

# 单细胞测序技术在脂肪组织研究中的应用

胡帆 杨颖\*

(上海交通大学附属第六人民医院, 上海市糖尿病研究所, 上海 200030)

**摘要** 脂肪组织由多种不同类型和功能各异的细胞构成, 呈现出复杂的异质性, 单细胞测序技术为揭示脂肪组织的异质性提供了重要手段。该文对单细胞测序技术在脂肪组织中的应用进行总结, 从该技术在脂肪细胞异质性, 免疫细胞与脂肪细胞的交互调控作用和脂肪细胞分化的拟时序分析等方面进行探讨, 旨在全面、充分认识该技术在脂肪组织研究中的重要作用和意义, 从而更好地将其用于脂肪组织和代谢性疾病等方面的研究。

**关键词** 单细胞测序; 脂肪组织; 异质性

## Application of Single Cell Sequencing Technology in Adipose Tissue

HU Fan, YANG Ying\*

(Shanghai Diabetes Institute, Shanghai Jiao Tong University Affiliated Sixth People's Hospital, Shanghai 200030, China)

**Abstract** Adipose tissue is composed of different types and functions of cells, showing complex heterogeneity. Single cell transcriptome sequencing technology provides an important tool for deconvolving cellular heterogeneity. The current review summarizes the application of single cell sequencing in adipose tissue, including adipocyte heterogeneity, the crosstalk between immune cells and adipocytes, and the pseudotime analysis of adipocyte differentiation, aiming to address the important role and significance of this technology in the study of adipose tissue and apply it to metabolic diseases.

**Keywords** single cell sequencing; adipose tissue; heterogeneity

对于脂肪组织和细胞的异质性研究, 有助于我们更深层理解脂肪组织在生理及肥胖、胰岛素抵抗等病理情况下的功能和调控机制。脂肪组织主要包括白色脂肪组织(white adipose tissue, WAT)和棕色脂肪组织(brown adipose tissue, BAT)。WAT按解剖位置可分为皮下脂肪组织(subcutaneous adipose tissue, SAT)和内脏脂肪组织(visceral adipose tissue, VAT), VAT脂肪的积聚被认为与胰岛素抵抗和代谢性疾病的风险增加相关, 而SAT脂肪的积累甚至可能对代谢综合征起到保护作用<sup>[1-2]</sup>。根据形态和功能, 脂肪细胞可被分为3类, 白色脂肪细胞负责脂质的储

存和释放, 棕色脂肪细胞因含有大量线粒体和解耦连蛋白1(uncoupling protein 1, UCP1)而具有产热功能, 米色脂肪细胞则散布在WAT中, 可响应外界刺激表达UCP1产生类似于棕色脂肪细胞的功能, 且白色和棕色脂肪细胞来自不同的发育起源<sup>[3-4]</sup>。在细胞成分上, 除成熟脂肪细胞外, 脂肪组织还包括脂肪前体细胞(adipocyte precursor cells, APCs)、前脂肪细胞、免疫细胞、内皮细胞和血管祖细胞等多种细胞类型, 统称为基质血管成分(stromal vascular fraction, SVF)。脂肪组织的异质性不仅体现在解剖位置和复杂的细胞成分上, 即使是同一脂肪组织的脂肪细胞

收稿日期: 2020-07-15 接受日期: 2020-09-15

国家自然科学基金(批准号: 81670778、81974122)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 021-64749885, E-mail: yangyingsh@sjtu.edu.cn

Received: July 15, 2020

Accepted: September 15, 2020

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81670778, 81974122)

\*Corresponding author. Tel: +86-21-64749885, E-mail: yangyingsh@sjtu.edu.cn

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5418>

也存在异质性。例如, 同一小鼠WAT中存在对炎症细胞因子、胰岛素和生长激素响应能力不同的脂肪细胞群体, 人脂肪祖细胞中也发现了分子表型和代谢表型不同的亚群<sup>[5-6]</sup>; 同一棕色脂肪组织中, 肾上腺素刺激时, 脂肪细胞线粒体膜电位和UCP1激活水平呈现出异质变化<sup>[7-8]</sup>。上述对脂肪组织异质性的研究在方法学上多数采用遗传示踪和流式细胞术, 由于只选择有限的基因产物来标记和追踪细胞, 结果存在偏倚且难以获得全面的信息, 因此, 尽管在一定程度上揭示了脂肪细胞种类和功能的异质性, 但对脂肪细胞谱系动态、发育机制、细胞亚型的详细分子描述和具体代谢表型尚未完全阐明。

单细胞转录组学技术应运而生, 使得对成千上万个细胞进行单细胞mRNA测序(single cell RNA sequencing, scRNA-seq)成为可能。通过新的聚类、可视化和建模算法, 在鉴定关键的细胞亚群和状态, 推断细胞分化轨迹中具有明显优势, 实现了在单个细胞水平上全面、无偏倚地评估细胞异质性和功能状态<sup>[9]</sup>。本文将单细胞测序技术应用于脂肪组织的研究进行总结, 从而为在脂肪组织研究中更好地利用这一技术提供思路。

## 1 脂肪细胞的异质性分析

目前关于脂肪细胞异质性分析的单细胞研究主要集中于APCs, 少数为成熟脂肪细胞。

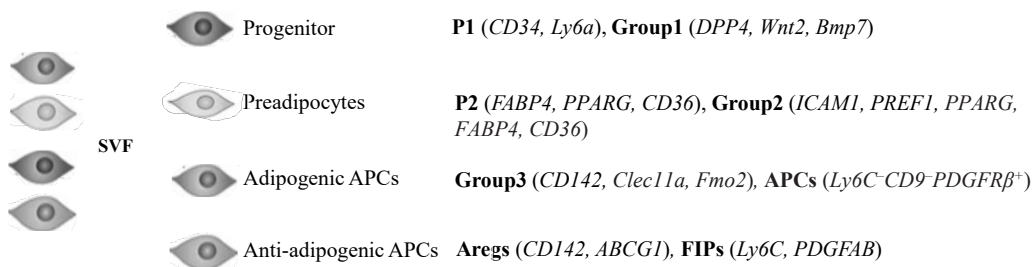
由于成熟脂肪细胞富含脂滴, 体积较大, 早期的scRNA-seq技术难以对其进行分析。近期出现的单细胞核RNA测序(single nuclei RNA-sequencing, snRNA-seq), 通过分析细胞核的转录本水平, 使成熟脂肪细胞在单细胞层面的研究得以开展。scRNA-seq和snRNA-seq技术是否可以获得一致性结果, 尚

存在争议<sup>[10]</sup>。下文将对两种技术应用于APCs和成熟脂肪细胞的研究进行阐述。

### 1.1 APCs异质性的细胞图谱

既往研究普遍认为, WAT中的脂肪祖细胞表达常见祖细胞或间充质细胞表面标志物如PDGF $\alpha$ 、CD34和SCA-1(Ly6a), PDGF $\beta$ 在某些条件下也有助于脂肪细胞的形成<sup>[11-15]</sup>。但细胞群体之间的重叠、异质性和发展相互关系尚未完全了解。关于脂肪祖细胞的scRNA-seq研究一般通过这些表面标志物对SVF细胞进行分选, 以描绘脂肪祖细胞的分子图谱(图1), 研究不同亚群的功能特点(表1)。

**1.1.1 皮下脂肪组织APCs的多样性** 尽管2017年ACOSTA等<sup>[16]</sup>曾报道, 人SAT中APCs由单一同质的细胞群构成, 但该研究分析的细胞数量有限( $n=381$ ), 因此难以评估异质性。随后, SCHWALIE等<sup>[17]</sup>进行了第一个小鼠WAT的单细胞测序研究, 发现在Lin<sup>-</sup>(CD31<sup>-</sup>CD45<sup>-</sup>TER119<sup>-</sup>) CD29<sup>+</sup>CD34<sup>+</sup>SCA-1<sup>+</sup> SVF中至少存在3个亚群, 其中P1亚群表达干细胞特异性基因(*CD34*和*Ly6a*), P2亚群表达前脂肪细胞基因(*FABP4*、*PPARG*和*CD36*), P1、P2亚群分别处于脂肪细胞分化阶段的两极, 占有亚群的90%。另一个既往无法识别的亚群P3主要表达*CD142*和*ABCG1*, 该亚群缺乏成脂能力且能够抑制其他细胞成脂, 故被称为脂肪形成调节细胞(adipogenesis-regulatory cells, Aregs)。该研究首次提供了存在抑制性APCs的证据, 并强调其在成脂过程中发挥负调控作用的重要机制。MERRICK等<sup>[18]</sup>对小鼠腹股沟白色脂肪(inguinal white adipose tissue, iWAT)来源的SVF进行单细胞测序, 鉴定了DPP4<sup>+</sup>、ICAM1<sup>+</sup>和CD142<sup>+</sup> 3个主要亚群。DPP4<sup>+</sup>亚群具有更强的增殖能力和多向分化能力, 在体外培养条件下向脂肪分



SVF: 基质血管成分; APCs: 脂肪前体细胞; Aregs: 脂肪形成调节细胞; FIPs: 纤维-炎症祖细胞。

SVF: stromal vascular fraction; APCs: adipose precursor cells; Aregs: adipogenesis-regulatory cells; FIPs: fibro-inflammatory progenitors.

图1 脂肪前体细胞的异质性

Fig.1 Heterogeneity of adipose precursor cells

表1 脂肪组织中单细胞转录组的研究总结

Table 1 Summary of studies that characterize the single-cell transcriptome in the adipose tissue

方法 Method	技术 Technique	分选策略 Sorting strategy	物种 Species	样本来源 Depot	参考文献 Reference
scRNA-seq	10x Genomics	PDGFR $\beta$ <sup>+</sup>	Mouse	VAT	[19]
scRNA-seq	10x Genomics	SCA-1 <sup>+</sup> CD31 <sup>-</sup> CD45 <sup>-</sup> TER119 <sup>-</sup>	Mouse	VAT	[20]
scRNA-seq	10x Genomics	CD45 <sup>+</sup>	Mouse	VAT	[34]
scRNA-seq	inDrops	CD45 <sup>+</sup> CD31 <sup>-</sup> PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup> SCA-1 <sup>+</sup> PDPN <sup>+</sup>	Mouse	VAT	[31]
scRNA-seq	Fluidigm C1 and 10x Genomics	Lin <sup>-</sup> (CD31 <sup>-</sup> CD45 <sup>-</sup> TER119 <sup>-</sup> )CD29 <sup>+</sup> CD34 <sup>+</sup> SCA-1 <sup>+</sup>	Mouse	SAT	[17]
scRNA-seq	Fluidigm C1	Not mentioned	Human	SAT	[16]
snRNA-seq and scRNA-seq	Smartseq2 and 10x Genomics	Not mentioned	Mouse Human	BAT	[28]
snRNA-seq and scRNA-seq	10x Genomics and Drop-seq	Not mentioned	Mouse	SAT	[26]
scRNA-seq	10x Genomics	Not mentioned	Mouse	BAT	[27]
scRNA-seq	10x Genomics	Lin <sup>-</sup> [CD45 <sup>-</sup> CD45R <sup>-</sup> CD11b <sup>-</sup> Gr1 (Ly6G/C) <sup>-</sup> TER119 <sup>-</sup> ]/Lin <sup>+</sup>	Mouse	SAT VAT	[23]
scRNA-seq	10x Genomics	Depletion CD45 <sup>+</sup>	Mouse Human	SAT	[18]
scRNA-seq	10x Genomics	CD45 <sup>+</sup>	Mouse	VAT	[32]
scRNA-seq	10x Genomics	CD34 <sup>+</sup> /CD34 <sup>-</sup>	Mouse Human	SAT EAT	[25]

SAT: 皮下脂肪组织; VAT: 内脏脂肪组织; BAT: 棕色脂肪组织。

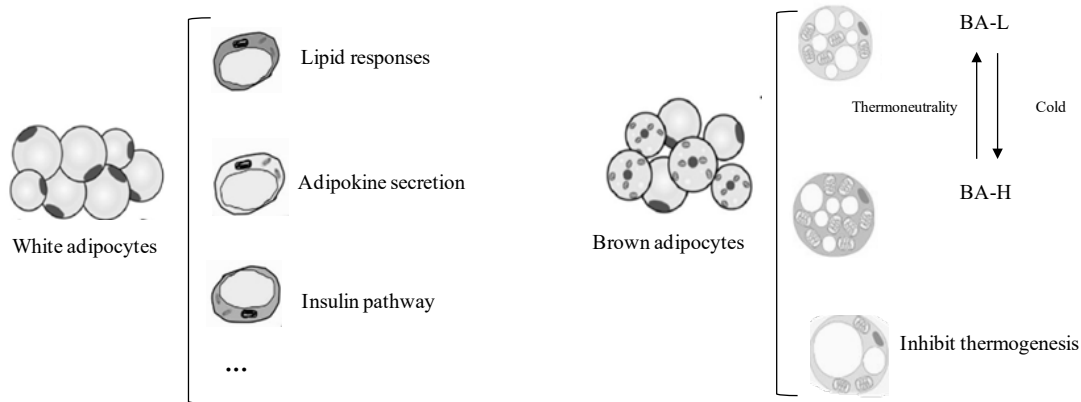
SAT: subcutaneous adipose tissue; VAT: visceral adipose tissue; BAT: brown adipose tissue.

化的能力较弱, 给予TGF- $\beta$ 可完全抑制其向脂肪分化; ICAM1<sup>+</sup>和CD142<sup>+</sup>亚群在胰岛素刺激下即可分化为成熟脂肪细胞。在基因标志(gene signature)上, 上述3个亚群分别与SCHWALIE等报道的P1、P2和P3亚群对应, 两项研究均发现, 与iWAT相比, 附睾旁白色脂肪组织(epididymal white adipose tissue, eWAT)的SVF中含有更高比例的CD142或Aregs(P3)亚群, 并且肥胖可使其比例增加。尽管CD142<sup>+</sup>亚群与Aregs亚群基因标志相似, 但功能相反, 这种差异可能源于两项研究中FACS的策略不同<sup>[13]</sup>。

1.1.2 内脏脂肪组织APCs的多样性 小鼠附睾旁白色脂肪组织PDGFR $\beta$ <sup>+</sup>的细胞中也发现了功能上类似于Aregs的亚群, 该亚群高表达Ly6C, 体外实验发现, 其几乎不具有分化为脂肪细胞的能力, 并可抑制其他APCs分化为脂肪细胞。同时该亚群高表达促纤维化和炎症相关基因, 可促进纤维形成和炎症发生, 因此被称为纤维-炎症祖细胞(fibro-inflammatory progenitors, FIPs)。另一亚群Ly6C<sup>-</sup>CD9<sup>-</sup>PDGFR $\beta$ <sup>+</sup>则具有较强的成脂能力, 被称为APCs。高脂饮食条件下, FIPs亚群表现出相对较强的增殖能力, 比例显著增加。值得注意的是, HFD可促进APCs亚群中

*IL6*、*TNFA*、*Colla1*、*Col3a1*等基因的表达, 提示在肥胖等外界刺激下, 体内APCs亚群具有触发炎症反应的潜力<sup>[19]</sup>。该研究揭示了eWAT中APCs的功能异质性, FIPs亚群的发现有助于探索WAT重塑和导致代谢功能障碍机制的研究。在另一项研究中, 高脂饮食诱导的肥胖小鼠Lin<sup>-</sup>SCA-1<sup>+</sup>的细胞中脂肪干细胞和前脂肪细胞占比与普通饮食小鼠相似, 但其中抑制脂肪分化的亚群比例增加, 促进脂肪分化的比例减少。此外, 该研究利用各亚群细胞的表面标记CD55、CD81和CD9, 与传统的脂肪干细胞和前脂肪细胞标记结合使用, 为分离和研究肥胖下的APCs亚群细胞的功能提供了新的策略<sup>[20]</sup>。

1.1.3 SAT和VAT中APCs的异同  $\beta$ 3肾上腺素受体( $\beta$ 3-adrenergic receptors, ADRB3)激活时, eWAT中表达PDGF $\alpha$ 的脂肪干细胞增殖并分化为新的米色脂肪细胞, 而ADRB3激活几乎不引起iWAT中PDGFR $\alpha$ 细胞增殖或新生脂肪形成, 大多数米色脂肪细胞源于已有的白色脂肪细胞<sup>[21-22]</sup>。为此, BURL等<sup>[23]</sup>利用scRNA-seq对 $\beta$ 肾上腺素受体激动剂(CL-316243)诱导的脂肪组织重构进行研究, 发现iWAT和eWAT均由ASC1和ASC2亚群组成, 但两者占比不同, eWAT



BA-L: 低产热活性棕色脂肪细胞; BA-H: 高产热活性棕色脂肪细胞。

BA-L: brown adipocytes with low thermogenic activity; BA-H: brown adipocytes with high thermogenic activity.

图2 成熟脂肪细胞的异质性(根据参考文献[27]修改)

Fig.2 Heterogeneity of mature adipocytes (modified from reference [27])

主要由ASC1组成, iWAT则主要由ASC2组成。β肾上腺素受体激动剂处理3天时, iWAT中上调的脂肪从头合成的基因数少于eWAT, 表明受到肾上腺素能刺激时, eWAT更容易进行脂肪从头合成。最近, OGURI等<sup>[24]</sup>对Lin<sup>-</sup>SVF进行单细胞测序发现, CD81作为iWAT中米色脂肪祖细胞的标记物, 而且在调控米色脂肪细胞增殖和全身能量稳态中也发挥重要作用。另外, 利用在eWAT中鉴定的FIPs亚群的表面标志物Ly6C<sup>+</sup>PDGFRβ<sup>+</sup>, 未能在iWAT中分离出相应亚群<sup>[18-19]</sup>, 提示iWAT和eWAT的分选策略并不一定通用, 也证实SAT和VAT细胞亚群的分布异质性。SAT和VAT共同存在的亚群也有报道, 例如, 在肥胖人群的SAT和VAT中既存在表达与脂肪细胞分化相关基因CFD(complement factor D)的亚群, 也存在VAT特异的亚群, 该亚群起源于间皮细胞且具有线粒体活性和向米色脂肪细胞分化的潜能。尽管尚不清楚这种米色脂肪祖细胞在肥胖个体VAT中存在的生理意义, 但其可能作为一种代偿机制, 减轻肥胖对机体的不良影响<sup>[25]</sup>。

## 1.2 成熟脂肪细胞的异质性图谱

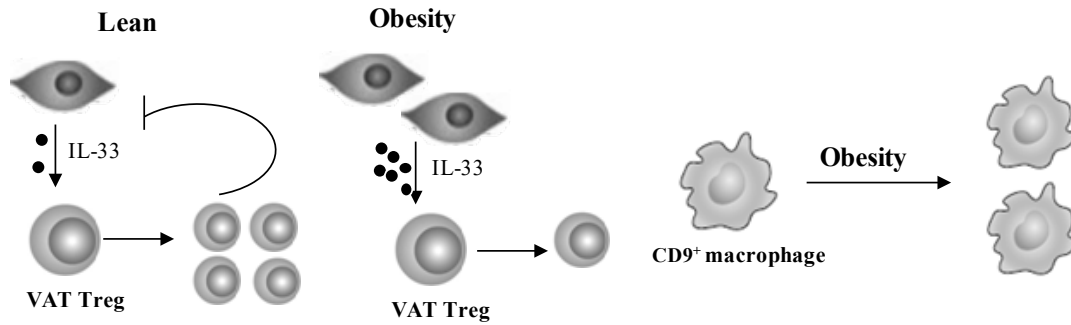
白色脂肪细胞功能的多样性并非由同一细胞群体执行不同功能所致, 而可能是通过功能不同的多种细胞亚群实现。RAJBHANDARI等<sup>[26]</sup>利用snRNA-seq, 发现寒冷或β肾上腺素受体激动剂处理时, 成熟白色脂肪细胞中除了存在具有产热活性的亚群, 还可细分为负责脂肪组织发育、脂肪因子分泌、胰岛素信号传导、脂质合成和运输等不同功能的亚群。既往认为, 成熟棕色脂肪为高度同质化的细胞。最近两项研究发现, 棕色脂肪细胞在产热能力上也具

有异质性<sup>[27-28]</sup>(图2)。小鼠BAT中可以同时存在两种产热活性的脂肪细胞, 低产热活性的棕色脂肪细胞(brown adipocytes with low thermogenic activity, BA-L)和高产热活性的棕色脂肪细胞(brown adipocytes with high thermogenic activity, BA-H), 并且能够相互转化, 在寒冷环境下BA-L转化为BA-H, 而在热中性条件下则相反(图2)。BA-H棕色脂肪细胞也可进一步细分为负责线粒体合成、胰岛素响应和脂肪产热等各个亚群, 但BA-L亚群的功能和谱系以及调节BA-H和BA-L两亚群之间相互转化的分子机制有待明确。抑制产热的棕色脂肪细胞也通过snRNA-seq得以发现。SUN等<sup>[28]</sup>首次对小鼠和人类棕色脂肪细胞同时进行单细胞分析, 发现了一类新的抑制产热的棕色脂肪细胞, 该亚群在寒冷、室温、热中性条件下逐渐增加, 即冷刺激下该群体的细胞比例减少, 而在缺乏交感神经输入的情况下比例增加, 同时在人颈部脂肪组织中比例更高, 该发现能够部分解释人类BAT的活性远低于小鼠, 另外, 对该亚群细胞进行干预可能有利于恢复人BAT的产热活性<sup>[28]</sup>。

## 2 免疫细胞与脂肪细胞的交互调控作用分析

### 2.1 T细胞与脂肪细胞的交互作用

脂肪组织浸润的免疫细胞在脂肪组织功能障碍影响代谢性疾病的发生和发展过程中起着重要作用。VIJAY等<sup>[25]</sup>描绘了肥胖人群脂肪组织免疫细胞图谱, 发现在14种免疫细胞亚群中, 一群高表达金属硫蛋白基因的CD8<sup>+</sup>T细胞可能与肥胖相关。这些金属硫蛋白基因仅在潜在功能障碍的T细胞中表达, 而在活化



Treg: 调节性T细胞。  
Treg: regulatory T cell.

图3 免疫细胞与脂肪细胞间的调控(根据参考文献[31]修改)

Fig.3 Crosstalk between immune cells and adipocytes (modified from reference [31])

的记忆CD8<sup>+</sup> T细胞中不表达,为T细胞在脂肪组织炎症和胰岛素抵抗中的作用提供新的机制。既往研究报道, Foxp3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>调节性T细胞对抑制VAT炎症和代谢异常具有重要作用,该作用的发挥高度依赖于细胞因子IL-33,但IL-33的来源存在争议<sup>[29-30]</sup>。SPALL-ANZANI等<sup>[31]</sup>通过scRNA-seq确定, VAT中IL-33源于特定的间充质基质细胞亚型,该研究突出了特定基质细胞亚群在调节脂肪组织免疫细胞稳态中的作用(图3)。此外,一些比例相对较小的免疫细胞在脂肪组织中的作用也得以揭示。有研究报道,短期生酮饮食带来的益处与VAT中 $\gamma\delta$ T细胞数量增加、抑制炎症有关,显示出 $\gamma\delta$ T细胞在改善脂肪组织炎症和维持代谢稳态中的重要性<sup>[32]</sup>。

## 2.2 巨噬细胞与脂肪细胞的交互作用

除T细胞以外,脂肪组织巨噬细胞(adipose tissue macrophages, ATMs)在肥胖和胰岛素抵抗发生过程中涉及的能量代谢、清除死亡脂肪细胞和胞外脂质方面起着关键作用<sup>[33]</sup>。最近两项单细胞测序研究进一步证实了ATMs这一作用。肥胖时,小鼠VAT中高表达*ApoE*和*Sepp1*的巨噬细胞亚群增加,热量限制后该亚群数量减少,同时促进与清除死细胞和过量脂质相关的ATMs亚群增加<sup>[34]</sup>。在激活ADRB3脂肪组织重构时,高表达脂质摄取、细胞外基质重构和蛋白水解相关基因的ATMs亚群增加,该亚群分布在脂肪细胞生成的微环境中,其功能与清除脂肪细胞和促进脂肪干细胞向米色脂肪细胞分化有关<sup>[23]</sup>。另外两项对肥胖小鼠和人群的单细胞测序研究均报道了一种与炎症相关的CD9型巨噬细胞的存在,表明CD9<sup>+</sup> ATMs可能是与肥胖相关的独特类型<sup>[25,35]</sup>(图3)。上述研究提示,过去通过流式细胞术和全组织

转录组分析,只能将巨噬细胞简单地分为M1和M2型,并可能遗漏一些关键信息,而单细胞测序技术的应用可使巨噬细胞亚群分类和功能更为精细。

## 2.3 分泌特定细胞因子的免疫细胞与脂肪细胞的交互作用

既往研究显示,敲除*IL-10*的小鼠在整体水平上产热增强,但能够对*IL-10*产生应答的具体细胞类型有待明确<sup>[36]</sup>。RAJBHANDARI等<sup>[26]</sup>通过单细胞测序揭示了产生IL-10的免疫细胞与脂肪细胞之间的对话是调控产热和系统能量平衡的关键因素。由此可见,单细胞测序技术可为研究其他细胞因子在脂肪细胞与免疫细胞对话中的作用和机制提供新的思路。

## 3 脂肪细胞分化的拟时序分析

scRNA-seq拟时序分析可以对处于发育过程中细胞的瞬时状态进行表征,其通过特定算法了解基因表达变化的整体“轨迹”,然后将每个细胞放置在轨迹中的适当位置,从而重现细胞重编程的过程并分析这一过程中受调控的关键基因。BURL等<sup>[23]</sup>发现, $\beta$ 肾上腺素受体激动剂处理引起增殖型和分化型的脂肪干细胞亚群增加,对这两群细胞进行拟时序分析,发现可分别对应干细胞增殖、早期成脂分化和晚期成脂分化三个阶段,清晰地重现了脂肪干细胞向米色脂肪细胞分化的轨迹,并鉴定了多个与分化轨迹相关的基因。拟时序分析对于揭示脂肪祖细胞的发育层次结构具有重要的作用,在早期脂肪形成过程中DPP4<sup>+</sup>亚群细胞可转变为ICAM1<sup>+</sup>和CD142<sup>+</sup>前脂肪细胞,进而分化为脂肪细胞<sup>[18]</sup>,干预这些细胞亚群中的一个或多个群体或可促进脂肪适

应性扩张以改善代谢疾病。

#### 4 总结与展望

单细胞转录组测序技术的应用, 让我们以全新的角度去重新审视脂肪组织的异质性。首先, 这种新方法, 使细胞的分类和功能更加细化, 让比例较低, 之前可能被忽略的细胞得以被识别和发现。如APCs中发现的具有抑制成脂的亚群Aregs、FIPs, 棕色脂肪组织中存在的产热能力不同的亚群, 甚至具有负调控产热功能的亚群, 这些亚群均在脂肪组织重塑过程中具有重要调控作用。其次, scRNA-seq技术改变了我们以往对同一细胞群体执行多种功能的认知, 如白色脂肪组织中存在多种执行不同功能的亚群, 以及免疫细胞与脂肪细胞的交互作用使我们认识到肥胖等代谢性疾病的发展可能是不同亚群共同作用的结果, 有利于我们更精准地理解和干预代谢性疾病。拟时序分析则帮助我们建立起脂肪细胞分化过程中的动态图谱, 及阐明在不同发育阶段发挥重要作用的亚群和基因表达变化, 为干预单个或多个亚群及靶点进而改善代谢疾病提供了更广泛的选择策略。

单细胞测序技术无疑已成为脂肪组织研究的一种重要手段, 让我们获得了更加全面、精细的脂肪组织细胞图谱。现有研究的局限性在于对SVF进行分选的策略不一, 因此不同部位脂肪组织基质细胞的相对组成存在一定差异, 成熟脂肪细胞由于脂滴较大或线粒体含量较高难以进行scRNA-seq, 目前已有研究利用snRNA-seq克服这一局限, 但这两种技术获得的结果的一致性尚存争议。未来, 两者结合可能是全面获得样本中细胞类型的策略。另外, 不同平台分析的细胞数目和捕获效率在一定程度上也有所不同, 应在以后的研究中加以考虑, 随着scRNA-seq技术的发展, 检测更大范围的细胞是可行的。尽管scRNA-seq为我们提供了大量有关细胞类型和状态的信息, 但细胞群体在脂肪组织中的定位信息仍知之甚少, 未来的研究需纳入空间调控和蛋白表达信息。空间转录组学和单细胞整合多组学(单细胞联合基因组学、表观组学、蛋白组学)的兴起和发展, 可实现在组织微环境、DNA修饰、染色质可及性等多个层面的研究。越来越多的单细胞数据的呈现和对其进行的整合、分析和验证, 有望对生理和疾病状态下脂肪组织研究的认知和发展产生深

远的影响。

#### 参考文献 (References)

- [1] GHABEN A L, SCHERER P E. Adipogenesis and metabolic health [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20(4): 242-58.
- [2] FOX C S, MASSARO J M, HOFFMANN U, et al. Abdominal visceral and subcutaneous adipose tissue compartments: association with metabolic risk factors in the Framingham Heart Study [J]. *Circulation*, 2007, 116(1): 39-48.
- [3] SANCHEZ-GURMACHES J, GUERTIN D A. Adipocytes arise from multiple lineages that are heterogeneously and dynamically distributed [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 4099.
- [4] SEBO Z L, RODEHEFFER M S. Assembling the adipose organ: adipocyte lineage segregation and adipogenesis *in vivo* [J]. *Development*, 2019, 146(7): dev172098.
- [5] LEE K Y, LUONG Q, SHARMA R, et al. Developmental and functional heterogeneity of white adipocytes within a single fat depot [J]. *EMBO J*, 2019, 38(3): e99291.
- [6] RAAJENDIRAN A, OOI G, BAYLISS J, et al. Identification of metabolically distinct adipocyte progenitor cells in human adipose tissues [J]. *Cell Rep*, 2019, 27(5): 1528-40.
- [7] CINTI S, CANCELLO R, ZINGARETTI M C, et al. CL316,243 and cold stress induce heterogeneous expression of UCP1 mRNA and protein in rodent brown adipocytes [J]. *J Histochem Cytochem*, 2002, 50(1): 21-31.
- [8] XIE T R, LIU C F, KANG J S. Sympathetic transmitters control thermogenic efficacy of brown adipocytes by modulating mitochondrial complex V [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2017, 2: 17060.
- [9] OLSEN T K, BARYAWNO N. Introduction to single-cell RNA sequencing [J]. *Curr Protoc Mol Biol*, 2018, 122(1): e57.
- [10] LAKE B B, AI R, KAESER G E, et al. Neuronal subtypes and diversity revealed by single-nucleus RNA sequencing of the human brain [J]. *Science*, 2016, 352(6293): 1586-90.
- [11] LEE Y H, PETKOVA ANELIA P, MOTTILLO EMILIO P, et al. *In vivo* identification of bipotential adipocyte progenitors recruited by  $\beta_3$ -adrenoceptor activation and high-fat feeding [J]. *Cell Metab*, 2012, 15(4): 480-91.
- [12] RODEHEFFER M S, BIRSOY K, FRIEDMAN J M. Identification of white adipocyte progenitor cells *in vivo* [J]. *Cell*, 2008, 135(2): 240-9.
- [13] BERRY R, RODEHEFFER M S. Characterization of the adipocyte cellular lineage *in vivo* [J]. *Nat Cell Biol*, 2013, 15(3): 302-8.
- [14] SHAO M, VISHVANATH L, BUSBUSO N C, et al. *De novo* adipocyte differentiation from Pdgfr $\beta^+$  preadipocytes protects against pathologic visceral adipose expansion in obesity [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 890.
- [15] VISHVANATH L, MACPHERSON KAREN A, HEPLER C, et al. PDGFR $\beta^+$  mural preadipocytes contribute to adipocyte hyperplasia induced by high-fat-diet feeding and prolonged cold exposure in adult mice [J]. *Cell Metab*, 2016, 23(2): 350-9.
- [16] ACOSTA J R, JOOST S, KARLSSON K, et al. Single cell transcriptomics suggest that human adipocyte progenitor cells constitute a homogeneous cell population [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1): 250.
- [17] SCHWALIE P C, DONG H, ZACHARA M, et al. A stromal cell

- population that inhibits adipogenesis in mammalian fat depots [J]. *Nature*, 2018, 559(7712): 103-8.
- [18] MERRICK D, SAKERS A, IRGEBAY Z, et al. Identification of a mesenchymal progenitor cell hierarchy in adipose tissue [J]. *Science*, 2019, 364(6438): eaav2501.
- [19] HEPLER C, SHAN B, ZHANG Q, et al. Identification of functionally distinct fibro-inflammatory and adipogenic stromal subpopulations in visceral adipose tissue of adult mice [J]. *Elife*, 2018, 7: e39636.
- [20] CHO D S, LEE B, DOLES J D. Refining the adipose progenitor cell landscape in healthy and obese visceral adipose tissue using single-cell gene expression profiling [J]. *Life Sci Alliance*, 2019, 2(6): e201900561.
- [21] HIMMS-HAGEN J, MELNYK A, ZINGARETTI M C, et al. Multilocular fat cells in WAT of CL-316243-treated rats derive directly from white adipocytes [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2000, 279(3): C670-81.
- [22] LEE Y H, PETKOVA A P, GRANNEMAN J G. Identification of an adipogenic niche for adipose tissue remodeling and restoration [J]. *Cell Metab*, 2013, 18(3): 355-67.
- [23] BURL R B, RAMSEYER V D, RONDINI E A, et al. Deconstructing adipogenesis induced by beta3-adrenergic receptor activation with single-cell expression profiling [J]. *Cell Metab*, 2018, 28(2): 300-9.
- [24] OGURI Y, SHINODA K, KIM H, et al. Cd81 controls beige fat progenitor cell growth and energy balance via FAK signaling [J]. *Cell*, 2020, 182(3): 563-77.
- [25] VIJAY J, GAUTHIER M F, BISWELL R L, et al. Single-cell analysis of human adipose tissue identifies depot- and disease-specific cell types [J]. *Nat Metab*, 2019, 2(1): 97-109.
- [26] RAJBHANDARI P, ARNESON D, HART S K, et al. Single cell analysis reveals immune cell-adipocyte crosstalk regulating the transcription of thermogenic adipocytes [J]. *Elife*, 2019, 8: e49501.
- [27] SONG A, DAI W, JANG M J, et al. Low- and high-thermogenic brown adipocyte subpopulations coexist in murine adipose tissue [J]. *J Clin Invest*, 2020, 130(1): 247-57.
- [28] SUN W, DONG H, BALAZ M, et al. snRNA-seq reveals a subpopulation of adipocytes that regulates thermogenesis [J]. *Nature*, 2020, 587(7832): 98-102.
- [29] VASANTHAKUMAR A, MORO K, XIN A, et al. The transcriptional regulators IRF4, BATF and IL-33 orchestrate development and maintenance of adipose tissue-resident regulatory T cells [J]. *Nat Immunol*, 2015, 16(3): 276-85.
- [30] KOLODIN D, VAN PANHUYS N, LI C, et al. Antigen- and cytokine-driven accumulation of regulatory T cells in visceral adipose tissue of lean mice [J]. *Cell Metab*, 2015, 21(4): 543-57.
- [31] SPALLANZANI R G, ZEMMOUR D, XIAO T, et al. Distinct immunocyte-promoting and adipocyte-generating stromal components coordinate adipose tissue immune and metabolic tenors [J]. *Sci Immunol*, 2019, 4(35): eaaw3658.
- [32] GOLDBERG E L, SHCHUKINA I, ASHER J L, et al. Ketogenesis activates metabolically protective  $\gamma\delta$  T cells in visceral adipose tissue [J]. *Nat Metab*, 2020, 2(1): 50-61.
- [33] RUSSO L, LUMENG C N. Properties and functions of adipose tissue macrophages in obesity [J]. *Immunology*, 2018, 155(4): 407-17.
- [34] WEINSTOCK A, BROWN E J, GARABEDIAN M L, et al. Single-Cell RNA sequencing of visceral adipose tissue leukocytes reveals that caloric restriction following obesity promotes the accumulation of a distinct macrophage population with features of phagocytic cells [J]. *Immunometabolism*, 2019, 1: e190008.
- [35] HILL D A, LIM H W, KIM Y H, et al. Distinct macrophage populations direct inflammatory versus physiological changes in adipose tissue [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(22): E5096-105.
- [36] RAJBHANDARI P, THOMAS B J, FENG A C, et al. IL-10 Signaling remodels adipose chromatin architecture to limit thermogenesis and energy expenditure [J]. *Cell*, 2018, 172(1/2): 218-33.