

单核转录组学揭示心肌病亚型特异性细胞和分子特征



句英娇¹, 姚静怡¹, 张松¹, 闵力^{1,2}

1. 首都医科大学附属北京友谊医院北京市临床医学研究所中心实验室 (北京 101300)
2. 首都医科大学附属北京友谊医院消化健康全国重点实验室/消化系统疾病国家临床医学研究中心 (北京 100050)

【摘要】目的 阐明肥厚型心肌病 (HCM)、扩张型心肌病 (DCM) 和致心律失常性心肌病 (ACM) 在细胞组成、转录特征及细胞间相互作用的特异性分子机制。**方法** 整合公共的人心脏组织单核转录组数据, 其中 DCM、HCM 及非心衰对照样本来源于 Single Cell Portal 数据库, ACM 样本来源于 European Genome-phenome Archive 数据库。通过数据质控、批次校正、聚类注释、差异表达与通路富集分析、细胞通讯分析及空间转录组验证, 系统解析不同心肌病亚型的细胞组成及分子特征。**结果** 在细胞比例方面, HCM、DCM 和 ACM 三种心肌病心脏组织均表现为心肌细胞减少、成纤维细胞和平滑肌细胞增多, 其中 DCM 变化最为显著; 不同亚型间也存在差异, HCM 和 DCM 内皮细胞增加, 而 ACM 减少; HCM 周细胞显著减少, 而 ACM 则表现为周细胞和神经元增多。在分子通路特征层面, HCM 激活 PI3K - AKT - mTOR 通路, DCM 血管生成通路活性增强, ACM 氧化磷酸化活性显著升高。在关键细胞亚群方面, HCM 中 Endothelial_c0-PIK3R3 和 Fibroblast_c0-POSTN 亚群富集; DCM 中 Myeloid_c0-C20orf194 及 Fibroblast_c0-POSTN 增加; ACM 中 Cardiomyocyte_c2-CDIN1、Pericyte_c1-LOC644135 等特异性升高。HCM 中 Endothelial_c0-PIK3R3 以及 DCM 中 Fibroblast_c0-POSTN 关键通路活性在空间转录组中得到验证。**结论** 本研究系统揭示了心肌病亚型的特异性细胞组成及分子功能特征, 为理解 HCM、DCM 和 ACM 的病理机制提供了新的单核转录组层面证据, 并为心肌病的精准诊断和治疗策略奠定了基础。

【关键词】 心肌病; 肥厚型心肌病; 扩张型心肌病; 致心律失常型心肌病; 单核 RNA 测序技术

【中图分类号】 R542.2 **【文献标识码】** A

Single-nucleus transcriptomics reveals subtypes-specific cellular and molecular features of cardiomyopathy

JU Yingjiao¹, YAO Jingyi¹, ZHANG Song¹, MIN Li^{1,2}

1. Central Laboratory, Beijing Clinical Research Institute, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing 101300, China

2. State Key Laboratory of Digestive Health & National Clinical Research Center for Digestive System Diseases, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China

Corresponding author: JU Yingjiao, Email: juyingjiao@outlook.com

DOI: 10.12173/j.issn.1004-5511.202510018

基金项目: 首都医科大学附属北京友谊医院种子计划 (YYZZ202346)

通信作者: 句英娇, 博士, Email: juyingjiao@outlook.com

【Abstract】Objective To clarify the subtype-specific molecular mechanisms of hypertrophic cardiomyopathy (HCM), dilated cardiomyopathy (DCM), and arrhythmogenic cardiomyopathy (ACM) in terms of cellular composition, transcriptional features, and intercellular interactions. **Methods** The single-nucleus RNA sequencing (snRNA-seq) data from publicly available human heart tissue samples were integrated. Among them, HCM, DCM, and non-heart failure control samples were obtained from the Single Cell Portal database, whereas ACM samples were obtained from the European Genome-phenome Archive database. Data quality control, batch correction, clustering and annotation, differential expression and pathway enrichment analyses, cell-cell communication analysis, and spatial transcriptomics validation were performed to systematically characterize the cellular composition and molecular features of different cardiomyopathy subtypes. **Results** At the cellular composition level, all three cardiomyopathy subtypes exhibited reduced cardiomyocytes along with increased fibroblasts and smooth muscle cells, with the most pronounced changes observed in DCM. Subtype-specific differences were also evident: endothelial cells were increased in HCM and DCM but decreased in ACM; pericytes were markedly reduced in HCM, whereas both pericytes and neuronal cells were increased in ACM. At the molecular pathway level, HCM showed activation of the PI3K-AKT-mTOR pathway; DCM exhibited enhanced angiogenesis signaling; and ACM displayed significantly upregulated oxidative phosphorylation. Regarding key cellular subpopulations, HCM was enriched for Endothelial_c0-PIK3R3 and Fibroblast_c0-POSTN subsets; DCM showed increases in Myeloid_c0-C20orf194 and Fibroblast_c0-POSTN; while ACM was characterized by elevated Cardiomyocyte_c2-CDIN1, and Pericyte_c1-LOC644135 subsets. Furthermore, the pathway activities of Endothelial_c0-PIK3R3 in HCM and Fibroblast_c0-POSTN in DCM were validated using spatial transcriptomics. **Conclusion** This study systematically delineates subtype-specific cellular compositions and molecular functional features of cardiomyopathies, providing novel single-nucleus transcriptomic evidence for understanding the pathological mechanisms of HCM, DCM and ACM, and laying a foundation for precision diagnosis and therapeutic strategies for cardiomyopathies.

【Keywords】 Cardiomyopathy; Hypertrophic cardiomyopathy; Dilated cardiomyopathy; Arrhythmogenic cardiomyopathy; Single-nucleus RNA sequencing

心肌病是一组以心脏结构和功能异常为特征的异质性疾病，全球患病率高，临床预后差，是心力衰竭和心源性猝死的重要病因^[1-3]。根据病理特征和临床表现，心肌病常见类型包括肥厚型心肌病（hypertrophic cardiomyopathy, HCM）、扩张型心肌病（dilated cardiomyopathy, DCM）和致心律失常型心肌病（arrhythmogenic cardiomyopathy, ACM）。HCM 是常见的遗传性心肌病，患病率约 1/500，典型特征为左心室肥厚，伴心肌细胞肥大、排列紊乱及纤维化^[4]。DCM 患病率约 1/250，表现为左心室或双心室扩张及收缩功能障碍，并以心脏重塑和纤维化为主要病理特征^[5]。ACM 多见于年轻人和运动员，患病率约 1/2 000~1/5 000，其特征为心肌细胞丢失及右心室心肌被纤维脂肪组织替代，常累及双心室^[6-7]。心肌病致病机制多样且最终均可能进展为心力衰竭，但其分子基础尚未明确，限制了靶向治疗策

略的研发与应用。

单细胞 / 单核转录组及空间转录组学技术的发展，为解析心脏疾病的细胞组成变化及分子机制提供了重要手段。既往研究已构建人类心脏细胞图谱，并在探索 HCM、DCM 和 ACM 等不同病理状态下的细胞异质性、组织重塑及异常分子通路等方面取得一定进展^[8-11]；同时，也有研究从跨病种角度比较了不同心肌病亚型的转录特征和细胞间通讯模式^[12-14]。但现有研究多聚焦于单一疾病类型或特定分析层面，对 HCM、DCM 和 ACM 三类经典心肌病在细胞组成、关键细胞亚群、转录程序、通路激活及细胞间互作等方面的系统性比较仍显不足，尤其缺乏基于统一分析流程的整合研究。因此，本研究整合了 HCM、DCM、ACM 及非心力衰竭（non-heart failure, NF）四类人心脏样本的单核转录组数据，在统一分析框架下系统比较不同心肌病亚型的细胞组成变化、

差异表达特征、信号通路活性及细胞通讯模式，旨在揭示不同心肌病亚型的细胞与分子特异性特征，为深入理解心肌病的病理机制及探索潜在干预靶点提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 数据获取与预处理

DCM、HCM及NF样本来源于Broad研究所开发的单细胞/单核转录组数据库Single Cell Portal (SCP, <https://singlecell.zendesk.com/>)，心肌组织取材自左心室游离壁非梗死区域（不包含室间隔），主要位于心尖至基底段的中点前壁区域。ACM样本来源于European Genome-phenome Archive数据库(EGA, <https://ega-archive.org/>)，同时包含左心室和右心室组织样本。共纳入32例人心脏组织样本，HCM、DCM、ACM及NF各8例。

数据预处理采用严格的质控标准：上述公共数据库在发布原始数据时已进行双细胞去除处理，SCP数据库使用Scrublet(双细胞评分 > 0.30)识别并剔除潜在双细胞；EGA数据库使用Solo V0.3，根据softmax评分($\text{solo_score} \leq 0.5$)去除双细胞污染。质控阈值的设定综合参考Seurat官方教程以及多篇高质量单细胞/单核转录组研究文献^[15-17]，并结合本研究数据中基因数、UMI计数、线粒体基因比例、核糖体基因比例以及血红蛋白基因比例的小提琴图进行调整。保留检测基因数300~7 000且UMI计数500~50 000范围内的细胞，排除线粒体基因比例 $> 5\%$ 、核糖体基因比例 $> 4\%$ 或血红蛋白基因比例 $> 1\%$ 的低质量细胞。并应用Harmony 1.2.3软件^[18]对多批次细胞数据进行整合和批次效应校正，以用于后续分析。

1.2 数据标准化与降维分析

为系统解析心肌病单核转录组的异质性特征，采用SCTransform法对质控数据进行标准化处理，通过正则化负二项回归模型有效校正技术变异和测序深度差异。降维分析阶段，基于标准化表达矩阵进行主成分分析，并采用JackStraw检验($P < 0.01$)筛选出前50个具有显著生物学意义的主成分。基于初步聚类结果，通过参数优化确定UMAP降维的最佳邻域大小($n.\text{neighbors}=30$)，选取前30个主成分进行非线性降维和可

视化分析。

1.3 细胞类型鉴定与注释

以分辨率 $=0.8$ 进行初始聚类，采用CellTypist 1.5.0自动注释工具^[19]联合经典标志基因人工验证的方法确定主要细胞类型，最终成功鉴定了10种主要细胞类型（包括心肌细胞、成纤维细胞等）及55个亚群。全部分析流程在R 4.2.2软件中完成，关键分析步骤通过Seurat和ggplot2包(v3.4.2)进行可视化分析。

1.4 差异基因表达与功能富集分析

细胞簇间差异分析使用Seurat包中的FindAllMarkers函数以识别不同细胞类型的特异性标志基因，筛选标准为：基因在至少10%细胞中表达，经Benjamini-Hochberg校正后 P 值 < 0.05 ，其中 $\log_2\text{FC} > 0$ 的基因定义为上调基因。使用Seurat包的FindMarkers函数对细胞类型进行差异分析，以揭示疾病状态下的全局转录变化。功能富集分析采用clusterProfiler包(v4.6.2)^[20]完成，以msigdb包(v10.0.1)^[21]提供的Hallmark基因集为背景数据库。显著富集通路的判定标准为经Benjamini-Hochberg校正后 P 值 < 0.05 。使用GSVA包(v1.46.0)^[22]进行基因集变异分析，基于各细胞簇的平均基因表达水平，采用GSVA法和泊松核函数计算GSVA得分。采用AddModuleScore算法计算功能评分，通过整合特定功能基因集的表达特征，量化关键信号通路在不同细胞类型中的活化状态。

1.5 细胞通讯分析

采用CellChat包(v1.6.1)^[23]进行细胞通讯分析。基于整合表达矩阵分别构建NF、HCM、DCM和ACM的CellChat对象，并使用内置Secreted Signaling数据库识别不同细胞类型间的配体-受体相互作用。计算各组通讯概率矩阵与网络中心性，以评估各细胞类型在通讯网络中的相对中心度。为识别疾病与对照间的显著通讯差异，采用rankNet对NF与各心肌病配对比较，基于通路水平通讯概率差异对所有信号通路进行排序。结合疾病特异性核心细胞类型，重点解析上述关键细胞在显著差异通路中的通讯改变。对rankNet筛选出的上调通路，利用extractEnrichedLR提取富集的配体-受体组合，分别计算配体在发送细胞、受体在接收细胞中的平均表达量，并进一步计算配体、受体及其组合(几何均值)的FC与

\log_2FC , 以量化疾病组相对 NF 的信号强度变化。按组合 \log_2FC 对配体-受体对排序, 并以热图可视化疾病特异性增强的信号交互, 构建 HCM、DCM、ACM 的疾病特异性细胞通讯网络图谱。

1.6 空间转录组分析

空间转录组分析基于公开的人类心脏组织空间数据集。HCM1267D 数据集包含正常与 HCM 室间隔组织的 Visium 数据^[17], GSE271676 数据集包含 DCM 心脏组织的空间转录组切片^[24], 分别用于验证 HCM 内皮细胞亚群 (Endothelial_c0-PIK3R3) 和 DCM 成纤维细胞亚群 (Fibroblast_c0-POSTN) 在空间维度的功能活性。

基于本研究整合后的单核转录组对象 (含细胞亚群注释), 提取高变基因并构建空间映射参考数据集, 以表征各细胞亚群的表达特征。对空间转录组数据进行标准化处理, 试用 RCTD (robust cell type decomposition) 工具预测每个空间位点的细胞亚群组成概率。为评估关键亚群在空间中的功能表现, 采用 AddModuleScore 函数分别计算空间表达矩阵中 PI3K-AKT-mTOR 和血管生成通路的模块得分, 从而获得每个位点的通路活性评分。考虑不同细胞亚群的参考精度, 为血管内皮细胞和成纤维细胞设定严格的 RCTD 高置信度阈值 (Endothelial_c0-PIK3R3 ≥ 0.90 ; Fibroblast_c0-POSTN ≥ 0.85), 仅保留高置信度位点作为该亚群的空间富集区域。

1.7 统计学分析

采用 R 4.2.2 软件进行数据分析。使用 Seurat 包中的 FindAllMarkers 函数进行差异基因表达分析, Wilcoxon 秩和检验评估基因在细胞簇间的表达差异, 采用 Benjamini-Hochberg 法校正 P 值 ($FDR < 0.05$) 以控制假阳性率; 功能富集分析通过 clusterProfiler 包的超几何检验计算显著性, 并采用 Benjamini-Hochberg 校正 (校正后 $P < 0.05$) 确定显著富集通路; Wilcoxon 秩和检验比较各疾病组与 NF 组间的细胞比例差异及空间转录组通路活性差异; CellChat 软件包内置的随机置换检验用于评估配体-受体相互作用的显著性。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞类型识别及共性变化分析

本研究经 Harmony 软件去除批次效应 (附

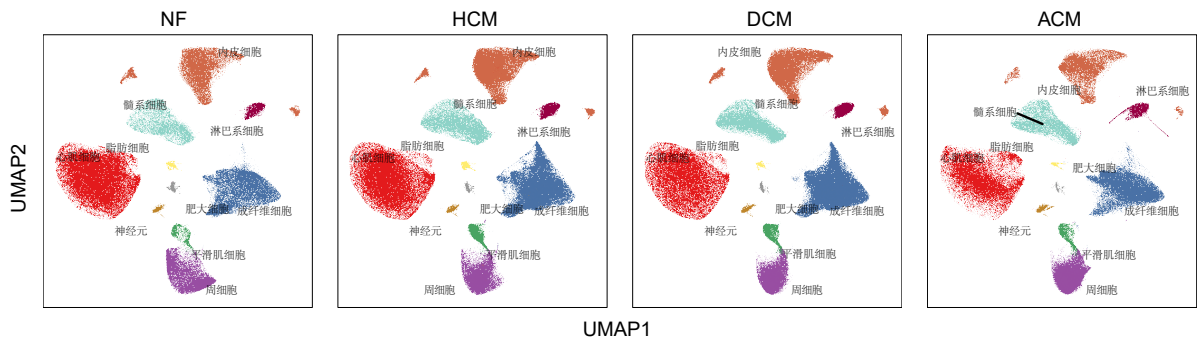
件图 1), 共获得 504 584 个高质量细胞核 (单核), 包括 145 058 个 HCM 细胞、146 877 个 DCM 细胞、102 609 个 ACM 细胞和 110 040 个 NF 对照细胞。经 CellTypist 自动注释, 并结合经典标志基因的人工验证, 鉴定出 10 种主要心肌组织细胞类型 (图 1-A)。各类细胞特异性表达其经典标志基因见附件图 2 和附件表 1, 例如, 心肌细胞 (MYH7、FHL2)、成纤维细胞 (DCN、GSN)、平滑肌细胞 (MYH11、ACTA2)、周细胞 (ABCC9、RGS5)、内皮细胞 (VWF、FLT1) 等 (图 1-B、附件图 3)。

细胞组成比例分析显示, 三类心肌病在细胞组成上既存在共性, 也展现出亚型差异。在共性方面, 与 NF 对照组相比, 三类心肌病心肌细胞比例均显著下降并伴随成纤维细胞和平滑肌细胞比例增加, 提示心肌损伤与间质重塑是心肌病的核心病理过程, 而 DCM 可能伴随最严重的心肌损伤和最活跃的纤维化进展。与 NF 组相比, HCM 与 DCM 患者内皮细胞分别增加 33.7%、15.2%, 而 ACM 患者减少 10.8%, 提示前两者的血管重塑更为突出; HCM 与 DCM 患者周细胞比例降低 32.6%、29.5%, 可能削弱微血管稳定性, 而 ACM 患者周细胞比例增加 21.1%, 且神经元比例显著增多 91.8%, 可能与其特征性的心律失常易感性密切相关 (图 1-C 至 1-D、附件表 2)。综上, 心肌纤维化是心肌病的共同病理基础, 4 组样本心肌细胞、成纤维细胞、平滑肌细胞、周细胞、内皮细胞、肥大细胞及神经元存在亚型特异性变化, 值得进一步分析; 其余细胞类型 (包括髓系细胞、淋巴细胞等) 在各组间差异均无统计学意义 (附件表 2)。

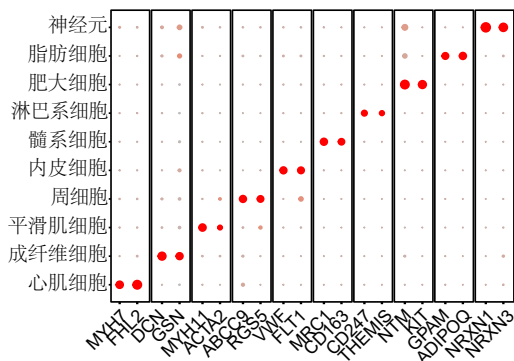
2.2 心肌病分子功能特征解析

为阐明不同亚型心肌病分子调控机制, 本研究从基因表达、功能通路和细胞定位三个层面解析其分子功能特征。差异表达分析显示, HCM 和 DCM 以下调基因为主导 (分别占 73% 和 68%), 提示这两种疾病可能涉及转录抑制或细胞功能丧失; 而 ACM 则以上调基因为主 (57%), 表明其病理过程伴随着活跃的转录激活 (图 2-A)。三类疾病共同表现为肌生成和脂肪生成通路下调 (图 2-B), 反映心脏再生能力下降和能量代谢紊乱是其共同病理基础。同时, 各疾病展现出独特的通路激活模式 (图 2-C), 其中, HCM 特异

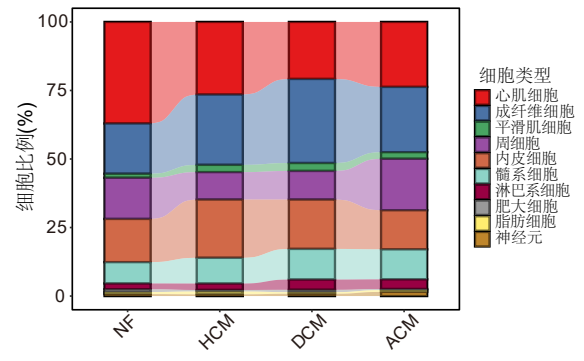
A



B



C



D

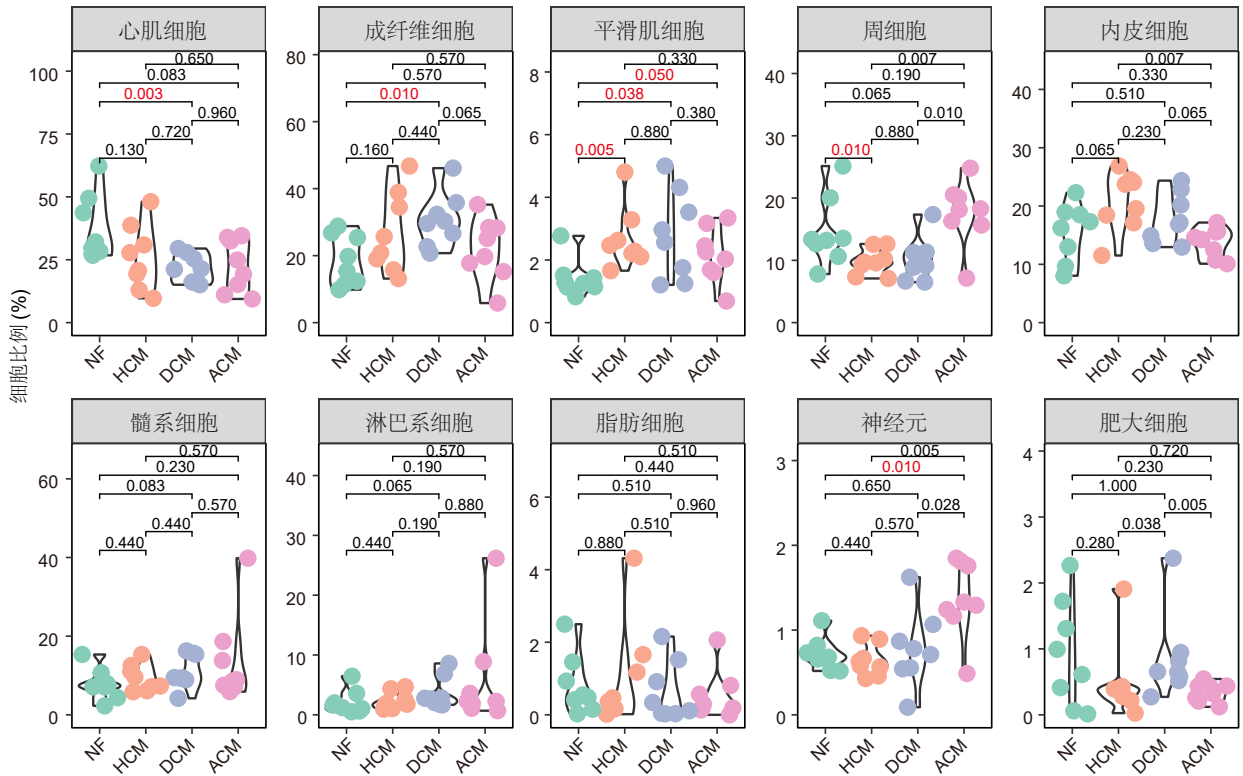


图1 心肌病患者与NF对照组心脏细胞组成分析

Figure 1. Cellular composition analysis of cardiac tissues from cardiomyopathy patients and non-heart failure controls
 注: A.细胞UMAP可视化分群; B.细胞类型经典标志基因表达点图; C.细胞类型比例分布桑基图; D.细胞类型比例差异小提琴图。

性激活 PI3K-AKT-mTOR 生长信号通路, DCM 特异性上调血管生成通路。基因集富集分析结果显示, ACM 中氧化磷酸化通路显著激活, 同时伴随 TGF-β 与 PI3K-AKT-mTOR 通路抑制 (图 2-B 至 2-D、附件图 4), 提示其能量代谢调控模式与 HCM、DCM 存在本质差异。

为解析 ACM 中氧化磷酸化激活的分子基

础, 对其上游调控网络进行了系统分析。转录因子活性推断显示, 与线粒体生物发生密切相关的 NRF1 与 MYC 在 ACM 中显著上调 ($\log_2FC > 0.8$, $P < 0.05$) (附件表 3), 提示这些调控因子可能驱动电子传递链复合体的协调激活。复合体 I *NDUFA1* 和复合体 V *ATP5F1A* 等氧化磷酸化关键基因在 ACM 中均呈显著升高 (附件图 5)。上述

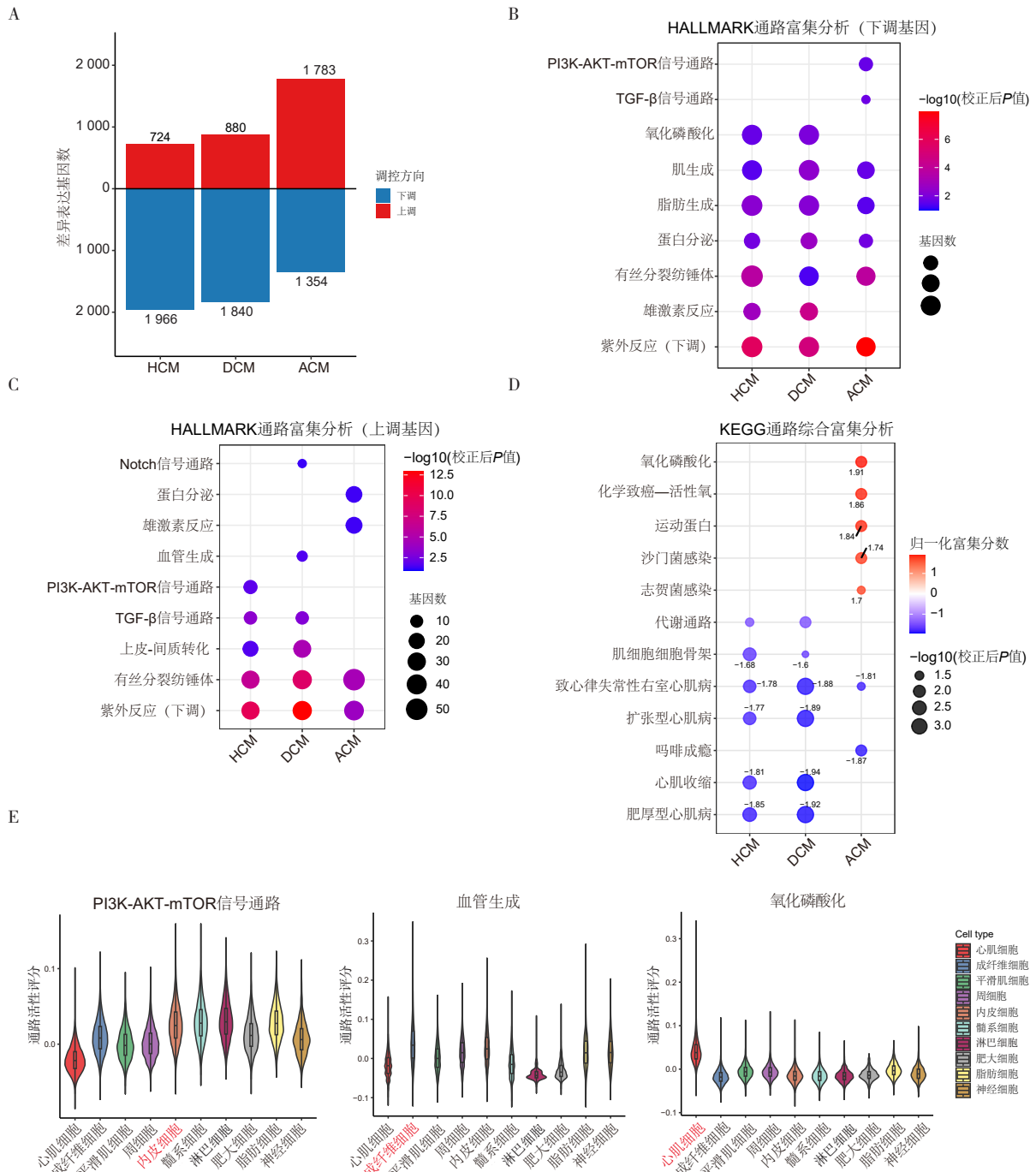


图2 心肌病亚型功能差异分析

Figure 2. Analysis of functional differences among subtypes of cardiomyopathy

注: A.差异基因数量统计; B.下调基因HALLMARK通路富集; C.上调基因HALLMARK通路富集; D.差异基因GSEA富集分析; E.PI3K-AKT-mTOR、血管生成和氧化磷酸化通路在不同细胞中的活性评分。

结果表明 ACM 氧化磷酸化激活并非单基因变化, 而是由系统性、协调性的线粒体调控网络共同驱动。

为深入解析不同心肌病的细胞分子特征, 本研究在单核转录组层面评估功能通路的活性变化(所用特定功能基因集见附件表 4), 结果显示不同心肌病关键通路活化呈明显的细胞类型偏向性(图 2-E、附件图 6)。HCM 中 PI3K-AKT-mTOR 通路主要活化来源为内皮细胞(平均分数 0.03, 方差贡献比例 9.8%); DCM 的血管生成通路以成纤维细胞为主要贡献者(平均分数 0.04, 方差贡献比例 9.2%), 说明纤维化相关细胞在血管生成信号中发挥核心作用; ACM 的氧化磷酸化通路以心肌细胞为主导(平均分数 0.04, 方差贡献比例 44.2%), 揭示了心肌细胞在能量代谢通路活化中的中心地位。同时方差分解表明, 不同通路的活化程度具有显著的细胞类型依赖性, 其中 PI3K-AKT-mTOR、血管生成与氧化磷酸化的方差中, 分别有 41.75%、26.94% 和 59.92% 可由细胞类型解释(附件图 6)。该结果表明, 疾病相关分子改变不仅体现在整体转录组水平, 也与特定细胞亚群的功能状态密切相关。

2.3 细胞通讯揭示疾病特异性信号交流模式

在明确细胞功能状态改变的基础上, 进一步比较不同心肌病类型的细胞间通讯网络特征。

HCM 的通讯变化最为有限, 仅检测到少量信号通路上调, 其中以 PERIOSTIN 与 PROS 通路最为突出(附件图 7-A)。进一步分析显示, PROS1-AXL 配体-受体对在内皮细胞中的组合表达仅出现轻度升高(0.13 倍), 提示 HCM 虽表现出内皮功能相关的分子改变, 但其整体通讯网络扰动相对局限(附件图 7-B)。与 HCM 相比, DCM 的通讯重塑更为显著, 涉及多条内分泌和免疫相关信号通路, 其中 FSH、PROS 与 IL-16 等通路均出现增强(附件图 7-A)。其中, CGA-FSHR 激素轴在成纤维细胞中的表达上调 0.52 倍, IL-16-CD4 信号增强 0.46 倍(附件图 7-B), 反映出成纤维细胞在 DCM 中不仅驱动纤维化过程, 同时可能通过整合激素与免疫信号参与更广泛的病理调控。ACM 通讯网络重构最为复杂且幅度最大, 其特有的显著增强通路达 14 条, 涉及 VEGF、TGF- β 、BMP、PDGF 等多个与心肌结构、

免疫反应与细胞生物学过程调控相关的重要信号通路(附件图 7-A)。BMP 信号在心肌细胞中显著增强, 其中 BMP4-BMPRI1A/B-ACVR2A/B 等多组配体-受体复合体呈现“由无到有”的显著上调; 此外, BMP2-BMPRI1B-ACVR2B 上调幅度最为明显, 其配体表达较对照组升高约 20.9 倍; BTLA-TNFRSF14 与 IL-16-CD4 等免疫调节信号的组合表达分别上调 3.2 倍与 2.7 倍, 表明 ACM 的通讯网络变化并非局部调节, 而是呈现高度协调、跨系统的信号增强模式(附件图 7-B)。

综上, 三类心肌病呈现出从局部信号失调到全局网络异常的细胞通讯变化模式, 该特征与其特异性细胞功能改变相呼应, 共同构成不同类型心肌病的独特病理基础。

2.4 三种心肌病关键细胞亚型鉴定

为精确识别驱动不同心肌病病理过程的关键细胞亚型, 本研究对细胞亚群进行深入分析, 各病型均存在若干显著差异细胞亚群(差异值 ≥ 0.03 , $P < 0.05$, 详见附件表 5)。在 HCM 中, Endothelial_c0-PIK3R3 亚群显著富集(比例增加 42.5%)(附件图 8), 其免疫代谢和增殖通路呈活化状态, PI3K-AKT-mTOR 通路活性显著增强(图 3-A 至 3-B、附件图 9); 公共空间转录组数据 HCM1267D 显示, 该亚群富集区域的 PI3K-AKT-mTOR 通路评分显著升高($P=0.016$)(附件图 10-A), 进一步证实其在 HCM 血管相关生物学过程的功能作用。在 DCM 中, Fibroblast_c0-POSTN 亚群显著富集(比例增加 283.2%)(附件图 8), 并伴随血管生成通路活性增强(图 3-C 至 3-D、附件图 9); 公共空间转录组数据集 GSE271676 中, 该亚群高富集区域也呈现更高的血管生成评分($P=0.018$)(附件图 10-B), 提示该亚群可能是 DCM 中纤维化重塑与血管生成耦联的关键细胞来源。ACM 细胞亚群变化最具多样性, 其中 Cardiomyocyte_c2-CDIN1(比例升高超 10 倍)亚群显著富集(附件图 8), 且氧化磷酸化通路活性显著增强(图 3-E 至 3-F、附件图 9)。虽然缺乏与该亚群完全匹配的空间转录组或染色质可及性数据, 但已有研究显示, 在 ACM 患者心肌中, 富含心肌细胞的空间簇(cluster 3)同时呈现明显的线粒体氧化磷酸化增强^[25], 与本研究所鉴定的 CDIN1⁺ 心肌细胞特征高度一致, 为该亚群的代谢特征提供了支持。

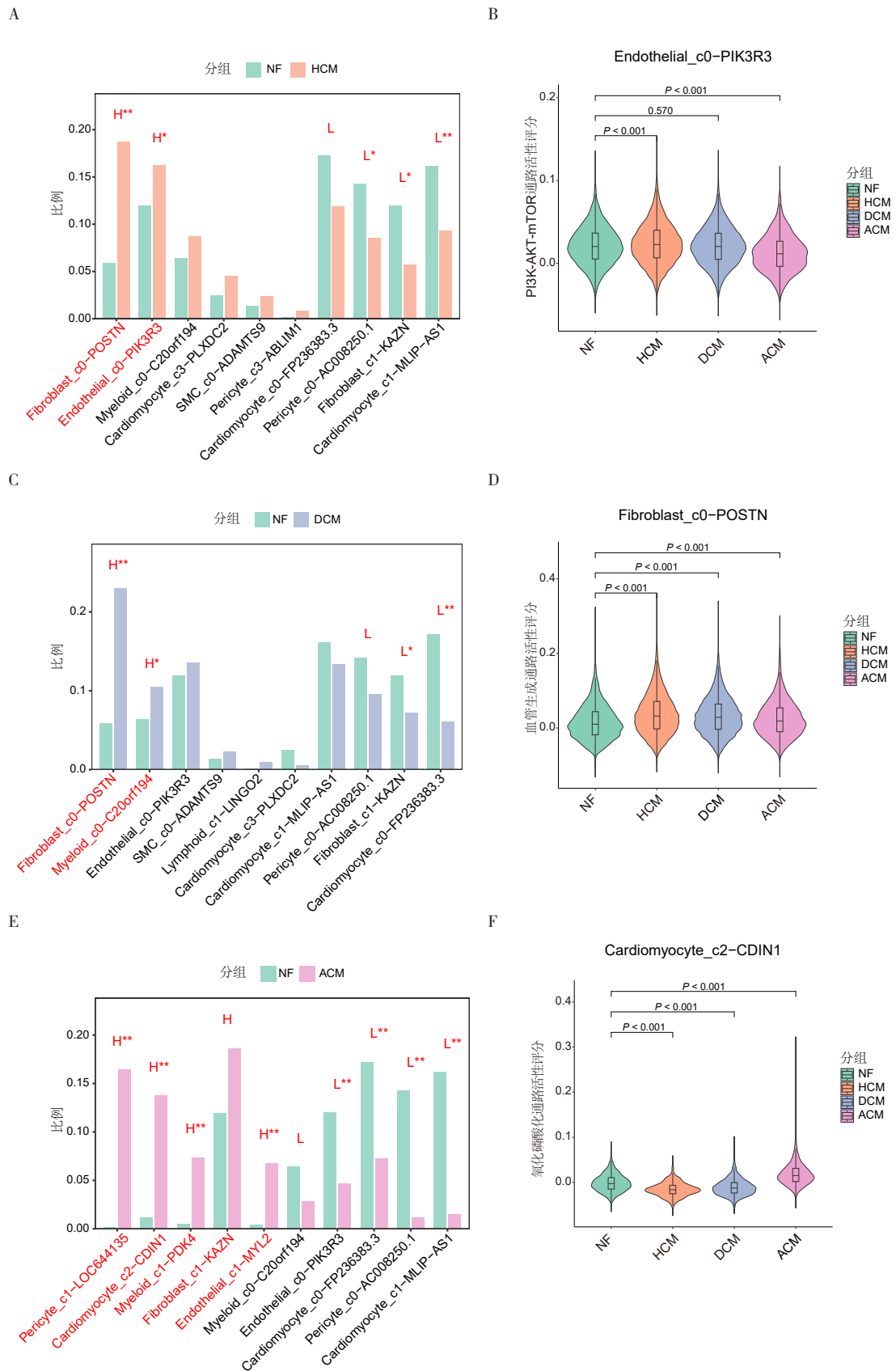


图3 心肌病特征性细胞亚群鉴定

Figure 3. Identification of key cell subpopulations in cardiomyopathies

注：A、C、E.HCM、DCM、ACM中前10位显著差异细胞亚群（H表示比例升高，L表示比例降低；未带“*”表示差异无统计学意义）；B、D、F.关键亚群在特征通路中的活性评分；* $P < 0.05$ ；** $P < 0.01$ 。

3 讨论

本研究从细胞组成、功能通路与细胞互作相结合的角度,量化了 HCM、DCM 和 ACM 三类心肌病共同的心肌细胞丢失与间质重塑,以及内皮细胞、周细胞和神经元等细胞的亚型特异性改变,揭示了 HCM 中内皮细胞主导的 PI3K-AKT-mTOR 激活、DCM 中成纤维细胞主导的血管生成增强,以及 ACM 中心肌细胞为核心的氧化磷酸化代谢重编程及其上游线粒体调控网络。基于此,本研究构建了三种心肌病可直接对照的“细胞组成-关键信号通路-细胞通讯-核心亚群”的综合框架,为理解不同心肌病的异质性病理机制提供了新的证据和切入点。

在细胞组成层面,HCM、DCM 和 ACM 三类心肌病均存在心肌细胞减少和成纤维细胞、平滑肌细胞增多,证实心肌损伤与纤维化是心肌病共同的终末通路,与既往组织学研究一致^[26]。DCM 心肌细胞减少和纤维细胞激活,与其严重的收缩功能障碍和心室扩张的临床表现相符^[5]。HCM 与 DCM 中内皮细胞增多,而 ACM 中内皮细胞减少,周细胞和神经元增加,提示不同心肌病可能存在独特的微环境调控模式。HCM 和 DCM 中血管成分增加可能与代偿性血管重塑有关,而 ACM 中神经元增多可能与电活动异常和心律失常易感相关联^[7,27]。上述结果提示,不同心肌病细胞微环境存在明显差异,需要针对性干预。

在分子层面,本研究观察到三类心肌病通路活化特征存在差异。HCM 中,PI3K-AKT-mTOR 通路激活可促进心脏纤维化和肥大,与既往研究一致^[28]。本研究通过单核转录组证实,血管内皮细胞是该通路异常活化的重要细胞来源,为理解 HCM 的血管微环境参与疾病机制提供了新证据。DCM 中,成纤维细胞的血管生成通路显著上调,提示特定成纤维细胞亚群可能通过旁分泌作用参与病理性血管重塑^[29]。ACM 中,心肌细胞氧化磷酸化通路活化提示代谢重编程可能参与早期病理过程。既往研究显示,ACM 早期代偿阶段心肌细胞线粒体活性代偿性增强^[30],但持续活化会导致活性氧过量产生和脂质过氧化,最终促进心肌细胞凋亡^[31]。

在核心细胞亚群层面,HCM 中,Endothelial_c0-PIK3R3 亚群显著增多,且 PI3K-AKT-mTOR

通路活化,提示该亚群参与 HCM 血管微环境异常,与既往研究中 PI3K-AKT-mTOR 通路异常激活一致^[32]。同时,Fibroblast_c0-POSTN 亚群增多进一步支持 HCM 纤维化进程活跃^[33]。DCM 中,Myeloid_c0-C20orf194 和 Fibroblast_c0-POSTN 亚群增加,提示其可能在 DCM 免疫炎症和血管重塑中发挥作用^[34]。ACM 中 Cardiomyocyte_c2-CDIN1 和 Fibroblast_c1-KAZN 亚群特异性改变,提示代谢异常与纤维化可能共同参与 ACM 病理特征^[35]。上述疾病特异性细胞亚群可为心肌病分子分型提供潜在标志物,并为靶向亚群干预提供新思路,但其功能仍需实验验证。

本研究存在一定局限性。首先,样本来源存在一定异质性且数量相对有限,可能影响部分稀有细胞亚群的统计功效。其次,本研究主要基于单核转录组数据的关联性分析,发现的细胞状态变化与分子特征虽提供了重要的机制线索,但确切的因果调控关系仍有待后续的功能实验加以验证。此外,所有样本均来自终末期患者,未能体现疾病发展过程中的动态细胞演变。未来研究可通过多中心合作收集标准化样本、利用体外模型进行关键亚群的功能验证,并结合纵向样本追踪,以构建更完整、更具因果推断力的疾病演进图谱。

本研究通过单核转录组分析,从细胞组成、分子功能到细胞亚群三个层面,系统揭示了 HCM、DCM 和 ACM 的异质性特征,为理解心肌病的发病机制提供了新的见解,也为未来开发精准的分型诊断和靶向治疗策略奠定了基础。

附件见《医学新知》官网附录 (<https://yxxz.whuzhmedj.com/futureApi/storage/appendix/202510018.xlsx>)

伦理声明:不适用

作者贡献:课题设计与论文撰写:句英娇;数据分析与绘图:句英娇、姚静怡、张松;研究指导、论文审阅与经费支持:句英娇、闵力
数据获取:本研究中使用和分析的数据均为公共数据,可通过 Broad Institute (<https://singlecell.zendesk.com/>) 和 European Genome-phenome Archive (<https://ega-archive.org/>) 获得

利益冲突声明:无

致谢:不适用

参考文献

- 1 Maron BJ, Towbin JA, Thiene G, et al. Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies: an American heart association scientific statement from the council on clinical cardiology, heart failure

- and transplantation committee; quality of care and outcomes research and functional genomics and translational biology interdisciplinary working groups; and council on epidemiology and prevention[J]. *Circulation*, 2006, 113(14): 1807–1816.
- 2 Seferovic PM, Polovina M, Bauersachs J, et al. Heart failure in cardiomyopathies: a position paper from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology[J]. *Eur J Heart Fail*, 2019, 21(5): 553–576.
 - 3 Bui AL, Horwich TB, Fonarow GC. Epidemiology and risk profile of heart failure[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2011, 8(1): 30–41.
 - 4 Teekakirikul P, Zhu W, Huang HC, et al. Hypertrophic cardiomyopathy: an overview of genetics and management[J]. *Biomolecules*, 2019, 9(12): 878.
 - 5 Heymans S, Lakdawala NK, Tschope C, et al. Dilated cardiomyopathy: causes, mechanisms, and current and future treatment approaches[J]. *Lancet*, 2023, 402(10406): 998–1011.
 - 6 Corrado D, Basso C, Judge D P. Arrhythmogenic cardiomyopathy[J]. *Circ Res*, 2017, 121(7): 784–802.
 - 7 Ciarambino T, Menna G, Sansone G, et al. Cardiomyopathies: an overview[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(14): 7722.
 - 8 Kanemaru K, Cranley J, Muraro D, et al. Spatially resolved multiomics of human cardiac niches[J]. *Nature*, 2023, 619(7971): 801–810.
 - 9 Gao J, Liu M, Lu M, et al. Integrative analysis of transcriptome, DNA methylome, and chromatin accessibility reveals candidate therapeutic targets in hypertrophic cardiomyopathy[J]. *Protein Cell*, 2024, 15(11): 796–817.
 - 10 Russell–Hallinan A, Cappa O, Kerrigan L, et al. Single–cell RNA sequencing reveals cardiac fibroblast–specific transcriptomic changes in dilated cardiomyopathy[J]. *Cells*, 2024, 13(9): 752.
 - 11 Zhao Y, Xu M, Hua X, et al. Molecular features and cell composition of left–dominant arrhythmogenic cardiomyopathy reveals key pathways and therapeutic targets[J]. *Cardiovasc Pathol*, 2025, 78: 107743.
 - 12 Chaffin M, Papangeli I, Simonson B, et al. Single–nucleus profiling of human dilated and hypertrophic cardiomyopathy[J]. *Nature*, 2022, 608(7921): 174–180.
 - 13 Reichart D, Lindberg EL, Maatz H, et al. Pathogenic variants damage cell composition and single cell transcription in cardiomyopathies[J]. *Science*, 2022, 377(6606): eabo1984.
 - 14 Tao W, Gong M, Ke Z. Characterising shared and specific cell–cell communication in cardiomyopathy subtypes from single–cell transcriptomics data[J]. *J Cell Mol Med*, 2025, 29(9): e70554.
 - 15 Butler A, Hoffman P, Smibert P, et al. Integrating single–cell transcriptomic data across different conditions, technologies, and species[J]. *Nat Biotechnol*, 2018, 36(5): 411–420.
 - 16 Su Q, Huang W, Huang Y, et al. Single–cell insights: pioneering an integrated atlas of chromatin accessibility and transcriptomic landscapes in diabetic cardiomyopathy[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2024, 23(1): 139.
 - 17 Liu X, Yin K, Chen L, et al. Lineage–specific regulatory changes in hypertrophic cardiomyopathy unraveled by single–nucleus RNA–seq and spatial transcriptomics[J]. *Cell Discov*, 2023, 9(1): 6.
 - 18 Korsunsky I, Millard N, Fan J, et al. Fast, sensitive and accurate integration of single–cell data with Harmony[J]. *Nat Methods*, 2019, 16(12): 1289–1296.
 - 19 Dominguez Conde C, Xu C, Jarvis LB, et al. Cross–tissue immune cell analysis reveals tissue–specific features in humans[J]. *Science*, 2022, 376(6594): eabl5197.
 - 20 Wu T, Hu E, Xu S, et al. ClusterProfiler 4.0: a universal enrichment tool for interpreting omics data[J]. *Innovation (Camb)*, 2021, 2(3): 100141.
 - 21 Liberzon A, Birger C, Thorvaldsdottir H, et al. The Molecular Signatures Database (MSigDB) hallmark gene set collection[J]. *Cell Syst*, 2015, 1(6): 417–425.
 - 22 Hanzelmann S, Castelo R, Guinney J. GSEA: gene set variation analysis for microarray and RNA–seq data[J]. *BMC Bioinformatics*, 2013, 14: 7.
 - 23 Jin S, Guerrero–Juarez CF, Zhang L, et al. Inference and analysis of cell–cell communication using CellChat[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 1088.
 - 24 Lee SE, Joo JH, Hwang HS, et al. Spatial transcriptional landscape of human heart failure[J]. *Eur Heart J*, 2025, 46(31): 3098–3114.
 - 25 Boogerd CJ, Lacraz GPA, Vertesy A, et al. Spatial transcriptomics unveils ZBTB11 as a regulator of cardiomyocyte degeneration in arrhythmogenic cardiomyopathy[J]. *Cardiovasc Res*, 2023, 119(2): 477–491.
 - 26 Pezel T, Viallon M, Croisille P, et al. Imaging interstitial fibrosis, left ventricular remodeling, and function in stage A and B heart failure[J]. *JACC Cardiovasc Imaging*, 2021, 14(5): 1038–1052.
 - 27 Stavrakis S, Kulkarni K, Singh JP, et al. Autonomic modulation of cardiac arrhythmias: methods to assess treatment and outcomes[J]. *JACC Clin Electrophysiol*, 2020, 6(5): 467–483.
 - 28 Yang X, Cheng K, Wang LY, et al. The role of endothelial cell in cardiac hypertrophy: focusing on angiogenesis and intercellular crosstalk[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 163: 114799.
 - 29 Mouton AJ, Ma Y, Rivera Gonzalez OJ, et al. Fibroblast polarization over the myocardial infarction time continuum shifts roles from inflammation to angiogenesis[J]. *Basic Res Cardiol*, 2019, 114(2): 6.
 - 30 van Opbergen CJM, den Braven L, Delmar M, et al. Mitochondrial dysfunction as substrate for arrhythmogenic cardiomyopathy: a search for new disease mechanisms[J]. *Front Physiol*, 2019, 10: 1496.
 - 31 Li J, Jia YC, Ding YX, et al. The crosstalk between ferroptosis and mitochondrial dynamic regulatory networks[J]. *Int J Biol Sci*, 2023, 19(9): 2756–2771.
 - 32 Li H, Tian X, Ruan Y, et al. Asiatic acid alleviates Ang–II induced cardiac hypertrophy and fibrosis via miR–126/PIK3R2 signaling[J]. *Nutr Metab (Lond)*, 2021, 18(1): 71.
 - 33 Liu ZL, Chen HH, Zheng LL, et al. Angiogenic signaling pathways and anti–angiogenic therapy for cancer[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 198.
 - 34 He S, Li C, Lu M, et al. Comprehensive analysis of scRNA–seq and bulk RNA–seq reveals the non–cardiomyocytes heterogeneity and novel cell populations in dilated cardiomyopathy[J]. *J Transl Med*, 2025, 23(1): 17.
 - 35 Kohela A, Van Rooij E. Fibro–fatty remodelling in arrhythmogenic cardiomyopathy[J]. *Basic Res Cardiol*, 2022, 117(1): 22.

收稿日期: 2025 年 10 月 10 日 修回日期: 2025 年 12 月 04 日
 本文编辑: 杨室淤 曹越

引用本文: 句英娇, 姚静怡, 张松, 等. 单核转录组学揭示心肌病亚型特异性细胞和分子特征[J]. 医学新知, 2026, 36(4): 438–447. DOI: 10.12173/j.issn.1004–5511.202510018.

Ju YJ, Yao JY, Zhang S, et al. Single–nucleus transcriptomics reveals subtypes–specific cellular and molecular features of cardiomyopathy[J]. *Yixue Xinzhi Zazhi*, 2026, 36(4): 438–447. DOI: 10.12173/j.issn.1004–5511.202510018.