辨率解析组蛋白修饰状态如何编码特定的细胞亚群, 并驱动肿瘤的演化与耐药.

H3K27M突变型脑胶质瘤是研究组蛋白修饰异常的经典模型. 该突变抑制PRC2的甲基转移酶活性，使得全基因组H3K27me3沉积减少[89]. Filbin等人[127]的单细胞研究表明, H3K27me3丧失导致大量发育相关基因位点被重新激活，促使肿瘤维持在未分化且高度增殖的状态. 此外, 减少的H3K27me3伴随H3K27ac的上调, 使恶性细胞具有更强烈的增强子激活能力，从而推动肿瘤进展. Harpaz等人[126]利用单细胞Epi-CyTOF技术揭示了另一种维度的表观异质性: 肿瘤内部存在H3K27M突变组蛋白表达水平的梯度差异，这种剂量效应直接决定了细胞的表观状态. H3K27M高表达的细胞亚群: 表现为全基因组范围内的“染色质高度开放”状态，特征是活性组蛋白标记H3K27ac和H4K16ac显著上调, 同时抑制性组蛋白标记H3K27me3丢失. 这类细胞高表达干性因子(如SOX2，c-Myc)和增殖标记(Ki-67), 是驱动肿瘤生长的核心亚群. 相反, H3K27M低表达的细胞虽然仍携带突变，但其表观特征更接近分化细胞，表现为异染色质标记H3K9me3的保留，显示出更高的肿瘤抑制基因CDKN2A的表达. 这些结果表明H3K27M突变不仅改变了表观遗传标记的分布, 还影响了肿瘤细胞的增殖和分化特性，进一步支持了H3K27M在胶质瘤发生中的重要作用. 单细胞纵向追踪研究进一步揭示了治疗压力下细胞状态的动态演变机制. 单细胞多组学研究揭示, 脑胶质瘤内的异质性细胞群体并非随机分布，而是由独特的组蛋白修饰组合所维持. 在IDH野生型GBM中，整合单细胞转录组与染色质图谱的分析表明，不同转录状态的细胞具有截然不同的染色质景观. Chaligne等人[118]研究发现，神经祖细胞样(NPC-like)和少突胶质前体细胞样(OPC-like)状态的细胞，其启动子区域富集特征性的“二价结构域”(bivalent domains)，即同时存在激活性的H3K4me3和抑制性的H3K27me3修饰. 这种“二价”状态赋予了细胞极高的表观遗传可塑性，使其处于一种“蓄势待发”的状态，能够迅速响应环境信号向不同谱系转化. 相比之下, 星形胶质细胞样(AC-like)和间充质样(MES-like)状态的细胞则表现出更为活跃的组蛋白修饰特征，其关键基因启动子区域主要富集H3K4me3和H3K27ac等活性标记, 且呈现低甲基化状态.

2.4　空间异质性

前述基因组、转录组与表观遗传异质性的研究主要基于解离后的单细胞测序，虽能精确刻画细胞状态, 但无法反映这些异质性在组织空间中的分布. 近年来空间转录组学技术的应用使得在原位条件下解析弥漫性脑胶质瘤的空间异质性成为可能.

Ravi等人[128]利用空间转录组学对胶质母细胞瘤进行分析，发现MES样肿瘤细胞倾向于富集在坏死周围及缺氧区域，与骨髓来源的巨噬细胞共同构成免疫抑制性微环境；而NPC/OPC样细胞则更多分布于肿瘤浸润前沿，与少突胶质细胞谱系细胞相邻. Greenwald等人[129]通过多区域空间转录组分析进一步发现, GBM中从肿瘤核心到浸润边缘, 恶性细胞状态、免疫细胞组成和信号通路活性呈梯度变化，而非离散的分区模式. 最近研究人员通过整合大规模单细胞数据与空间转录组学，构建了胶质母细胞瘤参考图谱(GBmap)，鉴定出七种具有不同细胞组成和空间分布特征的肿瘤生态位, 并据此提出肿瘤结构评分(TSS)用于预后预测[130]. 此外，另一项研究同样纳入了IDH突变型胶质瘤样本，结果显示与GBM相比，缺乏缺氧特征的IDH突变型低级别胶质瘤空间组织性较低，肿瘤内部细胞状态分布更为均质[129].

3　单细胞组学描绘胶质瘤微环境生态系统与互作网络

3.1　弥漫性胶质瘤TME组成与互作框架概述

弥漫性脑胶质瘤不仅具有显著的肿瘤细胞内在异

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2026-0030

质性，其TME同样呈现高度复杂且可塑的生态特征. TME的细胞组成主要包括：脑内固有免疫细胞(小胶质细胞)与外周来源单核/巨噬细胞等髓系细胞，不同状态的T细胞群，血管相关细胞(内皮细胞、周细胞)以及反应性胶质细胞等. TME主要细胞组分特征见表3. 现有证据提示，在成人弥漫性脑胶质瘤(尤其GBM)中，髓系细胞常构成免疫浸润的主体，并通过免疫抑制、基质重塑与促血管生成等程序参与肿瘤进展与治疗耐受；与此同时，T细胞浸润在患者间差异明显，且常出现功能受限相关表型，共同塑造“免疫抑制”背景[131,132].

从“互作网络”角度看，弥漫性脑胶质瘤TME并非细胞类型的静态拼图，而是由多条信号轴耦合驱动的动态系统：肿瘤细胞可通过趋化与生长因子相关通路促进髓系细胞募集并诱导其免疫抑制性重编程；髓系细胞反过来通过细胞因子、代谢与吞噬相关通路影响肿瘤细胞增殖、侵袭与状态转换，并与血管异常、缺氧应激等信号通路形成反馈回路. 内皮细胞与周细胞参与血管新生与屏障功能改变，进一步影响免疫细胞进入、局部分布及药物递送效率，进一步影响治疗反应[131,132]. 在该框架下，近年来的研究趋势从描述细胞状态转向到阐明调控机制：单细胞/单核转录组及相关多组学方法能够在单细胞分辨率下刻画TME的细胞组成与功能状态图谱，并借助配体-受体推断等策略建立潜在通讯网络，为识别关键互作通路与可干预节点(如靶向髓系细胞募集、存活与重编程等)提供依据[132~134]. 基于这一框架，下文将重点比较儿童与成人弥漫性脑胶质瘤的TME差异，并梳理治疗前后(或原发与复发)微环境的重塑特征及其与肿瘤行为的关联.

3.2 儿童和成年的肿瘤微环境特征变化

既往单细胞多组学研究已广泛用于刻画脑胶质瘤的瘤内异质性，但现阶段证据仍以成人样本为主，儿科高级别脑胶质瘤(pHGG)的单细胞图谱研究相对不足. 尽管部分成人HGG研究提出的潜在治疗靶点可能与pHGG存在交集，但pHGG在遗传学与分子驱动事件上具有实质性差异，这可能对应不同的免疫调控方式与耐药机制[135,136]. 一个主要的区别是染色质调节因子中的驱动突变，包括组蛋白H3点突变，在pHGG中是常见的，但在成人HGG中并不常见[127,137]. 因此，直接以成人单细胞数据外推儿科胶质瘤的微环境特征与治疗策略存在局限，仍需在儿科队列中进一步明确驱动因素和可干预环节.

最近单细胞组学研究的一个主要发现是，儿童脑胶质瘤显示出与成人肿瘤明显不同的TME. 儿童脑肿瘤(包括pHGG)，通常总体上具有较低的免疫细胞浸

表 3 脑胶质瘤微环境细胞组分特征

Table 3 Characteristics of cellular components in the brain glioma microenvironment

细胞类型	来源	标志物	在GBM中的表型	关键分子互作	治疗靶向潜力	与预后关联
肿瘤相关巨噬细胞(TAM)	外周血单核细胞浸润	CD163, CD206, MRC1, TGFB1	M2样极化为主，促肿瘤	SPP1-CD44, CSF1-CSF1R	CSF1R抑制剂, CD47阻断	M2-TAM富集导致不良预后
小胶质细胞	脑内固有免疫细胞	CX3CR1, P2RY12, TMEM119, SALL1, HEXB	部分活化，功能受抑	CX3CL1-CX3CR1, CD47-SIRPA	增强吞噬功能	活化减少导致免疫逃逸
T细胞	外周血浸润	CD3D, CD8A, GZMB, IFNG	浸润减少，功能耗竭	PD1-PDL1, CTLA4-CD80	免疫检查点抑制剂	$CD8^+$浸润导致较好预后
调节性T细胞(Treg)	外周血浸润	FOXP3, IL2RA, CTLA4	比例增加，抑制抗肿瘤免疫	IL10, TGFB1	Treg清除策略	Treg增加导致不良预后
髓系来源抑制细胞(MDSC)	骨髓来源	S100A8, S100A9, CD33	积累增加，免疫抑制	ARG1, iNOS, PGE2	MDSC消耗	MDSC积累导致不良预后
血管内皮细胞	原位增殖/骨髓来源	PECAM1, VWF, CDH5	异常增殖，血脑屏障破坏	VEGF-VEGFR, Notch	抗血管生成治疗	血管异常导致预后差
周细胞	原位	PDGFRB, RGS5, CSPG4	覆盖度降低，血管渗漏	PDGFB-PDGFRB	血管正常化	覆盖度低导致侵袭性高
反应性星形胶质细胞	脑内星形胶质细胞	GFAP, VIM, SERPINA3	A1/A2混合表型	IL6, CHI3L1, LCN2	抑制促炎信号	反应性增强导致预后差
少突胶质细胞	脑内少突胶质细胞	MBP, PLP1, MOG	损伤相关，髓鞘异常	髓鞘碎片清除	髓鞘保护	髓鞘损伤导致功能障碍

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2026-0030

润，反映了相对于成人胶质母细胞瘤的免疫抑制状态[138,139]. 在细胞组成上, 小儿神经胶质瘤中淋巴细胞比例往往偏低，尤其是细胞毒性T细胞等效应淋巴细胞更为稀少；髓系来源的细胞方面亦表现出不同的谱系构成与活化状态，常见髓系来源的巨噬细胞占比较低. 相反，具有特定转录特征的小胶质细胞来源的肿瘤相关巨噬细胞(TAM)更占优势，提示其与发育阶段及细胞来源相关[140].

除细胞组成差异外，儿科胶质瘤的特异性驱动突变(如H3K27M，H3G34R/V等)通过重塑表观遗传与转录组状态，进一步影响TME的功能特征. 染色质可及性与致癌通路的不同使得儿童胶质瘤不仅在TME构成上不同于成人肿瘤，也在细胞因子特征、血管生成程序以及免疫检查点分子表达等方面呈现差异. 以信号通路层面为例，成人高级别胶质瘤常伴随异常的EGFR信号及更突出的炎性细胞因子环境，而儿科胶质瘤中则更常见干扰素相关反应的增强与神经调节通路的活化[139]. 这些差异可能改变肿瘤免疫抑制网络与治疗敏感性，从而影响免疫治疗及靶向治疗的应答模式.

此外，使用整合的单细胞多组学数据集进行的比较分析进一步支持了儿科脑肿瘤的发育具有独特的TME特征[138]. 除遗传差异外, 基质细胞(包括少突胶质细胞和星形胶质细胞)的丰度和功能表型也存在差异, 这些细胞与肿瘤和免疫细胞的相互作用方式与成人肿瘤不同[141]. 总之, 这些观察结果强调, 虽然儿童和成人胶质瘤的特征是高度异质性，但儿童弥漫胶质瘤独特的细胞组成、不成熟的免疫浸润和表观遗传控制特征都在提示治疗策略要结合年龄相关的生物学背景进行专门设计.

3.3 治疗前和治疗后的肿瘤微环境特征变化

肿瘤细胞表型的可塑性及突变谱的差异，可使同一肿瘤内部产生不同的治疗敏感性；与此同时，治疗过程中持续存在的选择压力会推动肿瘤细胞发生适应性改变并不断进化, 最终形成治疗逃逸[142~144]. 在黑色素瘤、白血病等更易获得重复取样的肿瘤类型中，治疗前后匹配样品的研究相对更为常见. 针对这类匹配样本的单细胞多组学分析提示，肿瘤细胞的演化轨迹与疾病复发及不良治疗结局密切相关[145,146]. 相较之下，中枢神经系统肿瘤因取样受限，治疗前后配对队列相对不足. 尽管如此，已有研究通过比较未经治疗与经治疗的脑肿瘤样品(基于批量(bulk)或单细胞层面的分析)概括了治疗抗性脑胶质瘤的若干关键特征，包括潜在治疗靶点、可重塑肿瘤微环境的影响因素，以及驱动不同脑肿瘤亚型向更高恶性程度进展的基因组事件[147~149]. 总体而言，这些研究表明，单细胞技术在解析肿瘤内异质性与治疗相关演化方面具有独特优势, 并为解析抗性机制及提出新的干预策略奠定基础.

例如，在儿科高级别脑胶质瘤中进行的单细胞研究报告了治疗后免疫细胞亚型的显著变化. 相较于治疗前，小胶质细胞减少，同时骨髓源性巨噬细胞增加, 这一变化趋势与成人胶质母细胞瘤中报道的模式相似，但在儿科病例中呈现出明显的定量差异及表型特征差异[76,139]. 与此同时，治疗后TME往往出现干扰素反应相关转录程序的富集，表明免疫微环境被重新激活并形成区别于治疗前的功能状态. 部分研究也观察T细胞耗竭特征增强及抑制性标志物表达上调，这可能与治疗后细胞因子网络改变及免疫检查点轴的增强相互作用有关[76,138].

治疗不仅改变免疫区室，而且影响肿瘤细胞状态动力学. 治疗前样品的单细胞转录组学分析揭示了对治疗敏感的多种胶质瘤细胞状态的存在. 另一方面, 治疗后样本更倾向于具有耐药表型的干细胞样或祖细胞样肿瘤细胞的比例增加[76,138]. 总体上，研究支持肿瘤细胞状态由相对分化、谱系特异的表达程序向分化程度较低、与治疗抗性及复发相关的干细胞样程序转变. 进一步地, 基于scATAC-seq的染色质可及性分析显示, 治疗后调控网络发生重构, 并出现与治疗应激下细胞存活相关的新转录因子活性及其调控模块[150]. 值得注意的是，耐药克隆的扩增与免疫微环境的持续演变可能通过双向信号通讯相互偶联. 治疗后，肿瘤细胞与TAM之间的受体-配体互作谱发生改变，从而促进支持间充质转化及血管生成重塑的微环境形成，而上述过程均与不良临床结局相关[76,138].

4 单细胞组学技术在脑胶质瘤治疗中的潜力

4.1 单细胞数据挖掘新型生物标志物和潜在药物靶点开发

利用scRNA-seq、snRNA-seq以及单细胞蛋白质

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2026-0030

组学(如质谱、质谱流式细胞术等)等技术，研究者已经能够揭示细胞内和细胞间表达模式的精细差异，为生物标志物筛选与靶点发现提供依据.

在肿瘤异质性解析方面，单细胞转录组与表观组学分析可识别具有不同通路激活状态的肿瘤细胞亚群及免疫/基质细胞群体, 这些差异往往与放疗、化疗等治疗敏感性或耐受性相关，并可能影响临床结局. Wang等人[151]报道，肿瘤相关巨噬细胞中存在缺氧相关亚群，该亚群可合成并分泌肾上腺髓质素(adrenomedullin)，导致肿瘤微血管高通透与低灌注；据此提出拮抗该亚群相关信号以促进血管正常化、改善药物递送的策略. 2025年的一项研究通过多维度单细胞分析，首次揭示IDH野生型胶质母细胞瘤中存在具有代谢重编程特征的E-MDSC与M-MDSC亚群[152]. 这两种髓系来源抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)亚群通过与肿瘤干细胞的空间互作形成促癌微环境，其调控网络涉及趋化因子分泌、生长因子激活及表观遗传重塑[152]. 研究发现的E-MDSC特征基因可作为独立预后标志物，并为靶向肿瘤细胞和免疫细胞互作的精准治疗提供了理论依据[152]. 未来研究可进一步探索MDSC亚群特异性代谢通路作为治疗靶点的可行性[152]. 除单一研究的靶点线索外，整合多队列scRNA-seq数据并结合基因调控网络推断，可在不同样本与不同细胞状态间筛选稳定的关键调控因子，从而获得更具可重复性的候选生物标志物[78,153]. 此外，一项纳入59对原发-复发匹配样本并整合单细胞转录组与bulk基因组数据的研究显示，复发肿瘤中恶性细胞比例下降而少突胶质细胞比例升高；更重要的是，治疗前后胶质母细胞瘤的状态转变并不存在统一模式, 不同复发状态对预后的指示意义并不相同, 其中部分复发相关状态(如间充质样/缺氧相关程序)与较差预后相关[154].

其次, 单细胞蛋白质组学平台(如基于质谱的单细胞蛋白定量)可在一定程度上补充转录组数据在功能层面的不足，从蛋白丰度及修饰状态层面直接刻画关键分子及其信号转导. 以EGFR等受体分子为例，蛋白定量不仅有助于评估其表达水平与修饰状态，还可结合多重定量策略构建与肿瘤生物学相关的信号通路网络，从而提高对功能性分子与可干预节点的识别效率[155]. 该类信息对靶点优选具有直接意义，尤其是涉及细胞增殖、凋亡及代谢调控等过程的信号分子，可为小分子药物或单克隆抗体等干预策略的设计提供依据. 已有研究将单细胞转录组与蛋白组学联合应用于复发性恶性胶质瘤，发现M2型TAM显著富集，并可通过SPP1-CD44介导的细胞间互作激活PI3K/Akt/HIF-1α/CA9信号轴，进而影响肿瘤细胞状态[156]. 另有研究整合单细胞转录组、蛋白组学及流式细胞术等多种手段，提示放化疗及血管共选可诱导FGFR1-YAP1轴活化，驱动GBM细胞重编程为血管共选耐药状态(vessel co-option resistant, VC-resist)细胞状态; 该状态相关细胞表现出放化疗耐受、慢循环、干性增强、部分可逆及衰老样等特征[77].

此外，基于单细胞转录组数据的计算推断可用于描绘肿瘤细胞与免疫细胞、血管细胞及胶质细胞之间的互作网络. 通过配体-受体分析与细胞通讯建模，可定位参与免疫抑制、血管生成及侵袭等关键生物学过程的信号轴，从而为靶点筛选及联合治疗策略提供线索[113].

综上，单细胞数据在细胞亚群识别、功能状态刻画及细胞互作解析等方面提升了对脑胶质瘤异质性与治疗相关机制的理解，并为新型生物标志物与潜在药物靶点的发现提供了分子层面的证据支持.

4.2 单细胞数据建模分析评估病人预后

除靶点挖掘外，单细胞组学数据在脑胶质瘤预后评估中的应用也受到关注. 基于单细胞数据的建模分析可在细胞分辨率下提取关键细胞亚群及其转录特征, 并结合统计或机器学习方法构建风险评分, 以预测生存结局及潜在治疗反应，为分层管理与个体化决策提供依据.

首先，单细胞RNA测序数据可以用于对脑胶质瘤中的不同细胞亚型进行详细的划分和功能注释，而每个细胞群体的功能状态与患者预后密切相关. 通过聚类分析、细胞状态识别、伪时间轨迹推断及细胞状态转变建模，可定位与侵袭性增强、增殖活跃或治疗耐受相关的细胞群及其分子程序，并在一定程度上刻画肿瘤细胞的演化路径，从而为识别潜在耐药/复发相关细胞状态提供线索[151,152,157,158].

进一步地, 将单细胞特异性表达信号与bulk RNA测序队列整合，有助于构建具有可推广性的预后模型: 研究通常先从单细胞标注的细胞群或细胞状态中提取候选基因集合，再在大样本bulk队列中进行生存相关

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2026-0030

筛选，并采用LASSO-Cox回归等方法压缩特征，形成由少数关键基因组成的风险评分系统，进而实现患者风险分层[159~161]. 这种基于单细胞特异性表达信号构建的风险评分，不仅在整体患者队列中表现出优秀的预后预测能力，而且在不同病理分型如IDH突变状态、年龄分层等亚组中均显示出较高的独立预测价值.

综上，单细胞数据驱动的预后建模为脑胶质瘤风险分层提供了单细胞分辨率的证据框架，可补充传统bulk模型对肿瘤内异质性与关键细胞状态刻画不足的问题, 并为后续个体化治疗策略优化提供量化依据. 脑胶质瘤相关代表性研究及其关键发现汇总见表4.

5 技术局限性与挑战

单细胞组学产生的高维海量数据给整合分析带来挑战. 目前缺乏统一标准的分析流程, 多模态数据融合存在算法瓶颈. 不同研究采用的批次校正和融合方法不一，导致结果可比性受限[170]. 此外，同时处理转录组、表观遗传和空间信息等多层数据对计算方法提出较高要求. 尽管已有研究对数十种集成算法进行基准评测并提出深度学习方案，但对于纵向研究数据和空间转录组数据的整合分析，仍存在准确性和计算效率方面的挑战[170,171].

单细胞分析依赖新鲜肿瘤标本，但临床中获取多区域、多时间点配对样本非常困难. 传统诊断和研究多取自肿瘤单一区域，这导致大量区域内异质性未被察觉[172]. 纵向随访同一患者初诊和复发肿瘤的单细胞研究更为稀少，样本数量有限使结论的广泛适用性受限. 例如，近期一项研究耗时多年仅收集到86对胶质母细胞瘤初发-复发配对样本, 通过单细胞多组学分析才揭示出复发肿瘤中细胞状态的显著转变[166]. 样本量和代表性的不足不仅影响统计可靠性，也限制了单细胞研究成果向临床转化应用的外推.

当前单细胞测序技术在灵敏度和准确性方面仍有不足. 单细胞转录组测序存在掉落事件, 且受捕获效率与测序深度限制，低丰度转录本(低表达基因)的检出能力有限. 细胞解离和富集过程也会引入偏倚，例如, 传统酶消化可能丢失大型或特定类型细胞(报道显示神经元等细胞类型在单细胞悬液制备中易损失)[170]. 此外，空间位置信息缺失是常规单细胞转录组的先天不足：在组织解离后，细胞间原有的空间关系和微环境线索被破坏[170]. 虽然空间转录组学技术应运而生, 但目前要么分辨率有限(如捕获多细胞的空间点)，要么检测的基因有限[170]. 因此，需通过集成单细胞测序与空间技术来补足各自短板，然而这也对实验设计和数据分析提出更高要求. 此外，不同平台在测序深度、覆盖率上的差异，也使得重复性和跨实验室的一致性受到影响. 总体而言，单细胞组学技术在提升灵敏度、减少细胞捕获偏倚以及结合空间信息等方面都有待进一步改进.

基于单细胞数据构建的肿瘤分类或预后预测模型目前缺乏足够的泛化验证. 许多此类模型往往在有限的患者队列上表现良好，但在独立队列上效果不佳, 说明算法可能过度拟合于特定数据集. 其原因在于单细胞研究的病例样本量有限且偏倚，例如偏重某些亚型患者, 导致模型难以概括多样的临床人群. 此外, 这些模型大多停留在学术研究阶段，缺乏严格的临床前验证和前瞻性临床试验支持[170]. 目前真正将单细胞分析指标用于临床决策的案例寥寥：单细胞测序成本高、流程繁琐，尚未纳入常规诊疗；临床上对预测结果的可信度和实用性保持谨慎态度[161,170]. 因此, 即便单细胞研究揭示了一些与预后相关的细胞亚群或分子特征，如果没有更大样本量的验证和标准化测定方法, 这些发现难以转化为可靠的临床工具. 提升模型的稳健性、加强多中心协作验证，以及将单细胞指标与传统病理和影像特征结合，是未来提高此类预后模型临床实用性的关键.

6 总结与展望

单细胞组学技术在弥漫性脑胶质瘤研究中取得了突破性进展：从揭示肿瘤内部不同发育谱系的细胞状态，到阐明肿瘤微环境的免疫抑制机制及肿瘤细胞对治疗的适应性变化，它为人们提供了精细视角. 这些成果极大地推进了对脑胶质瘤发生发展规律的认识, 并为个性化治疗策略的制定提供了新思路. 然而, 要将这些认识真正应用于患者获益，仍需在未来进一步努力. 在此，我们从三个层面展望单细胞组学在弥漫性胶质瘤领域的未来发展方向.

空间组学和多组学整合技术有望在脑胶质瘤研究中得到更广泛应用. 例如, 空间转录组学的分辨率和通量将不断提高, 使人们能够在组织原位同时解析

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2026-0030

表 4 脑胶质瘤单细胞研究代表性发现汇总

Table 4 Summary of representative findings from single-cell studies in brain glioma

研究方向	研究对象	主要技术	关键发现	临床意义	代表性文献
细胞状态异质性	IDH野生型GBM	scRNA-seq	四种核心细胞状态(NPC/OPC/AC/MES)及层级结构	为靶向治疗提供新靶点	[105]
细胞状态异质性	IDH突变型胶质瘤	scRNA-seq	IDH突变诱导OPC-like状态富集及分化阻滞	解释IDH突变型较好的预后	[111]
细胞状态异质性	GBM(多样本)	scRNA-seq整合	细胞状态可塑性与状态间动态转换机制	提示GBM需多靶点联合治疗	[106]
肿瘤微环境	GBM免疫微环境	scRNA-seq	免疫抑制微环境特征及M2-TAM富集	指导免疫治疗策略	[162]
肿瘤微环境	胶质瘤TAM	scRNA-seq	TAM功能异质性及促肿瘤表型	TAM重编程作为治疗方向	[163]
肿瘤微环境	GBM T细胞	scRNA-seq+TCR	T细胞耗竭特征及克隆扩增受限	解释免疫检查点疗效有限	[164]
儿童胶质瘤	H3K27M-DMG	scRNA-seq	H3K27M驱动的OPC-like分化停滞	确定儿童脑干胶质瘤治疗靶点	[127]
儿童胶质瘤	儿童高级别胶质瘤	scRNA-seq	儿童与成人胶质瘤TME组成差异	提示儿童与成人需不同治疗策略	[165]
治疗耐药	GBM治疗后复发	scRNA-seq	MES状态富集与治疗抵抗关联	预测治疗反应	[166]
治疗耐药	IDH突变型复发	scRNA-seq	治疗诱导的状态转换及耐药克隆扩增	监测耐药发生	[122]
多组学整合	GBM多组学	scRNA+scATAC	转录状态与染色质可及性的调控关联	揭示表观遗传治疗窗口	[167]
纵向演化轨迹	IDH野生型GBM初发-复发配对样本	snRNA-seq联合bulk DNA-seq	59对配对样本分析揭示复发时恶性细胞比例下降而胶质/神经元细胞增加; 观察到72%的可能状态转换轨迹, 无统一复发模式	揭示GBM纵向演化的多样性, 强调个体化治疗策略	[154]
MDSC亚群鉴定	IDH野生型GBM	scRNA-seq联合空间转录组学	首次鉴定E-MDSC和M-MDSC两种独特亚群; E-MDSC与干细胞样肿瘤细胞通过FGF11-FGFR1轴相互作用促进肿瘤生长	发现MDSC靶向治疗新策略	[152]
单细胞参考图谱构建	IDH野生型GBM	整合26个数据集(>110万细胞)联合空间转录组学	构建GBmap图谱; 发现7种肿瘤生态位; 提出肿瘤结构评分(TSS)预测预后	建立GBM标准化参考图谱	[130]
多组学景观与复发机制	弥漫性胶质瘤(310例670个病灶)	空间蛋白组学+转录组学+糖组学	IDH突变型复发由肿瘤-免疫空间重组驱动, 从T细胞富集转向$CD206^+$巨噬细胞主导	揭示复发的免疫重塑机制	[168]
区域特异性可塑性	GBM肿瘤核心与边缘	scRNA-seq联合snATAC-seq	AP-1在核心高活性, BACH1在边缘高活性; 联合抑制两者更有效延缓肿瘤生长	支持区域特异性联合靶向策略	[125]
T细胞耗竭与肿瘤维持	儿童低级别胶质瘤	scRNA-seq	儿童LGG中$PD1^+$/$TIGIT^+$ $CD8^+$耗竭T细胞比例高; 这些细胞分泌旁分泌因子维持肿瘤生长	为儿童LGG免疫治疗提供新思路	[169]

基因表达和空间结构. 从单细胞转录组扩展到单细胞多组学一体化也将成为趋势: 同时获取同一细胞的基因组、转录组、表观遗传和蛋白质组信息, 有助于全面描绘肿瘤细胞状态的分子全貌[170]. 随着新算法和实验方案的发展, 多模态数据的同步获取与分析将更加简便和可靠. 此外, 科研共同体将更加重视数据的质量控制和重复性, 提高不同实验批次、不同实验室之间结果的一致性. 这包括制定单细胞测序的标准操作规范、建立参考对照和标准品等, 从而逐步提升数据的可信度和可比性. 总之, 技术发展方向包括提高分辨率、改进多模态数据整合方法及增强结果可重复性, 不断拓宽人们对胶质瘤生物学的观察维度.

单细胞组学或将在临床诊疗中发挥日益重要的作用. 一方面, 通过将单细胞测序应用于术后肿瘤标本, 可辅助肿瘤分类和分子分型, 为个体化治疗决策提供

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2026-0030

依据. 例如, 不同患者脑胶质瘤中主导性细胞状态的判定, 可能有助于制定更有针对性的治疗方案(如针对富含间充质样细胞的肿瘤采用特定抑制剂等). 另一方面, 单细胞数据衍生的预后模型将用于风险评估和随访管理, 结合空间转录组等技术, 可以构建反映肿瘤组织结构和细胞构成的指标(如肿瘤结构评分等), 这些指标已显示出与患者生存结局的相关性[130]. 未来经过更多验证后, 此类指标有望用于辅助预后分层和疗效监测. 此外, 单细胞分析揭示的关键分子和通路将加速新疗法的开发与验证. 许多潜在靶点(包括肿瘤细胞可塑性维持因子、免疫抑制通路中的分子等)正在动物模型和类器官中进行功能验证, 以评估靶向干预的效果. 例如, 靶向肿瘤相关星形胶质细胞缓解免疫抑制、抑制少突胶质祖细胞样细胞的关键转录因子以阻断肿瘤生长等策略已在前临床研究中展现出希望[170,173]. 随着这些发现向临床推进, 预计将有更多基于单细胞图谱的创新疗法进入临床试验, 推动胶质瘤精准治疗的发展.

为进一步发挥单细胞组学在胶质瘤研究与临床中的作用, 科研界需要建立更开放协作的共享平台和标准化框架. 首先, 应构建跨队列的大型数据库和图谱资源. 例如, 将不同研究团队生成的脑胶质瘤单细胞数据进行汇聚整合, 建立类似“GBM单细胞图谱(GBmap)”的公共资源[130]. 近期有研究整合了26个队列、240例患者的逾百万个单细胞转录组数据, 绘制出胶质母细胞瘤的细胞和空间图谱, 并提出量化肿瘤组织结构的指标用于预后评估[130]. 这类资源为全行业提供了基准参考, 也利于新数据的对比解读. 未来应鼓励更多此类多中心数据整合计划, 实现数据共享共建. 其次, 在样本采集方面, 可建立多中心协作的组织样本库和活检网络, 尤其关注获取纵向配对和多区域取样的宝贵样本. 在统一标准下采集和处理样本, 将减少批次偏差, 提升不同研究之间的数据兼容性. 同时应制定单细胞数据的分析标准和注释规范. 这包括统一细胞类型的命名和鉴定标准、共享分析管线和评价指标等, 使研究结果更容易复用和比较. 最后, 还完善数据共享机制和合作平台, 鼓励临床和科研团队之间的数据和经验交流. 例如建立一个脑胶质瘤单细胞数据的公共存储和分析平台, 研究者可以将自己的数据上传并与他人数据进行交叉分析. 在隐私和伦理允许的前提下, 共享临床随访信息以验证单细胞发现的临床相关性也是关键步骤. 上述措施将促进单细胞组学研究的标准化与临床转化, 并加速有意义的发现转化为临床应用[170].

参考文献

1 Price M, Ballard C, Benedetti J, et al. CBTRUS statistical report: primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2017–2021. Neuro Oncol, 2024, 26: vi1–vi85

2 Tan A C, Ashley D M, López G Y, et al. Management of glioblastoma: state of the art and future directions. CA Cancer J Clin, 2020, 70: 299–312

3 Delgado-López P D, Corrales-García E M. Survival in glioblastoma: a review on the impact of treatment modalities. Clin Transl Oncol, 2016, 18: 1062–1071

4 Stupp R, Mason W P, van den Bent M J, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. N Engl J Med, 2005, 352: 987–996

5 Louis D N, Perry A, Wesseling P, et al. The 2021 WHO classification of tumors of the central nervous system: a summary. Neuro Oncol, 2021, 23: 1231–1251

6 Barnholtz-Sloan J S, Ostrom Q T, Cote D. Epidemiology of brain tumors. Neurol Clin, 2018, 36: 395–419

7 Tamimi A F, Juweid M. Epidemiology and outcome of glioblastoma. In: De Vleeschouwer S, ed. Glioblastoma. Brisbane: Codon Publications, 2017. 143–153

8 Shireman J M, Ammanuel S G, Dey M. Advancing glioma management: the pivotal role of surgical neuro-oncology in driving innovation and translational research. Curr Oncol Rep, 2025, 27: 446–457

9 Jiang T, Nam D H, Ram Z, et al. Clinical practice guidelines for the management of adult diffuse gliomas. Cancer Lett, 2021, 499: 60–72

10 Molinaro A M, Taylor J W, Wiencke J K, et al. Genetic and molecular epidemiology of adult diffuse glioma. Nat Rev Neurol, 2019, 15: 405–417

11 Nicholson J G, Fine H A. Diffuse glioma heterogeneity and its therapeutic implications. Cancer Discov, 2021, 11: 575–590

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2026-0030

12 Tang F, Barbacioru C, Wang Y, et al. mRNA-Seq whole-transcriptome analysis of a single cell. Nat Methods, 2009, 6: 377–382
13 Picelli S, Björklund Å K, Faridani O R, et al. Smart-seq2 for sensitive full-length transcriptome profiling in single cells. Nat Methods, 2013, 10: 1096–1098
14 Macosko E Z, Basu A, Satija R, et al. Highly parallel genome-wide expression profiling of individual cells using nanoliter droplets. Cell, 2015, 161: 1202–1214
15 Rosenberg A B, Roco C M, Muscat R A, et al. Single-cell profiling of the developing mouse brain and spinal cord with split-pool barcoding. Science, 2018, 360: 176–182
16 Habib N, Li Y, Heidenreich M, et al. Div-Seq: single-nucleus RNA-Seq reveals dynamics of rare adult newborn neurons. Science, 2016, 353: 925–928
17 Habib N, Avraham-Davidi I, Basu A, et al. Massively parallel single-nucleus RNA-seq with DroNc-seq. Nat Methods, 2017, 14: 955–958
18 Lake B B, Chen S, Hoshi M, et al. A single-nucleus RNA-sequencing pipeline to decipher the molecular anatomy and pathophysiology of human kidneys. Nat Commun, 2019, 10: 2832
19 Wang T, Roach M J, Harvey K, et al. snPATHO-seq, a versatile FFPE single-nucleus RNA sequencing method to unlock pathology archives. Commun Biol, 2024, 7: 1340
20 Xu Z, Zhang T, Chen H, et al. High-throughput single nucleus total RNA sequencing of formalin-fixed paraffin-embedded tissues by snRandom-seq. Nat Commun, 2023, 14: 2734
21 Navin N, Kendall J, Troge J, et al. Tumour evolution inferred by single-cell sequencing. Nature, 2011, 472: 90–94
22 Dean F B, Nelson J R, Giesler T L, et al. Rapid amplification of plasmid and phage DNA using Phi29 DNA polymerase and multiply-primed rolling circle amplification. Genome Res, 2001, 11: 1095–1099
23 Zong C, Lu S, Chapman A R, et al. Genome-wide detection of single-nucleotide and copy-number variations of a single human cell. Science, 2012, 338: 1622–1626
24 Chen C, Xing D, Tan L, et al. Single-cell whole-genome analyses by Linear Amplification via Transposon Insertion (LIANTI). Science, 2017, 356: 189–194
25 Guo H, Zhu P, Wu X, et al. Single-cell methylome landscapes of mouse embryonic stem cells and early embryos analyzed using reduced representation bisulfite sequencing. Genome Res, 2013, 23: 2126–2135
26 Charlton J, Downing T L, Smith Z D, et al. Global delay in nascent strand DNA methylation. Nat Struct Mol Biol, 2018, 25: 327–332
27 Bianchi A, Scherer M, Zaurin R, et al. scTAM-seq enables targeted high-confidence analysis of DNA methylation in single cells. Genome Biol, 2022, 23: 229
28 Smallwood S A, Lee H J, Angermueller C, et al. Single-cell genome-wide bisulfite sequencing for assessing epigenetic heterogeneity. Nat Methods, 2014, 11: 817–820
29 Luo C, Keown C L, Kurihara L, et al. Single-cell methylomes identify neuronal subtypes and regulatory elements in mammalian cortex. Science, 2017, 357: 600–604
30 Luo C, Rivkin A, Zhou J, et al. Robust single-cell DNA methylome profiling with snmC-seq2. Nat Commun, 2018, 9: 3824
31 Chen X, Miragaia R J, Natarajan K N, et al. A rapid and robust method for single cell chromatin accessibility profiling. Nat Commun, 2018, 9: 5345
32 Xu W, Wen Y, Liang Y, et al. A plate-based single-cell ATAC-seq workflow for fast and robust profiling of chromatin accessibility. Nat Protoc, 2021, 16: 4084–4107
33 Mezger A, Klemm S, Mann I, et al. High-throughput chromatin accessibility profiling at single-cell resolution. Nat Commun, 2018, 9: 3647
34 Lareau C A, Duarte F M, Chew J G, et al. Droplet-based combinatorial indexing for massive-scale single-cell chromatin accessibility. Nat Biotechnol, 2019, 37: 916–924
35 Gao W, Ku W L, Pan L, et al. Multiplex indexing approach for the detection of DNase I hypersensitive sites in single cells. Nucleic Acids Res, 2021, 49: e56
36 Buenrostro J D, Wu B, Litzenburger U M, et al. Single-cell chromatin accessibility reveals principles of regulatory variation. Nature, 2015, 523: 486–490
37 Grosselin K, Durand A, Marsolier J, et al. High-throughput single-cell ChIP-seq identifies heterogeneity of chromatin states in breast cancer. Nat Genet, 2019, 51: 1060–1066

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2026-0030

38 Ai S, Xiong H, Li C C, et al. Profiling chromatin states using single-cell itChIP-seq. Nat Cell Biol, 2019, 21: 1164–1172

39 Skene P J, Henikoff S. An efficient targeted nuclease strategy for high-resolution mapping of DNA binding sites. eLife, 2017, 6: e21856

40 Kaya-Okur H S, Wu S J, Codomo C A, et al. CUT&Tag for efficient epigenomic profiling of small samples and single cells. Nat Commun, 2019, 10: 1930

41 Ku W L, Nakamura K, Gao W, et al. Single-cell chromatin immunocleavage sequencing (scChIC-seq) to profile histone modification. Nat Methods, 2019, 16: 323–325

42 Hainer S J, Bošković A, McCannell K N, et al. Profiling of pluripotency factors in single cells and early embryos. Cell, 2019, 177: 1319–1329. e11

43 Bartosovic M, Kabbe M, Castelo-Branco G. Single-cell CUT&Tag profiles histone modifications and transcription factors in complex tissues. Nat Biotechnol, 2021, 39: 825–835

44 Wu S J, Furlan S N, Mihalas A B, et al. Single-cell CUT&Tag analysis of chromatin modifications in differentiation and tumor progression. Nat Biotechnol, 2021, 39: 819–824

45 Lieberman-Aiden E, van Berkum N L, Williams L, et al. Comprehensive mapping of long-range interactions reveals folding principles of the human genome. Science, 2009, 326: 289–293

46 Nagano T, Lubling Y, Stevens T J, et al. Single-cell Hi-C reveals cell-to-cell variability in chromosome structure. Nature, 2013, 502: 59–64

47 Flyamer I M, Gassler J, Imakaev M, et al. Single-nucleus Hi-C reveals unique chromatin reorganization at oocyte-to-zygote transition. Nature, 2017, 544: 110–114

48 Tan L, Xing D, Chang C H, et al. Three-dimensional genome structures of single diploid human cells. Science, 2018, 361: 924–928

49 Ramani V, Deng X, Qiu R, et al. Massively multiplex single-cell Hi-C. Nat Methods, 2017, 14: 263–266

50 Arrastia M V, Jachowicz J W, Ollikainen N, et al. Single-cell measurement of higher-order 3D genome organization with scSPRITE. Nat Biotechnol, 2022, 40: 64–73

51 Bandura D R, Baranov V I, Ornatsky O I, et al. Mass cytometry: technique for real time single cell multitarget immunoassay based on inductively coupled plasma time-of-flight mass spectrometry. Anal Chem, 2009, 81: 6813–6822

52 Bendall S C, Simonds E F, Qiu P, et al. Single-cell mass cytometry of differential immune and drug responses across a human hematopoietic continuum. Science, 2011, 332: 687–696

53 Stoeckius M, Hafemeister C, Stephenson W, et al. Simultaneous epitope and transcriptome measurement in single cells. Nat Methods, 2017, 14: 865–868

54 Peterson V M, Zhang K X, Kumar N, et al. Multiplexed quantification of proteins and transcripts in single cells. Nat Biotechnol, 2017, 35: 936–939

55 Zhu Y, Piehowski P D, Zhao R, et al. Nanodroplet processing platform for deep and quantitative proteome profiling of 10–100 mammalian cells. Nat Commun, 2018, 9: 882

56 Specht H, Emmott E, Petelski A A, et al. Single-cell proteomic and transcriptomic analysis of macrophage heterogeneity using SCoPE2. Genome Biol, 2021, 22: 50

57 Ibáñez A J, Fagerer S R, Schmidt A M, et al. Mass spectrometry-based metabolomics of single yeast cells. Proc Natl Acad Sci USA, 2013, 110: 8790–8794

58 Liu R, Yang Z. Single cell metabolomics using mass spectrometry: techniques and data analysis. Anal Chim Acta, 2021, 1143: 124–134

59 Hou Y, Guo H, Cao C, et al. Single-cell triple omics sequencing reveals genetic, epigenetic, and transcriptomic heterogeneity in hepatocellular carcinomas. Cell Res, 2016, 26: 304–319

60 Macaulay I C, Haerty W, Kumar P, et al. G&T-seq: parallel sequencing of single-cell genomes and transcriptomes. Nat Methods, 2015, 12: 519–522

61 Rodriguez-Meira A, Buck G, Clark S A, et al. Unravelling intratumoral heterogeneity through high-sensitivity single-cell mutational analysis and parallel RNA sequencing. Mol Cell, 2019, 73: 1292–1305.e8

62 Angermueller C, Clark S J, Lee H J, et al. Parallel single-cell sequencing links transcriptional and epigenetic heterogeneity. Nat Methods, 2016, 13: 229–232

63 Chen S, Lake B B, Zhang K. High-throughput sequencing of the transcriptome and chromatin accessibility in the same cell. Nat Biotechnol, 2019, 37: 1452–1457

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2026-0030

64 Ma S, Zhang B, LaFave L M, et al. Chromatin potential identified by shared single-cell profiling of RNA and chromatin. Cell, 2020, 183: 1103–1116.e20
65 Clark S J, Argelaguet R, Kapourani C A, et al. scNMT-seq enables joint profiling of chromatin accessibility DNA methylation and transcription in single cells. Nat Commun, 2018, 9: 781
66 Zhu C, Zhang Y, Li Y E, et al. Joint profiling of histone modifications and transcriptome in single cells from mouse brain. Nat Methods, 2021, 18: 283–292
67 Ståhl P L, Salmén F, Vickovic S, et al. Visualization and analysis of gene expression in tissue sections by spatial transcriptomics. Science, 2016, 353: 78–82
68 Stickels R R, Murray E, Kumar P, et al. Highly sensitive spatial transcriptomics at near-cellular resolution with Slide-seqV2. Nat Biotechnol, 2021, 39: 313–319
69 Chen K H, Boettiger A N, Moffitt J R, et al. Spatially resolved, highly multiplexed RNA profiling in single cells. Science, 2015, 348: aaa6090
70 Wang X, Allen W E, Wright M A, et al. Three-dimensional intact-tissue sequencing of single-cell transcriptional states. Science, 2018, 361: eaat5691
71 Snuderl M, Fazlollahi L, Le L P, et al. Mosaic amplification of multiple receptor tyrosine kinase genes in glioblastoma. Cancer Cell, 2011, 20: 810–817
72 Patel A P, Tirosh I, Trombetta J J, et al. Single-cell RNA-seq highlights intratumoral heterogeneity in primary glioblastoma. Science, 2014, 344: 1396–1401
73 Verhaak R G W, Hoadley K A, Purdom E, et al. Integrated genomic analysis identifies clinically relevant subtypes of glioblastoma characterized by abnormalities in PDGFRA, IDH1, EGFR, and NF1. Cancer Cell, 2010, 17: 98–110
74 Noushmehr H, Weisenberger D J, Diefes K, et al. Identification of a CpG island methylator phenotype that defines a distinct subgroup of glioma. Cancer Cell, 2010, 17: 510–522
75 Ceccarelli M, Barthel F P, Malta T M, et al. Molecular profiling reveals biologically discrete subsets and pathways of progression in diffuse glioma. Cell, 2016, 164: 550–563
76 Sussman J H, Oldridge D A, Yu W, et al. A longitudinal single-cell and spatial multiomic atlas of pediatric high-grade glioma. Cell Rep Med, 2026, 7: 102766
77 Pichol-Thievend C, Anezo O, Pettiwala A M, et al. VC-resist glioblastoma cell state: vessel co-option as a key driver of chemoradiation resistance. Nat Commun, 2024, 15: 3602
78 Cheng Q, Li J, Fan F, et al. Identification and analysis of glioblastoma biomarkers based on single cell sequencing. Front Bioeng Biotechnol, 2020, 8: 167
79 Parsons D W, Jones S, Zhang X, et al. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. Science, 2008, 321: 1807–1812
80 Yan H, Parsons D W, Jin G, et al. *IDH1* and *IDH2* mutations in gliomas. N Engl J Med, 2009, 360: 765–773
81 Appin C L, Brat D J. Biomarker-driven diagnosis of diffuse gliomas. Mol Aspects Med, 2015, 45: 87–96
82 Jiao Y, Killela P J, Reitman Z J, et al. Frequent *ATRX*, *CIC*, *FUBP1* and *IDH1* mutations refine the classification of malignant gliomas. Oncotarget, 2012, 3: 709–722
83 Kannan K, Inagaki A, Silber J, et al. Whole exome sequencing identifies ATRX mutation as a key molecular determinant in lower-grade glioma. Oncotarget, 2012, 3: 1194–1203
84 Liu X Y, Gerges N, Korshunov A, et al. Frequent ATRX mutations and loss of expression in adult diffuse astrocytic tumors carrying IDH1/IDH2 and TP53 mutations. Acta Neuropathol, 2012, 124: 615–625
85 Reuss D E, Sahm F, Schrimpf D, et al. ATRX and IDH1-R132H immunohistochemistry with subsequent copy number analysis and IDH sequencing as a basis for an “integrated” diagnostic approach for adult astrocytoma, oligodendroglioma and glioblastoma. Acta Neuropathol, 2015, 129: 133–146
86 Lee J K, Wang J, Sa J K, et al. Spatiotemporal genomic architecture informs precision oncology in glioblastoma. Nat Genet, 2017, 49: 594–599
87 Dunn G P, Rinne M L, Wykosky J, et al. Emerging insights into the molecular and cellular basis of glioblastoma. Genes Dev, 2012, 26: 756–784
88 Brennan C W, Verhaak R G W, McKenna A, et al. The somatic genomic landscape of glioblastoma. Cell, 2013, 155: 462–477
89 Sturm D, Witt H, Hovestadt V, et al. Hotspot mutations in *H3F3A* and *IDH1* define distinct epigenetic and biological subgroups of glioblastoma. Cancer Cell, 2012, 22: 425–437

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2026-0030

90 Paugh B S, Qu C, Jones C, et al. Integrated molecular genetic profiling of pediatric high-grade gliomas reveals key differences with the adult disease. J Clin Oncol, 2010, 28: 3061–3068

91 Bax D A, Mackay A, Little S E, et al. A distinct spectrum of copy number aberrations in pediatric high-grade gliomas. Clin Cancer Res, 2010, 16: 3368–3377

92 Cheng Y K, Beroukhim R, Levine R L, et al. A mathematical methodology for determining the temporal order of pathway alterations arising during gliomagenesis. PLoS Comput Biol, 2012, 8: e1002337

93 Sugawa N, Ekstrand A J, James C D, et al. Identical splicing of aberrant epidermal growth factor receptor transcripts from amplified rearranged genes in human glioblastomas. Proc Natl Acad Sci USA, 1990, 87: 8602–8606

94 Biernat W, Huang H, Yokoo H, et al. Predominant expression of mutant *EGFR* (*EGFRvIII*) is rare in primary glioblastomas. Brain Pathol, 2004, 14: 131–136

95 Schwechheimer K, Huang S, Cavenee W K. *EGFR* gene amplification—rearrangement in human glioblastomas. Intl J Cancer, 1995, 62: 145–148

96 Francis J M, Zhang C Z, Maire C L, et al. *EGFR* variant heterogeneity in glioblastoma resolved through single-nucleus sequencing. Cancer Discov, 2014, 4: 956–971

97 Sottoriva A, Spiteri I, Piccirillo S G M, et al. Intratumor heterogeneity in human glioblastoma reflects cancer evolutionary dynamics. Proc Natl Acad Sci USA, 2013, 110: 4009–4014

98 Gill B J, Pisapia D J, Malone H R, et al. MRI-localized biopsies reveal subtype-specific differences in molecular and cellular composition at the margins of glioblastoma. Proc Natl Acad Sci USA, 2014, 111: 12550–12555

99 Damodharan S, Lara-Velazquez M, Williamsen B C, et al. Diffuse intrinsic pontine glioma: molecular landscape, evolving treatment strategies and emerging clinical trials. J Pers Med, 2022, 12: 840

100 Findlay I J, De Iuliis G N, Duchatel R J, et al. Pharmaco-proteogenomic profiling of pediatric diffuse midline glioma to inform future treatment strategies. Oncogene, 2022, 41: 461–475

101 Aziz-Bose R, Monje M. Diffuse intrinsic pontine glioma: molecular landscape and emerging therapeutic targets. Curr Opin Oncol, 2019, 31: 522–530

102 Fortin J, Tian R, Zarrabi I, et al. Mutant *ACVR1* arrests glial cell differentiation to drive tumorigenesis in pediatric gliomas. Cancer Cell, 2020, 37: 308–323.e12

103 Sun Y, Yan K, Wang Y, et al. Context-dependent tumor-suppressive BMP signaling in diffuse intrinsic pontine glioma regulates stemness through epigenetic regulation of CXXC5. Nat Cancer, 2022, 3: 1105–1122

104 Wang Q, Hu B, Hu X, et al. Tumor evolution of glioma-intrinsic gene expression subtypes associates with immunological changes in the microenvironment. Cancer Cell, 2017, 32: 42–56.e6

105 Neftel C, Laffy J, Filbin M G, et al. An integrative model of cellular states, plasticity, and genetics for glioblastoma. Cell, 2019, 178: 835–849.e21

106 Couturier C P, Ayyadhury S, Le P U, et al. Single-cell RNA-seq reveals that glioblastoma recapitulates a normal neurodevelopmental hierarchy. Nat Commun, 2020, 11: 3406

107 Castellan M, Guarnieri A, Fujimura A, et al. Single-cell analyses reveal YAP/TAZ as regulators of stemness and cell plasticity in glioblastoma. Nat Cancer, 2021, 2: 174–188

108 Garofano L, Migliozzi S, Oh Y T, et al. Pathway-based classification of glioblastoma uncovers a mitochondrial subtype with therapeutic vulnerabilities. Nat Cancer, 2021, 2: 141–156

109 Richards L M, Whitley O K N, MacLeod G, et al. Gradient of Developmental and Injury Response transcriptional states defines functional vulnerabilities underpinning glioblastoma heterogeneity. Nat Cancer, 2021, 2: 157–173

110 Tirosh I, Venteicher A S, Hebert C, et al. Single-cell RNA-seq supports a developmental hierarchy in human oligodendroglioma. Nature, 2016, 539: 309–313

111 Venteicher A S, Tirosh I, Hebert C, et al. Decoupling genetics, lineages, and microenvironment in IDH-mutant gliomas by single-cell RNA-seq. Science, 2017, 355: eaai8478

112 Liu I, Jiang L, Samuelsson E R, et al. The landscape of tumor cell states and spatial organization in H3-K27M mutant diffuse midline glioma across age and location. Nat Genet, 2022, 54: 1881–1894

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2026-0030

113 Malta T M, de Souza C F, Sabedot T S, et al. Glioma CpG island methylator phenotype (G-CIMP): biological and clinical implications. Neuro Oncol, 2018, 20: 608–620
114 Ruiz-Rodado V, Malta T M, Seki T, et al. Metabolic reprogramming associated with aggressiveness occurs in the G-CIMP-high molecular subtypes of IDH1mut lower grade gliomas. Neuro Oncol, 2020, 22: 480–492
115 Wick W, Weller M, van den Bent M, et al. MGMT testing—the challenges for biomarker-based glioma treatment. Nat Rev Neurol, 2014, 10: 372–385
116 Tomar M S, Kumar A, Srivastava C, et al. Elucidating the mechanisms of Temozolomide resistance in gliomas and the strategies to overcome the resistance. Biochim Biophys Acta Rev Cancer, 2021, 1876: 188616
117 Mansouri A, Hachem L D, Mansouri S, et al. MGMT promoter methylation status testing to guide therapy for glioblastoma: refining the approach based on emerging evidence and current challenges. Neuro Oncol, 2019, 21: 167–178
118 Chaligne R, Gaiti F, Silverbush D, et al. Epigenetic encoding, heritability and plasticity of glioma transcriptional cell states. Nat Genet, 2021, 53: 1469–1479
119 Wenger A, Ferreyra Vega S, Kling T, et al. Intratumor DNA methylation heterogeneity in glioblastoma: implications for DNA methylation-based classification. Neuro Oncol, 2019, 21: 616–627
120 Nabilsi N H, Deleyrolle L P, Darst R P, et al. Multiplex mapping of chromatin accessibility and DNA methylation within targeted single molecules identifies epigenetic heterogeneity in neural stem cells and glioblastoma. Genome Res, 2014, 24: 329–339
121 Capper D, Jones D T W, Sill M, et al. DNA methylation-based classification of central nervous system tumours. Nature, 2018, 555: 469–474
122 Johnson K C, Anderson K J, Courtois E T, et al. Single-cell multimodal glioma analyses identify epigenetic regulators of cellular plasticity and environmental stress response. Nat Genet, 2021, 53: 1456–1468
123 Sundaram L, Kumar A, Zatzman M, et al. Single-cell chromatin accessibility reveals malignant regulatory programs in primary human cancers. Science, 2024, 385: eadk9217
124 Tome-Garcia J, Erfani P, Nudelman G, et al. Analysis of chromatin accessibility uncovers TEAD1 as a regulator of migration in human glioblastoma. Nat Commun, 2018, 9: 4020
125 Wang X, Sun Q, Liu T, et al. Single-cell multi-omics sequencing uncovers region-specific plasticity of glioblastoma for complementary therapeutic targeting. Sci Adv, 2024, 10: eadn4306
126 Harpaz N, Mittelman T, Beresh O, et al. Single-cell epigenetic analysis reveals principles of chromatin states in H3.3-K27M gliomas. Mol Cell, 2022, 82: 2696–2713.e9
127 Filbin M G, Tirosh I, Hovestadt V, et al. Developmental and oncogenic programs in H3K27M gliomas dissected by single-cell RNA-seq. Science, 2018, 360: 331–335
128 Ravi V M, Will P, Kueckelhaus J, et al. Spatially resolved multi-omics deciphers bidirectional tumor-host interdependence in glioblastoma. Cancer Cell, 2022, 40: 639–655.e13
129 Greenwald A C, Darnell N G, Hoefflin R, et al. Integrative spatial analysis reveals a multi-layered organization of glioblastoma. Cell, 2024, 187: 2485–2501.e26
130 Ruiz-Moreno C, Salas S M, Samuelsson E, et al. Charting the single-cell and spatial landscape of IDH-wild-type glioblastoma with GBmap. Neuro Oncol, 2025, 27: 2281–2295
131 Lin H, Liu C, Hu A, et al. Understanding the immunosuppressive microenvironment of glioma: mechanistic insights and clinical perspectives. J Hematol Oncol, 2024, 17: 31
132 Khan F, Pang L, Dunterman M, et al. Macrophages and microglia in glioblastoma: heterogeneity, plasticity, and therapy. J Clin Invest, 2023, 133: e163446
133 Comba A, Faisal S M, Varela M L, et al. Uncovering spatiotemporal heterogeneity of high-grade gliomas: from disease biology to therapeutic implications. Front Oncol, 2021, 11: 703764
134 Zhou F, Mukherjee P, Mu J, et al. Therapeutic potential of targeting macrophages and microglia in glioblastoma. Trends Pharmacol Sci, 2025, 46: 848–862
135 Jones C, Perryman L, Hargrave D. Paediatric and adult malignant glioma: close relatives or distant cousins? Nat Rev Clin Oncol, 2012, 9: 400–413
136 Sturm D, Pfister S M, Jones D T W. Pediatric gliomas: current concepts on diagnosis, biology, and clinical management. J Clin Oncol, 2017, 35:

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2026-0030

2370–2377
137 Mackay A, Burford A, Carvalho D, et al. Integrated molecular meta-analysis of 1,000 pediatric high-grade and diffuse intrinsic pontine glioma. Cancer Cell, 2017, 32: 520–537.e5
138 Cao L, Xie W, Ma W, et al. The unique immune ecosystems in pediatric brain tumors: integrating single-cell and bulk RNA-sequencing. Front Immunol, 2023, 14: 1238684
139 DeSisto J, Donson A M, Griesinger A M, et al. Tumor and immune cell types interact to produce heterogeneous phenotypes of pediatric high-grade glioma. Neuro Oncol, 2024, 26: 538–552
140 Ross J L, Chen Z, Herting C J, et al. Platelet-derived growth factor beta is a potent inflammatory driver in paediatric high-grade glioma. Brain, 2021, 144: 53–69
141 Murdaugh R L, Anastas J N. Applying single cell multi-omic analyses to understand treatment resistance in pediatric high grade glioma. Front Pharmacol, 2023, 14: 1002296
142 Touat M, Li Y Y, Boynton A N, et al. Mechanisms and therapeutic implications of hypermutation in gliomas. Nature, 2020, 580: 517–523
143 Marusyk A, Janiszewska M, Polyak K. Intratumor heterogeneity: the Rosetta stone of therapy resistance. Cancer Cell, 2020, 37: 471–484
144 Raynaud F, Mina M, Tavernari D, et al. Pan-cancer inference of intra-tumor heterogeneity reveals associations with different forms of genomic instability. PLoS Genet, 2018, 14: e1007669
145 Gaiti F, Chaligne R, Gu H, et al. Epigenetic evolution and lineage histories of chronic lymphocytic leukaemia. Nature, 2019, 569: 576–580
146 Granja J M, Klemm S, McGinnis L M, et al. Single-cell multiomic analysis identifies regulatory programs in mixed-phenotype acute leukemia. Nat Biotechnol, 2019, 37: 1458–1465
147 Barthel F P, Johnson K C, Varn F S, et al. Longitudinal molecular trajectories of diffuse glioma in adults. Nature, 2019, 576: 112–120
148 Petralia F, Tignor N, Reva B, et al. Integrated proteogenomic characterization across major histological types of pediatric brain cancer. Cell, 2020, 183: 1962–1985.e31
149 Mueller S, Jain P, Liang W S, et al. A pilot precision medicine trial for children with diffuse intrinsic pontine glioma—PNOC003: a report from the Pacific Pediatric Neuro-Oncology Consortium. Intl J Cancer, 2019, 145: 1889–1901
150 Pine A R, Cirigliano S M, Singhania R, et al. Microenvironment-driven dynamic chromatin changes in glioblastoma recapitulate early neural development at single-cell resolution. Cancer Res, 2023, 83: 1581–1595
151 Wang W, Li T, Cheng Y, et al. Identification of hypoxic macrophages in glioblastoma with therapeutic potential for vasculature normalization. Cancer Cell, 2024, 42: 815–832.e12
152 Jackson C, Cherry C, Bom S, et al. Distinct myeloid-derived suppressor cell populations in human glioblastoma. Science, 2025, 387: eabm5214
153 Qin G, Du L, Ma Y, et al. Gene biomarker prediction in glioma by integrating scRNA-seq data and gene regulatory network. BMC Med Genomics, 2021, 14: 287
154 Spitzer A, Johnson K C, Nomura M, et al. Deciphering the longitudinal trajectories of glioblastoma ecosystems by integrative single-cell genomics. Nat Genet, 2025, 57: 1168–1178
155 Chen L, Qin D, Guo X, et al. Putting proteomics into immunotherapy for glioblastoma. Front Immunol, 2021, 12: 593255
156 Lin C, Lin L, Mao S, et al. Reconstituting glioma perivascular niches on a chip for insights into chemoresistance of glioma. Anal Chem, 2018, 90: 10326–10333
157 Wan Q, Wu X, Zhou J, et al. The hypoxia-associated high-risk cell subpopulation distinctly enhances the progression of glioma. Adv Sci, 2025, 12: e2416231
158 Curry R N, Ma Q, McDonald M F, et al. Integrated electrophysiological and genomic profiles of single cells reveal spiking tumor cells in human glioma. Cancer Cell, 2024, 42: 1713–1728.e6
159 Fan F, Zhang H, Dai Z, et al. A comprehensive prognostic signature for glioblastoma patients based on transcriptomics and single cell sequencing. Cell Oncol, 2021, 44: 917–935
160 Zhang J, Guan M, Wang Q, et al. Single-cell transcriptome-based multilayer network biomarker for predicting prognosis and therapeutic response of gliomas. Brief Bioinf, 2020, 21: 1080–1097
161 Zheng Y, Carrillo-Perez F, Pizurica M, et al. Spatial cellular architecture predicts prognosis in glioblastoma. Nat Commun, 2023, 14: 4122
162 Pombo Antunes A R, Scheyltjens I, Lodi F, et al. Single-cell profiling of myeloid cells in glioblastoma across species and disease stage reveals macrophage competition and specialization. Nat Neurosci, 2021, 24: 595–610

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2026-0030

163 Müller S, Kohanbash G, Liu S J, et al. Single-cell profiling of human gliomas reveals macrophage ontogeny as a basis for regional differences in macrophage activation in the tumor microenvironment. Genome Biol, 2017, 18: 234

164 Mathewson N D, Ashenberg O, Tirosh I, et al. Inhibitory CD161 receptor identified in glioma-infiltrating T cells by single-cell analysis. Cell, 2021, 184: 1281–1298.e26

165 Jessa S, Blanchet-Cohen A, Krug B, et al. Stalled developmental programs at the root of pediatric brain tumors. Nat Genet, 2019, 51: 1702–1713

166 Wang L, Jung J, Babikir H, et al. A single-cell atlas of glioblastoma evolution under therapy reveals cell-intrinsic and cell-extrinsic therapeutic targets. Nat Cancer, 2022, 3: 1534–1552

167 Wang L, Babikir H, Müller S, et al. The phenotypes of proliferating glioblastoma cells reside on a single axis of variation. Cancer Discov, 2019, 9: 1708–1719

168 Piyadasa H, Oberlton B, Ribi M, et al. Multi-omic landscape of human gliomas from diagnosis to treatment and recurrence. Cancer Cell, 2026, 44: 112–128.e6

169 Barakat R, Chatterjee J, Mu R, et al. Human single cell RNA-sequencing reveals a targetable $CD8^+$ exhausted T cell population that maintains mouse low-grade glioma growth. Nat Commun, 2024, 15: 10312

170 Yabo Y A, Heiland D H. Understanding glioblastoma at the single-cell level: recent advances and future challenges. PLoS Biol, 2024, 22: e3002640

171 Liu C, Ding S, Kim H J, et al. Multitask benchmarking of single-cell multimodal omics integration methods. Nat Methods, 2025, 22: 2449–2460

172 Mathur R. Overcoming heterogeneity with 3D whole-tumour sampling. Nat Rev Cancer, 2024, 24: 825

173 Suter R K, Jermakowicz A M, Veeramachaneni R, et al. Drug and single-cell gene expression integration identifies sensitive and resistant glioblastoma cell populations. Nat Commun, 2026, 17: 99

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2026-0030

Research progress of single-cell omics sequencing in diffuse glioma

HUANG WeiCheng[1,2,3†], XIAO Qun[1,2,3†], HOU Yu[1,4*], WANG XiangYu[2,3*], LIU Qing[2,3*] & GUO HongShan[1,5*]

[1] *Liangzhu Laboratory, Zhejiang University, Hangzhou 311100, China*
[2] *Neurosurgery of Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China*
[3] *Furong Laboratory, Central South University, Changsha 410013, China*
[4] *Children's Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310051, China*
[5] *The First Affiliated Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310006, China*
† *Contributed equally to this work*
* *Corresponding authors, E-mail: houyu@zju.edu.cn; wxymgh1989@csu.edu.cn; liuqingdr@csu.edu.cn; guohs@zju.edu.cn*

Diffuse gliomas, which are highly invasive malignant tumors, display considerable biological heterogeneity. This heterogeneity is central to the challenges of therapeutic resistance and the persistently elevated recurrence rates observed in patients. The advent of single-cell omics technologies has enabled the characterization of cellular diversity and microenvironmental interactions within gliomas at an unprecedented resolution. Research now demonstrates that gliomas contain multiple, co-existing cellular states—including neural progenitor-like, oligodendrocyte progenitor-like, astrocyte-like, and mesenchymal-like cells. These states are plastic and can dynamically shift under therapeutic stress, representing a key mechanism of treatment evasion and drug resistance. Through techniques like single-cell RNA and epigenetic sequencing, scientists have mapped the cellular landscapes of primary and recurrent tumors, revealing that recurrence is frequently marked by an enrichment of mesenchymal-like phenotypes and a concomitant remodeling of the immune microenvironment (e.g., heightened T cell infiltration). Moreover, these analyses have elucidated critical tumor-microenvironment crosstalk: tumor-associated reactive astrocytes foster an immunosuppressive niche, while stromal components like cancer-associated fibroblasts promote growth via paracrine signaling. These insights are driving the identification of novel therapeutic targets and biomarkers. Furthermore, single-cell data is being leveraged to develop risk stratification models, exploring how the abundance or spatial architecture of specific cell states correlates with clinical outcomes. Collectively, these advances are enabling a deeper, more nuanced understanding of glioma biology—from its intrinsic heterogeneity and dynamic microenvironment to its mechanisms of resistance—laying the essential groundwork for personalized therapeutic strategies in the era of precision medicine.

single-cell sequencing, gliomas, cellular heterogeneity, tumor microenvironment

doi: 10.1360/SSV-2026-0030

https://www.sciengine.com/doi/10.1360/SSV-2026-0030