



## 全自动单细胞功能蛋白质组学分析系统



**Isoplexis corporation**

**王清松: +8615721015778**

## 目录

|                                 |    |
|---------------------------------|----|
| 一、背景介绍 .....                    | 3  |
| 二、IsoPlexis 单细胞功能蛋白组学分析技术 ..... | 3  |
| 1. IsoPlexis 单细胞蛋白质组学检测原理 ..... | 4  |
| 2. IsoLight 系统介绍 .....          | 5  |
| (1) 软件支持的光学系统 .....             | 5  |
| (2) 流体动力学支持的流动室 .....           | 6  |
| (3) 硬件与软件的深度连接 .....            | 6  |
| 3. 检测功能 .....                   | 6  |
| (1) 免疫分析 .....                  | 6  |
| (2) 胞内信号蛋白组学 .....              | 7  |
| (3) 细胞群体水平自动化多重蛋白质组学检测 .....    | 8  |
| 三、IsoPlexis 技术特点 .....          | 8  |
| 四、IsoPlexis 技术应用 .....          | 9  |
| 1. 肿瘤免疫学研究 .....                | 9  |
| 2. 细胞和基因治疗开发 .....              | 11 |
| 3. 传染病研究 .....                  | 15 |
| 4. 炎症研究 .....                   | 16 |
| 5. 靶向治疗 .....                   | 17 |
| 五、参考文献 .....                    | 20 |

## 一、背景介绍

在免疫医学中我们仍然面临许多挑战。首先，在肿瘤免疫学方面，我们正重定向免疫系统药物的方向，以治疗实体肿瘤，这是一项极为艰巨的工作。目前只有 25% 左右取得疗效，并且在开发和确定生物标志物方面仍然面临许多挑战。其次，在细胞和基因治疗方面，我们正努力在全球扩大免疫细胞药物的规模。最后，对于炎症和传染病，尤其是对于新冠肺炎，如何治疗免疫系统以避免致命性炎症，这是个尚未解决的问题。

研究人员需要思考的是，如何利用强大的免疫系统交付最有效的持久性治疗以对抗肿瘤、传染病、自身免疫病及其他各种疾病？另外，在进入临床后，如何开发出更好的免疫生物标志物，以便理解哪些病人的免疫系统会让病人获得更好的疗效？围绕以上挑战的真正痛点是很难进行相关的高效免疫生物学检测，市面上的很多解决方案无法解决免疫细胞的细胞生物学核心方面问题，以致研究人员无法在治疗方法开发中获得早期的指导方向。

当前，免疫治疗的基础研究、药物开发、产品生产和质控、临床前开发、临床应用和监管等各方面的研究和探索都会涉及到对细胞因子、趋化因子和生长因子等蛋白的定量分析，或是对胞内参与信号转导的磷酸化蛋白进行检测。传统的检测方法只能检测相关样品中分泌到溶液中的各类蛋白的平均浓度，这是诸多细胞和组织共同分泌的结果，只能得到被平均化的结果。此外相关样品都具有很大的异质性，包含的细胞种类很多，而具有关键作用的仅仅是其中一小部分细胞，传统的检测方法得到的平均化检测结果，与后期实验结果、筛选目标细胞类群、分析免疫治疗产品效能和预测患者治疗效果等方面的相关性较差，这大大地限制了免疫治疗的研究开发和实际应用。

## 二、IsoPlexis 单细胞功能蛋白组学分析技术

IsoPlexis 单细胞功能蛋白组学分析技术可以从根本上解决以上这些挑战所面临的痛点。

目前，生物分析重心正在向单细胞层面转移，与此同时，细胞分析技术也在不断发展。每个细胞的生物层面分辨率与传统的流式细胞技术和单个细胞基因组学检测差别很大。流式细胞技术通常可用于检测多重细胞表面标志进行细胞表型，然而无法获得功能层面的单细胞信息。此外，检测 DNA 和 RNA 也是单细胞分析领域的彻底变革，然而 RNA 不能直接等同于功能蛋白质，因而无法提供蛋白质组学功能层面的数据，从而无法直接与治疗结果相关。IsoPlexis 单细胞功能蛋白组学分析技术将对临床研究和科学知识的发展带来革命性的变化。

IsoPlexis 公司及其技术基于其创新性和独特的单细胞蛋白质组学解决方案，自推出以来屡获奖项。在 2017 年被 The Scientist 选为 2017 十大医疗技术发明第一位，荣获创新奖榜首 (The Top Innovation of 2017 (The Scientist))；同年还获得“Fierce Innovation Award”和“PackardFellow”奖项。在 2018 年又荣获了“工业设计界奥斯卡”美誉的德国“红点奖”(reddot design award winner)，并评为 2018 年度 10 大顶级分析解决方案供应商。在 2020 年，该系统荣获了被称为“创新届的奥斯卡”的爱迪生奖。爱迪生奖于 1987 年由美国电机工程学会设立，以发明家托马斯·爱迪生命命名，仅授予给科技界最创新、最杰出和最具国际影响力的产品和企业家。此外，该集成系统还被《科学家》期刊、Fierce、BIG Innovation 和 Red Dot 等机构评为“最佳创新或设计”奖。



reddot design award  
winner 2018

#1 TECHNOLOGY INNOVATION

**FIERCE  
INNOVATION  
AWARDS**

LIFE SCIENCES EDITION



TheScientist  
**TOP 10  
INNOVATIONS**



图 1: Isoplexis 技术荣获奖项

## 1. IsoPlexis 单细胞蛋白质组学检测原理

IsoPlexis 单细胞分泌蛋白质组技术采用 IsoCode 芯片, 含有数千个亚纳升级别的微小腔室, 可同时捕获成千上万个单细胞, 通过细胞表面标志物检测小室中细胞的存在, 再搭配独有的基于 ELISA 的蛋白质组学条形码技术, 在这些小室中采集多达 30 种以上的功能蛋白质, 即真正的分泌蛋白, 通过蛋白质组学条形码技术检测单核细胞中最强大的功能细胞。

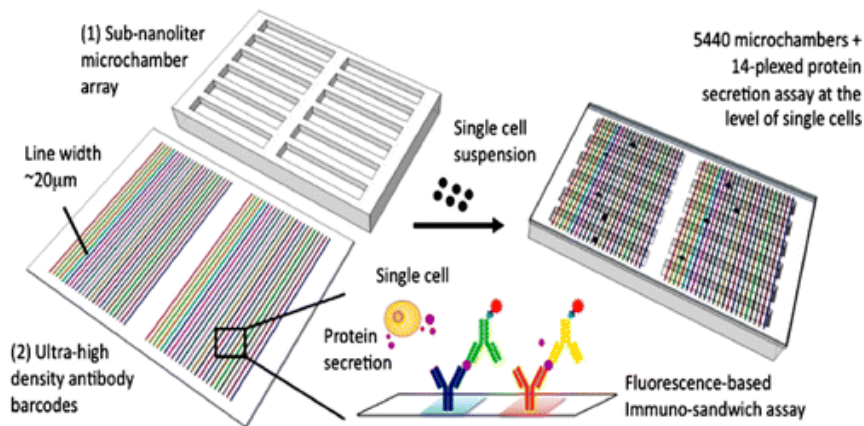


图 2. IsoPlexis 单细胞分泌蛋白质组学检测原理

蛋白质组学条形码技术具有高度多重性, 位于玻片下方的抗体可以捕获细胞分泌出来的蛋白质, 然后通过结合荧光分子的二抗形成夹心 ELISA, 从而检测出蛋白浓度。该过程在所有小室中同步进行, 因而可以获得所有小室中单个细胞分泌的蛋白组学信息。该方法经过实验室优化验证, 蛋白检测灵敏度高, 全自动化流程, 操作简单。

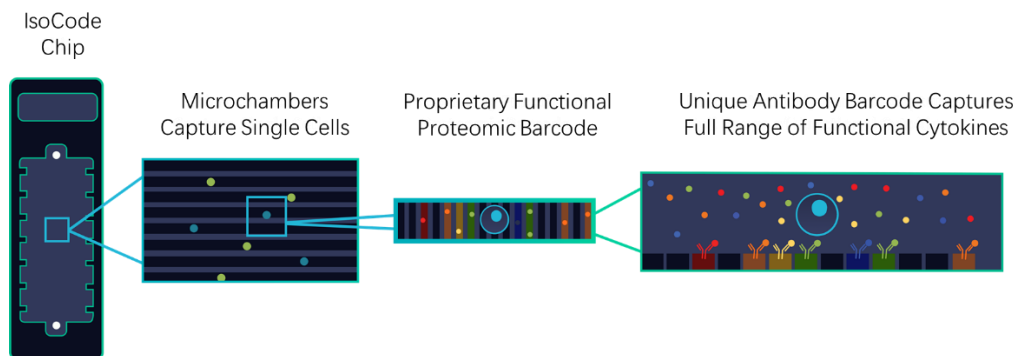


图 3: Isoplexis 单细胞分泌蛋白质组学检测原理示意图

对于单细胞胞内磷酸化蛋白组学检测，被小室捕获的单个细胞会经过细胞裂解，释放出胞内蛋白，通过 IsoCode 芯片玻片底部的抗磷酸化蛋白抗体捕获，经由相应的荧光二抗检测其信号强度，从而获取细胞水平的整个蛋白信号通路网络。

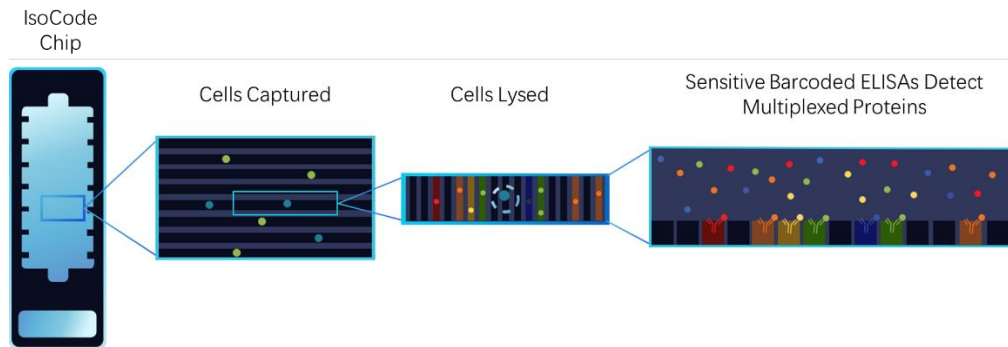


图 4: isoplexis 单细胞胞内磷酸化蛋白组学检测原理示意图

## 2. IsoLight 系统介绍

IsoLight 全自动单细胞功能蛋白质组学分析系统由 IsoLight 仪器、IsoSpark 软件和 IsoCode/CodePlex 芯片组成，涵盖了多个实验操作和检测体系，其功能相当于多台高端分析设备、液体处理器、清洗站、显微镜、培养箱和微阵列扫描仪，相当于将整个实验室变成一款精致的端到端系统。

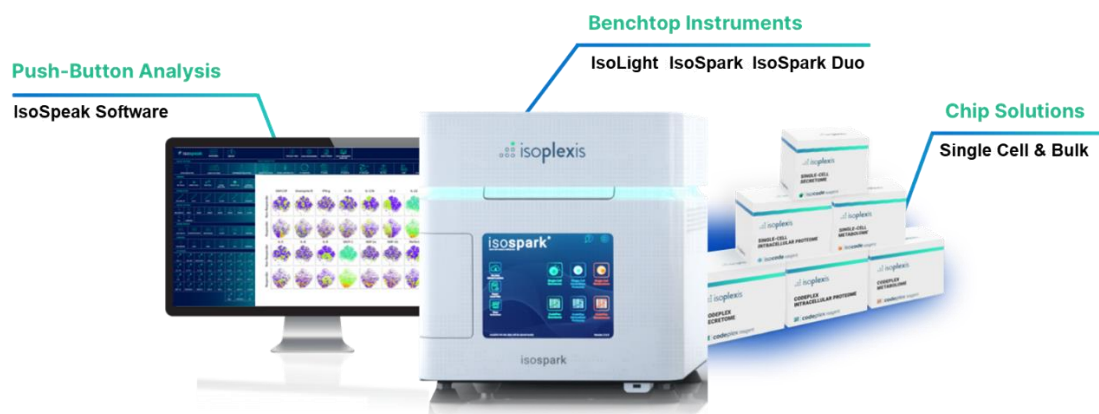


图 5: IsoPlexis 全自动单细胞功能蛋白质组学分析系统

该系统有三项工程创新：

### （1）软件支持的光学系统

将样本加载到单细胞芯片后，借助软件支持的高度灵敏光学系统，可以进行单细胞检测，并基于量化抗体的蛋白质组学检测，与每个细胞相匹配，以及立即在进程中将数据编译入软件。

首先，多色激光通过与 IsoCode 芯片上小室内某个细胞相关联的表面荧光，对每个细胞进行灵敏而精确的成像。其次，通过光学系统可以定量检测每个单细胞浓度为 2-2,000 pg/ml 的蛋白质。软件可以在进程中量化与每个单细胞相关联的高度多重性蛋白质。最后，这些定量数据被直接导入到 IsoSpark 软件中，以便以端对端的方式查看我们超强大的生物学结果。

## (2) 流体动力学支持的流动室

基于流体动力学的流动室底部标记有最高品质的 ELISA 试剂，细胞流均匀，完全自动，而且可以实现最大限度地一致性。这与现有的多重蛋白质组学检测系统有很大的不同，现有的系统要求执行多个不同的移液和清洗步骤，以便获取数据。

ISOlight 系统仅需要一次简单的移液器加样操作，然后对 ISOcode 芯片成像，运行检测芯片，而无需清洗站。每次最多可以检测每个细胞的 32 项分析物，获得高度多重性的二抗夹心 ELISA 数据。该方法高度灵敏，配合自动超级细胞亚群检测，可以在四份样本中检测获得大量的单细胞蛋白质组学数据集，提高检测能力的同时最大限度改善了一致性。

### (3) 硬件与软件的深度连接

在完成二抗夹心 ELISA 和成像后，从每次 IsoSpark 运行中收集的所有数据会被立即编译入 IsoSpark 软件平台，以便查看，并在当天进行分析。IsoSpeak 是最强大的功能分析软件，可以在当天就根据仪器上的数据获得结果。使用这款软件，只需按下按钮即可查看数据，并获得对关键机械和预测性结果的揭示，从而推动免疫医学的进步。

硬件和软件的深度连接可以组织数据集,让使用人员可以立即利用数据,研究其中的差异。按钮时数据查看,方便任何用户识别数据分层,这是最有效的实验室合作工具,可以提供高阶图像和输出功能,有助于推进整个组织的决策。

IsoSpeak 软件的真正功效在于，使用人员无需再做那些行政工作和后端编程，以及许多软件过程中最耗时间，但产出最少的那些步骤。同样，IsoLight 系统有助于使用人员将更多的时间花在有效的工作和思考上面，而不是执行重复而繁琐的 ELISA 板手动操作。

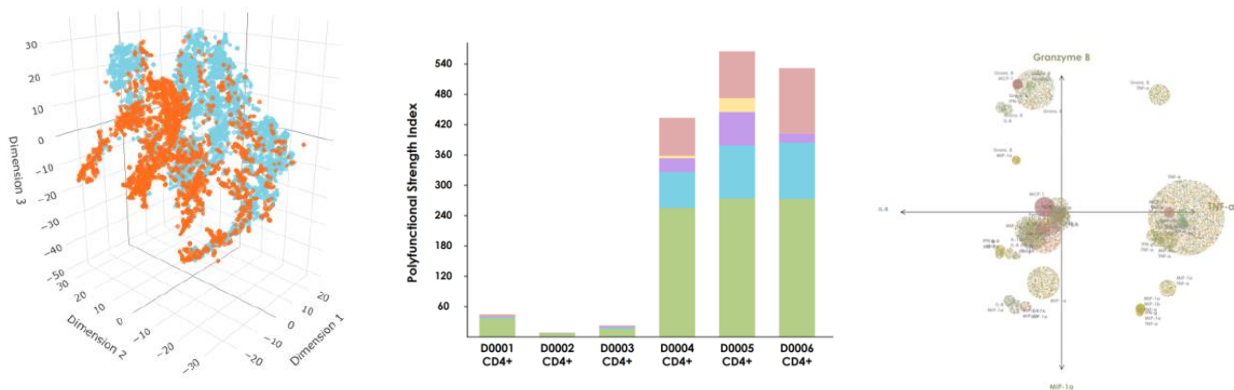


图 6. IsoSpeak 软件可视化数据分析工具部分展示, 包括 t-SNE 三维图、PSI 柱形图、PAT-PCA 主成分分析图等。

### 3. 检测功能

### (1) 免疫分析

IsoPlexis 技术可以在目前已知的每种免疫细胞表型基础上，添加新的功能性蛋白质组学层

面的丰富数据，从而鉴定每种细胞的完整功能性。它的独特之处在于可以明确核心表型细胞中每一个细胞的分泌蛋白质组学特点，它以独有的高度多重分泌蛋白检测形式，分析这些细胞的实际功能性质，帮助揭示在疾病中发挥重要保护作用的超级细胞亚群以及损伤机体的不良细胞亚群，从而展示出另外的生物学新价值，即与治疗结果建立相关性。在临床前期，我们展示了以独有的方式预测哪些治疗方法能够对各种适应症产生最持久的疗效。在临床期，我们展示了生物标志物，如何通过分析功能强大的细胞预测更全面的疗效，以便更好的治疗免疫系统并增强疗效。

作为单细胞多重细胞因子分析的金标准，IsoPlexis 技术通过有效利用超级免疫细胞亚群，对其分泌的多重细胞因子在单细胞水平上进行大数据分析，以评估每个免疫细胞的功能，为免疫医学及相关临床应用做出贡献。

到目前为止，我们可以提供从发现到生物标志物的全范围免疫分析，从小鼠到非人灵长类动物，再到人类，涵盖整个研发光谱。我们目前提供的 IsoCode 芯片检测对象包括：

- i. 小鼠适应性免疫和炎症性蛋白组学检测组合
- ii. 非人灵长类适应性免疫蛋白组学检测组合
- iii. 人适应性、先天性免疫和炎症性蛋白组学检测组合

这些组合还在不断扩展中，我们将会陆续增加与免疫蛋白质组学有关的更多靶向检测组合。

表 1. IsoCode 单细胞分泌蛋白组学检测指标

| IsoCode 芯片                        | 检测蛋白种类                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|-----------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Human Adaptive Immune             | Granzyme B, IFN- $\gamma$ , MIP-1 $\alpha$ , Perforin, TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , GM-CSF, IL-2, IL-5, IL-7, IL-8, IL-9, IL-12, IL-15, IL-21, CCL11, IP-10, MIP-1 $\beta$ , RANTES, IL-4, IL-10, IL-13, IL-22, TGF $\beta$ 1, sCD137, sCD40L, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17A, IL-17F, MCP-1, MCP-4  |
| Non-Human Primate Adaptive Immune | TNF- $\alpha$ , MCP-1, IL-2, IL-4, MIP-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-1 $\beta$ , RANTES, IFN-g, IP-10, MIP-1 $\alpha$ , MIF, GM-CSF                                                                                                                                                                    |
| Mouse Adaptive Immune             | Granzyme B, IFN- $\gamma$ , MIP-1 $\alpha$ , TNF- $\alpha$ , GM-CSF, IL-2, IL-5, IL-7, IL-12p70, IL-15, IL-18, IL-21, sCD137, CCL11, CXCL1, CXCL13, IP-10, RANTES, Fas, IL-4, IL-10, IL-13, IL-27, TGF $\beta$ 1, IL-6, IL-17A, MCP-1, IL-1 $\beta$                                                 |
| Human Innate Immune               | IFN- $\gamma$ , MIP-1 $\alpha$ , TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , GM-CSF, IL-8, IL-9, IL-15, IL-18, TGF- $\alpha$ , IL-5, CCL11, IP-10, MIP-1 $\beta$ , RANTES, BCA-1, IL-10, IL-13, IL-22, sCD40L, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12-p40, IL-12, IL-17A, IL-17F, MCP-1, MCP-4, MIF, EGF, PDGF-BB, VEGF      |
| Human Inflammation                | GM-CSF, IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-12, TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , IL-4, IL-5, IL-7, IL-9, IL-13, CCL11, IL-8, IP-10, MCP-1, MCP-4, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , RANTES, IL-10, IL-15, IL-22, TGF- $\beta$ 1, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17A, IL-17F, IL-21, Granzyme B, Perforin, sCD40L, sCD137 |

## (2) 胞内信号蛋白组学

IsoPlexis 的单细胞细胞内蛋白质组解决方案源自加州理工学院的多个实验室，所有实验室都在寻求更好的方法来监控癌细胞中的蛋白质-蛋白质相互作用，目的是开发针对性的治疗方法。使用 Western 印迹，质谱和流式细胞仪等传统方法，在给定时间只能跟踪两种蛋白质类型。

利用 Isoplexis 系统，研究人员可以监控 30 种或更多的蛋白质通路，并在同一天获得结果。

在以前的技术中，磷酸化蛋白被用于鉴定单个蛋白质的功能，而没有关于它们如何协同工作的见解。单细胞细胞内蛋白质组以相同的方式揭示了该功能，但也能够提供整个蛋白质信号传导通路的背景信息，从而揭示整体网络如何运作。了解细胞通路的整个网络可以使研究人员更好地了解异常细胞的下游效应，更好地评估癌症靶向治疗疗效，将免疫治疗和靶向治疗推进到一个更加精确和个性化的阶段。除此之外，对 COVID-19、自身免疫性疾病以及许多其他疾病也能够开发出更精确的个性化疗法。

表 2. IsoCode 单细胞胞内蛋白组学检测指标

| IsoCode 芯片                          | 检测蛋白种类                                                                                                                                                                                       |
|-------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Human Tumor Signaling               | P-IkBA, Cleaved PARP, P-Stat5, Alpha Tubulin, P-p44-42 MAPK, P-Stat3, P-Rb, P-NF-kB p65, P-PRAS40, P-eIF4E, P-MEK1-2, P-S6 Ribosomal, P-p90RSK, P-Stat1, P-Met                               |
| Human Adaptive Immune (Coming Soon) | P-Akt, P-p53, P-PD1, P-LCK, P-CD3 zeta, P-Zap70, P-CCR7, P-CD28, P-41BB, P-MEK 1/2, P-P44/42 MAPK (ERK1/2), P-Jak1, P-Jak2, P-AMPK, P-PI3K, P-mTOR, P-P21, P-LAT, P-NF-kB p65, Alpha Tubulin |

### (3) 细胞群体水平自动化多重蛋白质组学检测

许多实验室目前面临的问题是没有途径使用全自动化系统，但又有进行高度多重蛋白质组学检测的需求，因而不得不花大量的时间在重复而繁琐的蛋白质检测手动操作步骤上。此外，对于获得的大量样本数据还需要生物学家处理，存在人为干预解读有误的风险。最后，研究人员往往需要花费大量时间积累样本，以便一次性批量检测，减少批次间误差。

IsoLight 系统可以提供全自动化的多重蛋白质组学检测方案，手动加样只需要 5 分钟，每个样本只需要 11μl（复孔），全自动化流程，避免人为操作误差，有效节省时间。CodePlex 系统同样是基于经过高度验证的条形码 ELISA 技术，与 IsoCode 的区别是检测对象是大量细胞的蛋白质组学。

## 三、IsoPlexis 技术特点

### 1. 单细胞分离和捕获：

每个 IsoCode 芯片可分离和捕获 1250 个以上单细胞，并对单个细胞进行独立分析，获得单细胞异质性信息。

### 2. 单细胞水平的分泌蛋白检测分析

IsoSpark 利用 IsoCode 芯片可以分离和捕获单细胞，并检测每个单细胞分泌相关细胞因子、趋化因子和生长因子等蛋白的能力，获得蛋白组学信息，用于评估单细胞功能，从而预测体内生理学和临床相关性。

### 3. 多重分析

可一次性检测 30 种以上分泌蛋白，只需一次检测便能获得项目研究所需的大量信息，且各蛋白功能信息具有相关性，并减少样品需求量和实验时间。

#### 4. 高度灵敏

蛋白检测灵敏度可达 2-2000 pg/ml，对于极低含量的分泌蛋白也可以有效检测，适合单细胞水平应用，避免关键蛋白信息遗漏。

#### 5. 高通量

可一次同时检测 8 个样本。

#### 6. 全自动化

无需值守的全自动化单细胞蛋白组学分析，仪器自动完成细胞捕获、细胞培养、孵育、加入试剂、样品清洗、信号读取和数据分析等操作，节省人力和时间，提高实验效率，加快研究进展。该系统平均每次运行可节省 4.5 小时的动手时间和 3 小时的数据分析时间，大大加速实验效率。

#### 7. 强大的数据分析能力

以测得的每个细胞分泌各种细胞因子、趋化因子和生长因子水平为基础，利用 IsoSpeak 软件进行大数据分析，从而获取样品中关键细胞的比例和它们的综合能力，比如多功能强度指数（PSI, Polyfunctional Strength Index）等，并得到各种散点图、柱状图、PCA 主成分分析等图表，直观的呈现样本数据，获得具有洞察力的结果，从而便于使用人员很好地分析和判断相关免疫细胞和免疫治疗产品的综合能力。在早期研发阶段，作为筛选指标；在生产阶段，作为工艺流程的质控指标；在临床阶段，还可以预判患者对特定免疫治疗产品的反应；在临床治疗后，监控患者免疫状态和预测患者生存期。

#### 8. 多样化检测模板

既有现成的检测模板，比如：T 细胞肿瘤免疫、天然肿瘤免疫、自身免疫性疾病和传染病等研究专题；也可根据用户需求，定制检测模板。

#### 9. 操作简单

仪器操作简单易学，用户仅需将准备好的细胞悬液样本加入 IsoCode 芯片，放入 IsoSpark 仪器中，每个样本手动操作小于 3 分钟。直观的软件界面，人性化的状态指示灯设计，LED 触摸屏操作，无需资深的专业技术人员，适合多用户使用环境。

#### 10. 技术广受认可

诺华、凯特制药、龙沙等国际生物医药企业和美国德州大学 MD 安德森癌症中心（MD Anderson）等科研高校院所均在使用，近几年发表文献已近百篇，包括众多影响力高的国际期刊。

## 四、IsoPlexis 技术应用

### 1. 肿瘤免疫学研究

在实体瘤免疫治疗中，通过 IsoPlexis 技术可以在早期鉴定能驱动超级 T 细胞的不同激动剂

组合，进而与体内的持久疗效相关联。

加州大学洛杉矶分校戴卫·格芬医学院 2020 年在 Nature Communications 上发表了一篇名为“Persistence of adoptively transferred T cells with a kinetically engineered IL-2 receptor agonist”文章，揭示动态工程化 IL-2 受体激动剂可以提高过继转移性 T 细胞在体内抗肿瘤治疗的持久性。文章中使用的动态工程化的 IL-2 受体激动剂 NKTR-214，是在 IL-2 结构上添加了 6 个聚乙二醇（PEG）分子，形成了无活性的药物。在给肿瘤患者注射之后，这 6 个 PEG 修饰会逐渐脱落，形成了有活性的 2-PEG 和 1-PEG 的形式，2-PEG 形式的 IL-2 可以与 CD8+T 细胞和 NK 细胞表面的受体结合，刺激免疫细胞的增殖，1-PEG 的形式 IL-2 并不与调节性 T 细胞增殖受体结合，从而不增加调节性 T 细胞增殖。

在文章中，作者发现输注 ACT+NKTR-214 的黑色素瘤小鼠模型可以获得更持久的抗肿瘤效应，而 T 细胞是增强抗肿瘤应答的主要细胞成分。为了进一步比较 ACT + NKTR-214 与 ACT + IL-2 处理后小鼠的 T 细胞功能特征，作者采用 IsoPlexis 单细胞分泌蛋白组检测技术评估了过继转移的 CD8+ T 细胞在单细胞水平分泌多种细胞因子的能力，即多功能性，在单细胞水平共分析了 28 种细胞因子的分泌情况（图 A）。

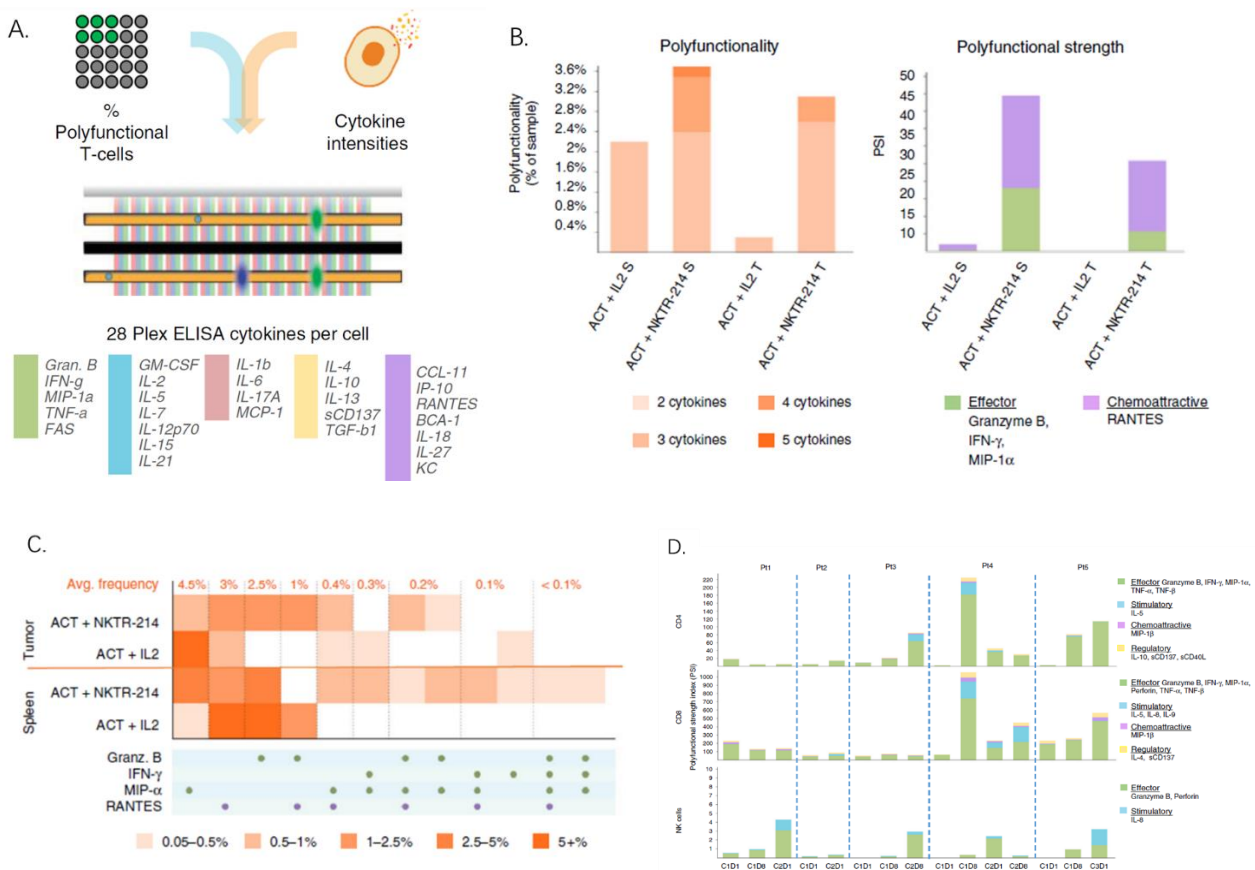


图 7. Isoplexis 单细胞分泌蛋白组学检测技术用于评估黑色素瘤 ACT 治疗中，不同激动剂驱动免疫细胞多功能效应。

### 小鼠黑色素瘤治疗模型研究结果：

- 1) 输注 ACT+NKTR-214 的黑色素瘤小鼠显示诱导多功能性 T 细胞能力增强。与 ACT+IL-2 组相比，ACT+NKTR-214 诱导脾脏和肿瘤中多功能性细胞提高 1.7 倍和 10 倍。尽管分泌两种细胞因子的细胞百分比相当，但 NKTR-214 诱导出现一群高度多功能 CD8+ T 细

胞（分泌 $\geq 3$ 种细胞因子）。而 ACT+IL-2 处理的小鼠脾脏中则不存在这种高度多功能性的过继性 T 细胞（图 B 左图）。

- 2) ACT+ NKTR-21 诱导过继转移的 CD8+T 细胞的多功能强度指数（PSI，指多功能性细胞在样本中的百分比 $\times$ 分泌细胞因子的强度）提高 21 倍。此外，ACT+ NKTR-21 诱导 TIL 细胞的 PSI 增高 1,200 倍。ACT+ NKTR-21 诱导多功能性应答提高主要来自趋化因子 RANTES 和效应细胞因子 MIP-1 $\alpha$ 、颗粒酶素 B 和 IFN- $\gamma$  的产生（图 B 右图）。
- 3) 单细胞多功能热图显示，NKTR-214 促进脾脏和肿瘤中多功能性 T 细胞增加，共分泌多种细胞因子（图 C）。

### 人体 I 期临床试验结果：

为了进一步探讨在人体中给予 NKTR-214 药物是否同样也会诱导 CD4、CD8 和 NK 细胞的多功能性，作者使用相同的单细胞多功能分析芯片，在 I 期剂量递增临床试验（NCT02869295）中分析了 5 个病人在 NKTR-214 给药后的外周血 PBMC 细胞。结果显示（图 D）：

- 1) NKTR-214 给药后，在不同的时间点诱导不同细胞亚群（CD4、CD8 和 NK 细胞）的多功能性应答不同。给予 NKTR-214 第一个周期治疗后，在所有病人外周血中均可见到 NK 细胞 PSI 上调，而第二次给药后增加更显著。
- 2) 在 NKTR-214 给药后，第一个病人的 CD4 和 CD8 细胞 PSI 未见变化，而其他 4 个病人的 CD4 和 CD8 细胞 PSI 明显升高，在不同病人 PSI 达到峰值的时间各有不同，说明连续取样的重要性。
- 3) 效应细胞因子和刺激细胞因子在所有细胞亚群中占主导地位。尤其是，对于 CD4+和 CD8+ T 细胞，TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  和 IL-5 是导致 PSI 升高的主要驱动因子。

肿瘤免疫学的一个重要推动因素是判定所有这些合并治疗方法的相加作用机制，并挑选出哪些治疗方法可以驱动作用机制和下游的生物标志物，而且对整体癌症免疫学等式具有最有价值的相加作用。通过全新的单细胞蛋白质组学生物技术，在很大程度上揭示了这些生物学表现的起源。

## 2. 细胞和基因治疗开发

近年来，以 CAR-T 为代表的细胞疗法持续在抗癌领域掀起浪潮。其中由诺华、Kite Pharma 带来的 CAR-T 细胞产品更是在众多临床试验中证明了自己的潜力，为血液癌症患者的病情带来了极大的改善，并且都得到了美国 FDA 的一致认可。2017 年，诺华的 CAR-T 细胞药物 Kymriah 和 Kite 的 CAR-T 细胞药物 Yescarta 的接连上市，让 2017 年成为了真正意义上的 CAR-T 年，也为人类利用细胞疗法攻克恶性肿瘤带来更大的希望。就在今年 6 月，我国药监局（NMPA）正式批复复星凯特公司旗下 CAR-T 细胞治疗产品益基利仑赛注射液上市，用于治疗二线或以上系统性治疗后复发或难治性大 B 细胞淋巴瘤成人患者。这也是中国首款获批上市的 CAR-T 细胞治疗产品，标志着国内 CAR-T 细胞治疗进入下一个新阶段。

在全球临床实验中心以“CAR-T”和“肿瘤”为关键词进行临床试验的搜索，一共可以搜索到 800 多项相关的临床研究，单单从研究数量上来看，中国的 CAR-T 疗法已经超过美国（大于 400 项临床试验），成为如今世界上 CAR T 细胞疗法临床研究数量最多的国家。大量的临床

试验对于相关癌症中心和企业是一个不小的挑战，研究人员需要对大量患者进行临床标志物分析预测以及临床反应的全方位的评估检测，而且同时还需要做到对患者的精准施治。

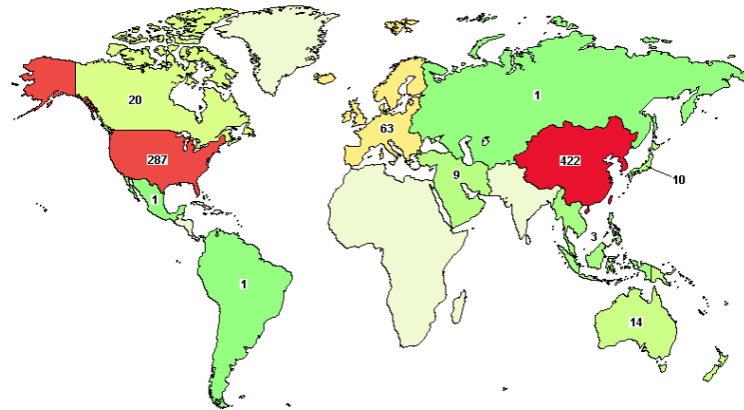
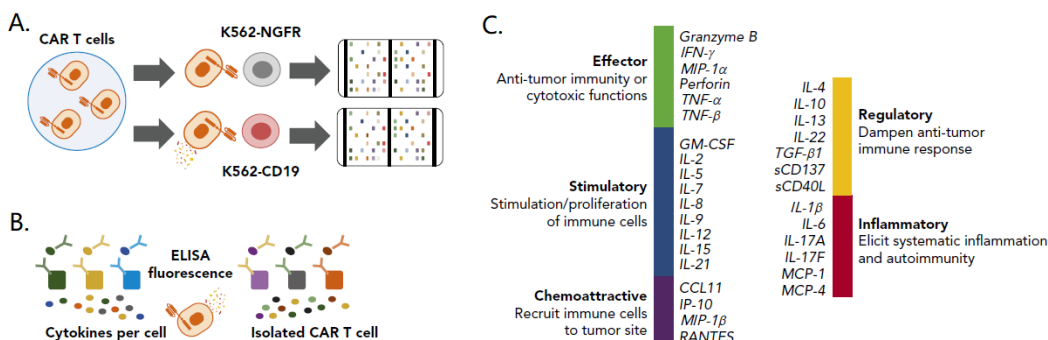


图 8. 全球 CAR-T 临床试验分布

鉴于 CAR-T 是一种基于患者自身免疫系统的一种革命性疗法，但人体免疫系统又是一个相当复杂的体系，现有的技术并不能完全覆盖到整体的免疫系统功能，而这也造成了难以对患者精准施治。因此，如何甄别精准获益于 CAR-T 疗法的人群，以及在治疗过程中找到合适的临床标志物实时预测其有效性，是突破以上瓶颈的两个重要思路。而 IsoPlexis 全自动单细胞蛋白组学分析平台可用于评估 T 细胞响应情况，揭示内在响应机制，因此通过 IsoPlexis 对于 Car-T 产品输注前质量的评估，可使改造后的 Car-T 细胞具有更高的功效和更低的免疫毒性，预测细胞因子风暴，从而助力 Car-T 细胞产品的开发与筛选，实现精准医疗。

### (1) 血液瘤

在 2017 年 4 月的 AACR（美国癌症研究协会）年会上，IsoPlexis 公布了与 Kite Pharma（现为 Kite, a Gilead Company）合作的数据，通过使用 IsoPlexis 公司的专有的 IsoCode 芯片检测技术（SCBC）平台，检测到 CAR-T 细胞产品治疗前的效力与治疗后癌症患者的客观反应的统计学的显著相关性。研究人员利用该平台分析了 20 例非霍奇金淋巴瘤（NHL）的 CAR-T 细胞治疗产品，并捕获了确定每种产品的 PSI 或细胞功能特征和强度的数据。Kite Pharma 随后在 2018 年发表在 Blood 上的一篇文章，揭示输注前多功能性抗 CD19 CAR-T 细胞与非霍奇金淋巴瘤（NHL）的临床预后关系。



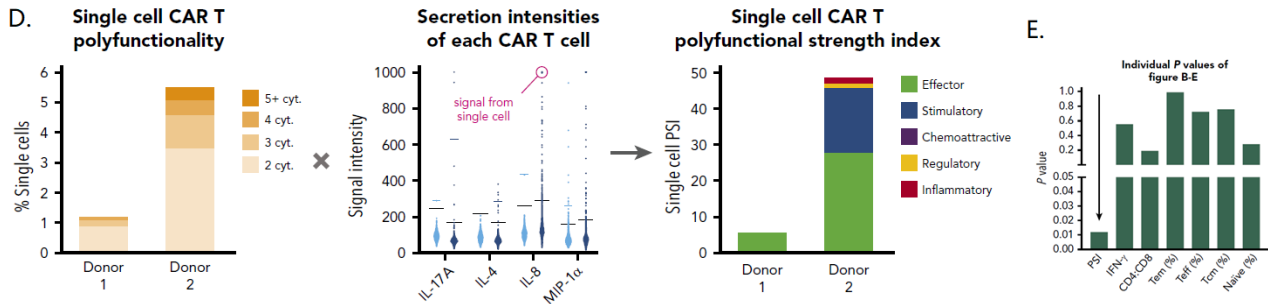


图 9. Kite Pharma 使用 IsoPlexis 技术评估 CD19 CAR-T 多功能性，证实其与临床预后相关。

CAR-T 细胞的多功能性（PSI 指数）是预测病人预后的唯一区分因素，当时也使用了流式细胞解决方案和大量的细胞 ELISA，但只有 IsoPlexis 单细胞细胞因子组学分析能在这项血液瘤临床试验中区分出该细胞治疗产品的有效者和无效者，从而推进将更有效的治疗方式推入市场，带给患者。

此外，诺华的 CAR-T 疗法研究者也与 IsoPlexis 的研究人员达成了一项合作，旨在通过 IsoPlexis 的自动化平台以检测其 CAR-T 候选产品在患者输注前后的反应相关性。

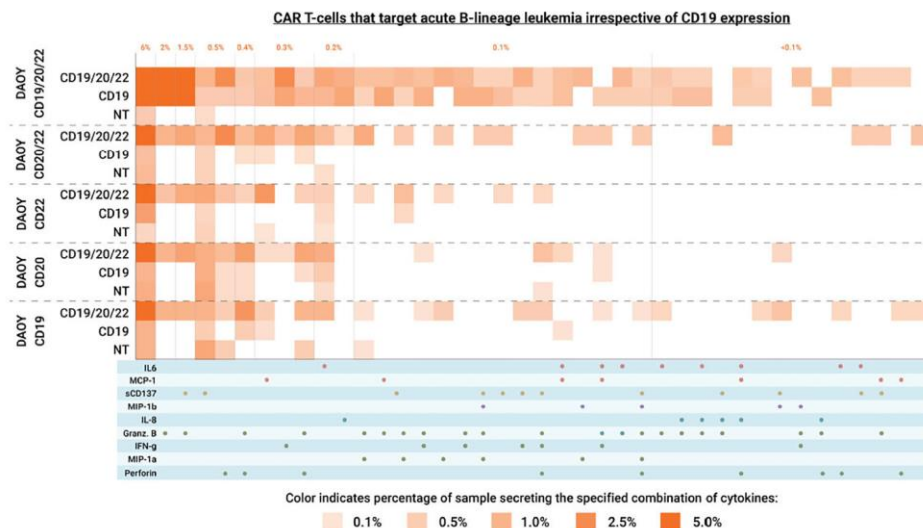


图 10. 采用 IsoPlexis 单细胞蛋白组学检测技术评估靶向 CD19/CD20/CD22 的 CAR-T 细胞多功能性，用于预测难治性情况下（如肿瘤抗原逃逸）的体内疗效持久性。

## （2）实体瘤

多功能性 CAR-T 细胞在实体瘤治疗中同样也展现出持久的免疫效应。来自美国 NIH 实验室的研究人员 Dan Li 及其同事们 2020 年在 Gastroenterology 期刊上发表的一篇名为“Persistent Polyfunctional Chimeric Antigen Receptor T Cells That Target Glypican 3 Eliminate Orthotopic Hepatocellular Carcinomas in Mice”文章表明，靶向磷脂酰肌醇蛋白聚糖 3（Glypican 3）的持续多功能性 CAR-T 细胞可以消除小鼠原位肝细胞癌，经 IsoLight 平台鉴定的多功能性 CAR-T 细胞能够与体内持久疗效直接相关联，并且作为向前推进的依据，帮助研究人员判断应该将哪些治疗方法推入临床。

磷脂酰肌醇蛋白聚糖 3（GPC3）是一种癌胎抗原，参与 Wnt 依赖性细胞增殖，在超过 70% 的肝细胞癌（HCC）和其他实体肿瘤中高表达。由于这种蛋白可以促进肿瘤生长，靶向 GPC3 的

细胞疗法（如 CAR-T 细胞）和双特异性抗体疗法目前正在开发中。

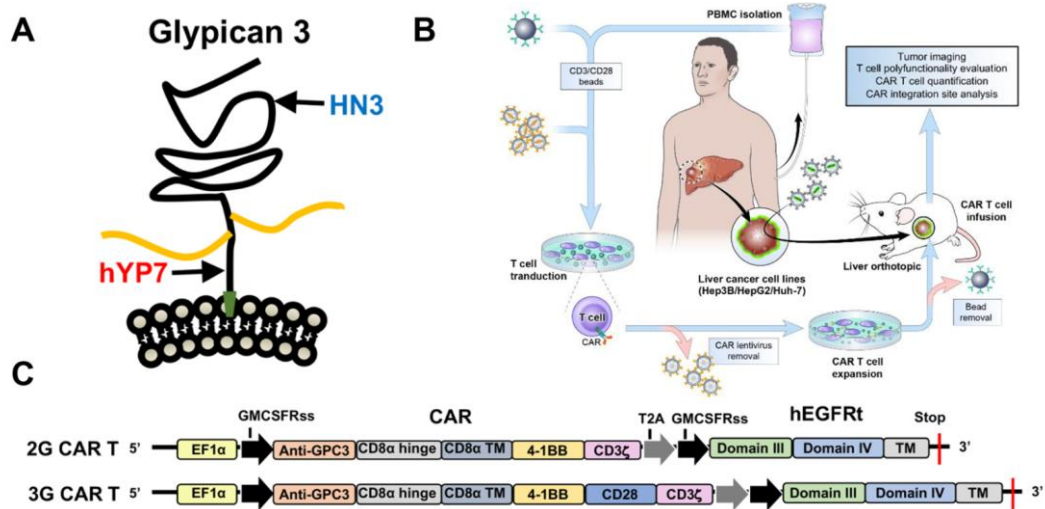


图 11. (A) GPC3 与 HN3 和 hYP7 两种抗体的结合。(B) 在小鼠模型中 CAR-T 细胞产生和评价的原理图。(C)第二代和第三代 GPC3 CAR 结构示意图。

本文作者假设 CAR 的功能受表位特异性、亲和力和功能活性影响。他们试图通过进一步修饰 CAR 结构来提高抗肿瘤活性，而 CAR-T 细胞表征则采用 IsoPlexis 蛋白质组学条形码单细胞技术来完成。

小鼠注射 GPC3 特异性人源化 YP7 (hYP7) CAR-T 细胞后，通过抗原诱导选择，T 细胞和多功能 CAR-T 细胞亚群持续扩增。66%的小鼠肿瘤在第 3 周消退。而使用 HN3 CAR-T 细胞治疗的小鼠肿瘤负担未见缩小。在输注 hYP7 CAR-T 后 7 周多功能 T 细胞在肿瘤微环境和脾脏中仍可以检测到。在接种另外的 Hep3B 人肝癌细胞后，经 hYP7 CAR-T 治疗的小鼠仍然可以无瘤生存。

该研究表明，通过单细胞功能蛋白组学技术鉴定的多功能性 T 细胞与 T 细胞应答持久性和体内杀伤能力呈正相关。更重要的是，在该 HCC 小鼠模型中，抗原驱动的多功能 hYP7 CAR-T 细胞在肿瘤微环境的持续存在和扩增致使肿瘤消退。IsoPlexis 单细胞功能表型分析揭示了生物学驱动因素，表明 GPC3 靶向的 hYP7 CAR-T 细胞产物通过增强多功能 CD8<sup>+</sup> T 细胞亚群来抑制 Wnt 信号，促进穿孔素/颗粒酶介导的肿瘤细胞凋亡。

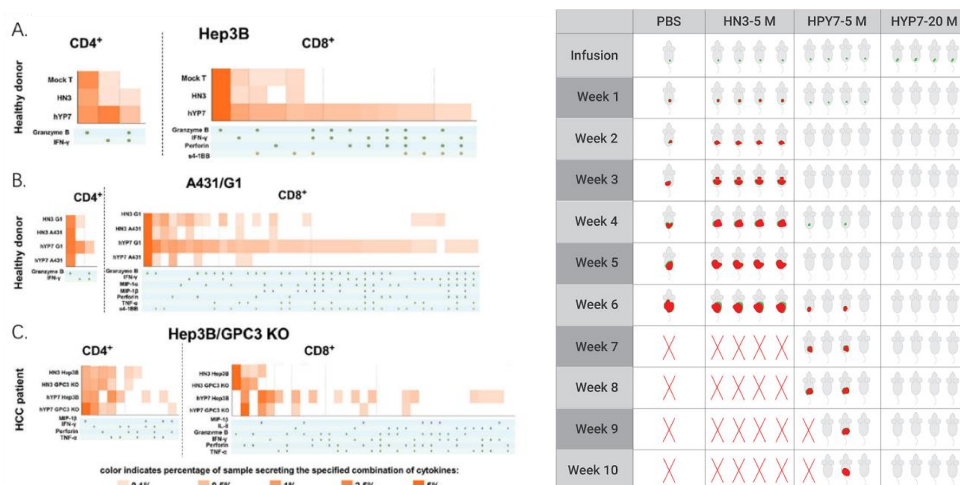


图 12. 在 Hep3B 细胞和 G1/A431 细胞刺激后，hYP7 CAR-T 细胞多功能性明显高于 HN3 CAR-T 细胞。

### 3. 传染病研究

在新冠疫情影响下，毫无疑问传染病和炎症是全球关注的核心领域。IsoPlexis 实现了在功能上定义参与免疫反应的每一种细胞类型，为患者生物标志物的发现和传染病疫苗和新疗法的开发提供了更深入的功能机制洞察。

2020 年 Cell 期刊在线发表了美国科学家的一项最新研究成果。来自华盛顿大学的 James R. Heath、Jason D. Goldman 等研究人员合作利用多组学解析了轻度和中度 COVID-19 之间的急剧变化状态。其中，作者利用单细胞分泌蛋白组学分析发现：

#### 1) COVID-19 的严重程度与 CD8+ T 细胞多功能的非单调变化相关

多功能性 T 细胞能产生多种不同的细胞因子，相对于其他 T 细胞可以释放大量的细胞因子，并主导免疫应答。作者测量了 CD8+ T 细胞分泌的 32 种细胞因子，结果发现在健康和轻症病例中 PSI 相似，但在中度病例（WOS=3-4）中明显上调，进一步分析显示分泌颗粒酶 B 和穿孔素的细胞比例增加。重症患者的 PSI 低于中度患者，这与另一项分析（CD8+效应簇百分比）结果一致。

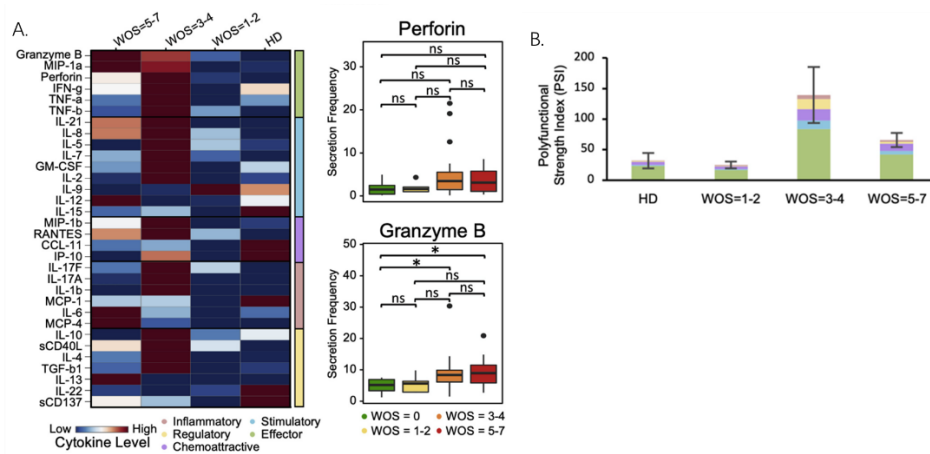


图 13. 根据 COVID-19 患者 WOS 分组的 CD8 细胞细胞因子分泌频率热图及 PSI 分析。

#### 2) COVID-19 的严重程度与 CD4+ T 细胞多功能的非单调变化相关

与健康供体相比，COVID-19 患者的 CD4+ T 细胞 PSI 更高，在中度疾病患者中达到顶峰。值得注意的是，在 COVID-19 患者样本中，分泌 Th1 细胞因子 IFN- $\gamma$ 、Th17 细胞因子 IL17-A、IL17-F、Th2 细胞因子 IL-4 和细胞毒分子颗粒酶 B 的 CD4+ T 细胞频率增加，在中度患者中再次达到高峰，这与 CD8+ T 细胞的趋势一致，但这是否与重症患者的 T 细胞衰竭有关尚不清楚。

#### 3) COVID-19 患者的单核细胞多功能性与疾病严重程度正相关

作者还对 COVID-19 患者的单核细胞的多功能强度指数（PSI）进行了表征。与 CD8+ T 细胞和 CD4+ T 细胞不同，单核细胞的 PSI 随疾病严重程度呈单调增加，有理由推断单核细胞参与了中、重度 COVID-19 疾病的炎症反应。

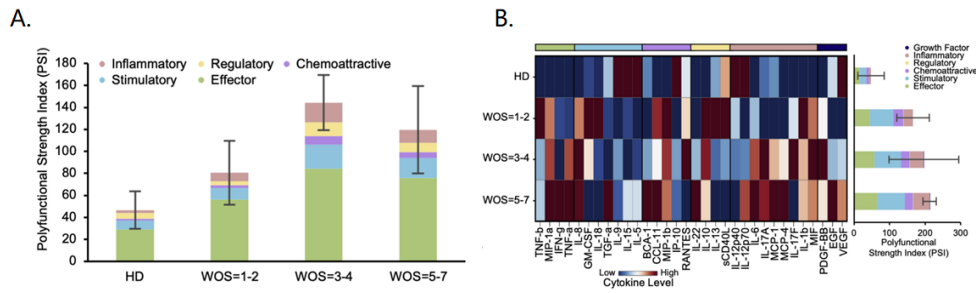


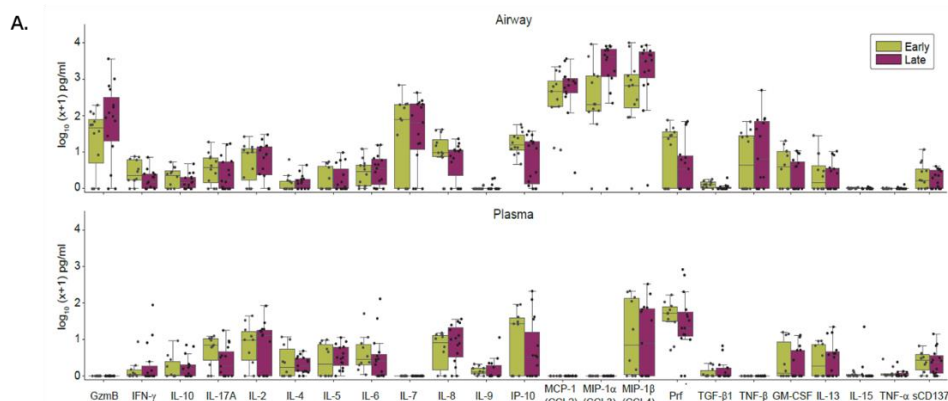
图 14. (A) 根据 COVID-19 患者 WOS 分组的 CD4 细胞 PSI 分析。(B)根据 COVID-19 患者 WOS 分组的单核细胞细胞因子分泌频率热图和 PSI 分析。

## 4. 炎症研究

Isoplexis CodePlex 多重蛋白检测方法可以通过最少 5 $\mu$ l 血浆样本检测 30 多种炎性生物标志物，灵敏度可达 pg/ml 级别，从样本到生成报告只需要 1-2 小时。检测过程完全自动化，手动操作时间仅需 5 分钟。基于这些特点，这项技术可用于实时监测病情危急病人，如新冠肺炎住院病人，让医生可以尽早了解危及生命的超炎症病理学的发展状况，而不延误给与患者最有效的治疗。

2021 年 Immunity 期刊发表了哥伦比亚大学欧文医学中心发表的一项 COVID-19 研究成果“Longitudinal profiling of respiratory and systemic immune responses reveals myeloid cell-driven lung inflammation in severe COVID-19”中，发现炎性因子在重症 COVID-19 病人中，气道中的炎症因子显著升高。研究人员采用 CodePlex 芯片蛋白质分泌组学方法检测了采集到的 15 个 COVID-19 患者气管冲洗液和血浆样本，每个样本仅需 5.5  $\mu$ L 即可定量 23 种细胞因子，包括炎性因子和趋化因子等。

总体而言，在早期（第 1 天）和后期（第 3-7 天）时间点，在气道和血浆的配对样本中，细胞因子和趋化因子的含量有显著差异。与血液相比，气道中趋化因子单核细胞趋化蛋白-1（MCP-1/CCL2）、巨噬细胞炎症蛋白-1 $\alpha$ （MIP-1 $\alpha$ /CCL3）和 MIP-1 $\beta$ /CCL4，以及 T 细胞相关细胞因子颗粒酶 B、IL-7 和 TNF- $\beta$  显著升高。相比之下，血液中 CCL2（MCP-1）、CCL3（MIP-1 $\alpha$ ）、颗粒酶 B、TNF- $\beta$  和 IL-7 则检测不到，而 CCL4/MIP-1 $\beta$  在不同患者中呈不同水平。血液和呼吸道都含有不同水平的与 T 细胞效应功能相关的细胞因子（穿孔素、IFN- $\gamma$ 、IL-17 和 IL-2）、天然免疫相关细胞因子（IL-6 和 IL-8）及 TGF- $\beta$ 。这些结果表明，气道中产生了促炎趋化因子和细胞因子，而在血液中只能检测到其中的一部分。



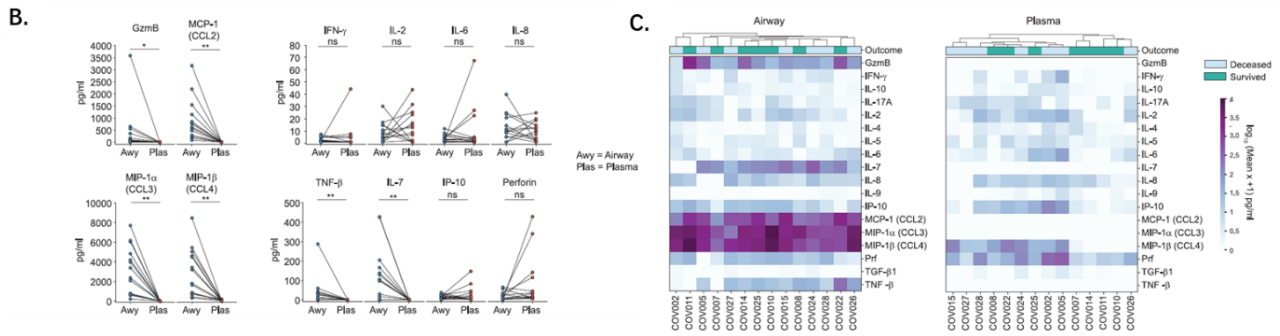


图 15. (A) 对 15 例 COVID-19 患者早期和晚期气道冲洗液和血浆样本中细胞因子水平。(B)患者气道冲洗液和血浆样本中细胞因子水平的平均值进行两两比较。(C)热图显示在每个患者的气道和血浆样本的平均细胞因子水平，显示为  $\log_{10}(\text{mean } X+1)$  pg/mL。

## 5. 靶向治疗

癌症和肿瘤在癌症发生行为中的一个特征是信号传递网络水平升高。癌症细胞生长快速，大多数细胞需要外部信号来触发其生长或分裂，但癌症细胞会变得不再依赖这些外部信号。这意味着它们的信号传递网络，即磷酸化蛋白质网络，一直处于活化状态，这也是癌细胞能一直生长的原因之一。

大概 20 年前的一项重大创新引入了靶向抑制剂，而现在已经有了很多靶向抑制剂在临床上的应用。总体而言，这些靶向抑制剂的目的是进入细胞内，并作用于导致磷酸化蛋白质信号传递网络激活的癌基因突变处。如果从转录本或分泌的蛋白层面来看，很难得到结果，因为这些只是间接指征。靶向性治疗可以阻断肿瘤的生长通路，但这些细胞往往能够绕道而行，对药物发展出抗性。因此当前靶向治疗所面临的一项巨大挑战是如何转变我们的治疗方法，不仅要处理第一通路，对进入细胞阻止癌细胞增生的药物产生抗药性的第二和第三通路，也要同时给与处理。

单细胞磷酸化蛋白质组学技术能够反映单个癌细胞的内部活动和信号传导，以研究肿瘤细胞内相互交联的复杂磷酸蛋白通路，从而及早预判癌细胞生长的其他路径，以便更准确而且快速的给药。这意味着，本来正常情况下需要耗费数月时间的一系列实验，现在通过单细胞磷酸化蛋白质组学技术只需一周就可以完成，从而快速获取抗药性通路信息。在评估药物疗效时尤其需要这些信息，无论是在患者体内测试药物，希望根据患者的组织细胞活检了解药物的效果，还是只是用于药物研发工作，Isoplexis 单细胞磷酸化蛋白质组学技术可以帮助实现整个磷酸蛋白质信号传递网络的检测和分析。

来自加州理工的研究团队早在数年前就通过单细胞分析，全面绘制了癌细胞迂回前进的路线，该研究成果发表在 2016 年《Cancer Cell》期刊上，为开发更有效的联合疗法提供了宝贵信息。Heath 及其同事深入研究了手术获得的胶质母细胞瘤组织。他们发现，胶质母细胞瘤在 48 小时以内就对靶标 mTOR 通路的药物产生了抵抗，即在我们发现任何临床改变之前，胶质母细胞瘤就开始重新选择生长路径，想办法规避抗癌药物的作用。单细胞磷酸化蛋白质组学技术可以帮助开发更有效的胶质母细胞瘤联合疗法。该技术对其他癌症的个性化治疗也很有意义，比如分析黑色素瘤细胞对 BRAF 抑制剂的抵抗。

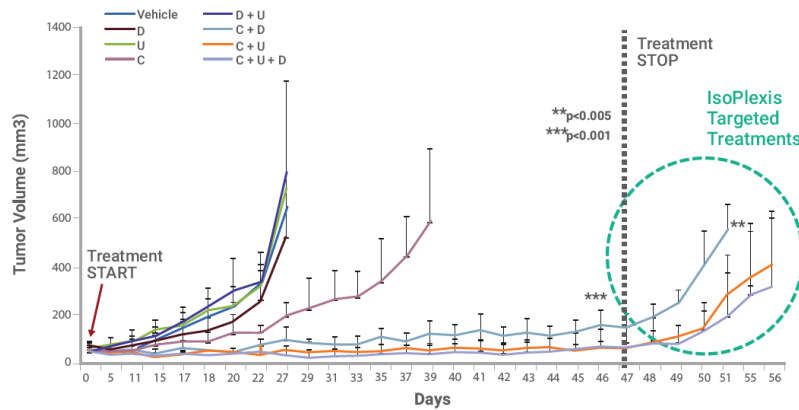


图 16. 单细胞胞内蛋白质组学帮助鉴定导致胶质母细胞瘤耐药的罕见胞内信号特征及稀有细胞亚群。在小鼠肿瘤模型中，这些特征与更好的预后及生存期延长有关，可用于临床前研究中预测肿瘤耐药性和疗效。

2020 年 5 月，苏州系统医学研究所李贵登课题组、加州理工学院的 David Baltimore 课题组和西雅图系统医学研究院的 James Heath 课题组合作在《Nature Communications》期刊上发表了题为 “Multi-omic single-cell snapshots reveal multiple independent trajectories to drug tolerance in a melanoma cell line” 的文章。该文章利用单细胞蛋白组学和代谢数据，揭示了黑色素瘤细胞早期在药物反应和药物耐受两种状态之间变化的轨迹。研究发现细胞在初始药物反应状态和药物耐受状态之间存在两条完全不同的路径，并且通过实验和理论都证实了这一发现。这一研究成果在很大程度上加深了我们对肿瘤细胞耐药性转化的了解，也为以后设计更加有效的肿瘤联合疗法提供了新的指导。

通过高维细胞状态空间分析推断单个细胞命运轨迹是一个复杂的挑战，但这对理解从细胞分化到病变细胞的表观遗传反应的生物学变化具有重要意义。就癌细胞来说，某些最初对靶向性抑制剂有反应的癌细胞可以在耐药克隆出现之前通过非遗传机制演化成对药物的耐受状态。对癌细胞如何在药物反应和药物耐受这两种状态之间转变的分子机制的深入理解将会为我们提供重要的依据来指导使用药物来阻止这种耐药状态的转变。

早先的研究在信号传导、代谢、转录和表观遗传水平上对药物耐受性进行了机理研究。但是这些研究中大多数都仅在在整体水平上比较了药物耐受细胞和药物敏感性细胞，抑或是没有详细的研究这两种状态的轨迹进化特征。该文章选择 BRAFV600E 突变型黑色素瘤细胞并建立针对靶向抑制剂的药物耐受性的模型。在 BRAF 抑制剂作用下，细胞迅速从药物反应性状态转变为药物耐受状态。并使用单细胞蛋白质组学和代谢测定法来表征这种转变，该测定法旨在广泛采样与所选癌症特征和特定细胞状态相关的蛋白质和代谢产物。

在使用 BRAF 抑制剂的前 5 天期间，使用单细胞条形码芯片（SCBC）检测 BRAFV600E 突变 M397 细胞培养物中的选定蛋白质以及葡萄糖摄取，来表征单个黑素瘤细胞中的药物适应性。在药物治疗的 0、1、3 和 5 天之后，分别取样进行对比：

- 1) 在未使用药物的第 0 天，单细胞分析揭示了许多测定标志物的异质水平。许多标志物表现出了高变异性，包括转录因子 MITF 及 MART1、代谢调节剂 HIF1α 和 p-AMPKα 以及增殖标记物 Ki67。
- 2) 第 1 天药物治疗会抑制葡萄糖的摄取，并抑制大多数代谢调节剂和信号转导磷蛋白以及 Ki67。这些癌症标志物的抑制反映了最初的 BRAF 抑制后关键致癌信号通路的阻断。

- 3) 第 3 天中 MART1 表达的增加以及第五天中的下调, 证明该药物还促进瞬时细胞分化, 然后再去分化。

在单个分析物水平上观察时, 单细胞蛋白质组学和代谢分析提供了在第一天时初始药物反应, 第三天时药物诱导的细胞状态变化以及第五条时出现药物耐受性。细胞完全耐药的变化已经显示在几周后发生。

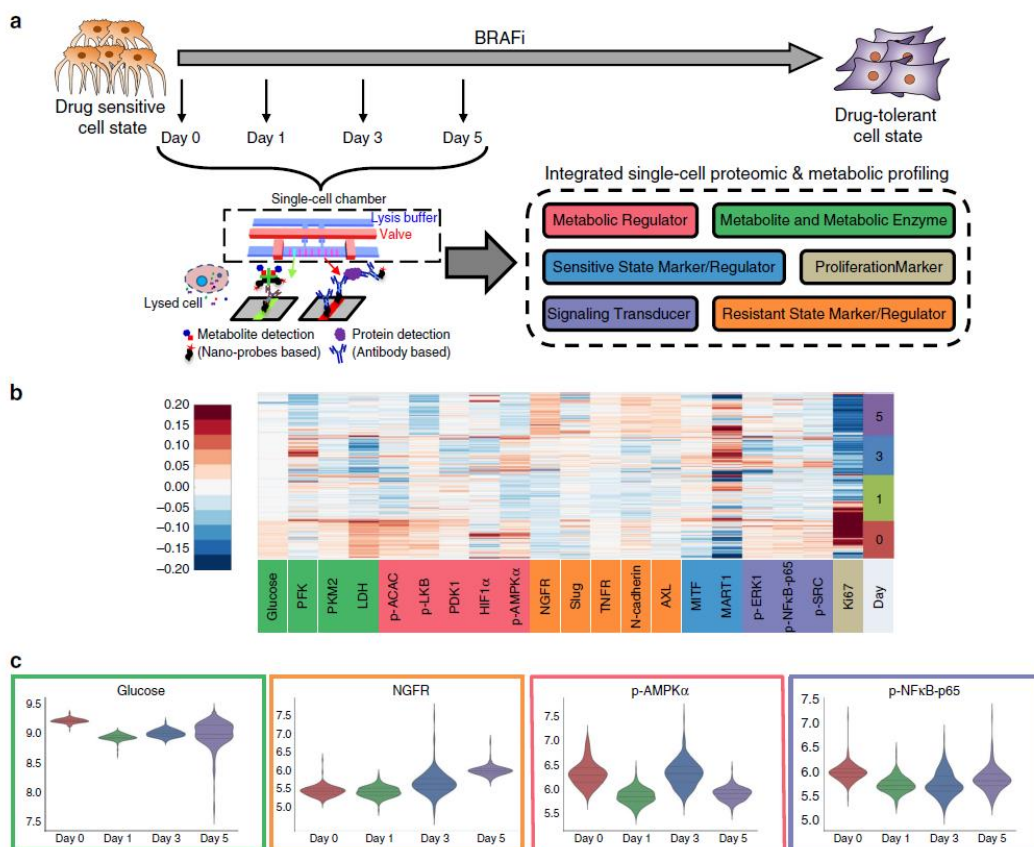


图 17. 药物处理 M397 细胞不同时长后单细胞蛋白质组学和单细胞代谢物组学分析。(a) 单细胞蛋白质组学和代谢组学联合分析实验设计; (b) 蛋白质组学和代谢组学数据聚类热图; (c) 小提琴图表示四个时间点上某些代表性被检测物质的丰度情况。

共应用了三种算法: FLOW-MAP, t-SNE 和 PHATE 去降低数据级的高维性。FLOW-MAP 分析 (图 18) 表明, 黑色素瘤细胞主要基于药物暴露时间聚集。经过 BRAF 抑制剂治疗后, 细胞群体最初分裂为占据 FLOW-MAP 的两个区域。在 d1 (绿色点) 处, 大多数细胞聚集在 d0 细胞的右上方, 而小部分亚群直接聚集在 d0 组的右侧。这种趋势在 d3 处继续, 大多数细胞聚集在 d1 上方, 而少数细胞聚集在小型 d1 组的右侧。通过 d5 (紫色), 所有单元都聚集在图形的右侧。在第 1 天和第 3 天, 细胞分叉意味着上下两种轨迹朝着药物耐受状态的可能性。t-SNE 和 PHATE 分析也表明了两类轨迹的可能性。因此, 对单细胞数据集的计算分析表明, 在 BRAF 抑制剂

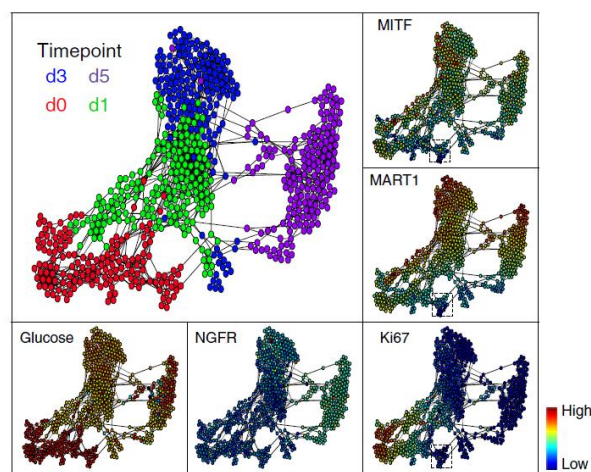


图 18. 使用 FLOW-MAP 可视化单细胞数据

适应的早期阶段出现了分叉的药物反应。

为了进一步分析分叉的药物反应轨迹，将 Surprisal Analysis 方法应用到单细胞数据集。使用这种方法，确定了两个主要模块，基于这两个模块的所有 20 种分析物的预测表达与测得的单细胞数据集非常匹配。每个模块的得分表示其相关标志物在细胞中富集或是抑制程度，并将得分彩色编码到 FLOW-MAP 图的每个节点上。发现模块 1 的分数沿上下两个路径从负（蓝色）逐渐增加到正（红色）。模块 2 的得分也出现了同样的变化，这就表明存在一个分隔上下路径的生理屏障。

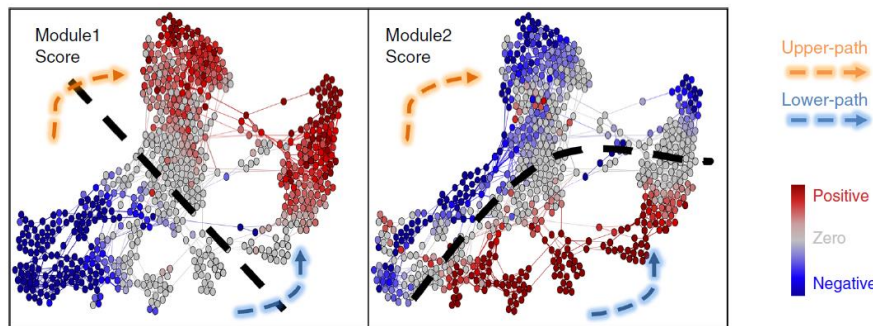


图 19. Surprisal 分析显示 MITF 是调节药物反应分岔的转录因子。

这项研究通过单细胞蛋白质组学和代谢组学解析了药物耐药的异质性反应轨迹，更新了目前对耐药性发展的认识，为确认有效的治疗组合提供了强有力的方法学。

## 五、参考文献

### 1. 肿瘤免疫方向：

- 1) Progression-free Survival and Biomarker Correlates of Response With BEMPEG Plus NIVO in Previously Untreated Patients With Metastatic Melanoma: Results From The PIVOT-02 Study. Diab A, Tykodi SS, Daniels GA, Maio M, Curti BD, Lewis KD, Jang S, Kalinka E, Puzanov I, Spira AI, Cho DC, Guan S, Puente E, Hoch U, Currie SL, Nguyen T, Lin W, Tagliaferri MA, Zalevsky J, Sznol M, Hurwitz ME SITC. 2020.
- 2) Changes in peripheral and local tumor immunity after neoadjuvant chemotherapy reshape clinical outcomes in patients with breast cancer Axelrod ML, Nixon ML, Gonzalez-Ericsson PI, Bergman RE, Pilkinton MA, McDonnell WJ, Sanchez V, Opalenik S, Loi S, Zhou J, Mackay S, Rexer BN, Abramson VG, Jansen VM, Mallal SA, Donaldson J, Tolane SM, Krop I, Garrido-Castro AC, Marotti JD, Shee K, Miller TW, Sanders M, Mayer IA, Salgado R, and Balko JM. Clinical Cancer Research. 2020.
- 3) Targeted Co-delivery of Tumor Antigen and  $\alpha$ -Galactosylceramide to CD141+ Dendritic Cells Induces a Potent Tumor Antigen-Specific Human CD8+ T Cell Response in Human Immune System Mice. Huang J, Zhou J, Ghinnagow R, Seki T, Iketani S, Soulard D, Paczkowski P, Tsuji Y, Mackay S, Cruz LJ, Trottein F, and Tsuji M. Frontiers in Immunology. 2020.
- 4) Multi-omic single-cell snapshots reveal multiple independent trajectories to drug tolerance in a

melanoma cell line. Su Y, Ko ME, Cheng H, Zhu R, Xue M, Wang J, Lee JW, Frankiw L, Xu A, Wong S, Robert L, Takata K, Yuan D, Lu Y, Huang S, Ribas A, Levine R, Nolan GP, Wei W, Plevritis SK, Li G, Baltimore D, and Heath JR. Nature Communications. 2020.

- 5) Persistence of adoptively transferred T cells with a kinetically engineered IL-2 receptor agonist. Parisi G, Saco JD, Salazar FB, Tsoi J, Krystofinski P, Puig-Saus C, Zhang R, Zhou J, Cheung-Lau GC, Garcia AJ, Grasso CS, Tavaré R, Hu-Lieskovan S, Mackay S, Zalevsky J, Bernatchez C, Diab A, Wu AM, Comin-Anduix B, Charych D, and Ribas A. Nature Communications. 2020.
- 6) SIRP $\alpha$  expression delineates subsets of intratumoral monocyte/macrophages with different functional and prognostic impact in follicular lymphoma. Chen Y-P, Kim HJ, Wu H, Price-Troska T, Villasboas JC, Jalali S, Feldman AL, Novak AJ, Yang, Z-Z, and Ansell SM. Blood Cancer Journal. 2019.
- 7) Senescent Cells with Augmented Cytokine Production for Microvascular Bioengineering and Tissue Repairs. Xiao Y, Liu C, Blatchley MR, Kim D, Zhou J, Xu M, Gerecht S, and Fan R. Advanced Biosystems. 2019.
- 8) Translational Single Cell Proteomics Profiling of Live T-Lymphocytes in Oncogene-Addictive NSCLC under Immune Checkpoint Inhibitor (CPI) Treatment. Lim ZF, Wu X, Hafez M, Albandar H, Zhu L, Yang H, Mackay S, Chen J, Zhou J, and Ma PC. Presented at TRCCC. 2019.
- 9) Polyfunctionality determined by single-cell proteomics of bone marrow-derived CD4 T cells from patients with acute myeloid leukemia identifies patients responding to anti-PD-1-based therapy and discovers profound T cell defect in mutant TP53 disease. Daver N, Kantarjian H, Mackay S, Flynn B, Basu S, Garcia-Manero G, Alfayez M, Konopleva M, Matthews J, Kornblau S, Jabbour E, Zhou J, Andreeff M; IsoPlexis, Branford, CT. Presented at the AACR Conference. 2019.
- 10) Triple checkpoint blockade targeting PD-1, TIM-3, and LAG-3 reinvigorates ovarian cancer-infiltrating T cells by increasing T cell polyfunctionality and effector function. Kaufmann JK, Flynn B, Morse K, Speranza MC, Zhou J, Ramaswamy S, Mackay S, and Coleman KG. Presented at AACR Annual Meeting. 2019.
- 11) Single-Cell Multiplexed Proteomics on the IsoLight Resolves Cellular Functional Heterogeneity to Reveal Clinical Responses of Cancer Patients to Immunotherapies. Liu D, Paczkowski P, Mackay S, Ng Colin, and Zhou J. Biomarkers for Immunotherapy of Cancer - Springer. 2019.
- 12) Single-cell proteomic analysis of T cells stimulated by Bi-specific T cell Engagers shows a robust and unique polyfunctional secretion profile. Mackay S, Paczkowski P, Flynn B, Morse K, Liu D, Coupet TA, Godbersen C, Sentman CL, Zhou J. Presented at ASH Annual Meeting.. 2018.
- 13) Single-cell PSI of CD8<sup>+</sup> TILs in melanoma shows uniquely sensitive correlates with response to anti-PD-1/CTLA4 therapy, where histology and serum cytokines were unable to detect significant associations. Mackay S, Flynn B, Morse K, Paczkowski P, Chen J, Liu D, Bacchiocchi A, Heath JR, Fan R, Sznol M, Halaban R, Zhou J. Presented at ASH Annual Meeting.. 2018.
- 14) Single-Cell Polyfunctionality of CD4<sup>+</sup> T Cells Shows Promise as a Predictor of Overall Survival of Pancreatic Cancer Patients Treated with GVAX Vaccine. Mackay S, Flynn B, Chen J, Paczkowski P, Jaffee E, Zheng L, and Zhou J. Presented at FOCiS.. 2018.
- 15) Single-Cell Highly Multiplexed Proteomics Identifies Novel Polyfunctional Human CD8<sup>+</sup> T Cell

Signatures Induced by a Nanoparticle-Based Melanoma Vaccine in Human Immune System Mice. Mackay S, Morse K, Paczkowski P, Huang J, Tsuji M, and Zhou J. Presented at FOCiS.. 2018.

- 16) Single-Cell Cytokine Profiling of Tumor-Infiltrating T Cells to Measure Patient Responses to Anti-PD-1 Therapy. Mackay S, Flynn B, Morse K, Paczkowski P, Bacchiocchi A, Heath JR, Fan R, Halaban R, and Zhou J. Presented at TRCCC Annual Meeting.. 2018.
- 17) Intratumoral (IT) injection of the toll-like receptor 4 (TLR4) agonist G100 induces a clinical response and a T cell response locally and systemically. Seo YD, Zhou J, Morse K, Patino J, Mackay S, Kim EY, Conrad III EU, O'Malley RB, Cranmer L, Lu H, Hsu FJ, Xu Y, Loggers E, Hain T, Pillarisetty VG, Kane G, Riddell S, Meulen J, Jones RL, Pollack SM. *Journal of Clinical Oncology*, 36, Suppl 5S.. 2018.

## 2. 细胞和再生医学方向:

- 1) Mesenchymal stromal cell delivery of oncolytic immunotherapy improves CAR-T cell antitumor activity. McKenna MK, Englisch A, Brenner B, Smith T, Hoyos V, Suzuki M, Brenner MK *Molecular Therapy*. 2021.
- 2) Complement - activated human endothelial cells stimulate increased polyfunctionality in alloreactive T cells. Xie CB, Zhou J, Mackay S, and Pober JS. *American Journal of Transplantation*. 2021.
- 3) Metabolic Reprogramming via Deletion of CISH in Human iPSC-Derived NK Cells Promotes In Vivo Persistence and Enhances Anti-tumor Activity. Zhu H, Blum RH, Bernareggi D, Ask EH, Wu Z, Hoel HJ, Meng Z, Wu C, Guan K-L, and Kaufman DS. *Cell Stem Cell*. 2020.
- 4) CAR T-cells that target acute B-lineage leukemia irrespective of CD19 expression. Fousek K, Watanabe J, Joseph SK, George A, An X, Byrd TT, Morris JS, Luong A, Martinez-Paniagua MA, Sanber K, Navai SA, Gad AZ, Salsman VS, Mathew PR, Kim HN, Wagner DL, Brunetti L, Jang A, Baker ML, Varadarajan N, Hegde M, Kim Y-M, Heisterkamp N, Abdel-Azim H, and Ahmed N. *Leukemia*. 2020.
- 5) Advanced Cell Mapping Visualizations for Single Cell Functional Proteomics Enabling Patient Stratification. Bowman N, Liu D, Paczkowski P, Chen J, Rossi J, Mackay S, Bot A, and Zhou J. *Proteomics*. 2020.
- 6) Persistent Polyfunctional Chimeric Antigen Receptor T Cells That Target Glypican 3 Eliminate Orthotopic Hepatocellular Carcinomas in Mice. Li D, Li N, Zhang YF, Fu H, Feng M, Schneider D, Su L, Wu X, Zhou J, Mackay S, Kramer J, Duan Z, Yang H, Kolluri A, Hummer AM, Torres MB, Zhu H, Hall MD, Luo X, Chen J, Wang Q, Abate-Daga D, Droppublic B, Hewitt SM, Orentas RJ, Greten TF, and Ho M. *Gastroenterology*. 2020.
- 7) Rational design of a trimeric APRIL-based CAR-binding domain enables efficient targeting of multiple myeloma. Schmidts A, Ormhoj M, Choi BD, Taylor AO, Bouffard AA, Scarfo I, Larson RC, Frigault MJ, Gallagher K, Castano AP, Riley LS, Cabral ML, Boroughs AC, Velasco Cardenas RM-H, Schamel W, Zhou J, Mackay S, Tai Y-T, Anderson KC, Maus MV. *Blood Advances*. 2019.
- 8) NeoTCR-P1, a novel neoepitope-specific adoptive cell therapy, consists of T cells with 'younger' phenotypes that rapidly proliferate and kill target cells upon recognition of cognate antigen.

Sennino B, Conroy A, Purandare B, Litterman A, Jacoby K, Moot R, Lu W, Nguyen D, Urbinati F, Foy S, Hunter T, Dalmás O, Bethune M, Park T, Peng S, Franzusoff A, and Mandi S. Presented at AACR Annual Meeting. 2019.

- 9) Single-Cell Multiplexed Proteomics on the IsoLight Resolves Cellular Functional Heterogeneity to Reveal Clinical Responses of Cancer Patients to Immunotherapies. Liu D, Paczkowski P, Mackay S, Ng Colin, and Zhou J. Biomarkers for Immunotherapy of Cancer - Springer. 2019.
- 10) Aged CAR T cells exhibit enhanced cytotoxicity and effector function but shorter persistence and less memory-like phenotypes. Kotani H, Li Gongbo, Yao Jiqiang, Mesa TE, Chen J, Boucher JC, Yoder SJ, Zhou J, Davila ML. Presented at ASH Annual Meeting. 2018.
- 11) Notch Activation Rescues Exhaustion in CISH-Deleted Human iPSC-Derived Natural Killer Cells to Promote In Vivo Persistence and Enhance Anti-Tumor Activity. Zhu H, Blum R, Wu Z, Bahena A, Hoel HJ, Ask EH, Guan K-L, Malmberg K-J, and Kaufman DS. Presented at ASH. 2018.
- 12) Abbreviated T-cell activation on the automatic CliniMACS Prodigy device enhances bispecific CD19/22 Chimeric Antigen Receptor T-cell viability and fold expansion, reducing total culture duration. Srivastava SK, Panch SR, Jin J, Shalabi H, Shah NN, Flynn B, Zhou J, Mackay S, Highfill SL, Stroncek DF. Presented at ASH Annual Meeting.. 2018.
- 13) Improving T cell functionality for adoptive T cell therapy in metastatic colon cancer. Ravindranathan S, Jajja MR, Petersen C, Bommireddy R, Selvaraj P, Yang L, El-Rayes B, Flynn B, Waller EK. Presented at ASH Annual Meeting.. 2018.
- 14) Preinfusion Polyfunctional Anti-CD19 Chimeric Antigen Receptor T Cells Associate with Clinical Outcomes in NHL. Rossi J, Paczkowski P, Shen Y, Morse K, Flynn B, Kaiser A, Ng C, Gallatin K, Cain T, Fan R, Mackay S, Heath JR, Rosenberg SA, Kochenderfer JN, Zhou J, and Bot A. Blood.. 2018.
- 15) Enhanced Expansion and Tumor Targeting of Adoptively Transferred T Cells with NKTR-214. Parisi G, Saco J, Salazar F, Krystofinski P, Tsoi J, Zhang R, Puig Saus C, Zhou J, Hu-Lieskovan S, Comin-Anduix B, Wu A, Charych DH, Ribas A. Session PO.CL06.03 - Adoptive Cell Therapy 3. American Association for Cancer Research Annual Meeting. 2018.
- 16) A Kinetic Investigation of Interacting, Stimulated T Cells Identifies Conditions for Rapid Functional Enhancement, Minimal Phenotype Differentiation, and Improved Adoptive Cell Transfer Tumor Eradication. Zhou J, Bethune MT, Malkova N, Sutherland AM, Begonya CA, Su Y, Baltimore D, Ribas A, and Heath JR. PLoS One 13 (1). 2018.
- 17) Identification of Functional Determinants of Response and Resistance to CD19 Chimeric Antigen Receptor (CAR) T-Cell Therapy of Chronic Lymphocytic Leukemia. Fraietta JA, Lacey SF, Orlando E, Pruteanu J, Gohil M, Wang Y, Boesteanu A, O'Connor R, Ambrose DE, Hwang WT, Wilcox N, Bedoya F, Dorfmeier C, Chen F, Parakandi H, Gupta M, Pequignot E, Johnson FB, Kulikovskaya I, Liu L, Lundh SM, Xu J, Davis MM, Young RM, Levine BL, Siegel DL, Huang A, Wherry EJ, Zhou J, Paczkowski P, Mackay S, Brogdon J, Bitter H, Porter DL, June CH, and Melenhorst JJ. Blood 130 (Suppl. 1) 3181 .. 2017.
- 18) Single-Cell Multiplex Proteomics Reveals Synergistic Impact of Antigen and Rimiducid-Dependent Stimulatory Signals on Promoting Polyfunctional GoCAR-T cells Targeting Prostate Stem Cell

Antigen (PSCA). Mackay S, Flynn B, Morse K, Ng C, Paczkowski P, Mahendravada A, Shinnars N, Spencer D, Foster A, and Zhou J. *Blood* 130 (Suppl. 1) 2281. 2017.

- 19) Single-Cell Multiplexed Cytokine Profiling of CD19 CAR-T Cells Reveals a Diverse Landscape of Polyfunctional Antigen-Specific Response.
- 20) Xue Q, Bettini E, Paczkowski P, Ng C, Kaiser A, McConnell T, Kodrasi O, Quigley M, Heath JR, Fan R, Mackay S, Dudley M, Kassim S, and Zhou J. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*. 5:85.. 2017.
- 21) Single-Cell Proteomic Assessment of CD19 CAR-T Cells Reveals a Complex Landscape of Polyfunctional Antigen-Specific Response. Xue Q, Bettini E, Paczkowski P, Ng C, Kaiser A, McConnell T, Kodrasi O, Quigley M, Heath JR, Fan R, Mackay S, Dudley M, Kassim S, and Zhou J. Presented at FOCIS.. 2017.
- 22) Polyfunctional Anti-CD19 CAR T Cells Determined by Single-Cell Multiplex Proteomics Associated with Clinical Activity in Patients with Advanced Non-Hodgkin's Lymphoma. Rossi J, Paczkowski P, Shen Y, Morse K, Flynn B, Kaiser A, Ng C, Gallatin K, Cain T, Fan R, Mackay S, Heath JR, Rosenberg SA, Kochenderfer JN, Zhou J, and Bot A. *Proc. AACR Annual Meeting* 177 (13 Suppl.) 2990.. 2017.
- 23) Single-Cell Cytokine Profiling of Tumor-Infiltrating T Cells to Measure Patient Responses to Anti-PD-1 Therapy. Mackay S, Flynn B, Morse K, Paczkowski P, Bacchiocchi A, Fan R, Halaban R, and Zhou J. *Journal of Clinical Oncology*, 35 (9), Suppl. 2017.
- 24) Novel Multiplexing Technologies for Comprehensive Functional Characterizations of CAR-T Final Products. Xue Q, Bettini E, Paczkowski P, Ng C, Kaiser A, McConnell T, Kodrasi O, Quigley M, Heath JR, Fan R, Mackay S, Dudley M, Kassim SH, and Zhou J. Presented at BioMAN Workshop 2016.
- 25) Multifunctional T Cell Analyses to Study Response and Progression in Adoptive Cell Transfer Immunotherapy. Ma C, Cheung AF, Chodon T, Koya RC, Wu Z, Ng C, Avramis E, Cochran AJ, Witte ON, Baltimore D, Chmielowski B, Economou JS, Comin-Anduix B, Ribas A, and Heath JR. *Cancer Discovery*, 3, 418.. 2013.
- 26) A Clinical Microchip for Evaluation of Single Immune Cells Reveals High Functional Heterogeneity in Phenotypically Similar T Cells. Ma C, Fan R, Ahmad H, Shi Q, Comin-Anduix B, Chodon T, Koya RC, Liu CC, Kwong GA, Radu CG, Ribas A, and Heath JR. *Nature Medicine*, 17, 738-743. 2011.

### 3. 疫苗与传染病方向:

- 1) Longitudinal profiling of respiratory and systemic immune responses reveals myeloid cell-driven lung inflammation in severe COVID-19. Szabo PA, Dogra P, Gray JI, Wells SB, Connors TJ, Weisberg SP, Krupska I, Matsumoto R, Poon M ML, Idzikowski E, Morris SE, Pasin C, Yates AJ, Ku A, Chait M, Davis-Porada J, Guo XV, Zhou J, Steinle M, Mackay S, Saqi A, Baldwin MR, Sims PA, Farber DL. *Immunity*. 2021.
- 2) Multi-omics resolves a sharp disease-state shift between mild and moderate COVID-19. Su Y, Chen D, Yuan D, Lausted C, Choi J, Dai CL, Voillet V, Duvvuri VR, Scherler K, Troisch P, Baloni P, Qin G, Smith B, Kornilov SA, Rostomily C, Xu A, Li J, Dong S, Rothchild A, Zhou J, Murray K, Edmark R, Hong S, Heath J, Earls J, Zhang R, Xie J, Li S, Roper R, Jones L, Zhou Y, Rowen L, Liu R, Mackay S, O'Mahony DS, Dale CR, Wallick JA, Algren HA, Michael ZA, the ISB-Swedish COVID19 Biobanking Unit, Wei W, Price ND, Huang S, Subramanian N, Wang K, Magis AT, Hadlock J, Hood L, Aderem A,

Bluestone JA, Lanier LL, Greenberg PD, Gottardo R, Davis MM, Goldman JD, and Heath JR. Cell . 2020.

- 3) Acute encephalopathy with elevated CSF inflammatory markers as the initial presentation of COVID-19. Farhadian S, Glick LR, Vogels CBF, Thomas J, Chiarella J, Casanovas-Massana A, Zhou J, Odio C, Vijayakumar P, Geng B, Fournier J, Bermejo S, Fauver JR, Alpert T, Wyllie AL, Turcotte C, Steinle M, Paczkowski P, Dela Cruz C, Wilen C, Ko AI, MacKay S, Grubaugh ND, Spudich S, Aoun Barakat BMC Neurology. 2020.
- 4) CD8+ T-Cell Mediated Anti-Malaria Protection Induced by Malaria Vaccines; Assessment of Hepatic CD8+ T Cells by SCBC Assay. Zhou J, Kaiser A, Ng C, Karcher R, McConnell T, Paczkowski P, Fernandez C, Zhang M, Mackay S, and Tsuji M. Human Vaccines & Immunotherapeutics, 13 (7), 1625-1629.. 2017.
- 5) Analysis of Single-Cell Secretion Reveals a Role for Paracrine Signaling in Coordinating Macrophage Response to TLR4 Stimulation. Xue Q, Lu Y, Eisele MR, Sulistijo E, Fan R, and Miller-Jensen K. Science Signaling, 8, 381.. 2015.
- 6) Highly Multiplexed Profiling of Immune Effector Functions Reveals Deep Functional Heterogeneity in Response to Pathogenic Ligands. Lu Y, Xue Q, Eisele MR, Sulistijo E, Brower K, Han L, Amir ED, Pe'er D, Miller-Jensen K, and Fan R. Proc. Natl. Acad. Sci., 112 (7), 607-615.. 2015.
- 7) Conversion of Danger Signals into Cytokine Signals by Hematopoietic Stem and Progenitor Cells for Regulation of Stress-Induced Hematopoiesis. Zhao JL, Ma C, O'Connell RM, Mehta A, Diloreto R, Heath JR, and Baltimore D. Cell Stem Cell, 14(4), 445-459.. 2014.
- 8) High-throughput Secretomic Analysis of Single Cells to Assess Functional Cellular Heterogeneity. Lu Y, Chen JJ, Mu L, Xue Q, Wu Y, Wu PH, Li J, Vortmeyer AO, Miller-Jensen K, Wirtz D, and Fan R. Analytical Chemistry, 85 (4), 2548– 2556.. 2013.
- 9) Single Cell Proteomic Chip for Profiling Intracellular Signaling Pathways in Single Tumor Cells. Shi QH, Qin LD, Fan R, Wei W, Guo DL, Shin YS, Hood L, Mischel P, and Heath JR. Proc. Natl. Acad. Sci., 109 (2), 419-424.. 2012.
- 10) Protein Signaling Networks from Single Cell Fluctuations and Information Theory Profiling. Shin YS, Remacle F, Fan R, Hwang K, Wei W, Ahmad H, Levine RD, and Heath JR. Biophysical Journal, 100, 2378-2386. 2011.
- 11) Integrated Barcode Chips for Rapid, Multiplexed Analysis of Proteins in Microliter Quantities of Blood. Fan R, Vermesh O, Srivastava A, Yen BKH, Qin LD, Ahmad H, Kwong GA, Liu CC, Gould J, Hood L, and Heath JR. Nature Biotechnology 26, 1373-1378. 2008.

#### 4. 肿瘤研究方向:

- 1) Single-Cell Analysis Resolves the Cell State Transition and Signaling Dynamics Associated with Melanoma Drug-Induced Resistance. Su Y, Wei W, Robert L, Xue M, Tsoi J, Garcia-Diaz A, Homet Moreno B, Kim J, Ng R, Lee JW, Koya RC, Comin-Anduix B, Graeber TG, Ribas A, and Heath JR. Proc. Natl. Acad. Sci.. 2017.
- 2) Synergistic IL-6 and IL-8 Paracrine Signalling Pathway Infers a Strategy to Inhibit Tumour Cell

Migration. Jayatilaka H, Tyle P, Chen J, Kwak M, Ju J, Kim HJ, Lee JSH, Wu PH, Gilkes DM, Fan R, and Wirtz D. *Nature Communications*, 8, 15584.. 2017.

- 3) Single-Cell Phosphoproteomics Resolves Adaptive Signaling Dynamics and Informs Targeted Combination Therapy in Glioblastoma. Wei W, Shin YS, Xue M, Matsutani T, Masui K, Yang H, Ikegami S, Gu Y, Herrmann K, Johnson D, Ding X, Hwang K, Kim J, Zhou J, Su Y, Li X, Bonetti B, Chopra R, James CD, Cavenee WK, Cloughesy TF, Mischel PS, Heath JR, and Gini B. *Cancer Cell*, 29:4 563-573.. 2016.
- 4) Critical Points in Tumorigenesis: A Carcinogen-Initiated Phase Transition Analyzed via Single-Cell Proteomics. Poovathingal SK, Kravchenko-Balasha N, Shin YS, Levine RD, and Heath JR. *Small*, 12 (11), 1613-6829.. 2016.
- 5) Supramolecular Probes for Assessing Glutamine Uptake Enable Semi-Quantitative Metabolic Models in Single Cells. Xue M, Wei W, Su Y, Johnson D, and Heath JR. *Journal of the American Chemical Society*, 138 (9), 3085-3093.. 2016.
- 6) JAK-STAT Pathway Activation in Malignant and Non-Malignant Cells Contributes to MPN Pathogenesis and Therapeutic Response. Kleppe M, Kwak M, Koppikar P, Riester M, Keller M, Bastian L, Hricik T, Bhagwat N, Abdel-Wahab OI, Marubayashi S, Chen JJ, Romanet V, Fridman JS, Bromberg J, Murakami M, Radimerski T, Michor F, Fan R, and Levine RL. *Cancer Discovery*, 5 (3), 316-31.. 2015.
- 7) Chemical Methods for the Simultaneous Quantitation of Metabolites and Proteins from Single Cells. Xue M, Wei W, Su Y, Kim J, Shin YS, Mai WX, Nathanson DA, and Heath JR. *Journal of the American Chemical Society*, 137 (12), 4066–4069. 2015.
- 8) Glioblastoma Cellular Architectures are Predicted Through the Characterization Of Two-Cell Interactions. Kravchenko-Balasha N, Wang J, Remacle F, Levine RD, and Heath JR. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 111, 6521- 26. 2014.
- 9) A Microchip Platform for Interrogating Tumor-Macrophage Paracrine Signaling at the Single-Cell Level. Elitas M, Brower K, Lu Y, Chen JJ, and Fan R. *Lab on a Chip*, 14, 3582. 2014.
- 10) Hypoxia Induces a Phase Transition within a Kinase Signaling Network in Cancer Cells. Wei W, Shi Q, Remacle F, Qin L, Shackelford DB, Shin YS, Mischel PS, Levine RD, and Heath JR. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 110 (15). 2013.
- 11) Single-Cell Protein Secretomic Signatures as Potential Correlates to Tumor Cell Lineage Evolution and Cell-Cell Interaction. Kwak M, Mu L, Lu Y, Chen JJ, Brower K, and Fan R. *Frontiers in Oncology*, 3:10. 2013.
- 12) Microchip Platforms for Multiplex Single-Cell Functional Proteomics with Applications to Immunology and Cancer Research. Wei W, Shin YS, Ma C, Wang J, Elitas M, Fan R, and Heath JR. *Genome Medicine*, 5, 75. 2013.
- 13) Single Cell Functional Proteomics for Assessing Immune Response in Cancer Therapy: Technology, Methods, and Applications. Ma C, Fan R, and Elitas M. *Frontiers in Oncology*, 3:133. 2013.
- 14) Quantitating Cell-Cell Interaction Functions with Applications to Glioblastoma Multiforme Cancer

Cells. Wang J, Tham D, Wei W, Shin YS, Ma C, Ahmad H, Shi Q, Yu J, Levine RD, and Heath JR. Nano Letters, 12 (12), 6101-6106. 2012.

- 15) Chemistries for Patterning Robust DNA Microbarcodes Enable Multiplex Assays of Cytoplasm Proteins from Single Cancer Cells. Shin YS, Ahmad H, Shi Q, Kim H, Pascal TA, Fan R, Goddard III WA, and Heath JR. Chem. Phys. Chem, 11 (14), 3063-3069. 2010.

## 5. 炎症与神经科学方向

- 1) Acute encephalopathy with elevated CSF inflammatory markers as the initial presentation of COVID-19. Farhadian S, Glick LR, Vogels CBF, Thomas J, Chiarella J, Casanovas-Massana A, Zhou J, Odio C, Vijayakumar P, Geng B, Fournier J, Bermejo S, Fauver JR, Alpert T, Wyllie AL, Turcotte C, Steinle M, Paczkowski P, Dela Cruz C, Wilen C, Ko AI, MacKay S, Grubaugh ND, Spudich S, Aoun Barakat BMC Neurology. 2020.
- 2) Enhanced TLR2 Responses in Multiple Sclerosis. Fujiwara M, Anstadt EJ, Flynn B, Morse K, Ng C, Paczkowski P, Zhou J, Mackay S, Wasko N, Nichols F, Clark RB. Clinical and Experimental Immunology.. 2018.
- 3) Novel Technologies to Query Single Cells in Hematopoiesis. Fan R, Satija R Presented at the ASH Annual Meeting. 2017.
- 4) Human NK Cells Licensed by Killer Ig Receptor Genes have an Altered Cytokine Program that Modifies CD4+ T Cell Function. Lin L, Ma C, Wei B, Aziz N, Rajalingam R, Yusung S, Erlich HA, Trachtenberg EA, Targan SR, McGovern DPB, Heath JR, and Braun J. Journal of Immunology, 193, 940-9. 2014.