

# 单细胞转录组分析指导靶向治疗

药物超敏综合征 (DiHS), 又称为伴嗜酸粒细胞增多和全身症状的药物反应 (DRESS), 是一种罕见但严重的药物反应, 通常表现为皮疹。对于患有难治性DiHS/DRESS的患者, 采用单细胞测序可鉴定出有希望的治疗靶点, 从而缓解DiHS/DRESS的症状。D Kim et al., *Nat. Med.* (2020).

## 研究快照

**研究领域:** 过敏和炎症

**物种:** 人类

**样本类型:** 患者皮肤活检以及分离自血液的PBMC

**研究问题:**

单细胞测序如何指导治疗决策?

哪些信号通路引发DiHS/DRESS中的T细胞增殖?

## 10x Genomics的产品

### Chromium单细胞免疫分析解决方案

- Chromium Single Cell 5' Library and Gel Bead Kit
- Chromium Single Cell V(D)J Enrichment Kit, Human T Cell
- Chromium Single Cell A Chip Kit
- Chromium i7 Multiplex Kit
- Cell Ranger分析流程

### Chromium单细胞基因表达解决方案

- Chromium Single Cell 3' Library and Gel Bead Kit v2
- Chromium Single Cell A Chip Kit
- Chromium i7 Multiplex Kit
- Cell Ranger分析流程

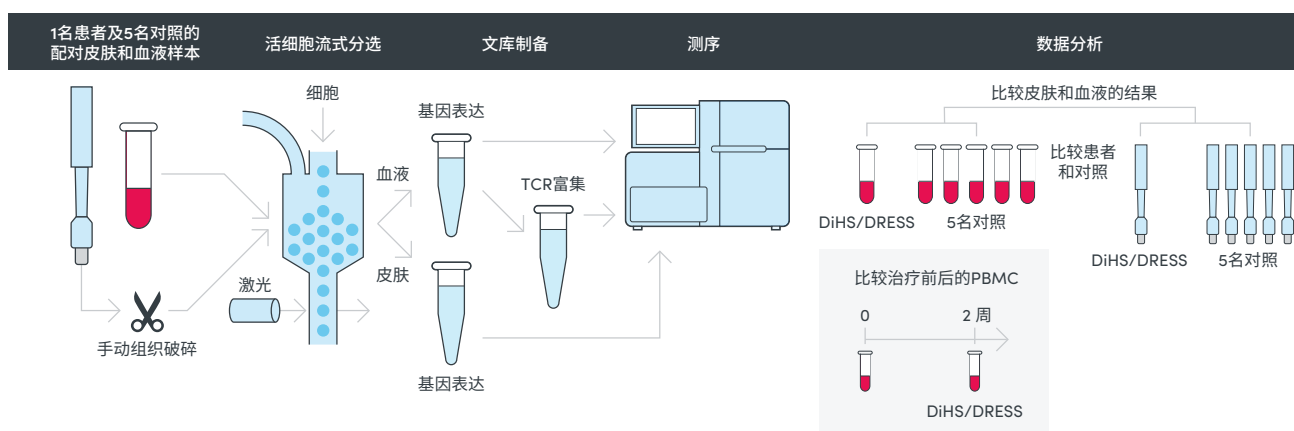
## 实验流程

### 皮肤和血液样本的制备

- 从一名DiHS/DRESS患者和五名健康志愿者的侧腹采集皮肤活检
- 通过手动切碎和酶消化来解离皮肤样本
- 采用密度梯度离心从血液中分离出PBMC
- 使用FACS富集所有样本的活细胞

### 单细胞基因表达和免疫图谱分析

- 通过Chromium单细胞基因表达和免疫分析解决方案, 对皮肤和血液样本进行单细胞基因表达分析, 并对血液样本开展全长配对的T细胞受体测序
- 在疾病发作的细胞培养模式中证实了单细胞基因表达的结果
- 在Illumina的HiSeq 3000仪器上开展测序



## 为什么要进行单细胞分析?

在患者患有对传统疗法无应答的疾病时，单细胞分析可帮助确定导致疾病出现的特定分子通路。在此，研究人员将患者皮肤和血液的单细胞基因表达数据与健康个体的数据进行比较，以发现细胞特异性的失调通路，这些通路提供了潜在的药物靶点。来自全长配对的T细胞受体序列的信息有助于排除可能的疾病，进一步完善诊断和治疗。单细胞数据与临床病史互补，有助于完善治疗方案，实现成功的治疗。

## 结果

### DiHS/DRESS呈现独特的淋巴细胞基因特征

研究人员对DiHS/DRESS患者的皮肤活检开展单细胞全转录组分析，并与健康志愿者对照的结果进行比较。与对照相比，患者皮肤上的角质形成细胞和免疫细胞数量增加，且淋巴细胞的转录组也出现很大变化。淋巴细胞的聚类显示出患者和对照样本的清晰分离，以及JAK/STAT信号的上调（图1）。PBMC基因表达的比较显示了一些信号通路存在明显的差异，但值得注意的是，JAK/STAT信号并没有改变，这表明在基因表达分析中采集正确的组织是十分重要的。

### 单细胞指导的疗法缓解了症状

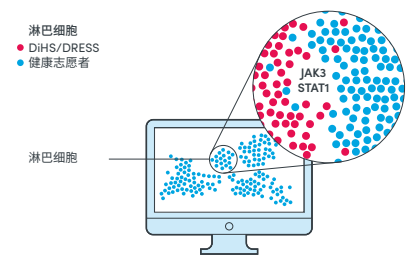
对DiHS/DRESS通常是用类固醇来治疗的，但这些药物可能无效，且具有副作用。在这个案例研究中，scRNA-seq为临床医生成功缓解难治性DiHS/DRESS提供了重要的工具——它精确定位DiHS/DRESS的分子驱动因素，启发医生采用JAK/STAT抑制剂来治疗。

## 计算分析

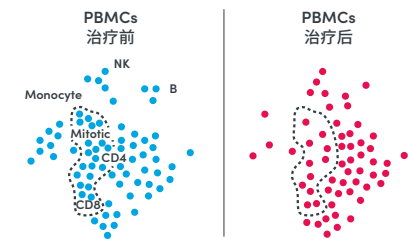
为了比较治疗前后的细胞群体变化，在Cell Ranger中生成基因计数矩阵。然后，通过Seurat对治疗前和治疗后两周采集的PBMC混合样本进行聚类分析和注释。根据采集时间对混合的细胞进行颜色编码，再直接比较每种类型的细胞群体的比例。在治疗后的PBMC中可观察到炎症相关细胞类型的急剧减少（图2）。

## 参考文献

1. D Kim et al., Targeted therapy guided by single-cell transcriptomic analysis in drug-induced hypersensitivity syndrome. *Nat. Med.* 26, 236–243 (2020).



**图1. DiHS/DRESS和健康志愿者的皮肤样本中的基因表达比较。**将各个样本的细胞混合，根据基因表达进行聚类，并按照细胞类型进行注释。淋巴细胞的分离和聚类显示出基于供体的清晰分离，以及DiHS/DRESS样本中JAK/STAT信号的上调。



**图2. 治疗后PBMC群体的改变。**对混合的样本开展聚类分析，并根据细胞类型进行注释。在注释后，将细胞分为治疗前或治疗后。治疗后耗竭的T细胞用虚线突出显示，包含了表达更高水平的DiHS/DRESS相关基因（包括CCR4和CCR10）的细胞簇。

如需查看完整的文献列表，请访问 [10xgenomics.com/publications](https://www.10xgenomics.com/publications)



获取最新资讯

请关注 10x Genomics 公众号

请访问 [10xgenomics.com/cn](https://www.10xgenomics.com/cn) 了解更多