

单细胞视角下的SLE

最简单的图谱性工作已经被前人完成了，所以我们的工作要在发病机制或者疾病疗法上更进一步

Part1 细胞层面

这里指的是单细胞数据细分到的最小的亚群，在单项研究中认为这类细胞是“同质性”的，所以同一种细胞类型的细胞数量越多，统计效力越强，越能降低随机噪音的干扰。

1.0 cell typing

单细胞分析的第一步，cell typing虽然很基本，但其实也是最难的步骤，因为是单细胞分析最主观的因素。如果细胞类型的定义不准，结论从根本上就是错的；如果分类不细，就会抹平掉关键的信息。所以说cell typing是单细胞项目的基石，北大张泽民老师团队对5000个T cell细胞就能分出12种有生物学意义的群体，需要非常强的免疫学背景知识。这方面我目前比较欠缺，需要花大量时间补足。

P.S 下面三步分析更加常规（或者说套路）

1.1 marker gene

通过比较找到这类细胞中高表达的基因，并与生物学意义相联系

1. 细胞状态：naïve--rest--exhausted--activated-- proliferation
2. 细胞功能：effect T --memory T --helper T-- Treg（以T cell为例）
3. 其他：暂无
4. 新的细胞类型：如果发现一种细胞类型表达了之前没有在这种细胞类型上报道过的基因，可能表明发现了一种新的细胞亚型

1.2 TF

推断细胞类型特异性的转录调控网络，用来解释上一步（1.1）中marker gene定义的功能/状态/新细胞类型在转录层面的出现原因

常用SCENIC等算法

1.3 pathway enrichment

通路富集说到底是一些marker gene的组合/排列，但这样比单纯的一个/数个gene更有说服力，对细胞功能的刻画更进一步

常用的算法/数据库有GO, KEGG, GSEA, GSVA等。特别地，在SLE中常见的做法是自定义一些SLE相关的基因集（常与IFN- α 相关），对每种细胞类型评分。

Part2 细胞间层面

没有细胞是一个孤岛，细胞一定要依赖生存的微环境（其他细胞+环境物质）

在免疫系统中，细胞与其他细胞之间的联系主要通过两种生物分子：CK（细胞因子）与CD（白细胞表面抗原），而CD又可按照作用方式分为细胞受体和黏附分子两类：

2.1 CK--speak

细胞分泌细胞因子，用于传达信息，细胞因子的分类在这不赘述（参考wiki）

2.2 CD(细胞受体)--listen

细胞通过细胞受体接受细胞外的信号（多是可溶性小分子），注意，细胞受体不仅仅接受CK的信号，还接受病原体刺激，MHC传递等其他信号

2.3 CD(黏附分子)--talk

指位于细胞膜，用于细胞之间直接相互作用/通讯的表面蛋白；如共激活，共抑制的配/受体

其实scRNA-seq不特别适用于观察细胞之间的相互作用，因为它捕捉的只是一个snapshot，而不是一个动态的过程。但细胞之间的相互作用一定是动态的，所以从静态数据还原动态关系是一件比较困难的事情，只能说是一种细胞间相互作用的“推测”。除了单细胞之外，其他的一些技术也能做类似的工作，总结如下

1. scRNA-seq + 算法：如iTALK，CellChat等，通过配受体的表达量计算通讯的紧密程度
2. cite-seq：有表面蛋白的数据，但是也只能更准确的推测直接相互作用，没有本质性提升
3. 实验：目前的**金标准**，种类繁多，甚至能从显微镜下连续拍摄？

对于SLE项目，细胞之间的关系尤为重要，SLE中的两个关键因素

- IFN（干扰素）
- ANAs（抗核抗体）

都要通过多种细胞类型才能发挥作用，最少也要包括speaker 和listener两种类型，如何捕捉到谁是speaker，谁是listener，是我们需要考虑的**关键问题**。

Part3 患者层面

主要涉及三个方面

1. 处理：疗法（无/激素/免疫抑制）
2. 表型：预后效果，病人本身的情况（PAH，SLEDA等其他参数）
3. 关联：分子-----（统计学相关性）----->与上述的（1）处理或者（2）表型联系，与处理联系上就是对疾病治疗有贡献，与表型联系上就是对疾病机制有贡献

目前我们拥有非常棒的队列，只需要关心如何将我们在Part 1和Part 2中的细胞/分子生物学发现与处理或者表型联系起来就好

Part4 总结

Part1 单细胞分析；虽然前人做过了，但是我们可以比他们做的更好

Part2 找出SLE中细胞动态调控；单细胞数据可能提供一些线索，然后有针对性的通过实验验证。但是坏的情况是单细胞数据提供不了线索，甚至提供错误的线索

Part3 统计学关联；没有操作难度，但是不一定有理想的结果（P值显著）

Part2 和3 可能是工作的亮点