

通过单细胞谱系揭示出异种移植癌转移的 速率、途径和驱动因素

宋彬，章元伟，姜岚 第1组

2021-12-02

Single-cell lineages reveal the rates, routes, and drivers of
metastasis in cancer xenografts,

Volume: 371, Issue: 6532,

DOI: (10.1126/science.abc1944)



提纲

- 01 文章概要
- 02 研究背景
- 03 实验结果分析
- 04 总结

提纲

- 01 文章概要
- 02 研究背景
- 03 实验结果分析
- 04 总结

Single-cell lineages reveal the rates, routes, and drivers of metastasis in cancer xenografts

Cite as: J. J. Quinn *et al.*, *Science* 10.1126/science.abc1944 (2021).

Jeffrey J. Quinn^{1,2,3*}, Matthew G. Jones^{1,2,4,5,6*}, Ross A. Okimoto^{7,8}, Shigeki Nanjo^{7,8}, Michelle M. Chan^{1,2,9}, Nir Yosef^{6,10,11,12†}, Trevor G. Bivona^{1,7,8†}, Jonathan S. Weissman^{1,2,13,14†}

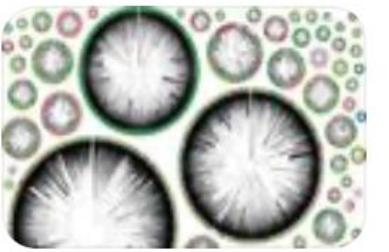
要点：

- **技术**：基于Cas9的单细胞谱系示踪；
- **转移能力异质性原因**：基因表达中已有的和遗传的差异；
- **转移能力差异原因**：基因驱动侵袭性，KRT17基因的抑制作用；
- **转移路径**：多向且复杂；
- **应用**：亚克隆分辨率和大规模追踪癌症进展。



▲Jonathan S. Weissman教授（图片来源：MIT官网）

Science论文详解 | 基于CRISPR/Cas9的单细胞谱系追踪,揭示癌...

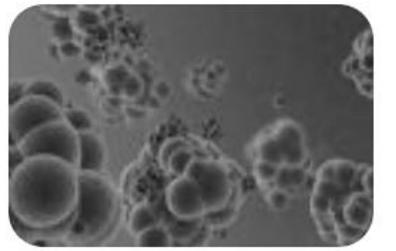


2021年1月25日 相关研究结果于2021年1月21日在线发表在Science期刊上,论文标题为“**Single-cell lineages reveal the rates, routes, and drivers of metastasis in cancer xenografts**”。每种颜色...

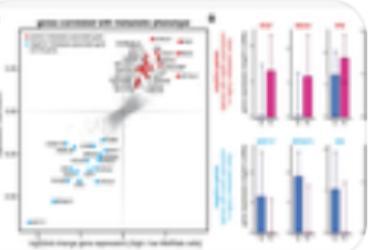
www.bioon.com/article

Science:利用CRISPR技术追踪癌细胞转移...-国家自然科学基...

《科学》:揭示癌症转移的发展和



2021年2月26日 2021
加利福尼亚金山分校
reveal on routes, and drivers c



网易 百度

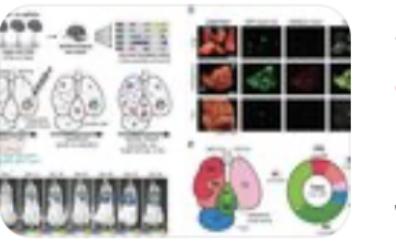
解开癌症转移之谜 CRISPR技术给每个癌细胞打上特殊“标签”

2021年1月26日 2021年1月21日,麻省理工学院(MIT)、加州大学伯克利分校和加州大学旧金山分校的研究人员在国际顶尖学术期刊Science杂志发表了题为:Single-cell lineages reveal the rates, routes, a...

www.nsfc.gov.cn/csc/20340/2028... 百度快照

解开癌症转移之谜 CRISPR技术给每个癌细胞打上特殊“标签”

纳米人-Science:通过单细胞谱



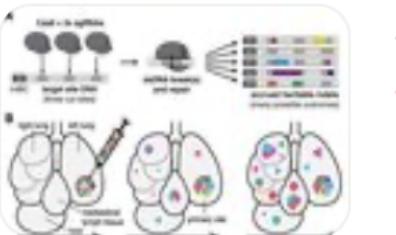
2021年1月27日
DOI:10.1126/science.abb3333

2021年1月25日 [2] Quinn et al., (2021). Single-cell lineages reveal the rates, routes, and drivers of metastasis in cancer xenografts. Science, DOI: 10.1126/science...
med.sina.com/article_detail_10... 百度快照

med.sina.com/article_detail_10... 百度快照

单细胞谱系揭示异种移植癌转移的速率、途径和驱动因素——小结

《科学》:解开癌症转移之谜,C



2021年1月25日 [
res, routes, and
DOI: 10.1126/science

cancer xenograftsAuthor: Jeffrey J. Quinn, Matthew G. Jones, Ross ...

news.sciencenet.cn/htmlpaper/2... 百度快照

10.1126/science.abc1944. [3] track...

搜狐网 百度快照

Jonathan Weissman 实验室简介 乔纳森·韦斯曼

研究内容：

□ 细胞蛋白质折叠：

- 如何形成正确结构；
- 蛋白质错误折叠作用。

□ 建立创新工具：

- 核糖体分析；
- CRIPSRi/a；
- 谱系追踪工具。

Functional single-cell genomics of human cytomegalovirus infection. Hein, MY, Weissman, JS. 2021. Nat Biotechnol , .

doi: [10.1038/s41587-021-01059-3](https://doi.org/10.1038/s41587-021-01059-3)

PMID:34697476

CRISPR-based functional genomics in human dendritic cells. Jost, M, Jacobson, AN, Hussmann, JA, Cirolia, G, Fischbach, MA, Weissman, JS. 2021. eLife 10, .

doi: [10.7554/elife.65856](https://doi.org/10.7554/elife.65856)

PMID:33904395

Genome-wide programmable transcriptional memory by CRISPR-based epigenome editing.

Nuñez, JK, Chen, J, Pommier, GC, Cogan, JZ, Replogle, JM, Adriaens, C, Ramadoss, GN, Shi, Q, Hung, KL, Samelson, AJ et al.. 2021. Cell 184, 2503-2519.e17.

doi: [10.1016/j.cell.2021.03.025](https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.03.025)

PMID:33838111

Single-cell lineages reveal the rates, routes, and drivers of metastasis in cancer xenografts.

Quinn, JJ, Jones, MG, Okimoto, RA, Nanjo, S, Chan, MM, Yosef, N, Bivona, TG, Weissman, JS. 2021. Science 371, .

doi: [10.1126/science.abc1944](https://doi.org/10.1126/science.abc1944)

Single-cell lineages reveal the rates, routes, and drivers of metastasis in cancer xenografts

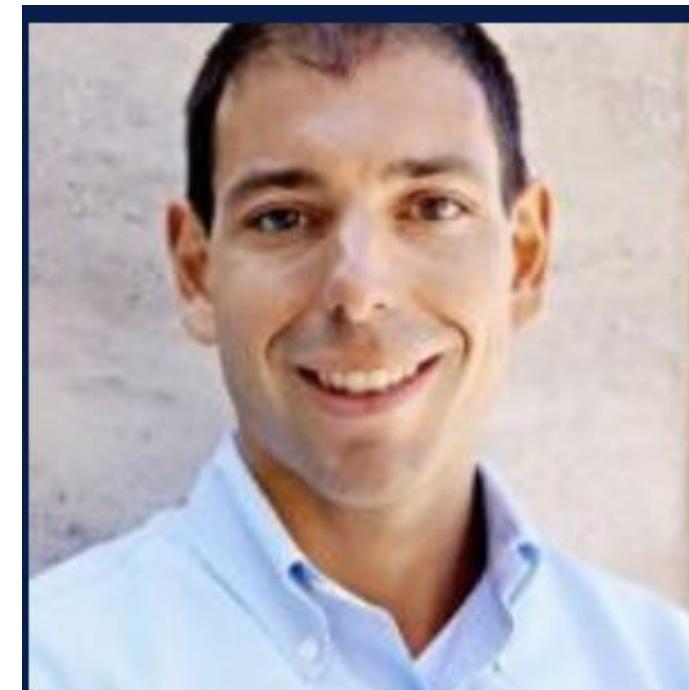
Cite as: J. J. Quinn *et al.*, *Science*
10.1126/science.abc1944 (2021).

Jeffrey J. Quinn^{1,2,3*}, Matthew G. Jones^{1,2,4,5,6*}, Ross A. Okimoto^{7,8}, Shigeki Nanjo^{7,8}, Michelle M. Chan^{1,2,9}, Nir Yosef^{6,10,11,12†}, Trevor G. Bivona^{1,7,8†}, Jonathan S. Weissman^{1,2,13,14†}

► 合作构建特殊
计算机模型进行跟踪



Nir Yosef UC 伯克利分校,
计算机科学家



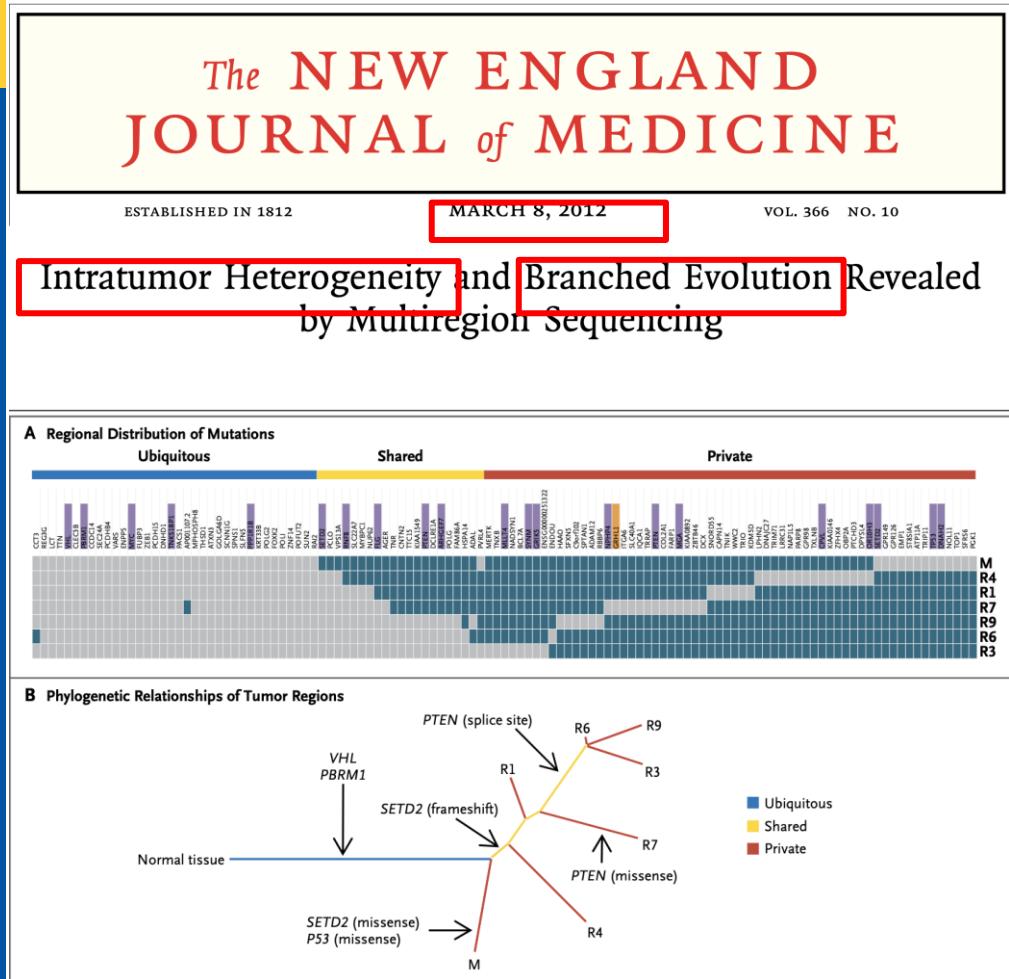
Trevor G. Bivona UC 旧金山分校,
癌症生物学家

◀ 开发[肺部肿瘤模拟模型](#)

提纲

- 01 文章概要
- 02 研究背景
- 03 实验结果分析
- 04 总结

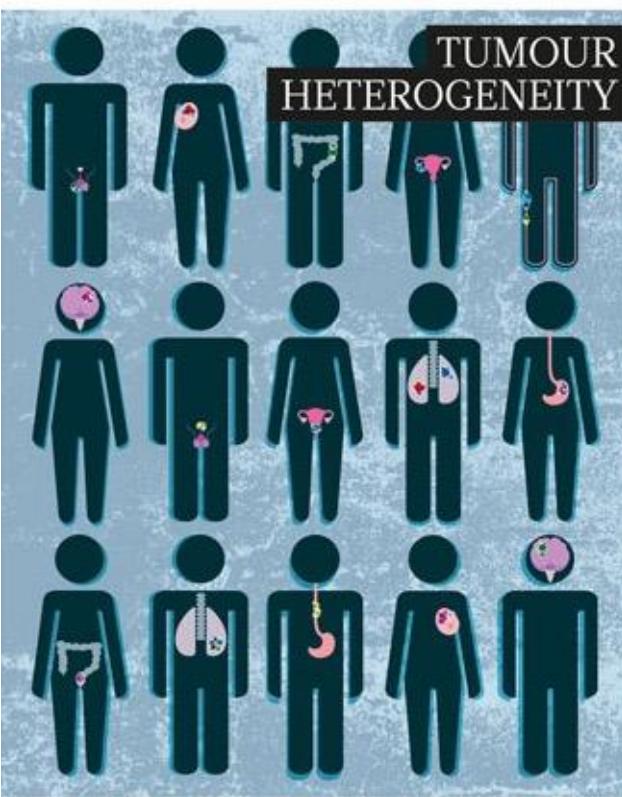
2.1 早期肿瘤异质性研究相关文章



<https://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJMoa1113205?articleTools=true>

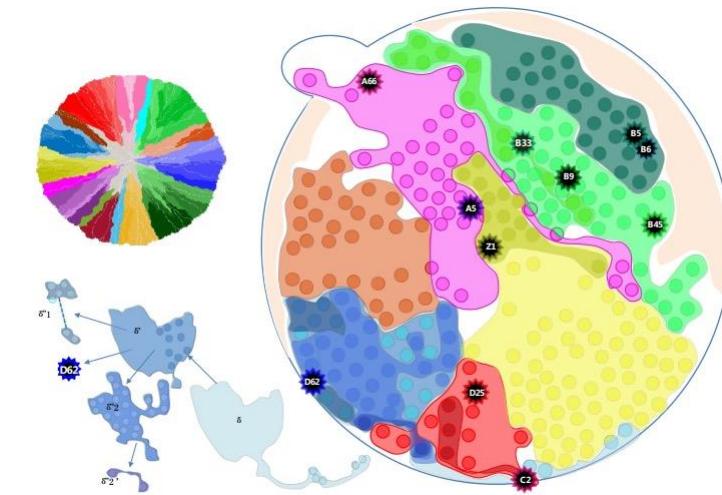
<http://www.doctorpda.cn/news/36719>

Nature特刊：肿瘤异质性，2013 nature INSIGHT



内容：详细阐述肿瘤异质性。

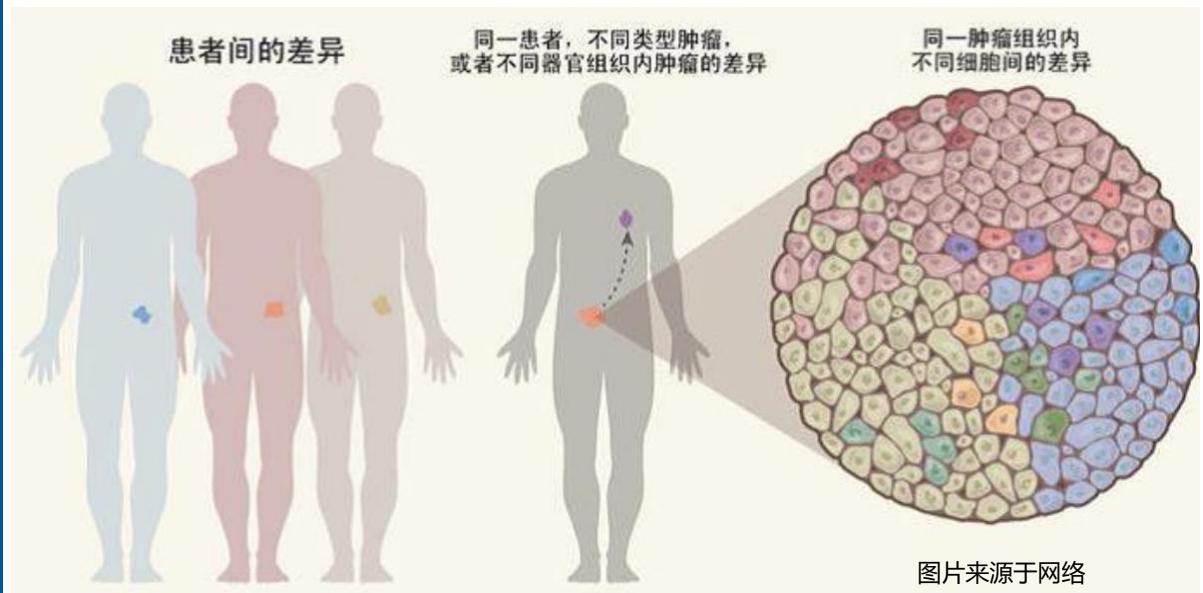
PNAS：肿瘤内遗传异质性引发肿瘤演化的理论之争，2015



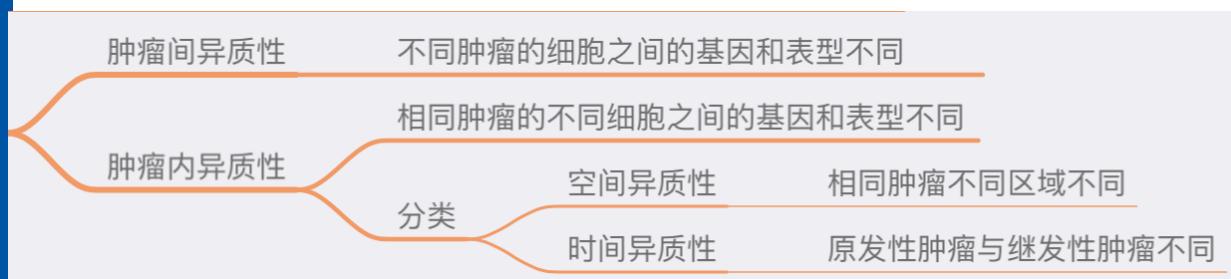
文章观点：肿瘤内部遗传异质性来源于细胞水平的**非达尔文过程**。

2.2 肿瘤异质性基本介绍

1. 什么是肿瘤异质性？天下没有两片相同的叶子



3. 肿瘤异质性的分类



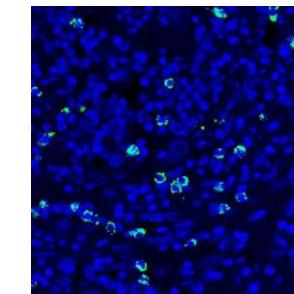
2. 肿瘤异质性的发现史

形态学

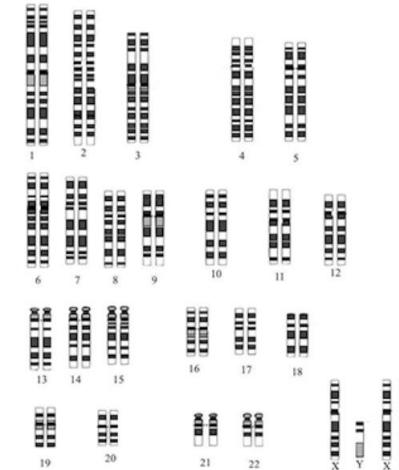
1857年，第一台
复式显微镜



染色技术

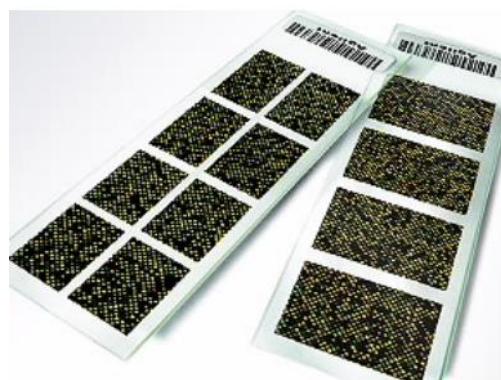
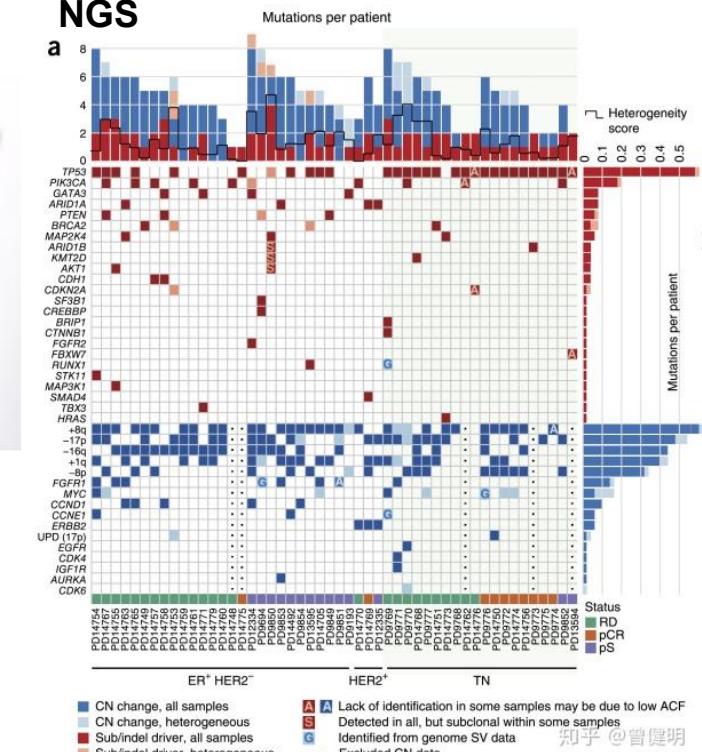


染色体G显带



FISH染色

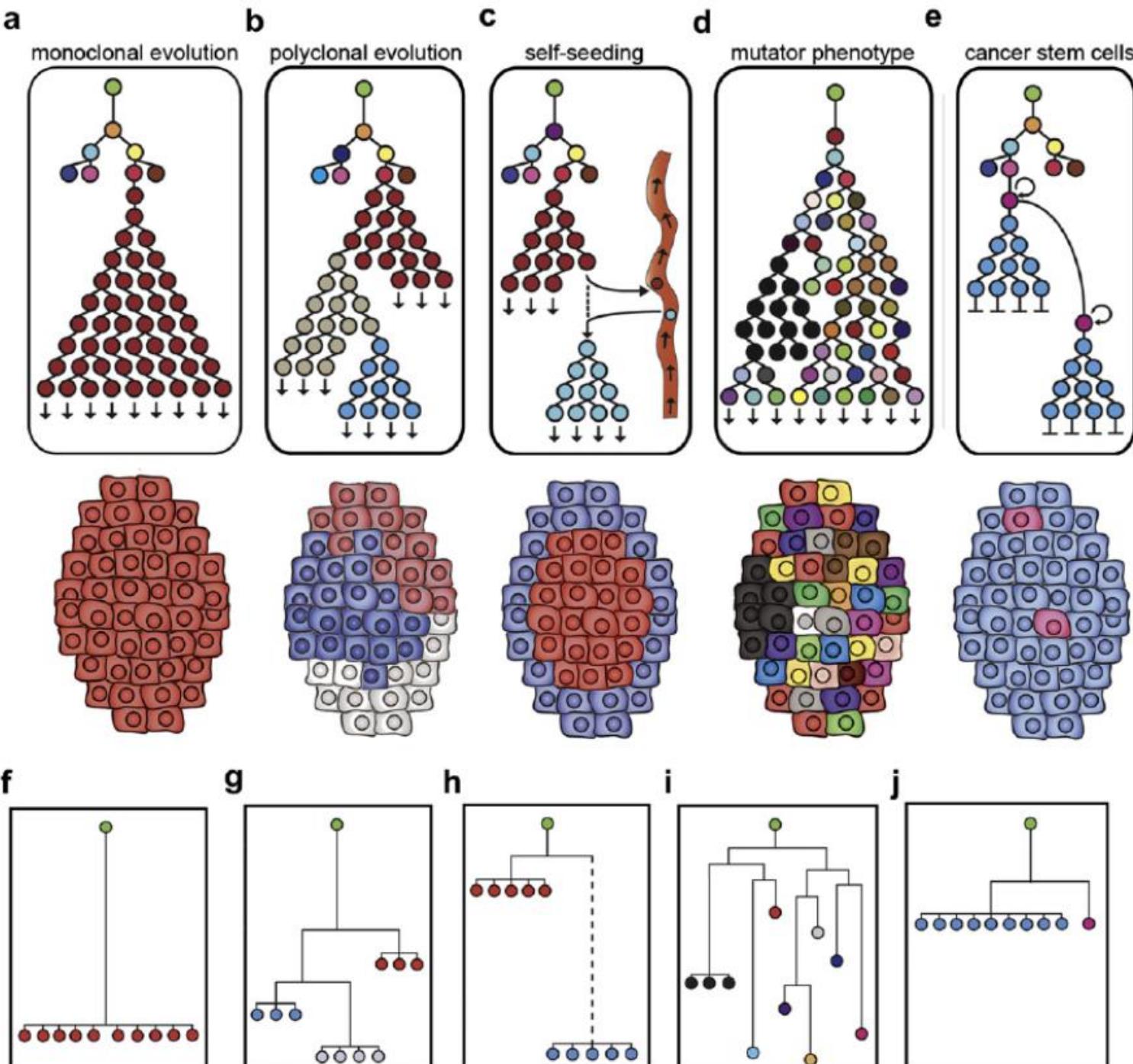
NGS



图片来源于网络

4. 肿瘤演化学说

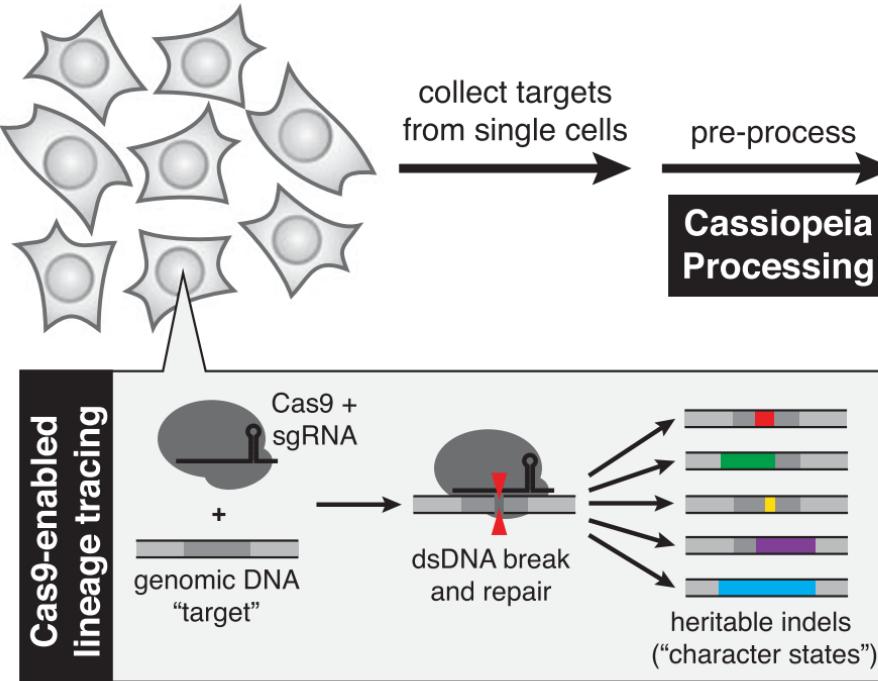
- 单克隆进化学说
- 多克隆进化学说
- 自我植入学说
- 突变表型学说
- 癌症干细胞学说



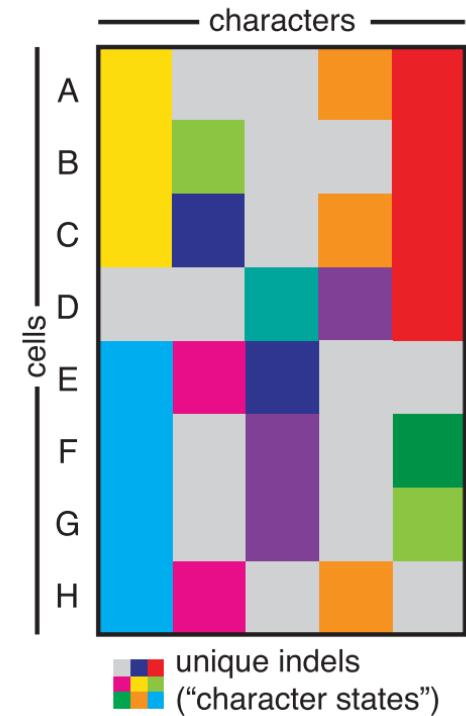
2.3 文章前期研究

□ 基于CRISPR/Cas9的基因编辑，结合Cassiopeia建树，可支持大规模的哺乳动物谱系追踪。

lineage tracing in cells



summarized character matrix



METHOD

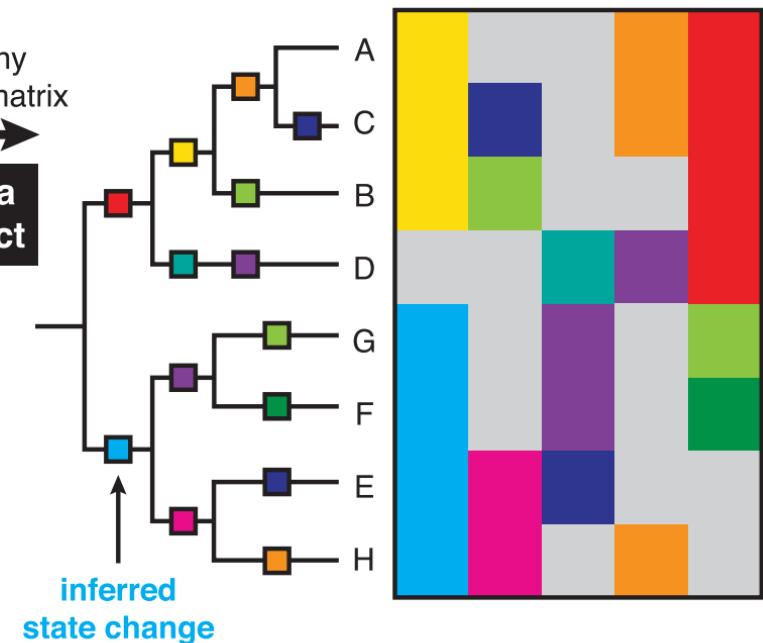
Open Access

Inference of single-cell phylogenies from lineage tracing data using Cassiopeia

Matthew G Jones^{1,2,4,5†}, Alex Khodaverdian^{3†}, Jeffrey J Quinn^{4,5,6†}, Michelle M Chan^{4,5,6}, Jeffrey A Hussmann^{4,5,6,7}, Robert Wang², Chenling Xu², Jonathan S Weissman^{4,5,6*} and Nir Yosef^{2,3,8,9*}



reconstructed phylogenetic tree



口癌症转移**过程**是怎样的？

Cas9/sgRNA 技术用于谱系示踪

转移谱系构建

口转移过程中发生了哪些**变化**？

scRNA-seq

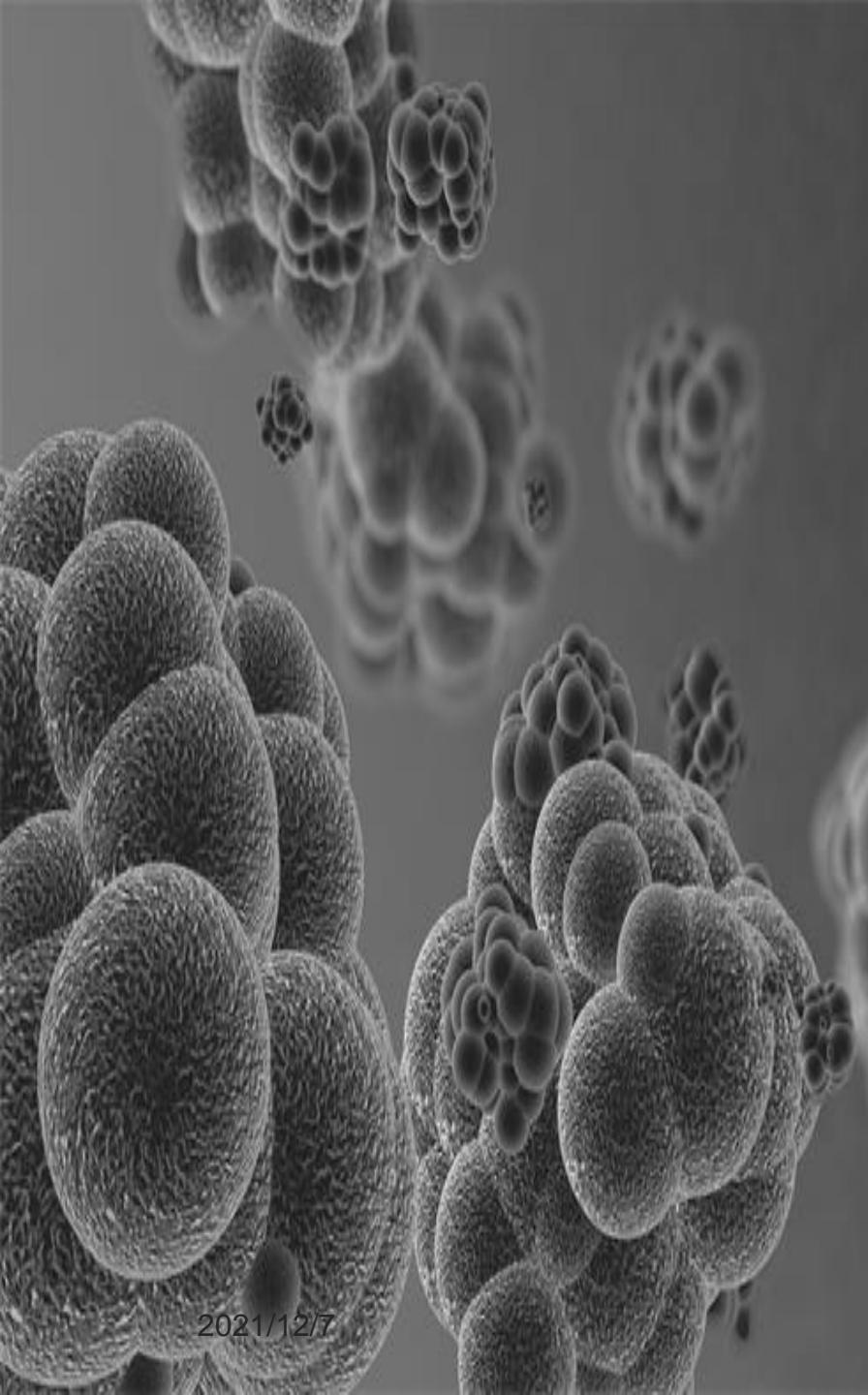
CRISPRi / CRISPRa

口转移的**路径**是怎样的？

谱系建树

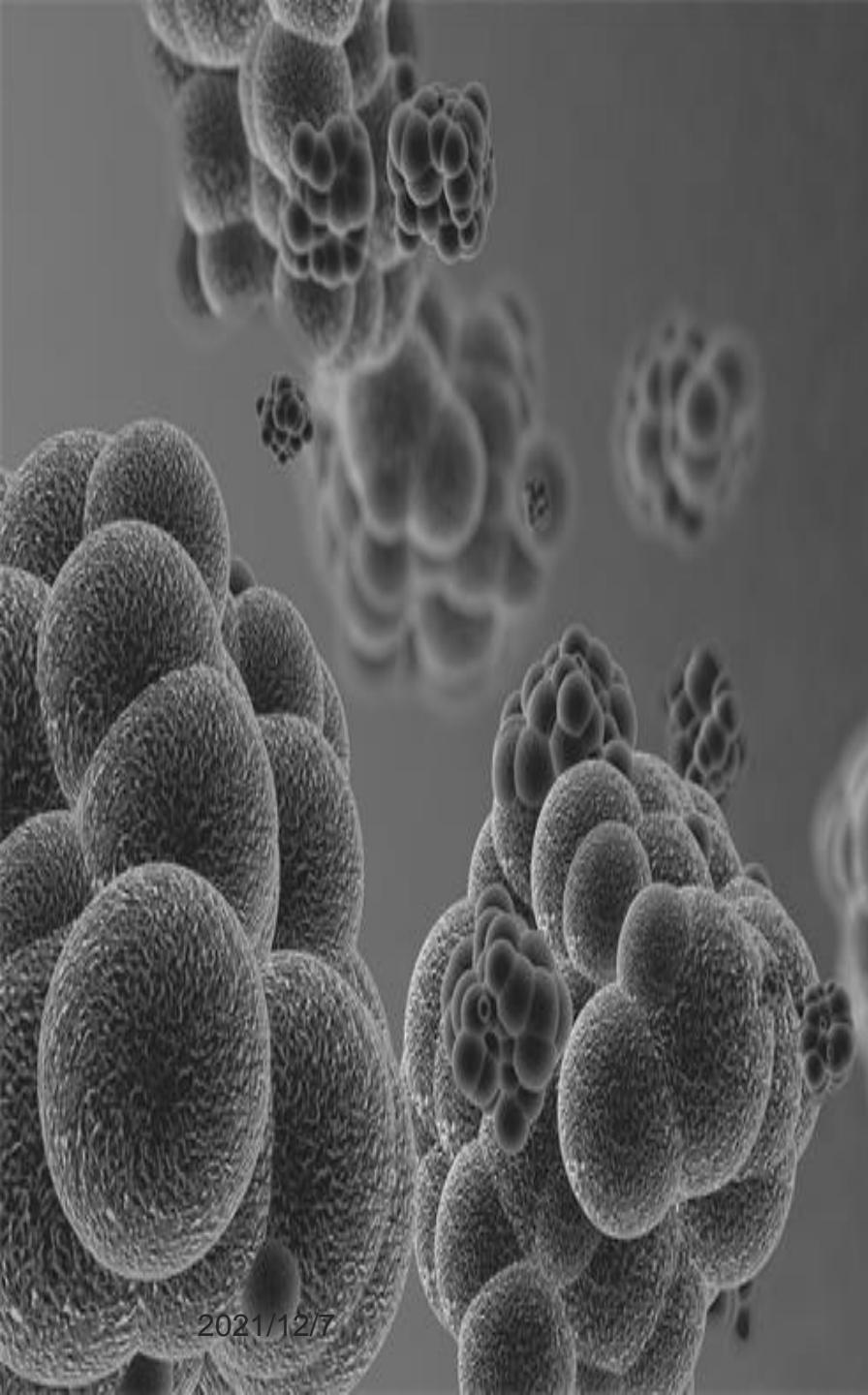
提纲

- 01 文章概要
- 02 研究背景
- 03 实验结果分析
- 04 总结



03 实验结果

- 01 转移追踪-小鼠异种模型-迁移过程中存在高异质性
- 02 推断量化转移事件
- 03 转移表型的转录驱动因素
- 04 植入前细胞转移行为的异质性和遗传性
- 05 遗传表型的演变
- 06 转移路径



03 实验结果

- 01 转移追踪-小鼠异种模型-迁移过程中存在高异质性
- 02 推断量化转移事件
- 03 转移表型的转录驱动因素
- 04 植入前细胞转移行为的异质性和遗传性
- 05 遗传表型的演变
- 06 转移路径

3.0 谱系追踪全流程方法

细胞材料：A549 细胞，人肺癌细胞系；

intBC：静态的14个碱基对随机标签序列；

3x sgRNA：形成等位基因indel，构建谱系树。

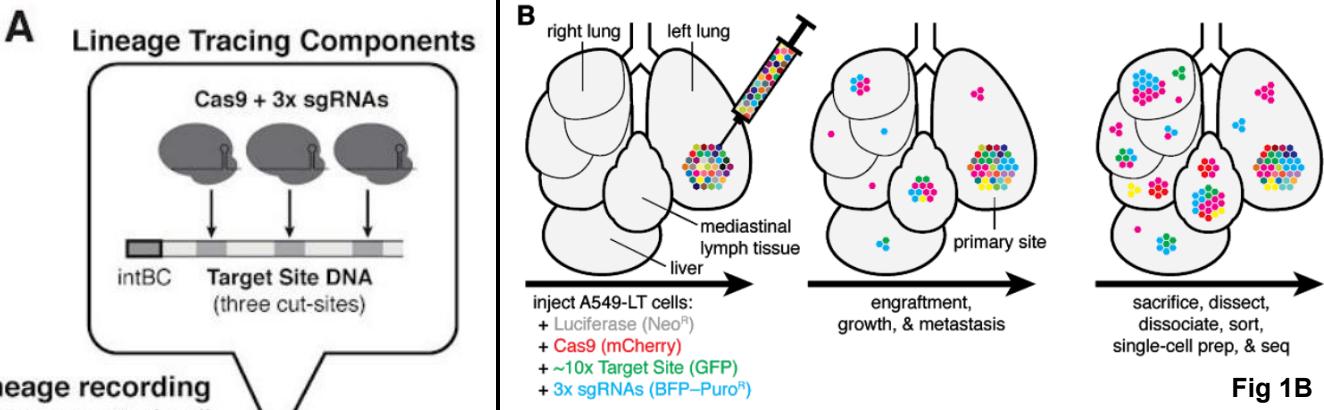
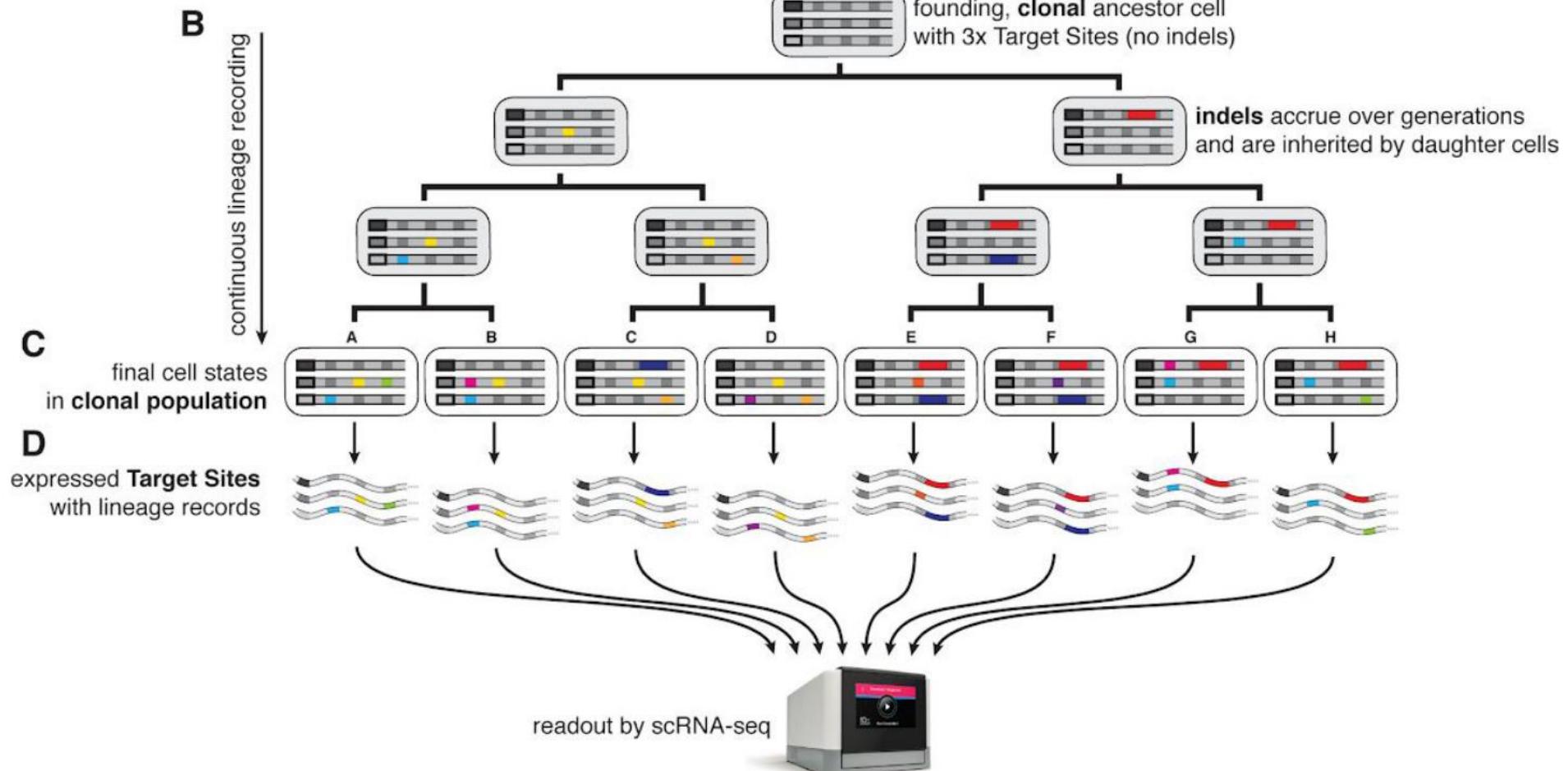


Fig 1B



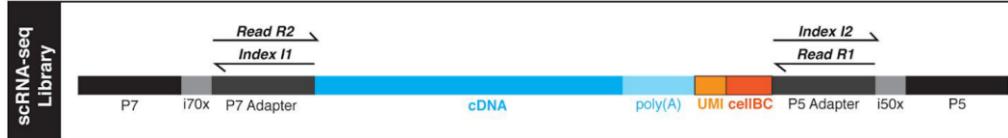
3.0 谱系追踪全流程方法

□ 两个不同分析流程，获得等位基因indel信息和基因表达信息。

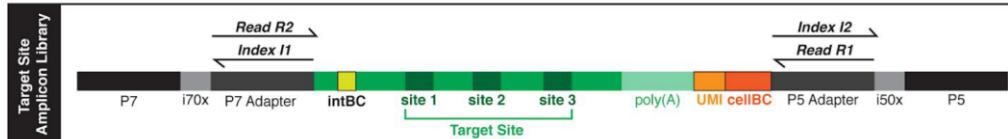
D

Read	Cycles	Feature(s)
Read 1	26x	cellBC, UMI
Index 1	8x	sample index (1)
Index 2	8x	sample index (2)
Read 2	>250x	expressed cDNA; OR intBC, cellBC

B

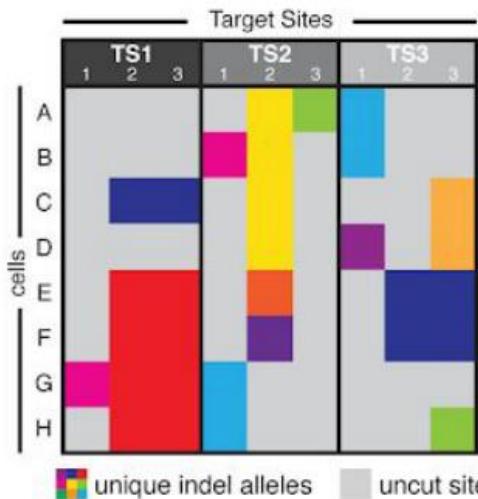


C

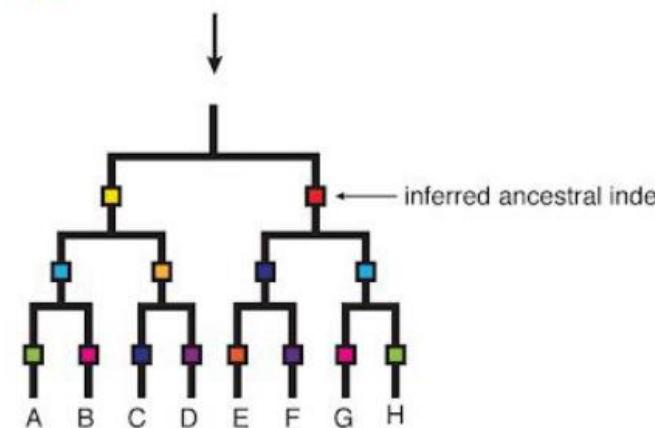


E

character matrix of lineage alleles for all cells



reconstructed phylogenetic tree



readout by scRNA-seq

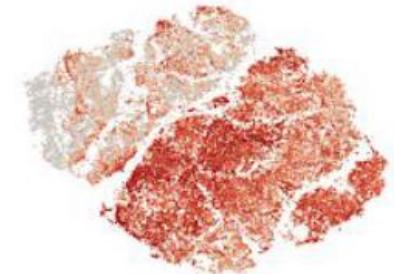


cell lineages
(indel alleles)

cell states
(gene expression)

simultaneous capture

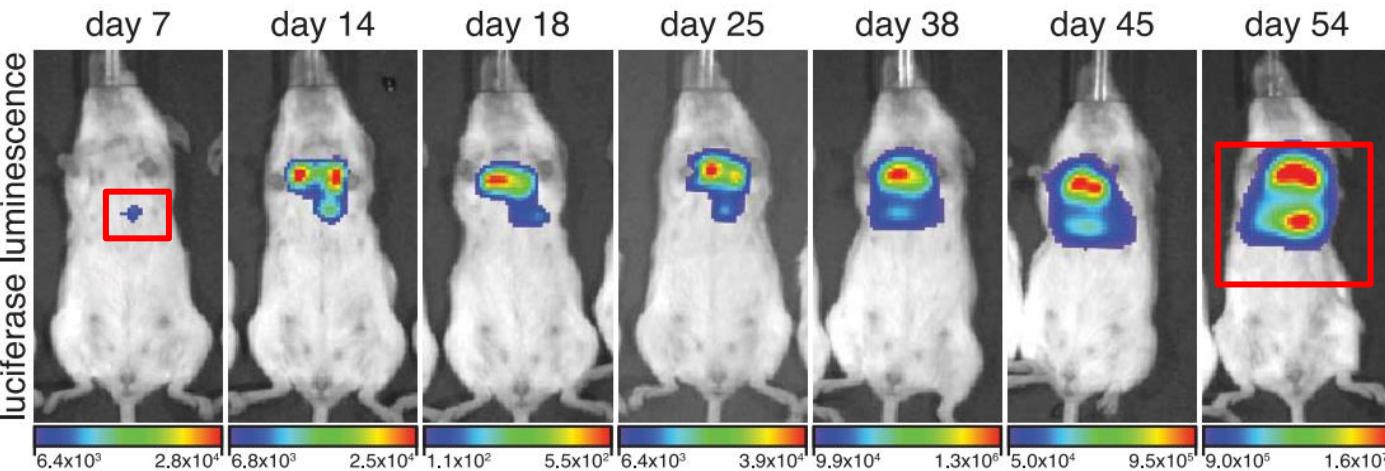
G



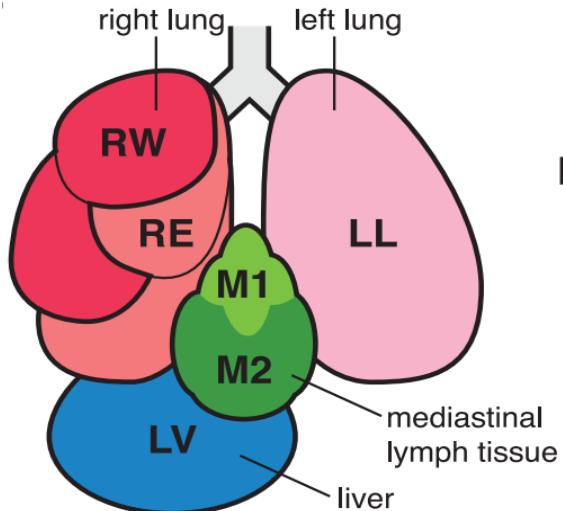
cell transcriptional states

3.1 高异质性-成像结果

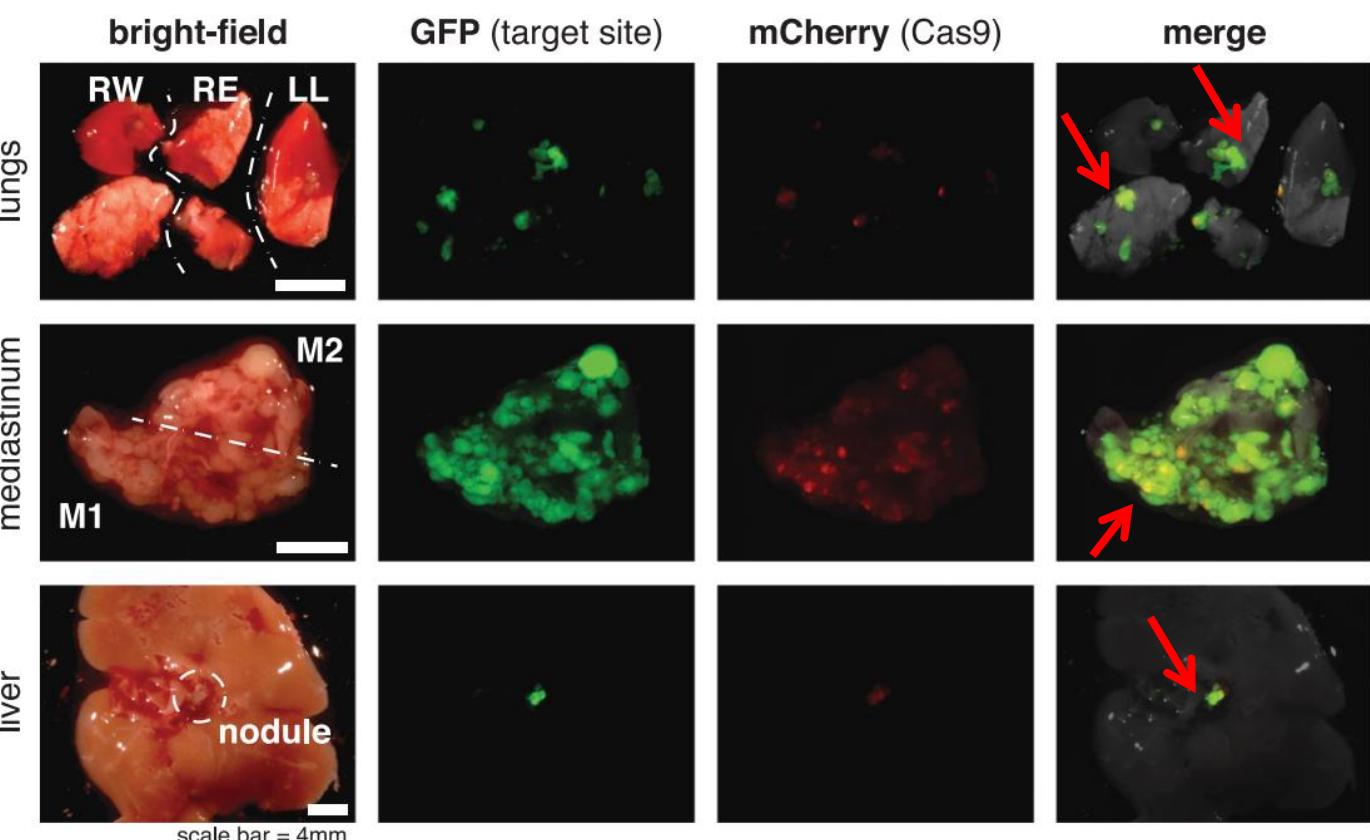
- ▶ 活体 Luciferase 成像，**早期信号弱**；随着时间推移，**后期信号增强且转移**。



- ▶ 器官 Fluorescent 成像，**多器官**出现 Cas9 引入变靶点。

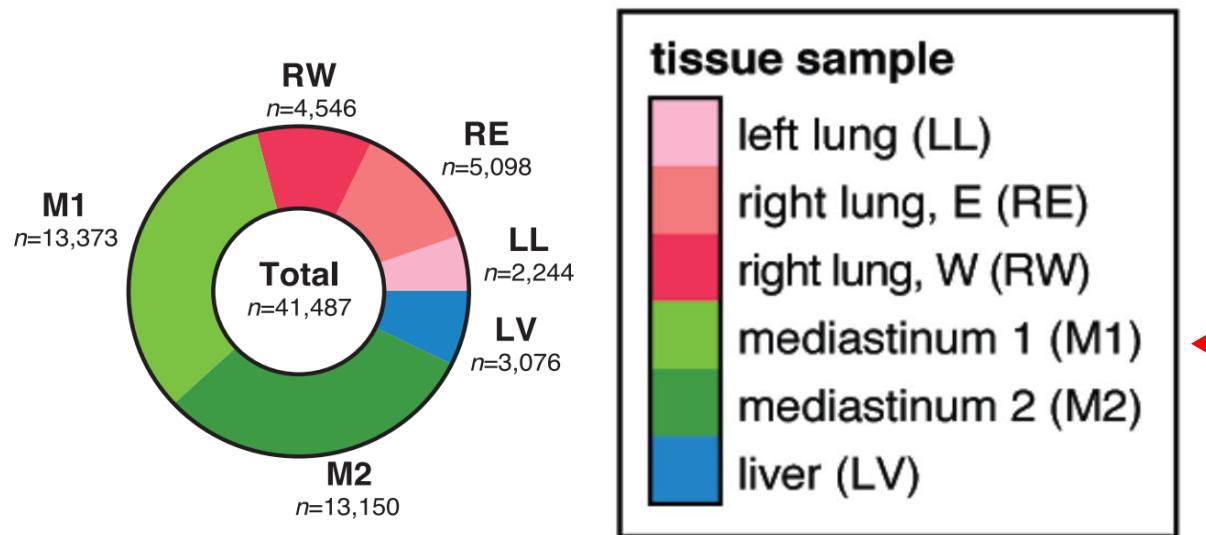


◀ 6个取样器官位
点。



3.1 高异质性-克隆种群数量差异

scRNA-seq, 依据独特的, 共有intBCs, 进行细胞克隆分群

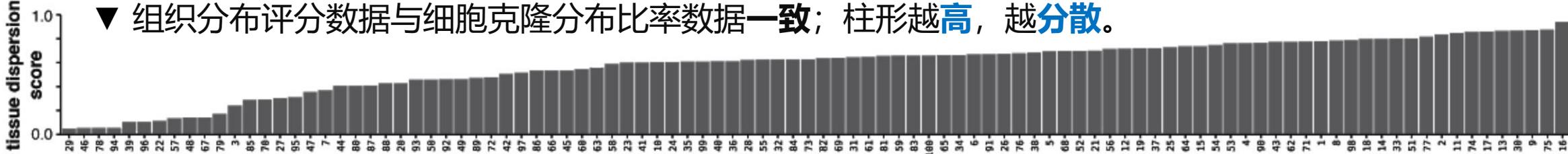


► 41,478个分选后细胞, 在**不同组织**中数目**差异较大**。

▼ 100个克隆亚群, 器官分布**差异较大**。颜色越深细胞克隆分布越多。



▼ 组织分布评分数据与细胞克隆分布比率数据一致; 柱形越高, 越**分散**。



肿瘤群体中，**迁移异质性**广泛存在。



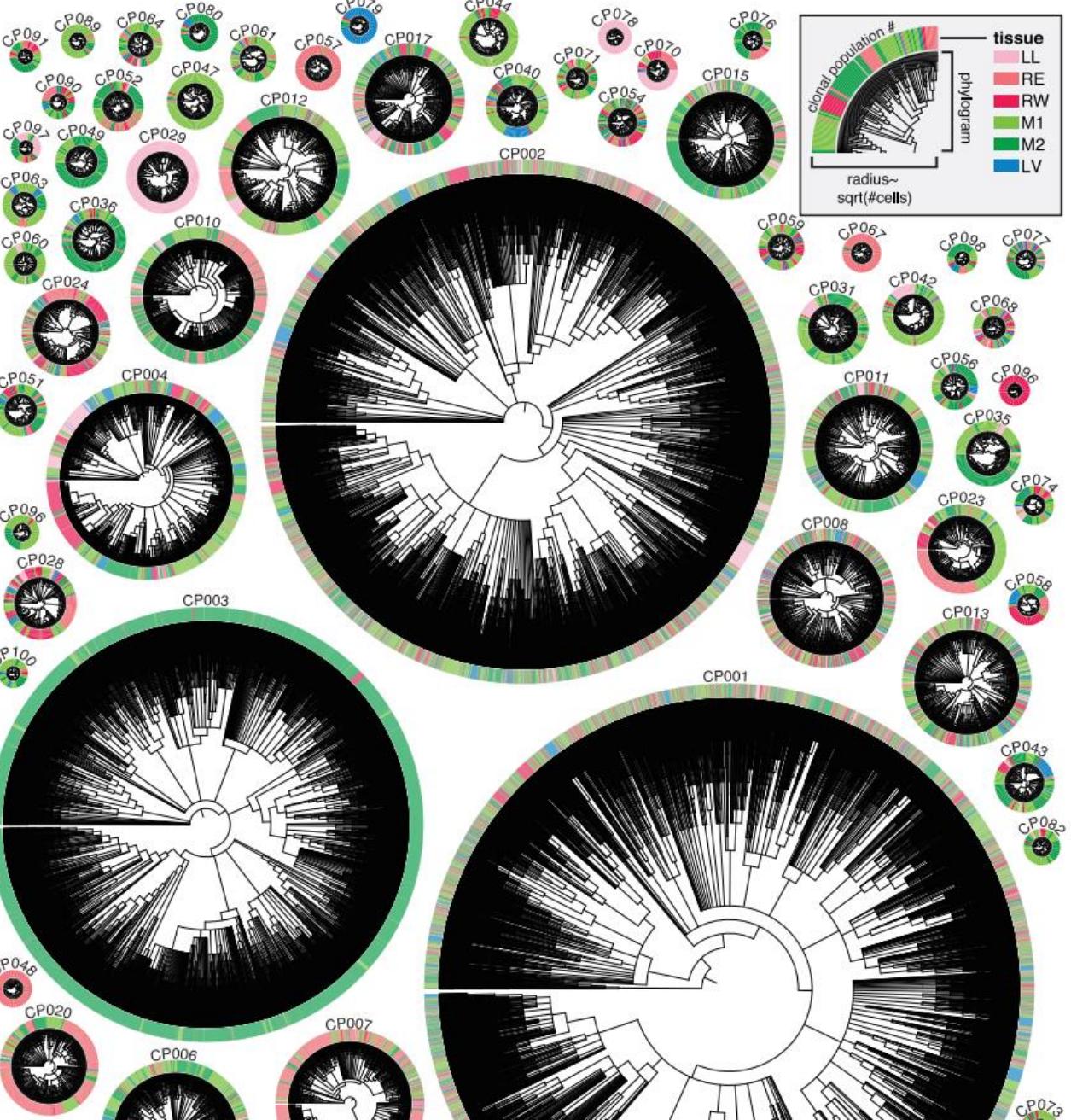
单细胞层面？

3.1 高异质性-不同克隆间组织定位差异明显

► 揭示**不同克隆群体**在**不同组织**间，**转移**分布**差异**；

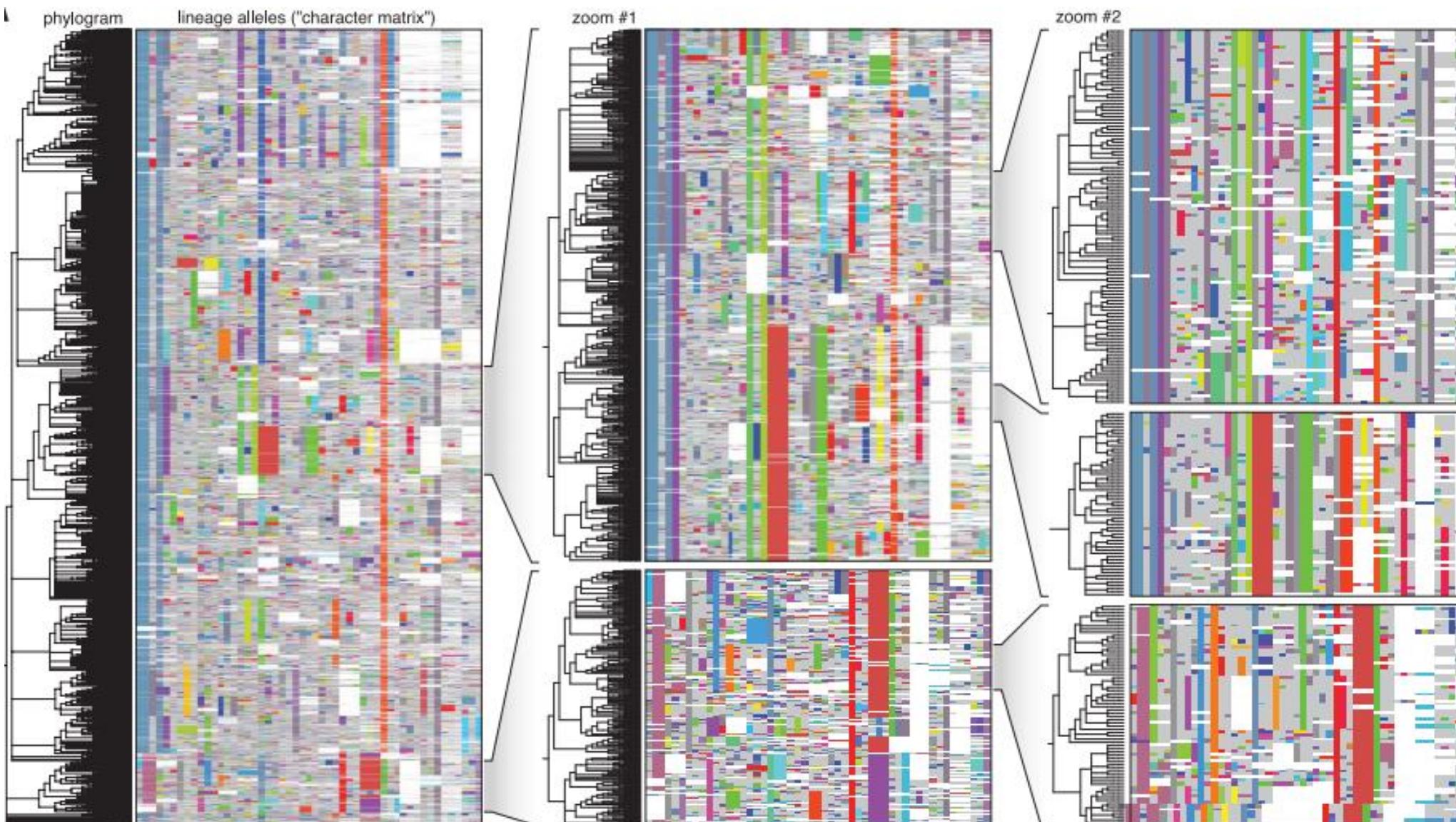
一个克隆群体是什么样子的呢？

选取CP003为例分析。



3.1 高异质性-同一克隆不同细胞间组织定位差异大-CP003

▼ 即使是单一克隆群体CP003，不同单个细胞间存在较大异质性（多样，复杂）。



Legend

Clonal Population #3 (CP003):
5,616 cells
99.0% unique lineage states
Average tree depth = 15.5
51 cut sites

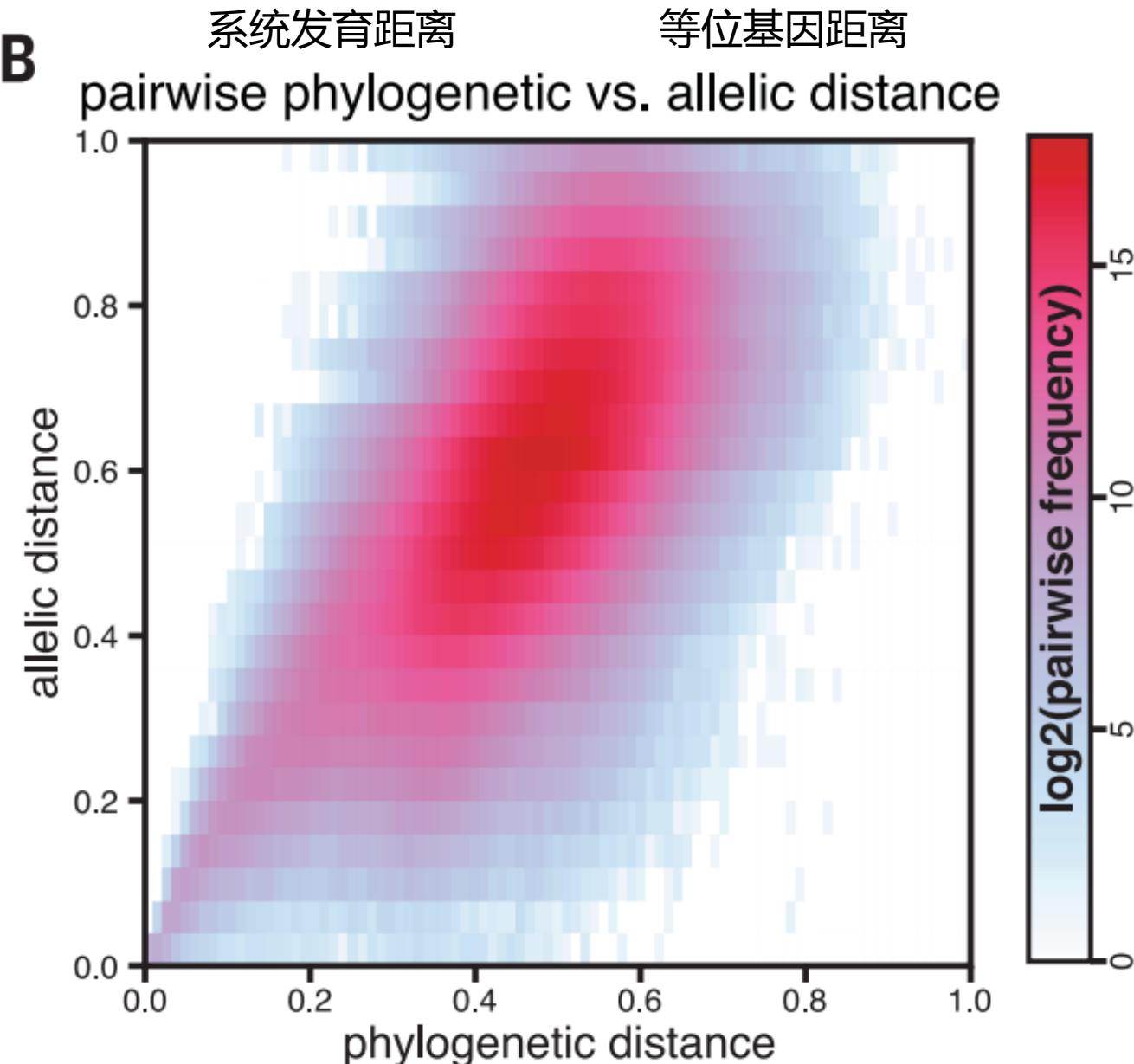
lineage allele states legend:
unique alleles, colored by frequency:
uncut site
missing value rare common

纵轴：不同细胞间关系；
横轴：每个细胞的谱系等位基因。

3.1 高异质性-谱系树准确性验证

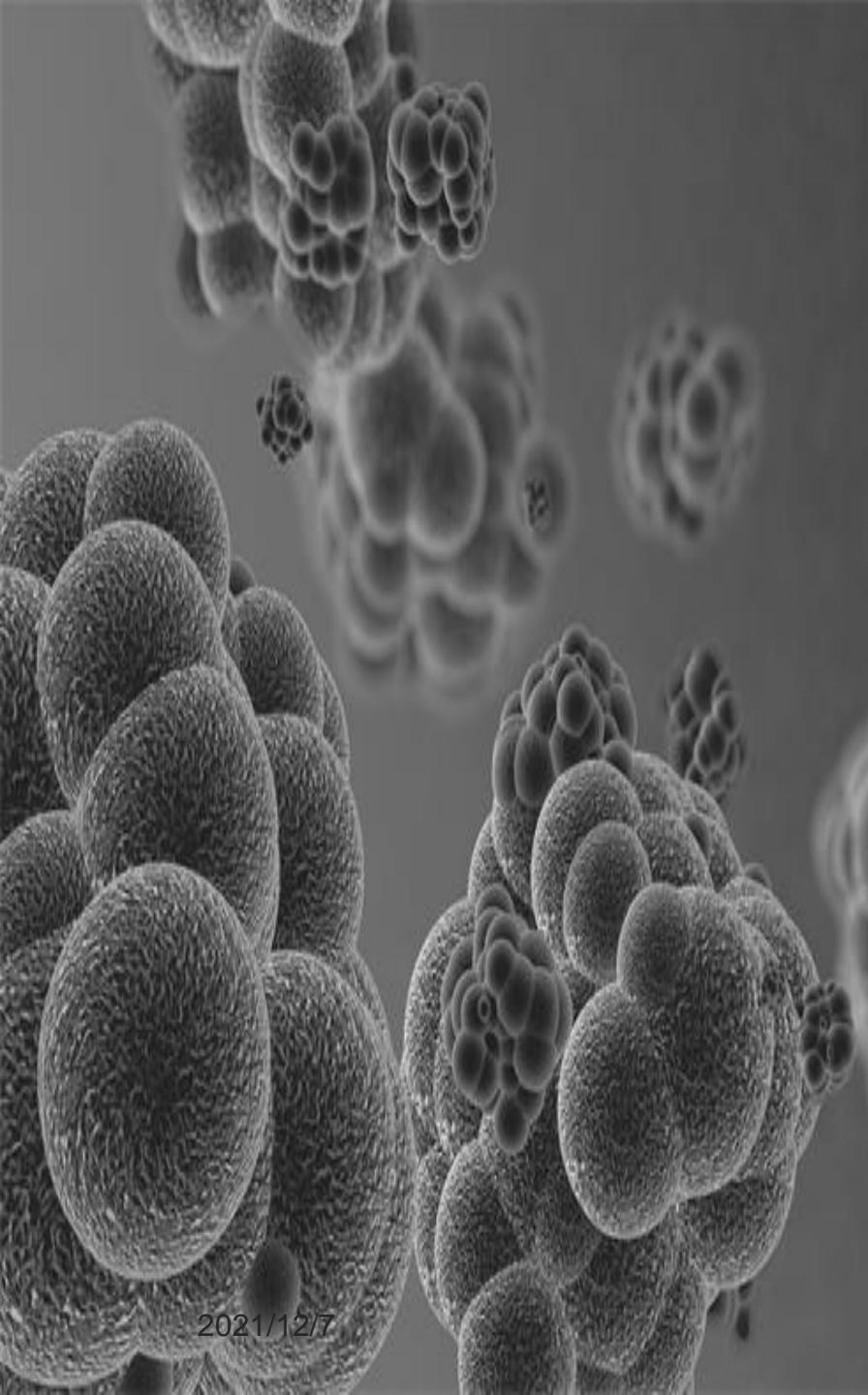
► 两种分析方式具有一致性；该树准确地模拟了系统发育关系。

- **系统发育距离**：两个细胞之间的标准化成对树距离；
- **等位基因距离**：两个细胞之间等位基因的标准化成对差异。



结论一：

肿瘤群体中，**迁移异质性**广泛存在；
包括**不同细胞群体**和相同细胞群体内的**不同细胞**。



03 实验结果

01

转移追踪-小鼠异种模型-迁移过程中存在高异质性

02

推断量化转移事件

03

转移表型的转录驱动因素

04

植入前细胞转移行为的异质性和遗传性

05

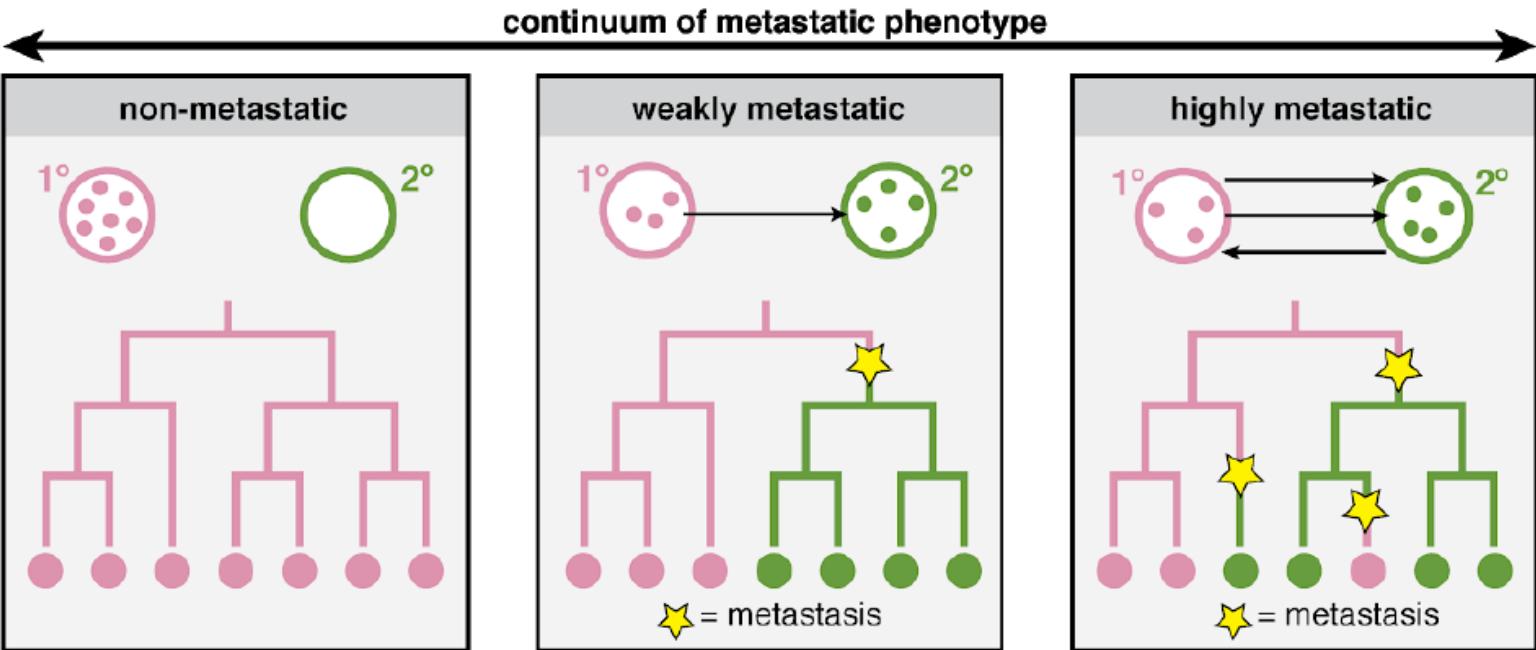
遗传表型的演变

06

转移路径

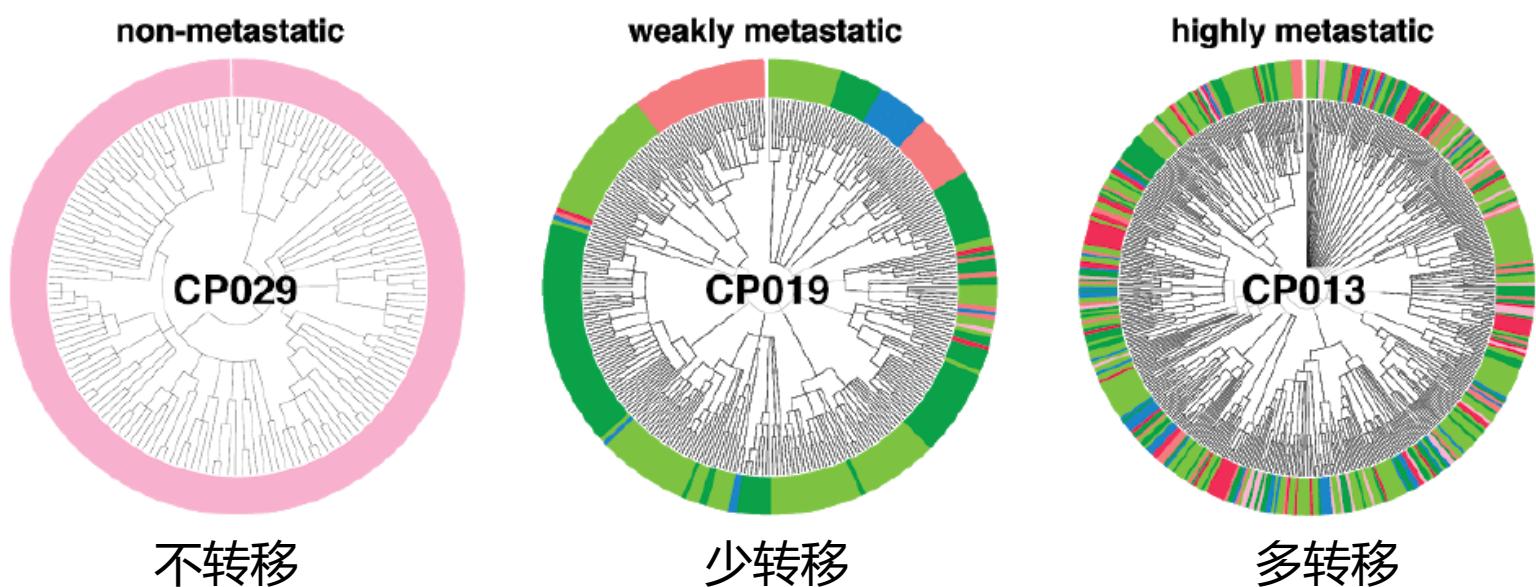
3.2 量化转移-不同迁移率

- ▶ 转移表型：不同细胞克隆具有**不同的转移潜力**。

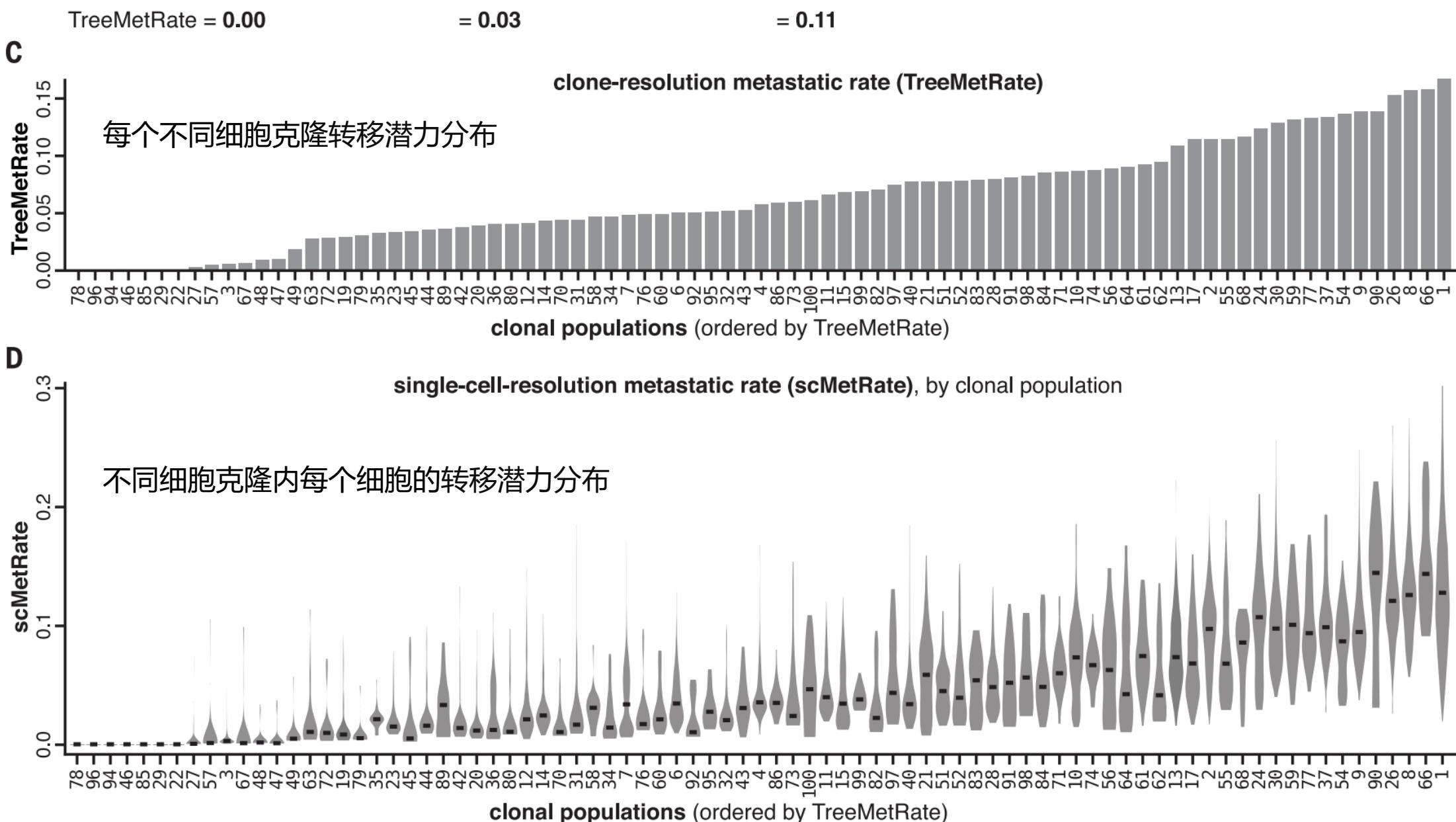


- ▶ 癌细胞谱系追踪：不同细胞克隆具有**不同的组织转移特征**。

如何量化？

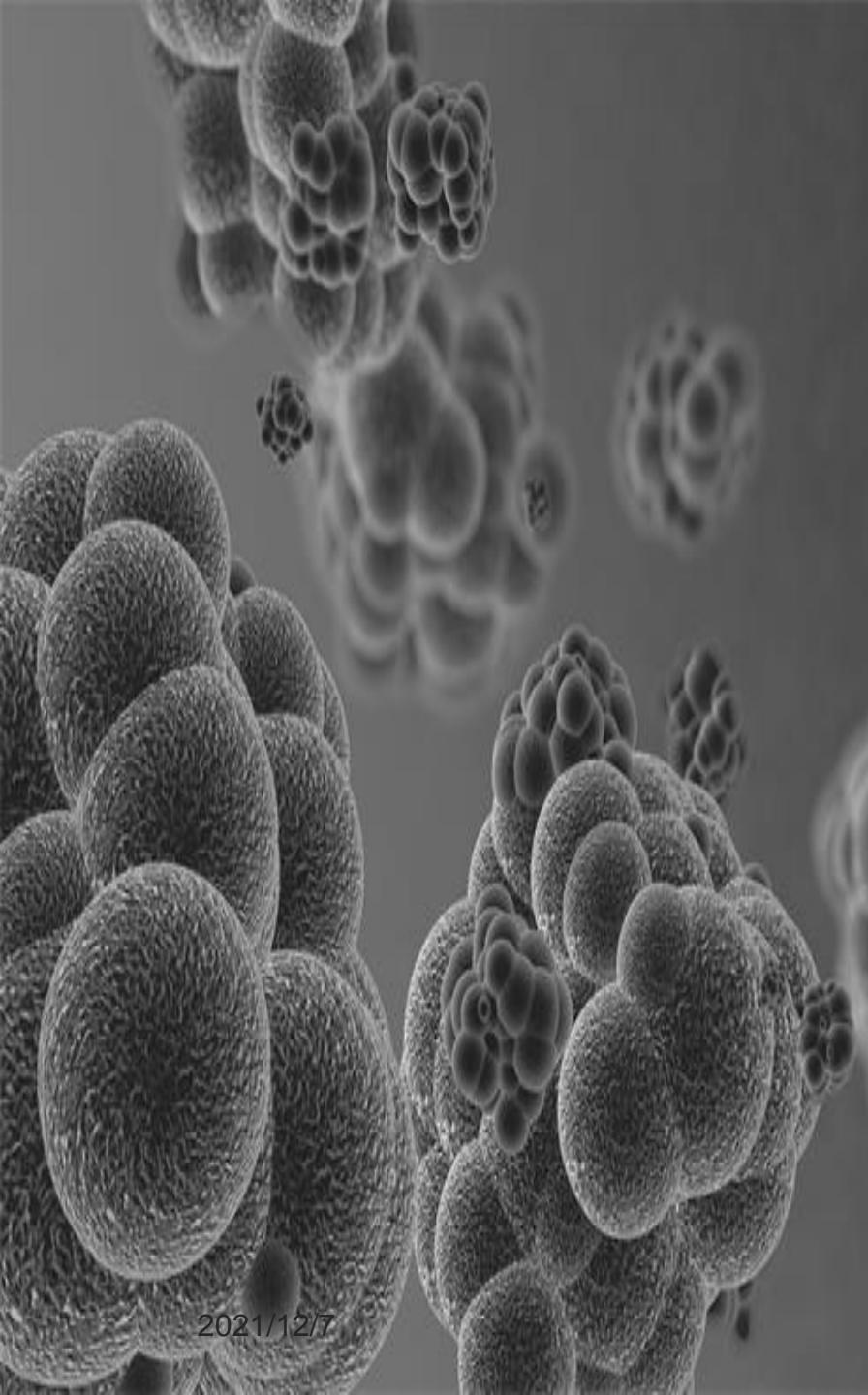


3.2 量化转移-不同迁移率评估-TreeMetRate



结论二：

迁移异质性表型可以通过谱系追踪量化。

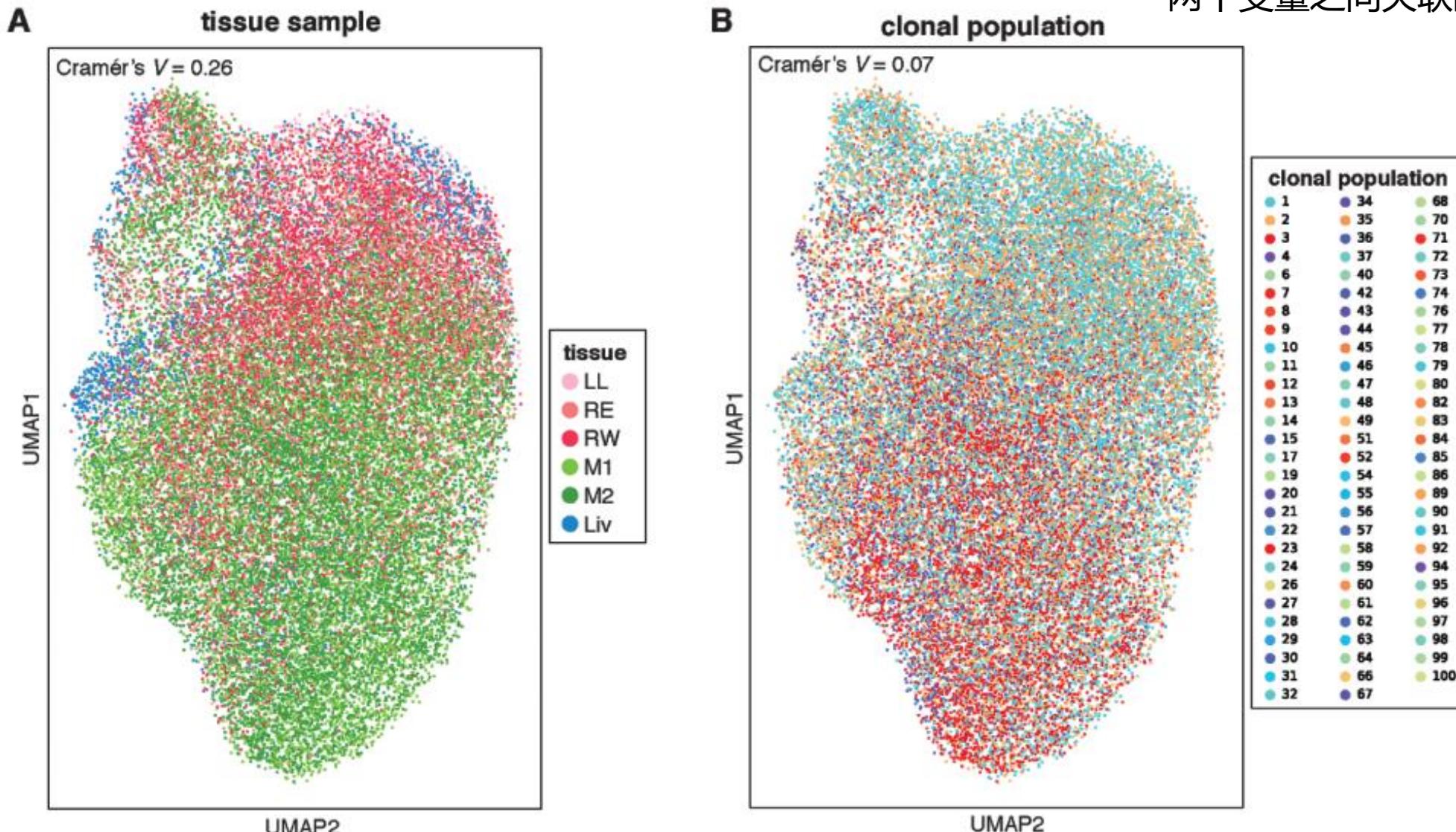


03 实验结果

- 01 转移追踪-小鼠异种模型-迁移过程中存在高异质性
- 02 推断量化转移事件
- 03 转移表型的转录驱动因素**
- 04 植入前细胞转移行为的异质性和遗传性
- 05 遗传表型的演变
- 06 转移路径

3.3 转移驱动因素-转录水平与组织样本和转移率有关 转移能力不同，单细胞转录水平如何？

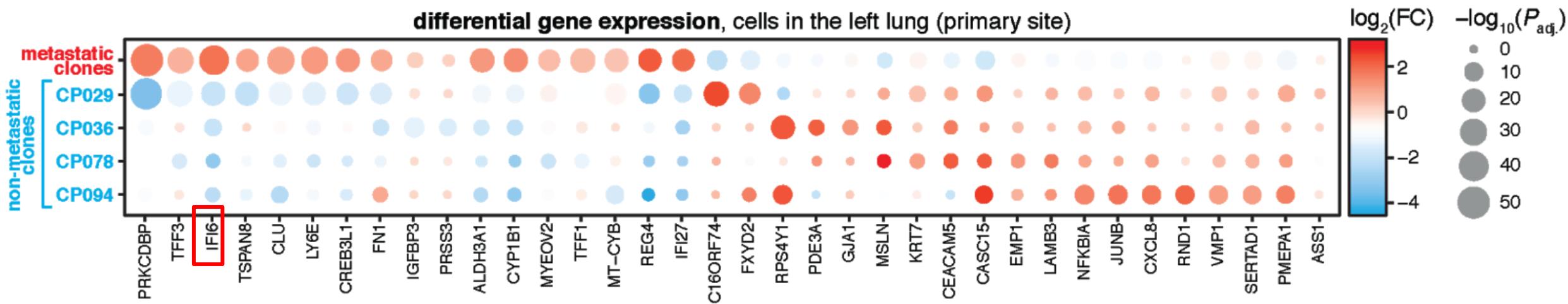
▼ 不同组织样本，不同克隆群体，与基因表达水平相关；



Cramér's V (卡方检验得出的两个变量之间关联的统计度量)

3.3 转移驱动因素-转录水平转移性能有关

▼ 比较不可转移克隆群体（4个）和可转移克隆群体样本（来源于同一个组织）：某些基因的表达水平发生改变；
转移表型差异可能来源于基因表达差异。



3.3 转移驱动因素- 不同转移能力

细胞中基因表达差异明显

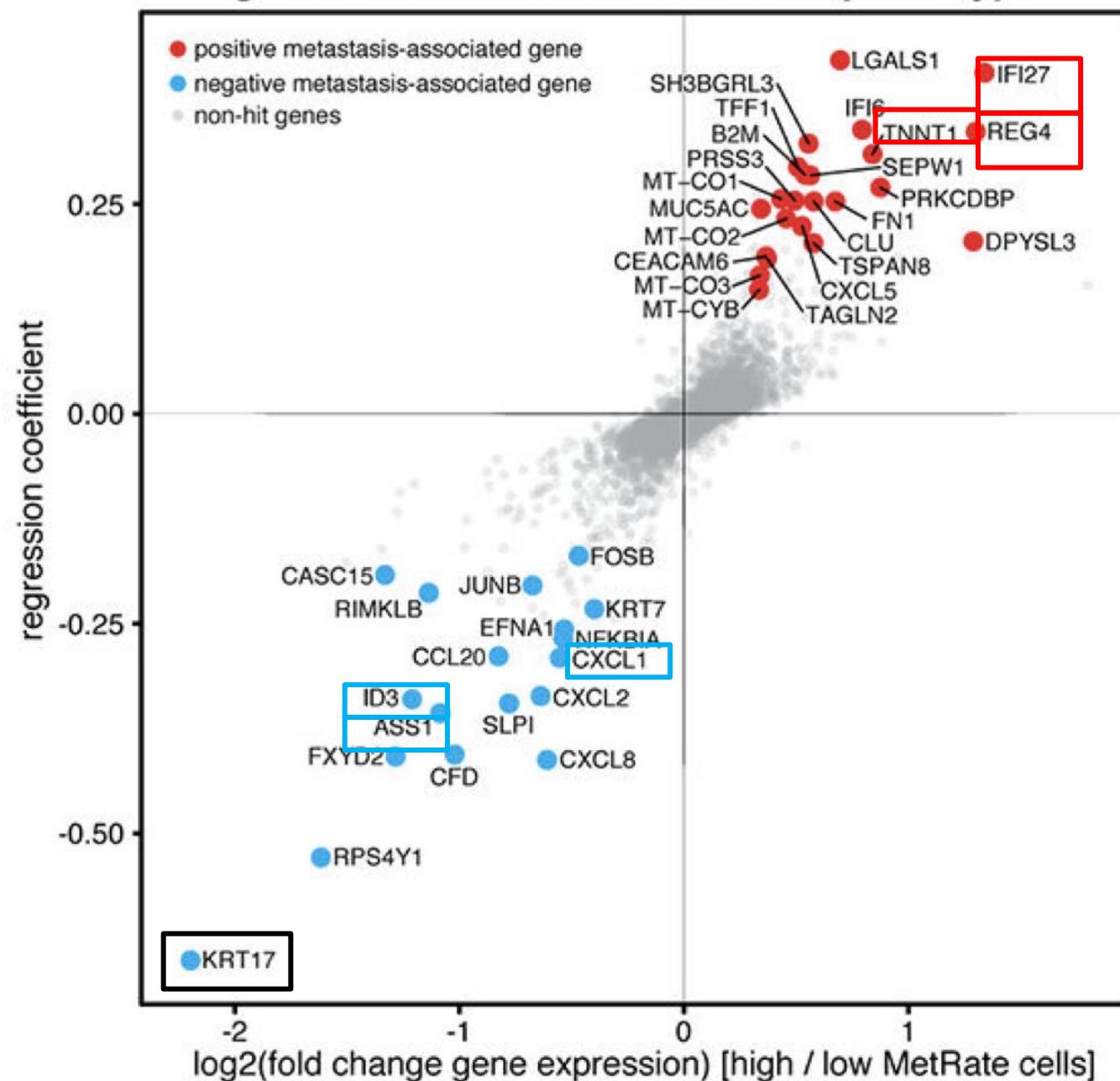
►与高转移潜力相关的基因（红色）和低转移

潜力的相关的基因（蓝色）与高低转移能力细
胞分布相关；

方法：scRNA-seq, 单细胞谱系。

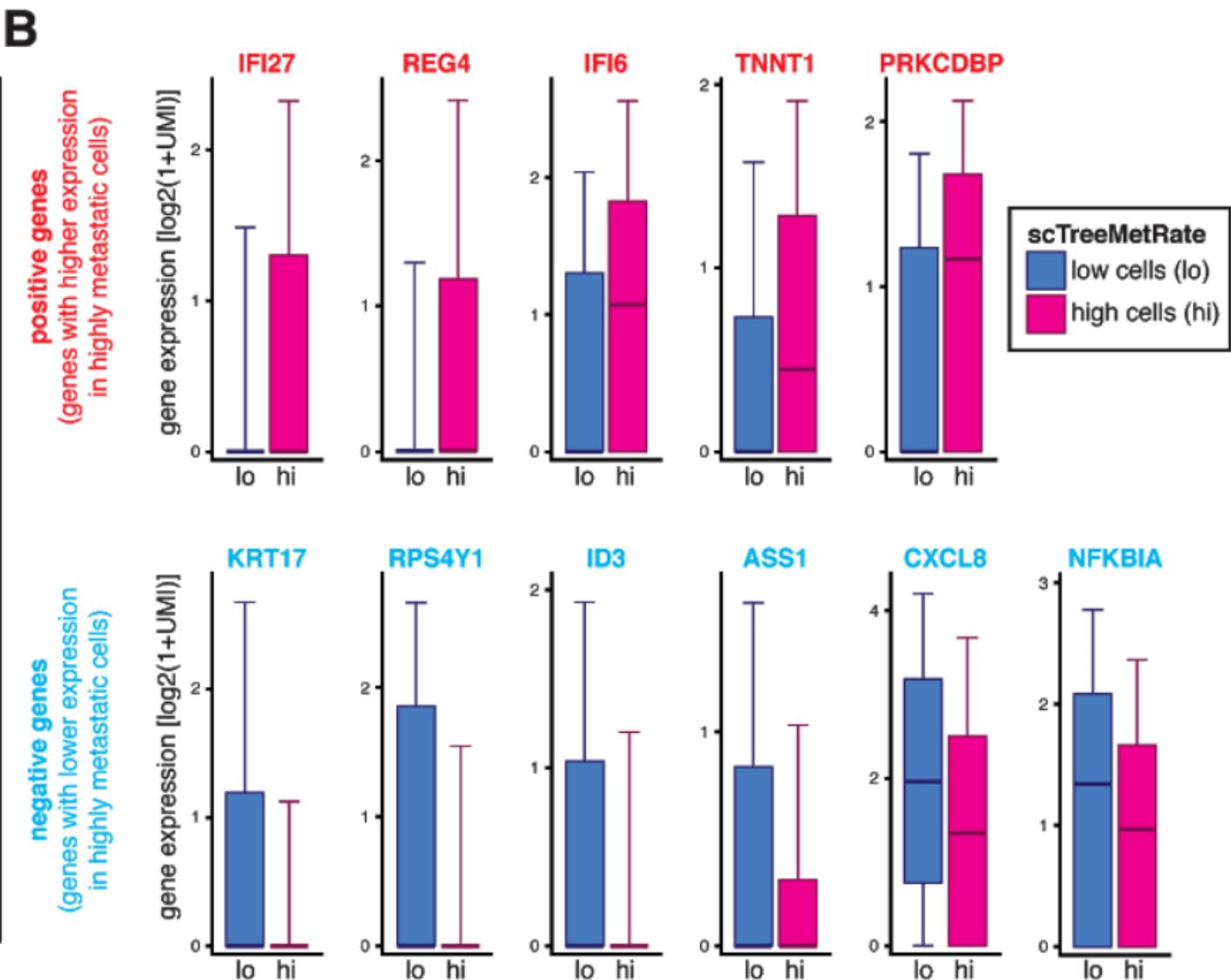
A

genes correlated with metastatic phenotype



3.3 转移驱动因素- 不同转移能力细胞中基因表达差异明显

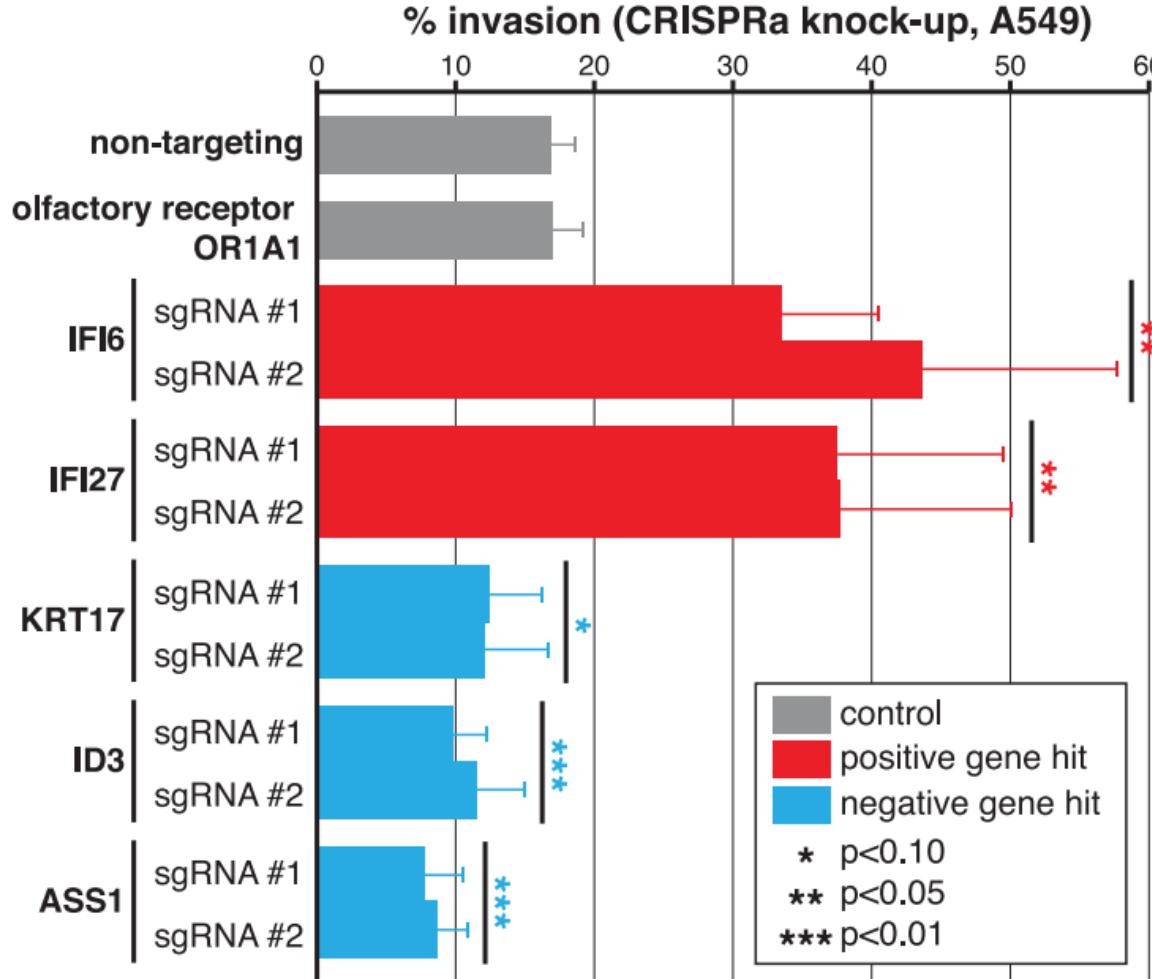
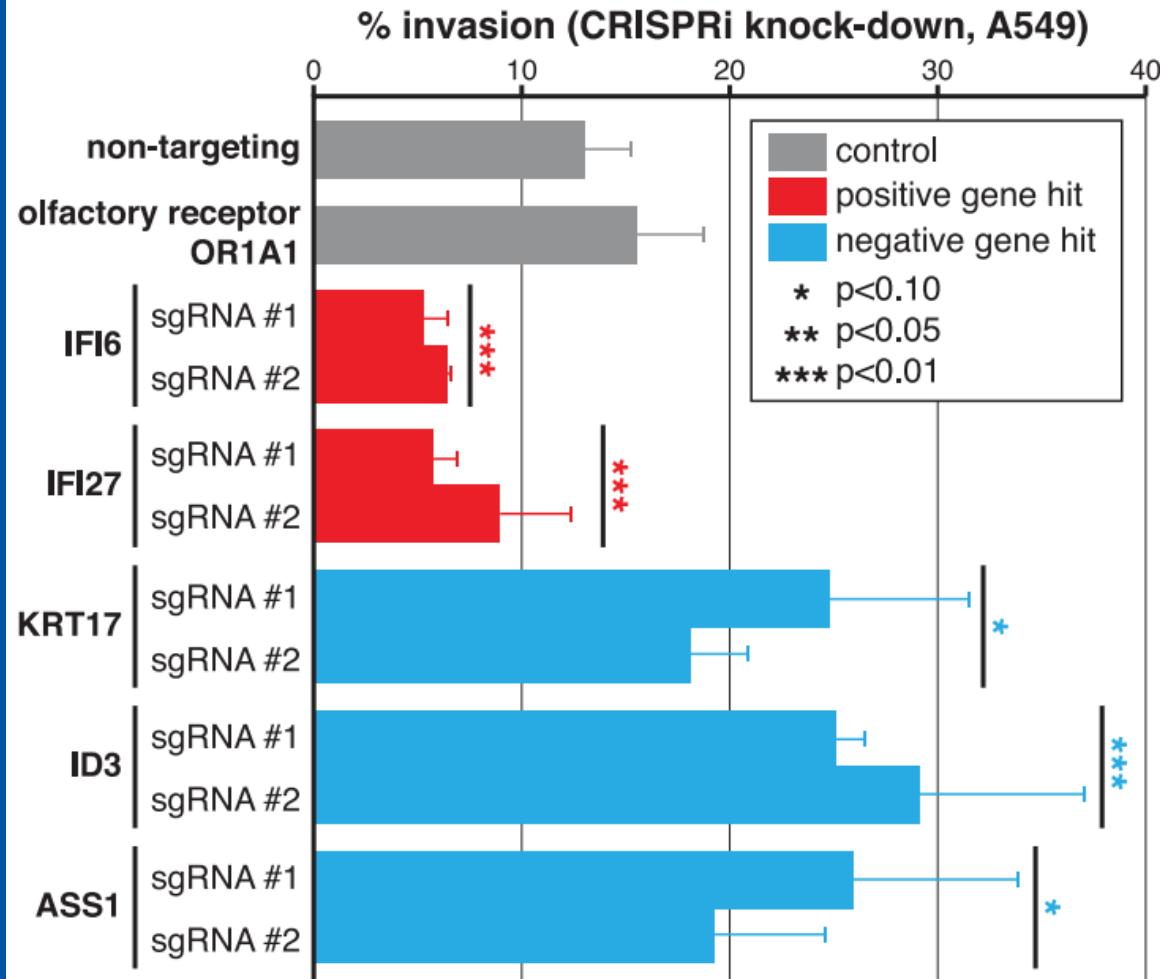
► 在具有高转移潜力的癌细胞（粉色）和低转移潜力的癌细胞（深蓝色）中高度表达的部分基因。



3.3 转移驱动因素- CRISPR 控制转移率相关基因表达

转移能力与基因转录水平是直接
或是间接相关？

▼ 改变与高低转移潜力相关的部分基因表达水平，可影响其侵入率。



实验方法：In vitro transwell invasion assays

3.3 转移驱动因素- 转移率相关基因表达差异

是否也适用于其他癌症细胞系?

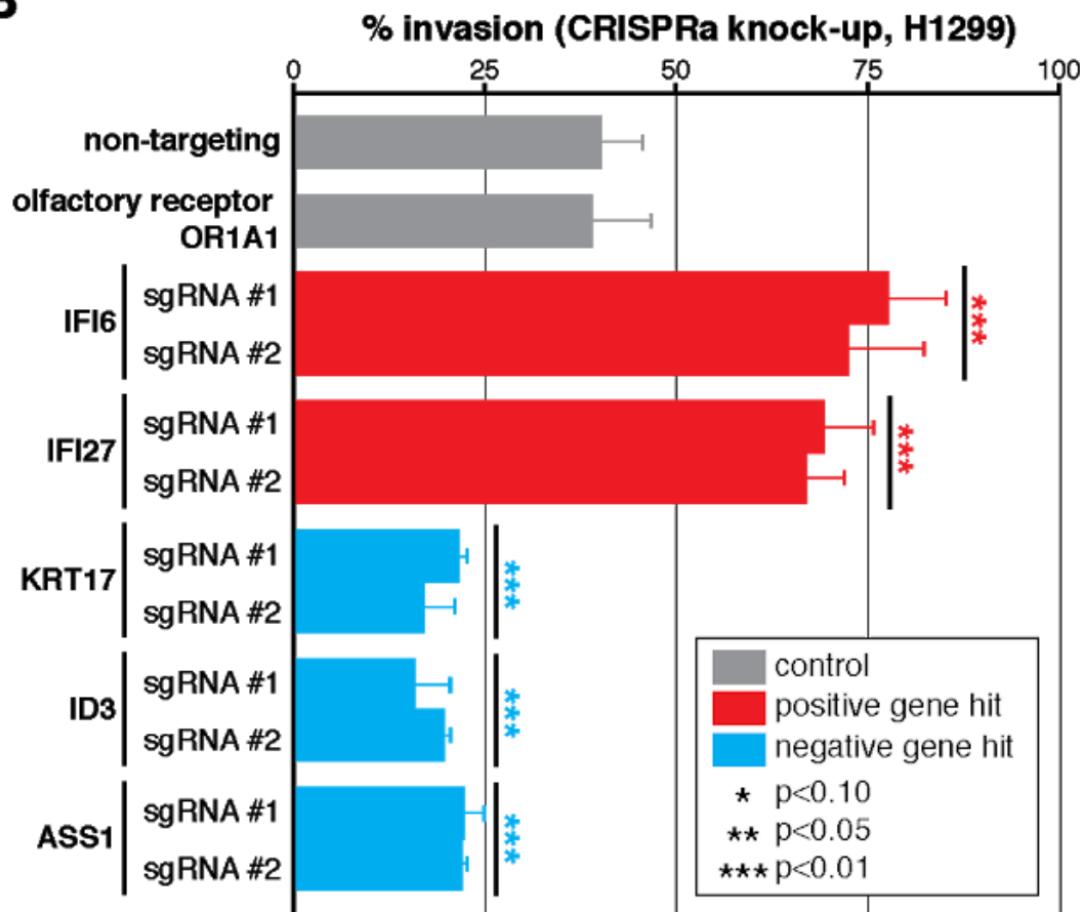
►在其他人癌症细胞系，改变与高低转移潜力相关的部分基因表达水平，可影响其侵入率。

H1299：人肺癌细胞系

A



B

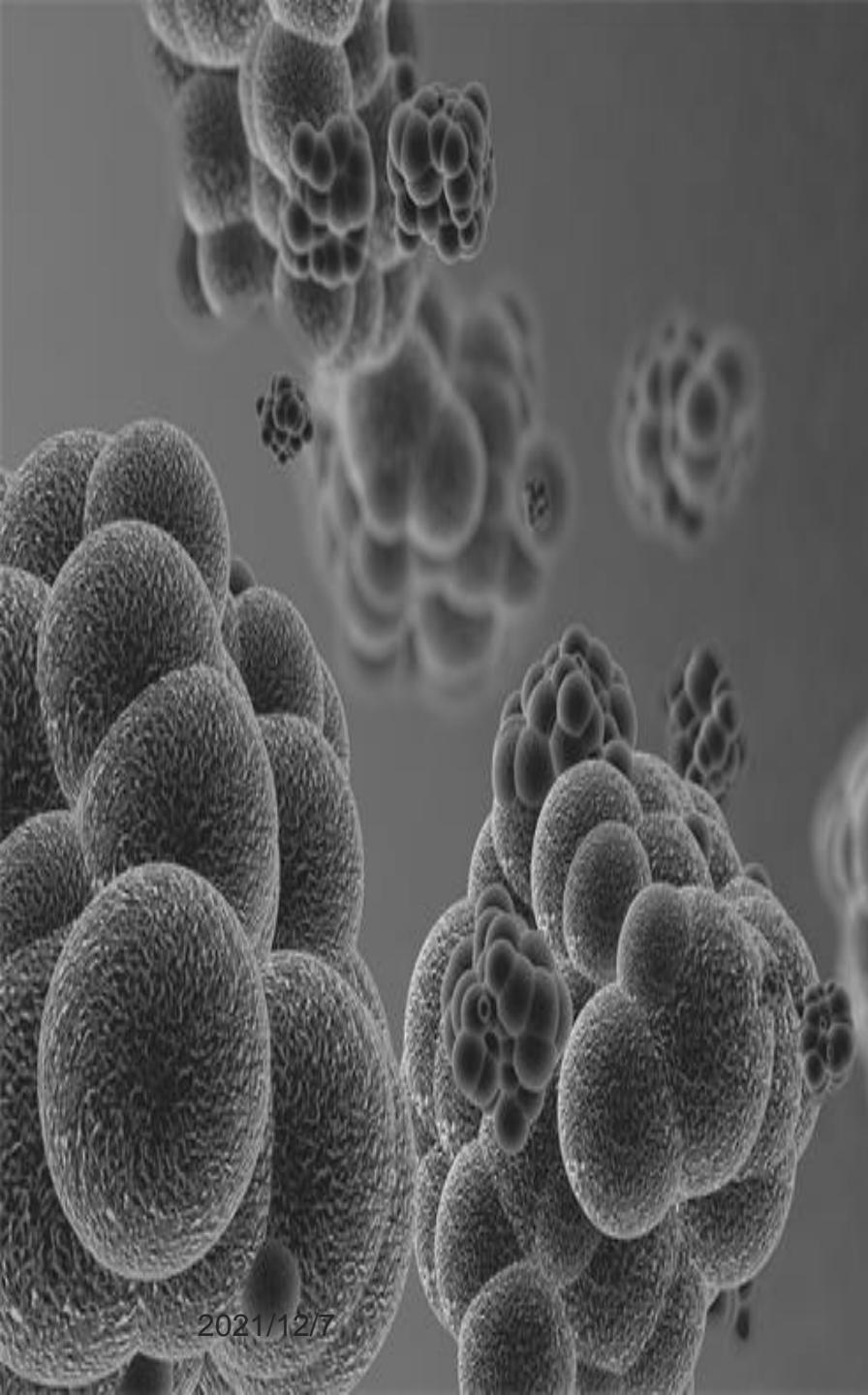


结论三：

谱系追踪可**鉴定**转移相关**基因**；

某些基因可以**推动**转移表型的**差异**；

这种推动力作用在不同原癌基因背景下也适用。



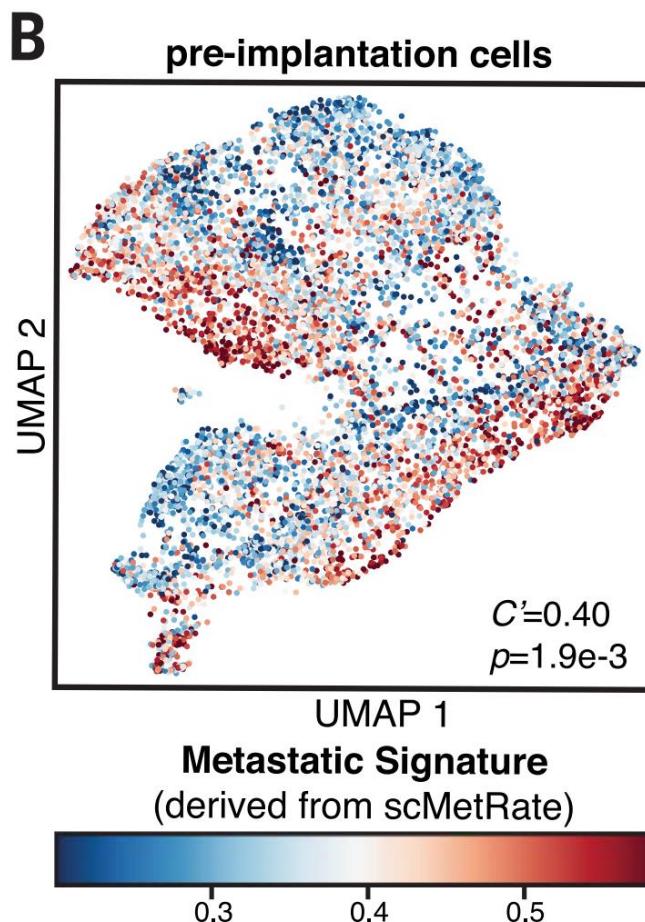
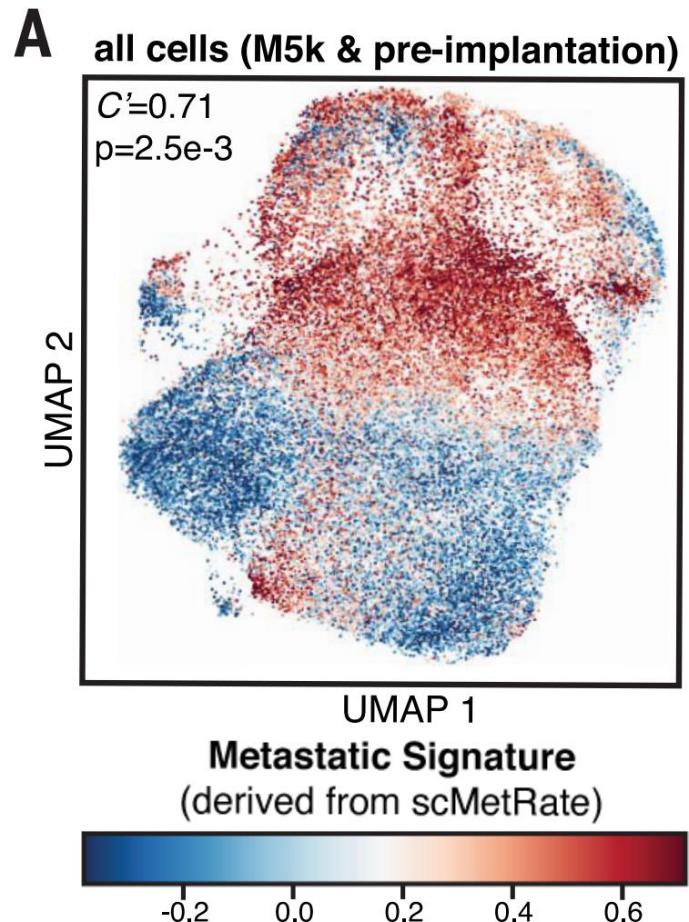
03 实验结果

- 01 转移追踪-小鼠异种模型-迁移过程中存在高异质性
- 02 推断量化转移事件
- 03 转移表型的转录驱动因素
- 04 植入前细胞转移行为的异质性和遗传性**
- 05 遗传表型的演变
- 06 转移路径

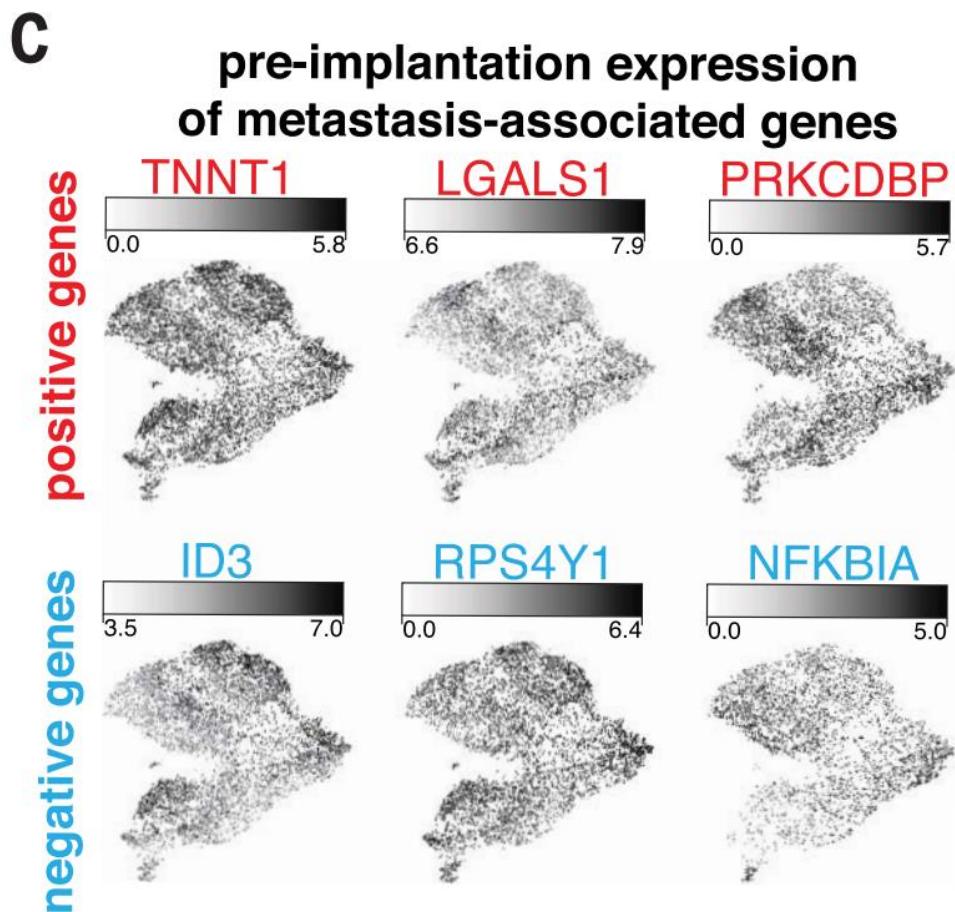
3.4 植入前细胞异质性和遗传性

异质性是从什么时候开始的?

▼ 植入前细胞显示出一定的异质性。



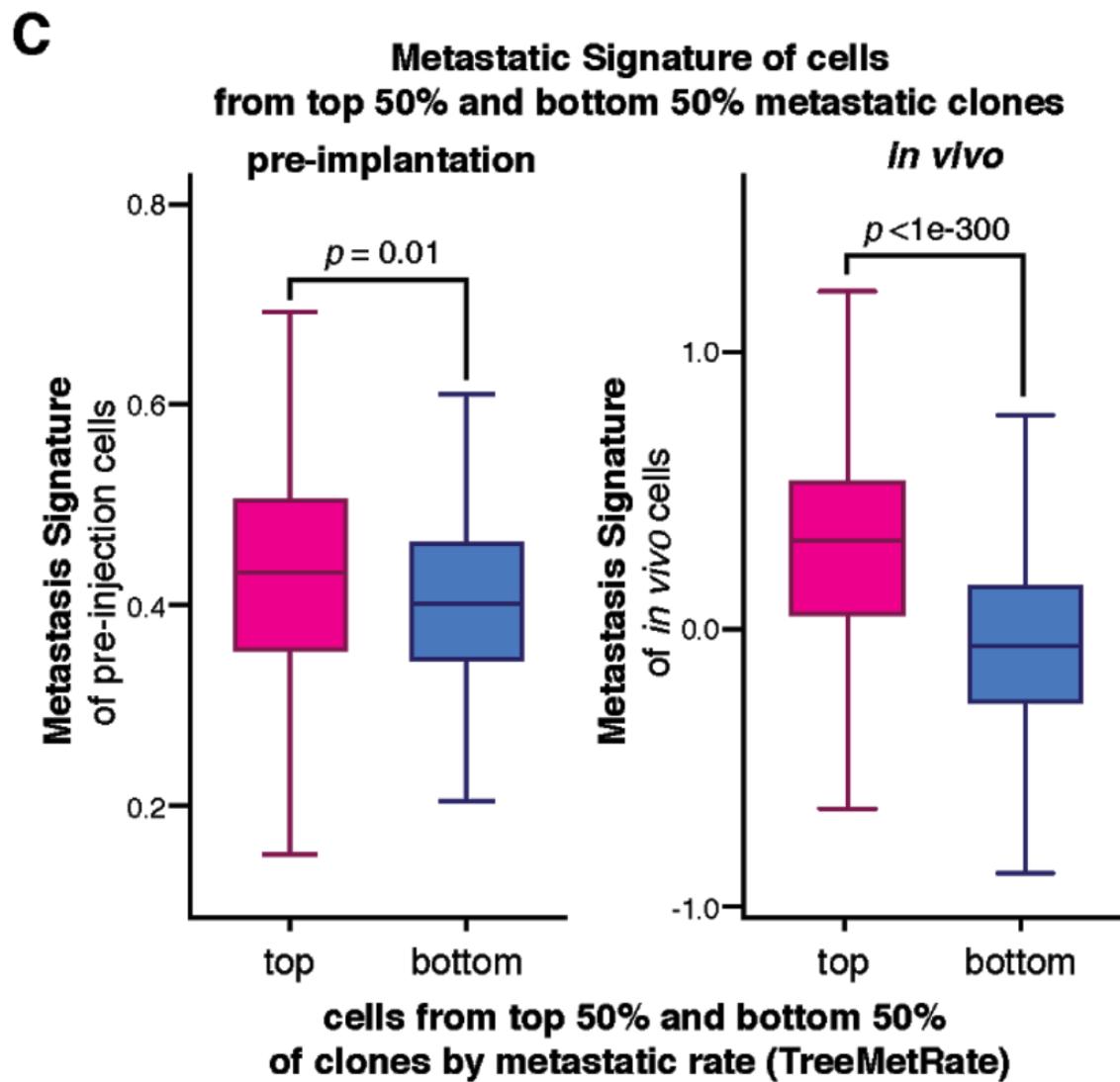
▼ 植入前细胞显示基因转录水平差异。



3.4 植入前细胞异质和遗传性

植入前异质性是否可以用来预测后续移植？

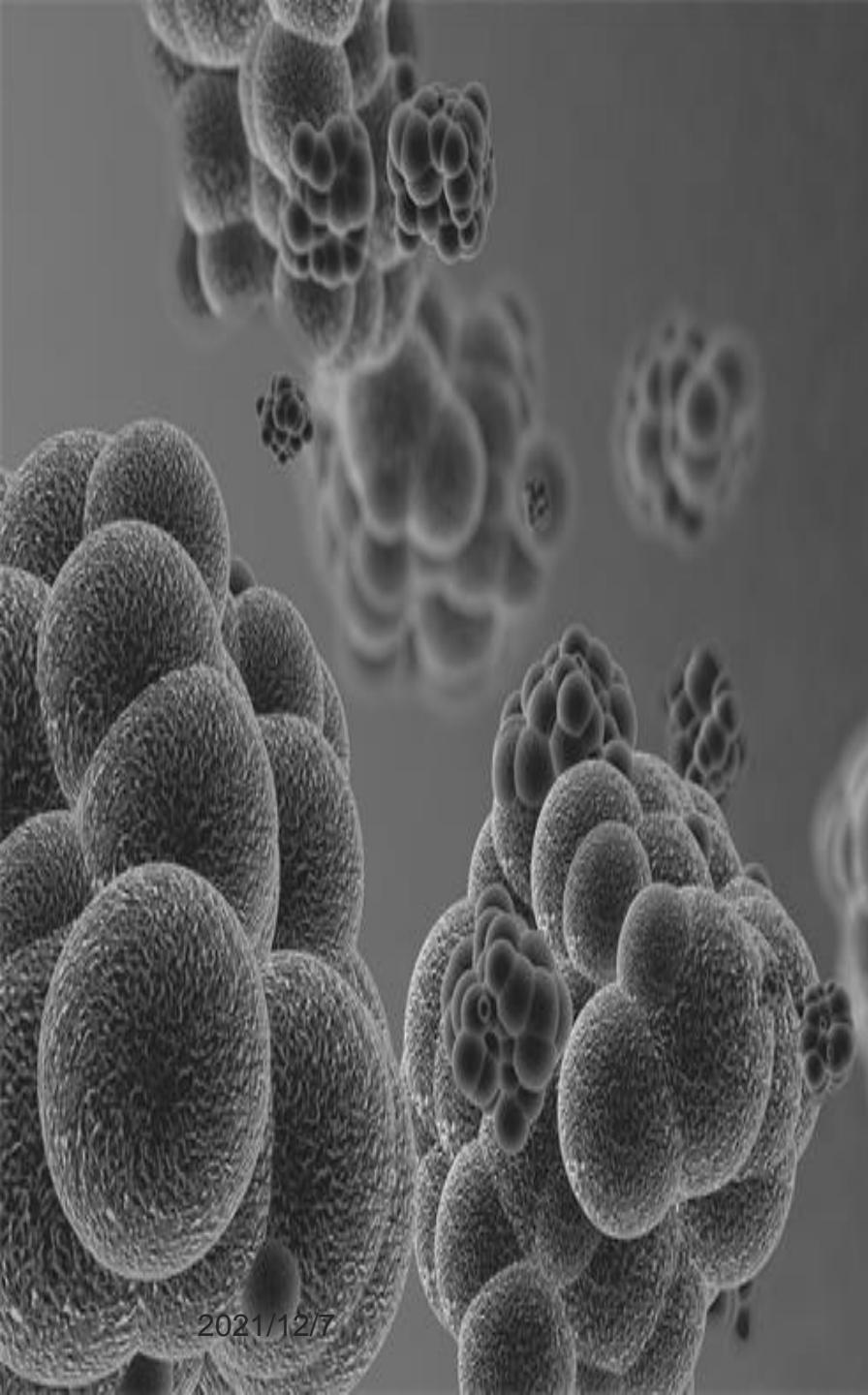
- ▶ 植入前细胞显示出一定的**异质性**，与体内细胞**后续移植结果相近**。



结论四：

移植前体内的转移表型不同已有；

移植前的转移表型可遗传。

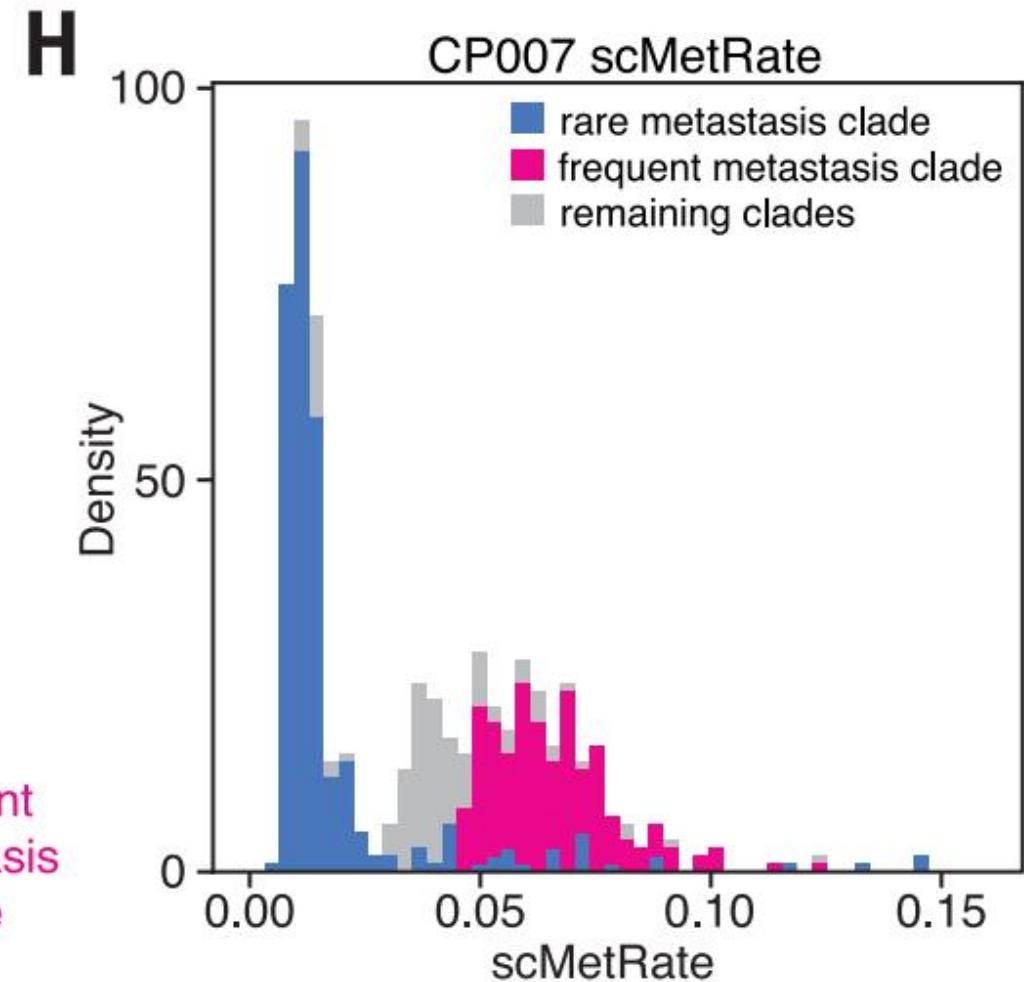
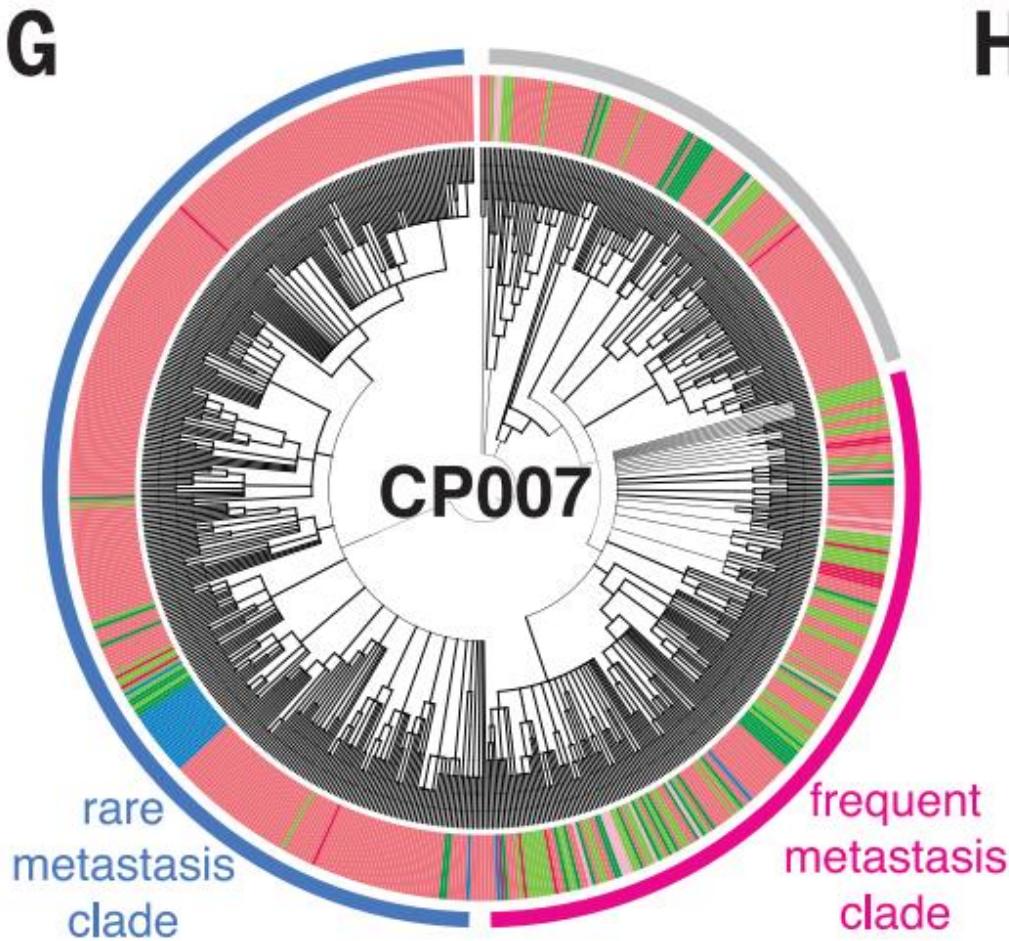


03 实验结果

- 01 转移追踪-小鼠异种模型-迁移过程中存在高异质性
- 02 推断量化转移事件
- 03 转移表型的转录驱动因素
- 04 植入前细胞转移行为的异质性和遗传性
- 05 遗传表型的演变
- 06 转移路径

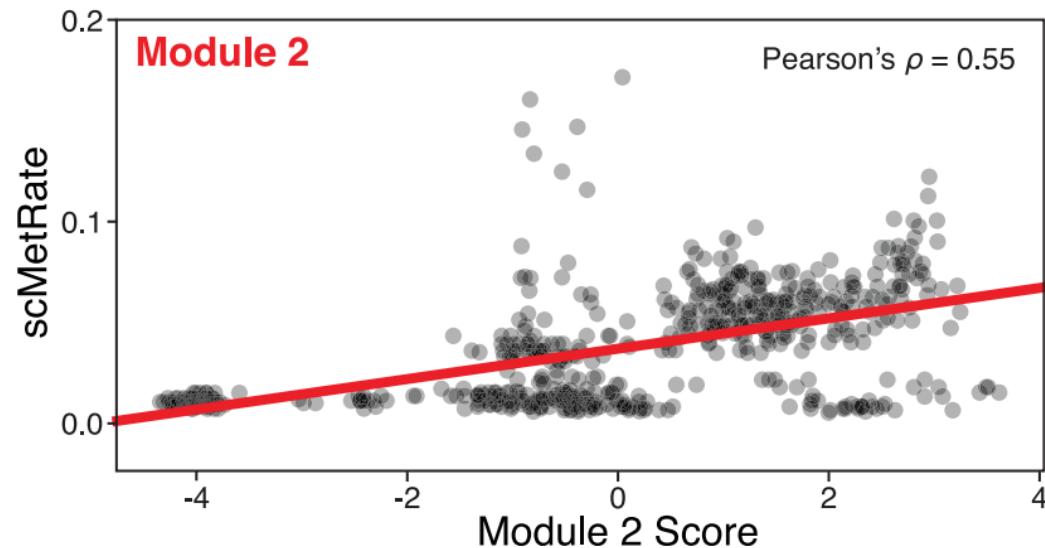
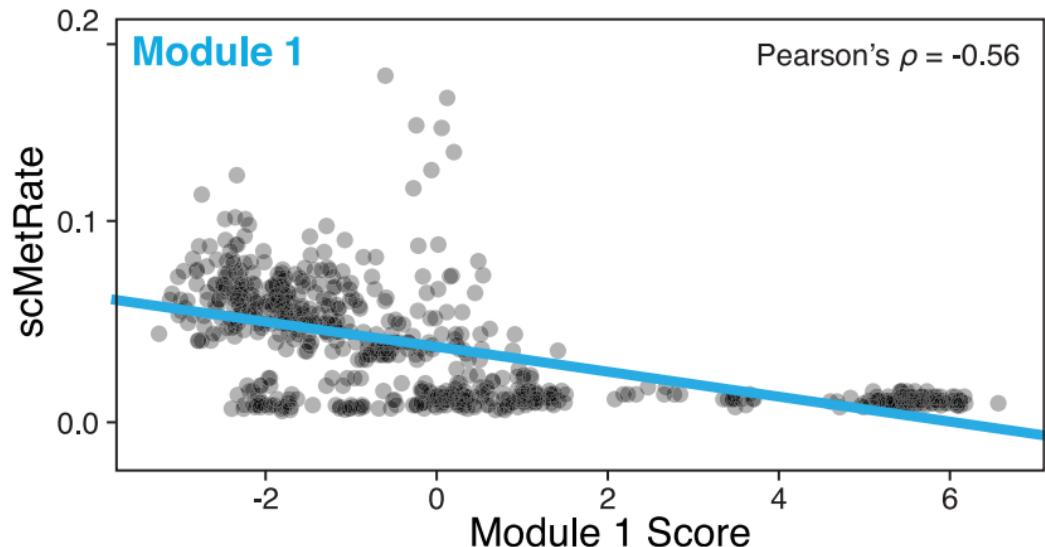
3.5 转移性特例-CP007

▼ 一个细胞克隆有两种不同的移植特点。为什么？

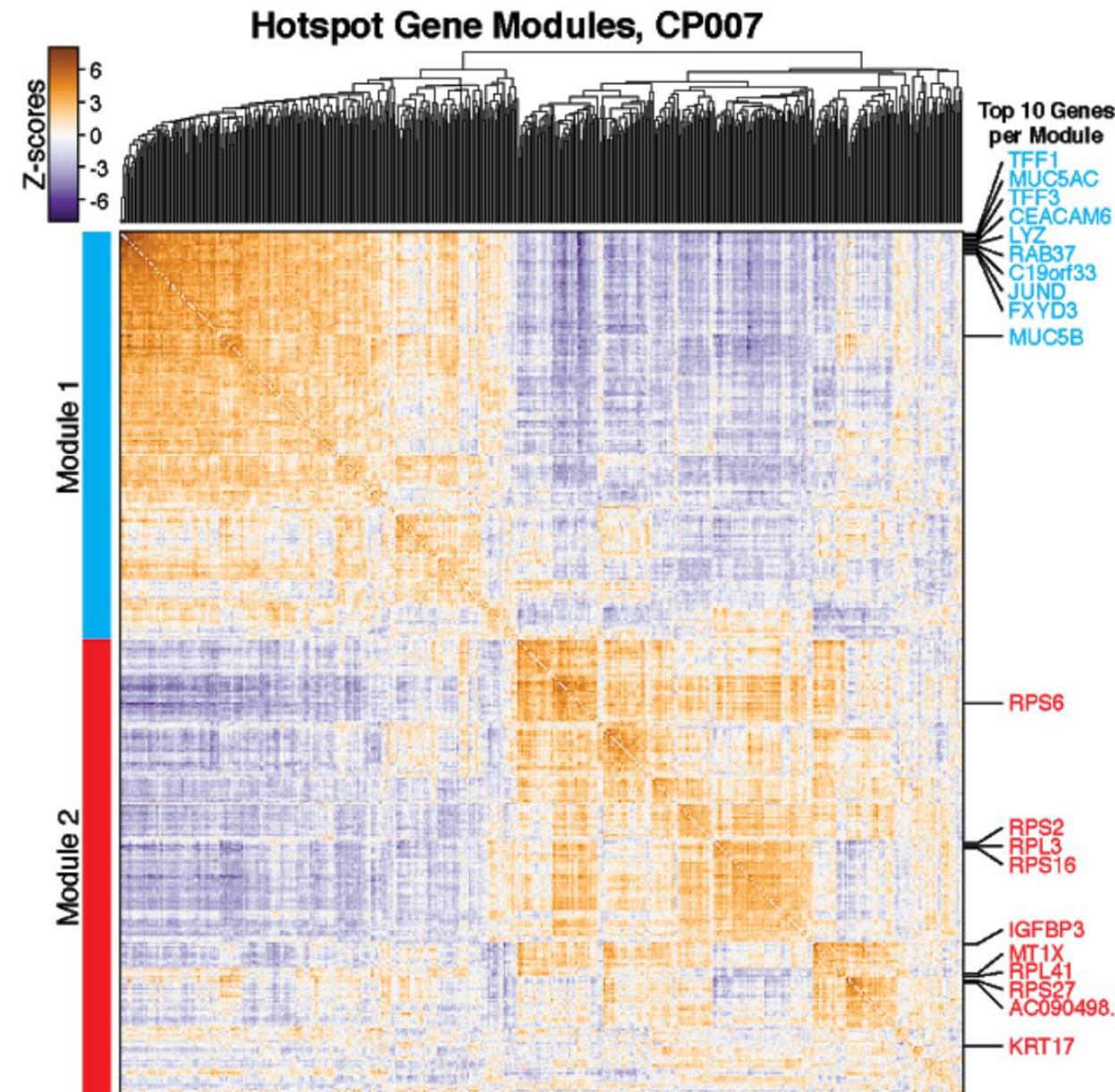


3.5 移植性特例-CP007

▼ 一个细胞克隆有**两种**不同的基因表达模式。

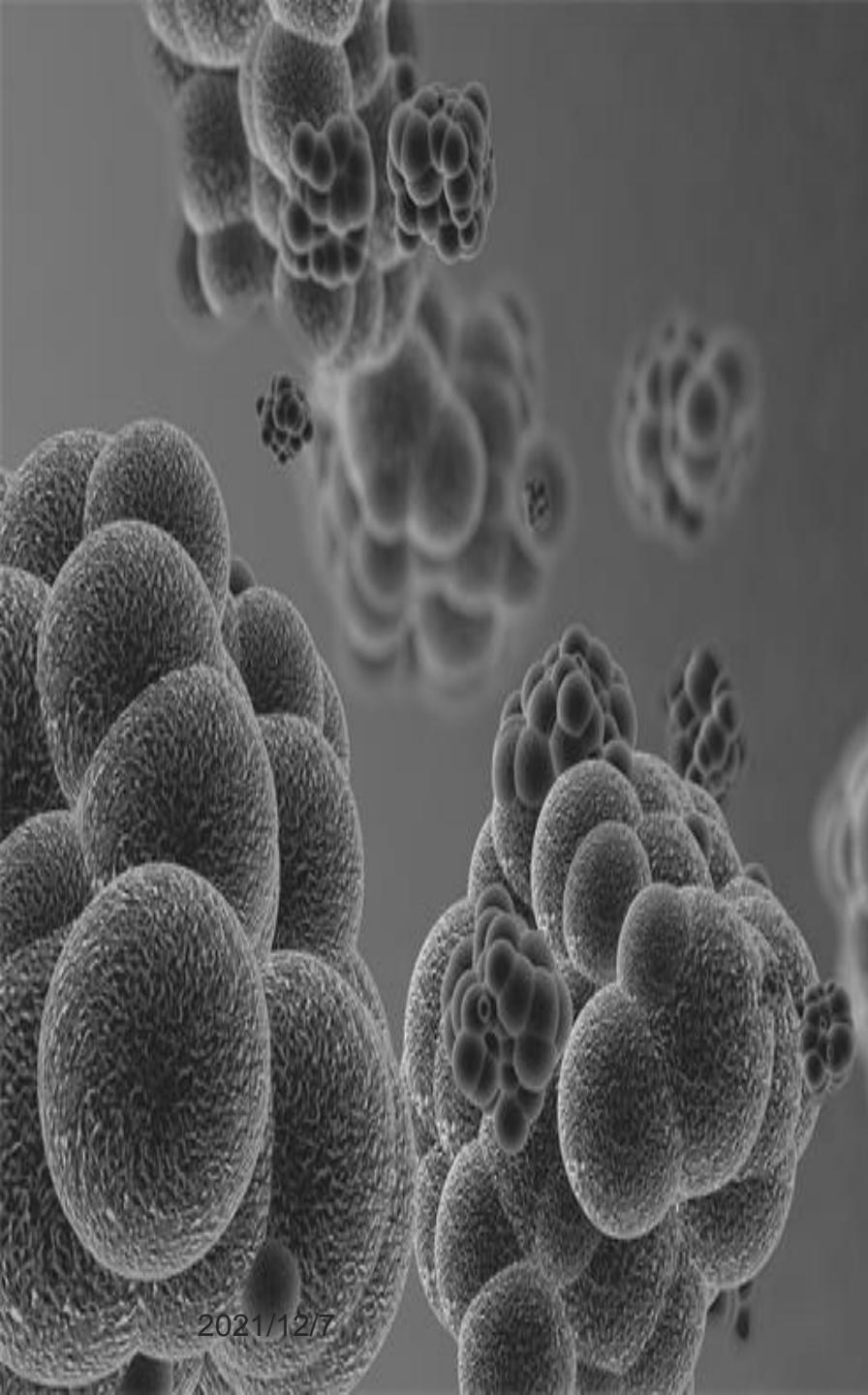


单细胞转移瘤表型和热点转录模块得分比较



结论五：

克隆群体内，转移特性仍然可以进化。

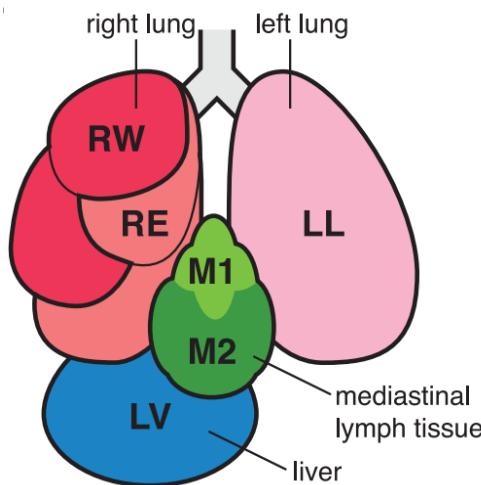
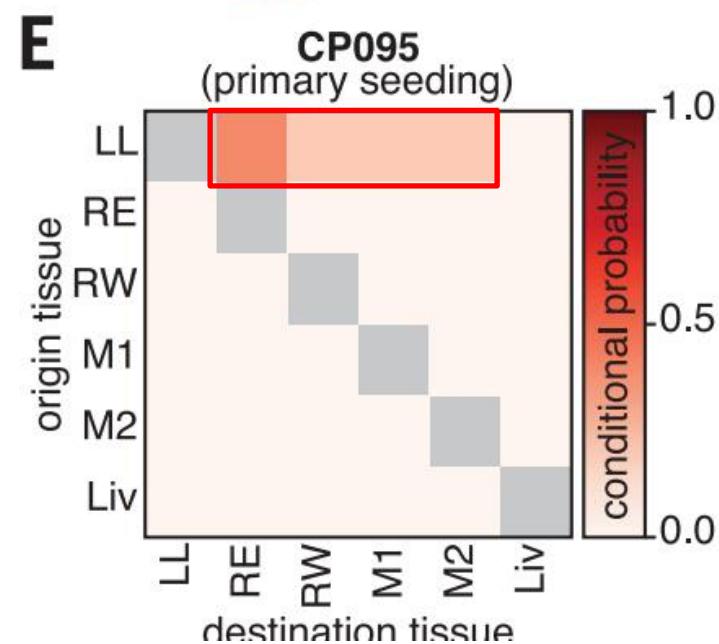
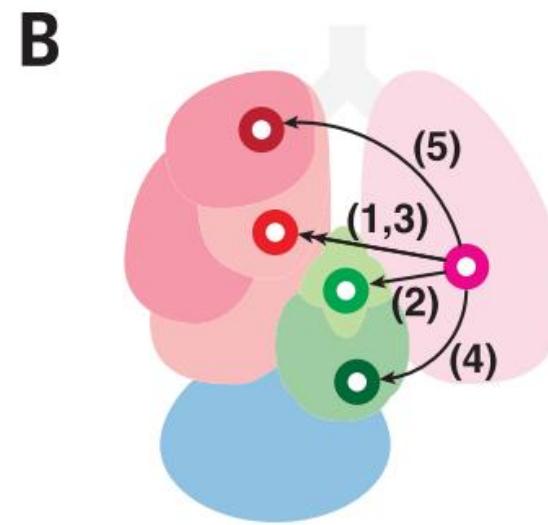
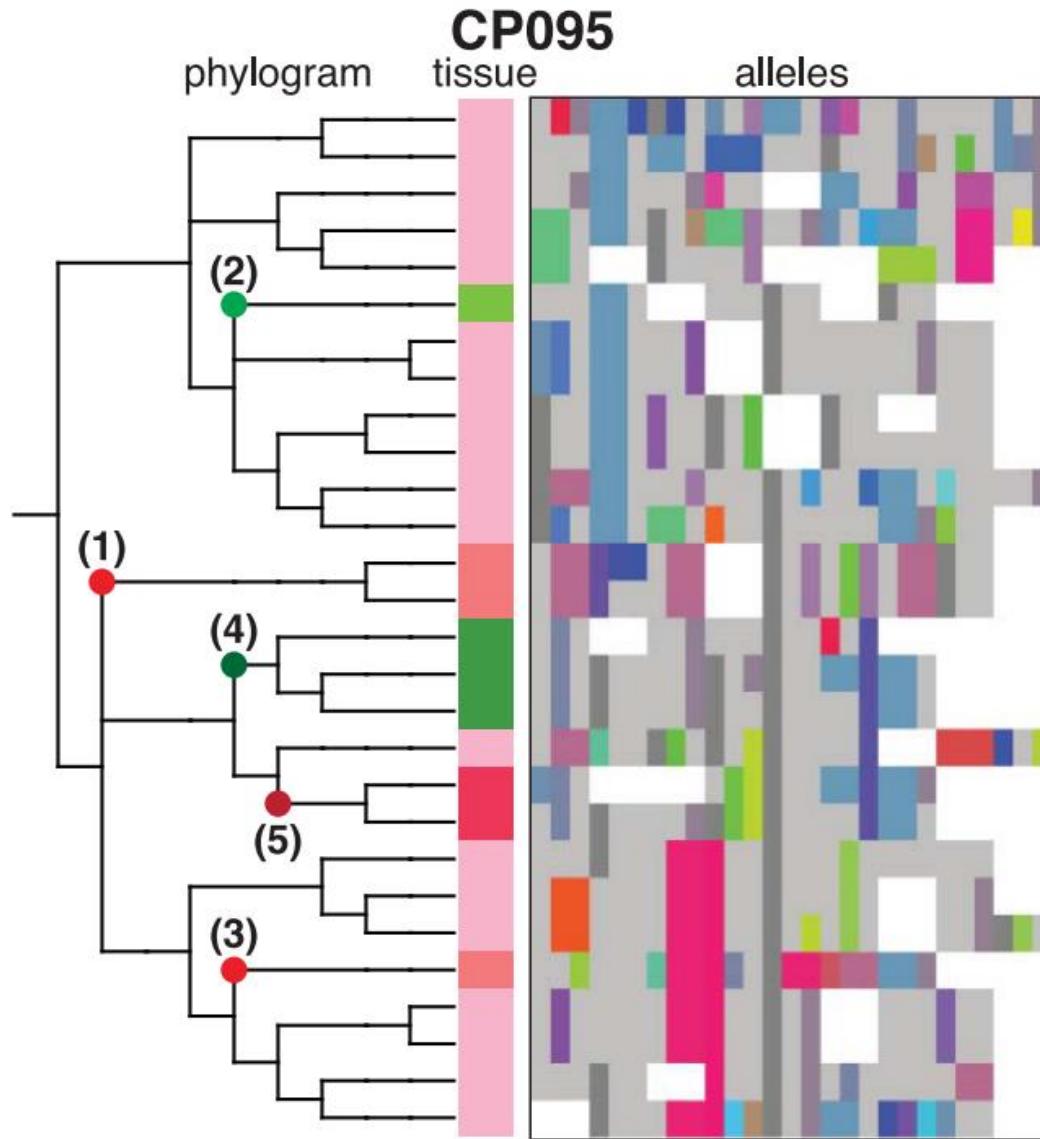


03 实验结果

- 01 转移追踪-小鼠异种模型-迁移过程中存在高异质性
- 02 推断量化转移事件
- 03 转移表型的转录驱动因素
- 04 植入前细胞转移行为的异质性和遗传性
- 05 遗传表型的演变
- 06 转移的组织路径和拓扑结构

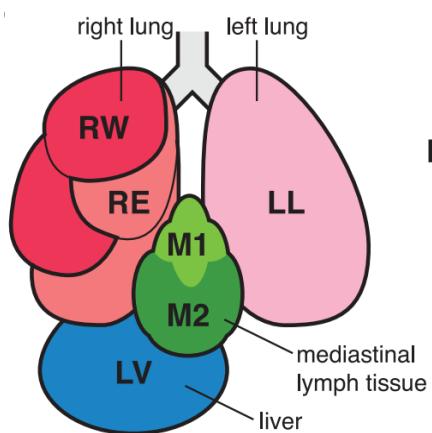
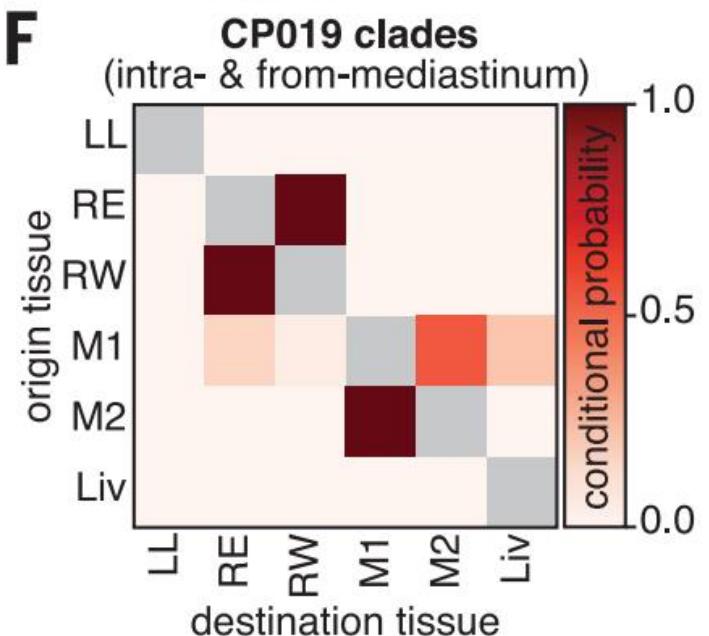
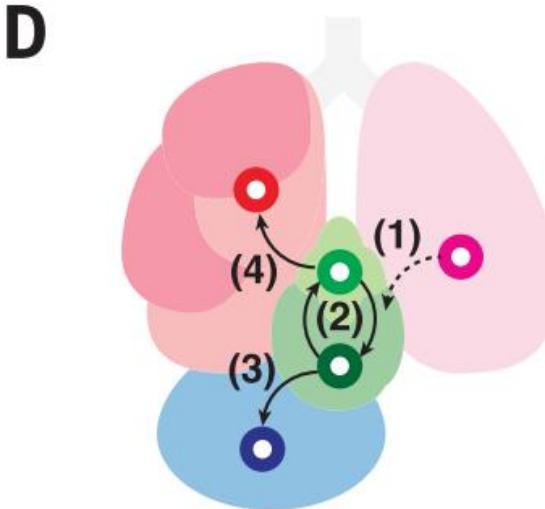
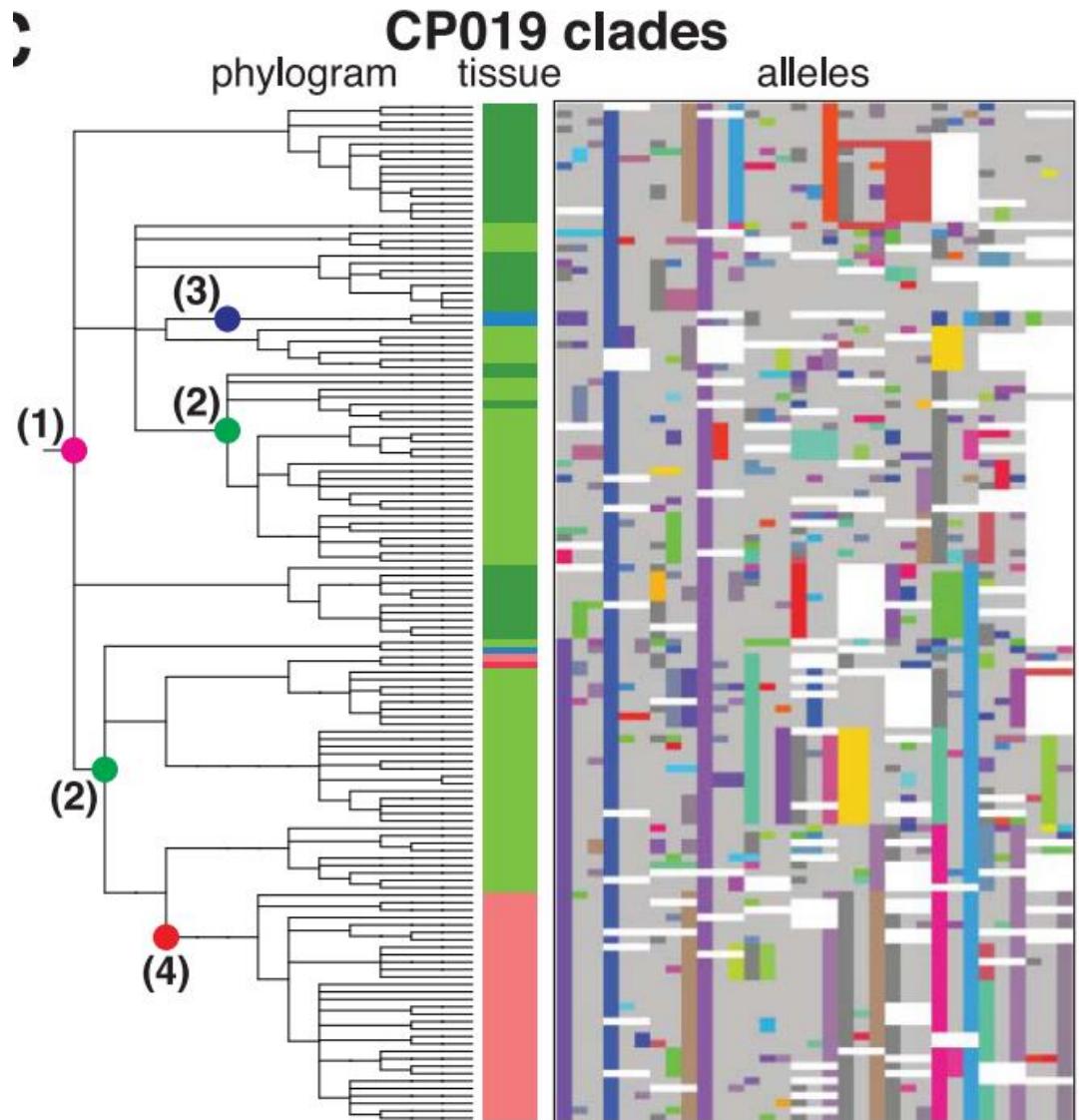
3.6 转移路线-简单版

▼ 简单版，5个转移路线。



3.6 转移路线-复杂版

▼ 复杂版，存在返回源位点。

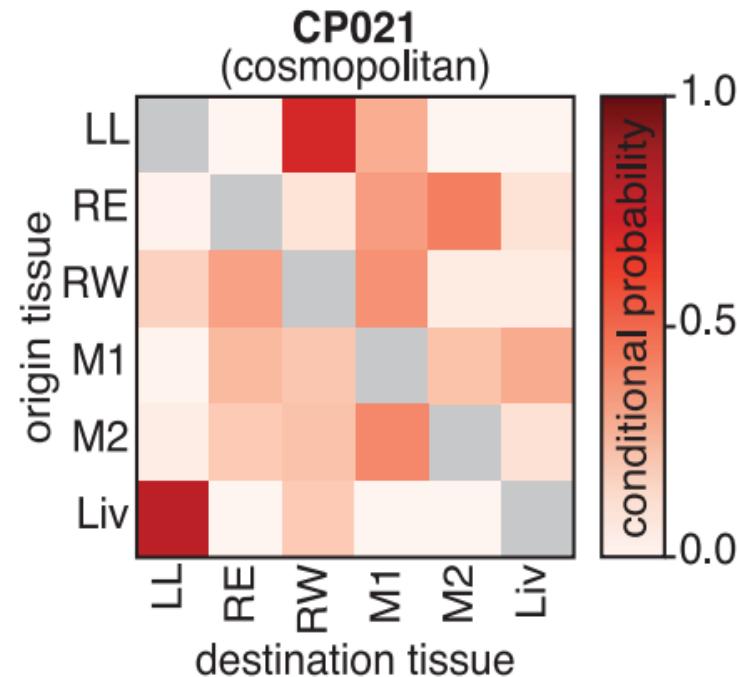
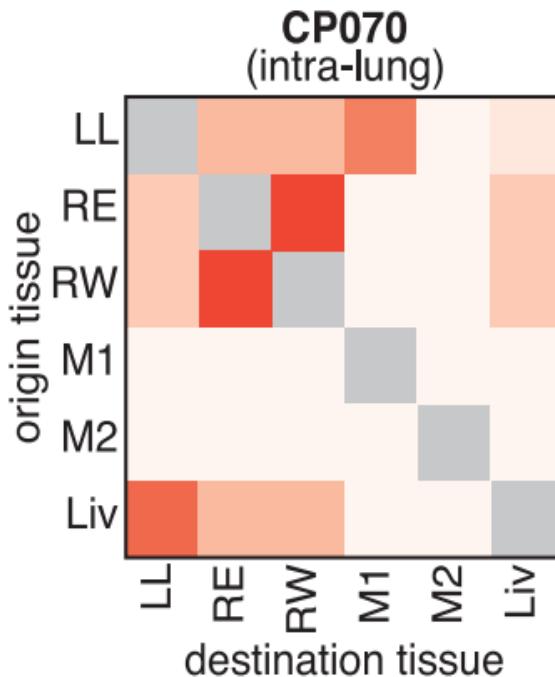
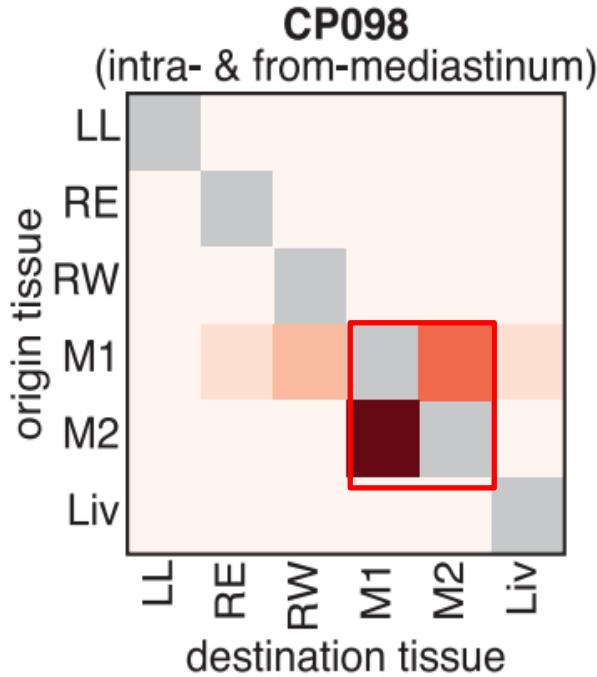


3.6 转移路线-复杂版-多样性

□ 多样性组织途径，包括纵隔转移和纵隔内转移（左），在肺叶之间（中间），或充分进出所有组织（右侧）。

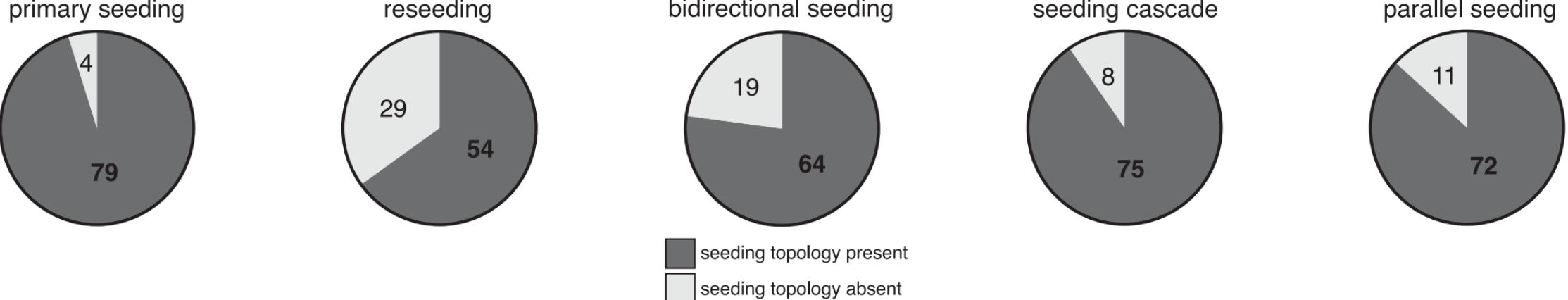
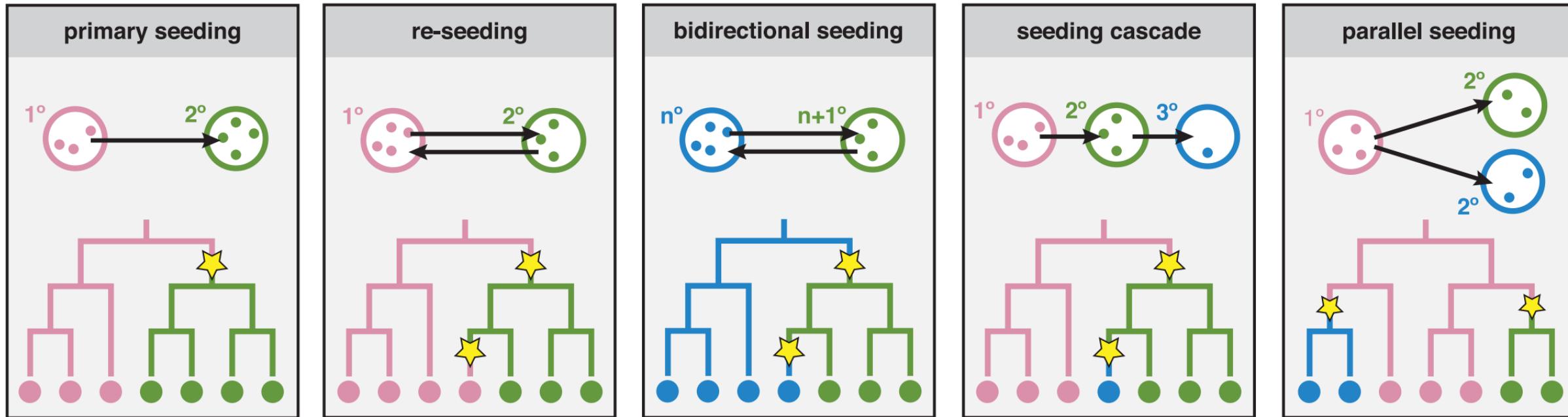
G

tissue transition probability matrices



3.6 转移路线-多模型

▼ 转移模型高度复杂，且疾病特异。



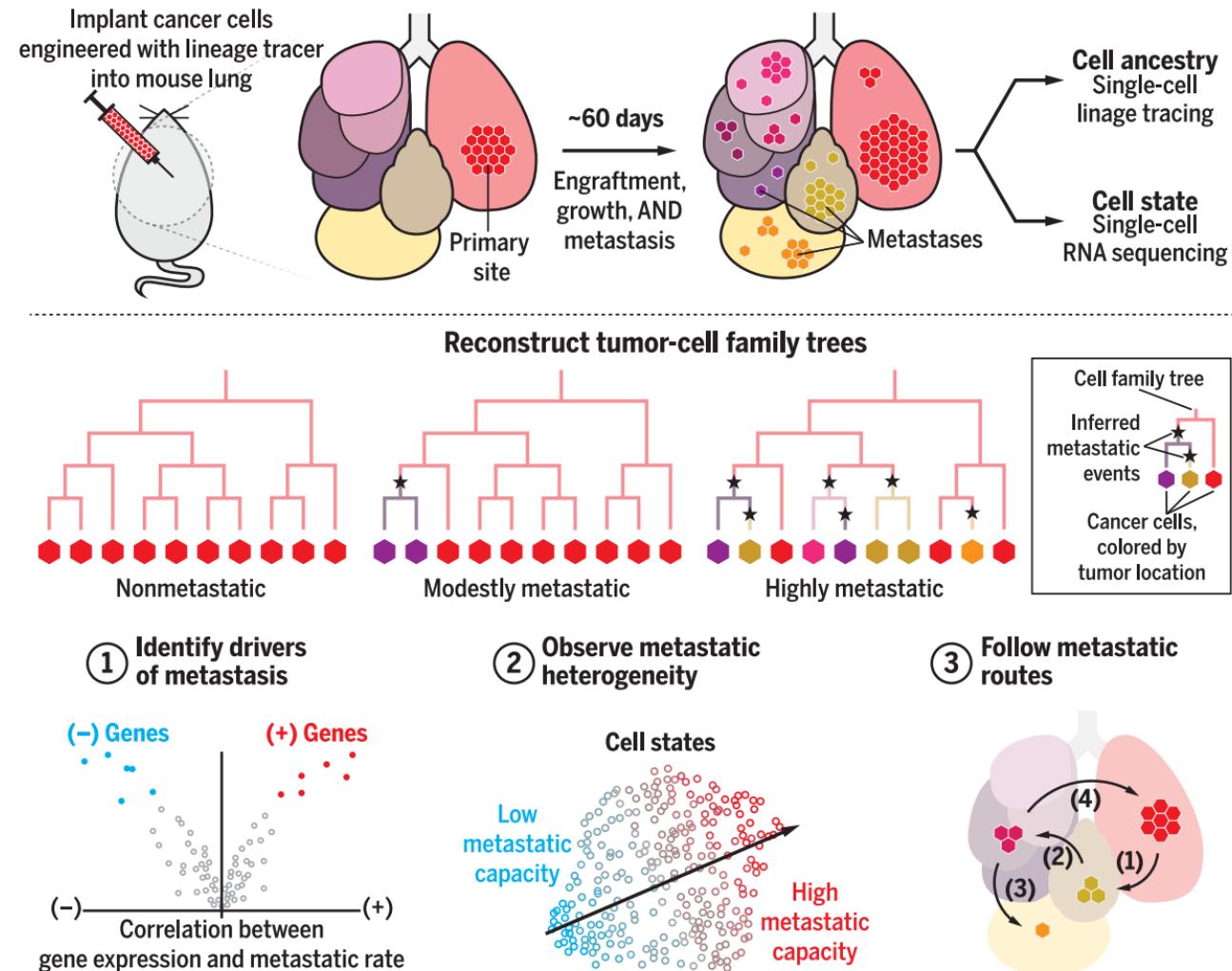
提纲

- 01 文章概要
- 02 研究背景
- 03 实验结果分析
- 04 总结

4 实验结论

要点：

- 技术：基于Cas9的单细胞谱系示踪；
- 转移能力异质性原因：基因表达中已有的和遗传的差异；
- 转移能力差异原因：基因驱动侵袭性，KRT17基因的抑制作用；
- 转移路径：多向且复杂；
- 应用：亚克隆分辨率和大规模追踪癌症进展。





Jonathan S. Weissman, PhD

Investigator / 2000—Present

Dr. Weissman is a professor of biology at Massachusetts Institute of Technology and is the Landon T. Clay Professor of Biology and a member at the Whitehead Institute for Biomedical Research.

INSTITUTION
Whitehead Institute for Biomedical Research

SCIENTIFIC DISCIPLINE
Systems Biology, Cell Biology

“我们希望能够在细胞层面上做同样的事。我们希望能够构建一个驱动肿瘤演化的方程式，任何时候，只要我们能够输入检测到的参数，就能够预测它们未来会发生什么。”

Thanks.

