



血细胞活库支撑血细胞图谱计划和生态研究

马士卉^{1,2†}, 谢小韦^{1,2†}, 马艺戈^{1,2}, 韩星星^{1,2}, 郝莎^{1,2*}, 程涛^{1,2*}

1. 中国医学科学院血液病医院(中国医学科学院血液学研究所), 血液与健康全国重点实验室, 国家血液系统疾病临床医学研究中心, 细胞生态海河实验室, 天津 300020;

2. 天津医学健康研究院, 天津 301600

† 同等贡献

* 联系人, E-mail: haosha@ihcams.ac.cn; chengtao@ihcams.ac.cn

收稿日期: 2023-11-19; 接受日期: 2024-01-30; 网络版发表日期: 2024-06-04

国家重点研发计划(批准号: 2021YFA1100900); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程(批准号: 2021-I2M-1-040, 2021-I2M-1-053)和天津市科技计划项目科技重大专项与工程(批准号: 23ZXRKSY00010)资助

摘要 生物样本活库相较于传统生物样本库, 对“血液生态”具有更高的研究利用价值. 通过对血细胞活库的规范化建设, 我们构建了“数据+样本+X”的一体化管理模式, 为血细胞图谱计划提供坚实的资源支撑. 率先建立单细胞水平全套造血细胞分子指纹图谱, 并成功创建了精细完整的血细胞单细胞数据共享平台. 这些进展不仅为血液生理及相关疾病的研究提供了宝贵的研究资源和公共分析工具, 而且为疾病的精准诊断和治疗提供新策略.

关键词 生物样本活库, 血细胞, 血细胞图谱, 血液生态

生物样本库被誉为改变世界的十大理念之一, 生物样本库是标准化收集、处理、储存和应用人类离体器官、组织、血液、体液、细胞、分泌物、排泄物及其生物大分子衍生物等各种生物样本, 以及与生物样本相关的临床、治疗、随访等信息的机构^[1]. 纵观全球建立的生物样本库大体可分为三类: 基于人群的生物样本库、组织生物样本库和面向疾病的生物样本库^[2]. 基于人群的生物样本库具有系统性、完整性、前瞻性的大型队列和临床数据, 保存供者的样本、流行病学信息及临床数据, 旨在反映一般人群状况. 面向疾病的生物样本库是以收集疾病类型样本为主要目的, 具备针对性、精准性的疾病样本队列和临床数据. 组织生物样本库旨在保藏和比较未受影响的组织和肿

瘤组织, 以研究特定样本的生物学特性^[3-5].

1 生物样本活库概述

传统生物样本库以保存无活性和生长能力的体液、组织为主, 生物样本活库通过深低温生物学技术冻存具有复苏能力和生物活性的细胞或组织等, 与传统组织生物样本库相比, 生物样本活库不仅可用于基础科学研究, 且可通过实验肿瘤生物模型的建立、药物的高通量筛选与毒理测试、组织器官再生等技术, 一定程度打破基础研究向临床转化壁垒, 密切反映原始肿瘤的分子特征和异质性, 对药物研发与临床疾病的治疗与转化应用意义非凡, 如各类细胞库、类器官

引用格式: 马士卉, 谢小韦, 马艺戈, 等. 血细胞活库支撑血细胞图谱计划和生态研究. 中国科学: 生命科学, 2024, 54: 1061–1070
Ma S H, Xie X W, Ma Y G, et al. The living blood cells biobank supports atlas of blood cells project and blood ecosystem research (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2024, 54: 1061–1070, doi: [10.1360/SSV-2023-0180](https://doi.org/10.1360/SSV-2023-0180)

库等^[6]。2022年9月29日美国国会通过“FDA(Food and Drug Administration, 美国食品药品监督管理局)现代化法案2.0”, 表示新药研制不再需要动物试验, 也可进入临床阶段, 这意味着细胞实验、器官芯片、计算机模型等非临床测试都将成为动物试验外的更多选择。随着生物技术的日新月异, 细胞与基因治疗等“活的药物”引发了生物学领域的颠覆性革命, 这些新疗法的治疗机制和毒性等往往是人类特有的, 传统依赖动物的安全性、毒理学和代谢研究的预测价值有限^[7]。基于动物模型无法完全模拟人体复杂生态系统的局限性, 这项法案的出台不仅在一定程度保障了动物福利, 并且为生物样本活库的共享应用提供了新的出口, 与此同时更是对活库的规范化、标准化建设提出了更高的质量要求。

2 血液样本资源库建设

血液对于机体健康极其重要, 其能通过循环系统联系各个组织器官, 是人体健康信息的“存储卡”和疾病的“显示器”。血液研究不仅能够解析血液系统疾病(简称血液病)的发病机制, 探索诊治新策略, 而且还可以揭示多种重大疾病发生、发展规律, 开发创新诊治手段。血液病还是医药健康领域新药物、新技术、新产品研发最活跃的“试验田”。

血液样本作为保藏资源, 具有人体其他系统无法比拟的特点和优势^[8]。血液系统具有流动性和窗口镜像效应, 可直接间接反应机体的生理与病理状况; 血液易取材、创伤小, 可在细胞与分子水平进行检测分析; 此外, 血液可衍生为生物制品, 具有较大的社会和经济效益, 同时血液系统更是再生医学、细胞治疗、智能医疗以及单细胞生物学及其医学应用等交叉学科的重要突破口。因此, 血液样本尤其是血液系统活细胞的合理化、规范化、标准化保藏对开展原创科学研究、提升疾病诊疗水平、加强国家战略资源储备都具有重大意义。

目前, 全球部分地区建立了针对血液系统疾病的血细胞活库。德国慕尼黑白血病实验室(Munich Leukemia Laboratory, MLL)建立以白血病为主的生物样本库和大型患者队列, 登记和收集包括急性髓系白血病、急性淋巴细胞白血病、慢性髓系白血病、骨髓增生异常综合征等疾病患者的样本和信息。在过去的13

年间, 收集提取来自50万患者人群的约120万份核酸样本, 随着新分子标记物的出现, 对在库样本进行回溯性分子遗传学检测, 并利用大型疾病队列进行验证, 为白血病的精准诊断及预后评价提供支撑。此外, MLL样本库也尽可能地储存患者的活细胞样本, 但因主要来源于检测剩余标本, 故仅在小部分患者中实现了血细胞的冻存^[9]。丹麦国家生物样本库具有完备的人口登记制度, 登记注册涵盖丹麦所有公民的全部医疗信息, 其下设多发性骨髓瘤登记处, 集中特色收集保存初诊及复发的多发性骨髓瘤患者的血液样本(血清、血浆、DNA、骨髓浆)、血细胞(骨髓单个核细胞、免疫磁珠分离的CD138阳性细胞和CD138阴性细胞)和临床数据库^[10]。荷兰拉德堡德大学医学研究中心建立了AGORA(Aetiologic research into Genetic and Occupational/Environmental Risk Factors for Anomalies in Children)样本库和大数据库, 收集包括急性淋巴细胞白血病、霍奇金淋巴瘤和非霍奇金淋巴瘤等血液系统疾病和/或患有出生缺陷的儿童及其父母相关样本, 共计6860个家庭的血液、唾液及相关病理诊断信息, 为研究儿童疾病的遗传和非遗传风险因素提供指导意义^[11]。

国内目前仅有少数样本库开展针对血液样本活细胞的制备存储及质量研究工作^[12]。中国医学科学院血液病医院(中国医学科学院血液学研究所)(简称所院)是我国唯一一家三级甲等血液病专科医院, 开创了新中国血液学事业, 血液亚专科最齐全, 开设红细胞疾病诊疗中心、白血病诊疗中心、血栓止血诊疗中心、干细胞移植中心、淋巴瘤诊疗中心、MDS(myelodysplastic syndromes, 骨髓增生异常综合征)和MPN(myeloproliferative neoplasms, 骨髓增殖性肿瘤)诊疗中心、儿童血液与肿瘤诊疗中心、血液病急救中心、免疫细胞治疗中心、GCP中心、再生医学诊疗中心及重症医学诊疗中心, 年诊疗人次近33万, 以危重、疑难患者为主, 外省市患者占85%, 现已形成以国家血液系统疾病临床医学研究中心、血液与健康全国重点实验室为代表的六大国家级平台, 是我国目前最大的集医教研产于一体的国家级科研型血液病专业医疗机构(图1)。依托平台优势, 所院于2009年以天津市科技项目为支撑正式启动血液样本资源库建设, 目标建立恶性血液病的活细胞样本库, 高标定位, 精细化分离冻存血液系统疾病来源骨髓单个核活细胞。所有样本采

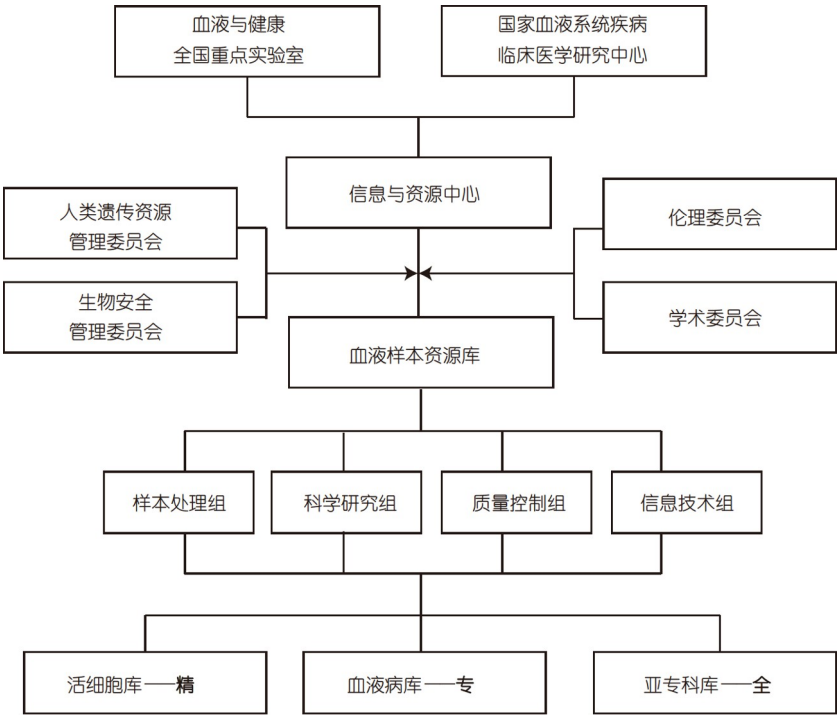


图 1 血细胞活库的组织架构及优势
Figure 1 The organizational structure and advantages of blood biobank

集和使用活动均接受所院伦理委员会的审查，确保保藏及相关研究活动的开展符合伦理规范。

2020年，为更好地统筹管理生物样本、临床数据、组学信息等各种资源，所院将血液样本资源库、信息技术科、生物统计室、生物信息平台 and 图书馆五个部门整合，成立信息与资源中心，所院长兼任中心主任。通过顶层设计，打破数据壁垒，消除信息孤岛，实现生物样本与临床诊疗信息互联互通，形成“干湿”结合的“样本+数据+X”高效运转模式，建立起集生物样本、临床诊疗、数据科学、生物信息等各种信息资源于一体的新一代血液样本与健康大数据资源平台。围绕前瞻性、长效性、全方位和多病种建设目标，开展国家血液病队列(National Longitudinal Cohort of Hematological Diseases, NICHE)建设，已注册包括NICHE-AML(acute myeloid leukemia, 急性髓系白血病)等11个专病队列，覆盖69万例患者诊疗数据，有效支撑基础、临床、病理、流行病学、生物统计等多学科研究。围绕疾病诊疗全过程，建成以保藏血液系统疾病骨髓活细胞为特色的新一代生物样本活库，目前已有60万份活细胞样本存储，已在行业标准制定、科学研

究开展、多学科协作实现、宝贵资源存储利用等多方面提供了强有力的保障。

十余年间，血液样本资源库收集以血液系统疾病来源为主的各类标本，重点分离单个核活细胞进行深低温液氮冻存，同时全面开展包含血清、血浆、DNA、RNA、尿液、脑脊液等各类血液相关组分的全方位标准化存储。血液病类型众多，具有高度异质性、健康危害广、诊疗负担重、随访要求高等特点，血液样本资源库实现了所院全部临床诊疗中心的全覆盖样本收集，疾病种类涵盖白血病、贫血、淋巴瘤、骨髓增生异常综合征、出血性血液病等各类血液病，同时包含健康供者及基因易感人群与家系管理。围绕初诊、缓解、复发等疾病转归全过程，建立配合诊疗计划的规范化样本采集处理方案，连续收集疾病发展不同阶段、治疗前后及不同药物应答水平的病理活细胞存储入库，对于动态捕捉疾病演变过程极具研究价值，并针对重大疾病、重点人群建立专库管理，对于接受干细胞移植患者及伴有克隆性造血演化进展的非恶性血液病群体进行健康全貌与疾病全程的全生命周期管理。此外，所院作为国家级核事故医学应急救援治基

地、国家级战略资源中心, 脐带血库总储存量达到40余万份脐带血造血干细胞, 亦成为目前世界上规模最大的干细胞库之一。

生物样本库不仅涉及实体库建设, 还包含数据平台的搭建, 即“湿库”与“干库”^[13]。通过合作研发针对血液专病活细胞样本保藏的一体化信息管理系统, 确保样本采集、接收、处理、储存、质控、检索、分发、转运、销毁全流程可追溯。样本库管理系统支持个性化归纳整理样本实体信息和与之对应的临床诊疗、病理检测、科研数据、长期随访以及知情同意、质量控制等资料信息, 且可清晰直观展示资源库实时存储情况, 同时具有面向临床、科研及转化医学的开放平台功能, 使样本查询及出入库管理等流程合理便捷, 且从项目管理及科室管理等多维度提供样本权限。“干库”“湿库”之间信息交互贯通, 为进一步加快完善血液样本资源库平台建设提供标准、专业、特色、开放、共享、合作的服务基础。

3 血细胞活库的应用

血液样本资源库执行严格的标准操作规程(standard operation procedure, SOP)及质控流程, 秉承“科研与临床研究双赢、基础与应用开发并进、短期与长远目标共存”的理念, 每一份经过规范保存的拥有完整病例信息的活细胞样本, 均可被视作一个小型的遗传资源信息平台, 为临床基础科研及细胞治疗与转化提供了强有力的资源保障, 已支撑多项国家级省部级研究项目, 成果发表于*The New England Journal of Medicine*, *Nature Genetics*, *Cell Stem Cell*, *Nature Cell Biology*等高水平学术期刊。同时以样本为纽带拓展资源共享合作渠道, 优势互补深化合作, 促进样本转化与应用。

3.1 血液生态研究与血细胞图谱计划

生态系统囊括特定环境或者空间中所有的组成部分及其相互作用, 其概念被广泛应用于肿瘤等健康科学领域^[14]。细胞生态是关乎机体健康与疾病的重要基础。血液系统无时无刻不在与组织器官之间发生交互作用, 相互影响。血细胞参与各类生理和病理过程, 并可作为理想窗口对多种重大疾病进行预警、预防和干预。因此血液生态研究不仅可以解决血液系统疾病的

临床需求, 而且对深入认识和诊治其他疾病同样具有重要意义和价值。血液生态研究是血液学向健康领域的延伸和拓展。2016年10月, 由全球科学家组成的国际合作联盟正式发布人类细胞图谱计划。2017年9月, 所院程涛教授等在国内率先牵头启动了血细胞图谱(Atlas of Blood Cell, ABC)研究计划, 旨在以血液系统为突破口, 建立系统全面的血细胞参考目录, 为血液系统及相关疾病的致病机制和精准诊疗奠定基础。

3.2 单细胞技术推动研究进展

群体细胞研究无法在单细胞水平精准揭示稳态下的调控机制, 更无法在单克隆水平认识肿瘤的发病机制从而实施精准诊疗。以单细胞转录组测序为代表的单组学测序技术使得高通量精确测定单细胞的信息成为可能^[15]。随后, 转录组联合表面蛋白组测序(cellular indexing of transcriptomes and epitopes by sequencing, CITE-seq)实现在单个细胞中同时检测转录组和表面蛋白的水平^[16], 有助于锁定直接的分子靶点进而推动药物的研发。单细胞转录组联合免疫组(B cell receptor sequencing/T cell receptor sequencing, BCR-seq/TCR-seq)助力监测免疫应答, 并探究其与疾病发生、发展之间的关系。2021年, DOGMA-seq实现了四个组学的共测定, 可同时检测单细胞中的转录组、表面蛋白质组、染色质可及性和线粒体DNA基因型^[17]。2022年, 基于空间转录组技术Stereo-seq, 人类首次以500 nm的空间分辨率实现了生命全景时空图谱的绘制, 有望从高精度的结构角度去探索正常和疾病状态下细胞和分子的分布以及相互作用情况^[18]。同年, Live-seq首次实现对单个活细胞的转录组进行动态测量, 可有效偶联细胞现有状态和其后续表型^[19]。近些年, 单细胞技术蓬勃发展, 从单细胞单组学扩展到多组学, 从二维平面延伸到三维空间, 从死细胞进阶到活细胞, 极大地推动了细胞群体异质性问题的解决, 进而拓宽对生命复杂性和人类疾病的全面认知。

血液系统具有高度的异质性和复杂性, 单细胞技术的出现为解析造血系统的分化调控和功能性改变提供了契机^[20], 血细胞活库为研究的开展提供了原始材料。首先, 在“金字塔”样造血分化层级的基础之上, Dick团队^[21]提出, 在胎肝时期具有多个谱系分化潜能的造血祖细胞到了成人时期则偏向单一谱系分化。Velten等人^[22]也提出成人造血分化是由一群未分化的

低分化的造血干祖细胞(continuum of low-primed undifferentiated hematopoietic stem and progenitor cells, CLOUD-HSPC)不经过寡能祖细胞阶段直接分化成单一潜能祖细胞. 2022年底, 程涛团队^[23]发现, 谱系定向祖细胞的异质性随年龄增长逐渐减弱, 提示发育后期寡能/单能祖细胞定向谱系分化潜能增强. 此外, 通过解析造血细胞群体的异质性, 淋系-髓系祖细胞群体淋系多潜能祖细胞(lymphoid-primed multi-potential progenitors, LMPP)^[24]、GATA1介导的不同髓系分化路径^[25]以及中性粒细胞的早期单潜能祖细胞^[26]被精准鉴定, 极大地丰富了经典造血分化层级的模式和内涵.

与此同时, 单细胞转录组助力揭示急性髓系白血病的生态系统, 提出不同的造血细胞亚型关联不同的疾病进展和免疫调节^[27]. 基于单细胞转录组构建的机器学习框架绘制出弥漫性大B细胞淋巴瘤的肿瘤细胞状态和生态系统图谱^[28]. 除血液系统疾病外, 单细胞分析还鉴定出三阴性乳腺癌中PD-L1阻断反应相关的关键免疫亚群^[29], 成功描绘肝癌微环境的免疫组分、状态以及肿瘤浸润免疫细胞跨组织的动态过程^[30]. 综上所述, 利用活细胞样本, 在单细胞技术的助推之下, 随着造血细胞群体异质性被揭示, 不断打破对造血系统分化模式、造血细胞功能的传统认知, 有望重塑机体稳态及疾病状态下的造血分化调控, 将为深刻认知疾病的发生分子机制提供全新的视角.

3.3 血细胞活库助力成果产出

2017年, 血细胞图谱计划启动之后, 所院快速搭建单细胞组学实验技术和大数据分析平台, 并将单细胞转录组测序技术应用到血液研究领域, 利用血液样本资源库积累的活细胞资源优势, 系统开展了以不同血细胞类型为主要研究对象、涉及人生命全程、涵盖稳态以及疾病乃至新冠肺炎的血细胞分子图谱研究. 首先, 所院研究团队基于功能学、免疫表型和转录组特征三个维度系统全面地构建了稳态造血小鼠(21个细胞群体)和人(32个细胞群体)血细胞分子图谱, 并搭建了具有检索基因表达和预测血细胞类型等功能的在线数据库网站进行开放共享, 可为后续的血液生理学和病理学研究提供重要的血细胞注释依据^[31,32]. 针对具有高度异质性的血细胞群体, 所院研究人员及相关团队从单细胞尺度系统描绘了中性粒细胞在稳态和炎症状态下成熟、分化和命运决定过程中的异质性群体组

成以及转录组动态变化^[33], 完整绘制了人多能干细胞(human pluripotent stem cell, hPSC)早期造血分化的单细胞转录组图谱, 并借此揭示了体外再生功能性T细胞的新策略^[34]; 提出了人调节性T细胞(Treg)的分叉式分化路径, 并勾勒出健康人和造血干细胞移植患者外周血和骨髓中Treg细胞的分子图谱, 拓展了对人Treg细胞异质性和功能分化路径的认识^[35]; 在单细胞尺度解析了人巨核细胞的异质性及发育规律, 揭示了巨核细胞在不同造血位点的特征差异, 并鉴定出具有免疫调控功能的巨核细胞, 为巨核细胞的功能多样性提供了更直接的证据^[36,37]; 鉴定和验证了免疫红细胞亚群的存在, 为体外批量产生功能性红细胞奠定了理论基础, 开拓了有核红细胞的新功能研究领域^[38].

此外, 围绕人生命全程, 所院研究团队率先阐明了人胚胎骨髓中第一波造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)的定植时间点、分子特征及其与微环境细胞的相互作用, 揭示了HSC在人胚胎骨髓中定植的机制, 并为HSC的发育研究提供了宝贵的资源^[39]. 紧接着, 该团队描绘了人出生后正常发育和衰老过程中骨髓HSPC动态分子图谱, 揭示人骨髓HSPC的异质性亚群(MPP1和MPP2)、发育时空规律及谱系分化特征; 功能鉴定新生儿骨髓HSC为高潜能造血干细胞克隆, 可为挖掘移植后高重建效能HSC提供重要参考^[23]. 除了转录组层面, 所院研究团队通过深度RNA测序和全基因组DNA测序, 系统构建造血分化层级RNA编辑图谱, 并揭示了抗酶抑制因子1(Azin1)的RNA编辑在HSPC分化过程中的关键调控作用和机制^[40].

基于上述稳态下的血细胞分子图谱参考目录, 所院研究人员及合作团队开展了血液系统疾病的发病机制、恶性转化和治疗相关性研究. 筛选在库各类血液病来源活细胞, 借助单细胞转录组技术, 提出先天性纯红细胞再生障碍性贫血(diamond-blackfan anemia, DBA)发病的新机制, 阐明了糖皮质激素治疗的新机理, 并提示I型干扰素可作为DBA治疗的新药物^[41]. 阐述了再生障碍性贫血患者中的HSPC在细胞组分、分子特征上的变化规律及其受T细胞攻击的分子基础, 并创新性地从可变剪接角度探索了再生障碍性贫血演化为MDS的潜在机制^[42]. 在单细胞水平证明巨核分化偏向的HSC亚群与骨髓增殖性肿瘤(myeloproliferative neoplasms, MPN)临床表型有关, 揭示干扰素不能根治MPN的分子机理, 提出联合抗炎治疗MPN新策略^[43].

绘制儿童B细胞急性淋巴白血病(B-cell acute lymphoblastic leukemia, B-ALL)微小残留白血病(minimal residual disease, MRD)的单细胞图谱,发现低氧信号通路在儿童B-ALL残留细胞样本中异常激活,低氧信号通路关键分子HIF1 α 的小分子抑制剂能够有效协同化疗药物治疗B-ALL^[44];同时解析了成人急性白血病异质性以及克隆演变^[45]。

随着2020年初新冠疫情的暴发,所院研究团队积极投入到抗击新冠肺炎的研究工作中。参考人血细胞图谱,发现新冠患者骨髓HSC分化失衡,髓系转录因子高表达致使髓系方向分化增强,淋系分化受抑^[46];在单细胞层面揭示了新冠患病程度的免疫特征和分子基础^[47];参与组织全国新冠单细胞联盟,从造血调控角度系统阐释新冠患者的血液学变化^[48];对新冠疫情的防控、新冠的药物靶点研究,特别是重症患者的治疗具有重要的意义。针对2022年初在天津暴发的奥密克戎(Omicron),所院研究人员及合作团队再次对不同疾病严重程度、多时间点的Omicron患者进行多组学分析,从分子层面提示Omicron毒力减弱原因,发现血小板通过与各类血细胞形成聚合体来参与免疫调控,阐明免疫力低下可能是复阳的分子机制,为疫情防控提供科学决策依据^[49]。同时,筛选出多条对不同毒株具有广谱且高中和活性的抗体序列,在冷冻电子显微镜的指导下设计出两对超强“抗体鸡尾酒”应对现有及潜在毒株^[50]。期间,作为支撑保障的血液样本资源库全面承担样本处理及信息随访工作。

大量单细胞研究的涌现为领域研究者提供了宝贵数据资源,ABC portal整合了198套血液生理和病理的单细胞数据集,搭建了一个对海量单细胞数据进行交互式探索和再分析的数据库平台,可为血液相关研究提供丰富的数据资源和分析利器^[51]。总之,所院研究人员及合作团队建立了全球最完整的血液单细胞转录组图谱,详细剖析了各类血细胞群体的异质性,阐明了从人类胚胎到衰老整个生命全程HSPC的发育规律,基于此提出创新性血细胞生态理论,为血液学领域发展提供强大数据支撑并奠定重要理论基础。此外,从单细胞水平多维度揭示血液系统疾病的发病新机制,为血液疾病的精准干预和诊疗提供重要靶点。血细胞图谱研究撬动了国家在图谱领域的研究布局和立项,培养和打造了一支具有国际水平和影响的学科队伍,引领了中国血液学科的发展。

3.4 建立人诱导多能干细胞共享技术平台

诱导性多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)技术的出现为整个干细胞生物学领域和临床再生医学提供了新的研究方向,iPSCs不仅可用于构建疾病模型,便于阐明疾病机制,研究疾病发展进程,加速药物研发,以及筛选新的治疗方案;还有望用于细胞移植、器官再生等细胞治疗领域。血液样本资源库传承所院干细胞研究技术基础,建立了集科研创新、合作交流、技术服务为一体的人诱导多能干细胞共享技术平台。平台立足血液样本活细胞资源特色,掌握从骨髓或外周血单个核细胞高效建立iPSCs的技术方法,并在血细胞重编程^[52-54]、iPSCs基因编辑^[55]、血细胞诱导分化^[34,56]等方面获得一系列突破性成果,已经建立八百余株血液病和其他罕见病来源的诱导多能干细胞系,为研究相关疾病病理机制、新药研发以及细胞治疗提供了独特模型(图2)^[57]。

4 展望

本文概述了规范化建设血细胞活库对细胞生态研究的重要价值,系统阐述了近年来血细胞图谱计划的系列进展,不断体现出生物样本活库相较于传统生物样本库,具有更高的研究利用价值,是精准医学和再生医学发展进步的重要战略资源。运用血细胞生态理论,关注血液生态的组成部分及其相互作用,围绕正常、亚健康、疾病和治疗预后四个时期展开血液生态图谱研究,利用我国人口基数大、病例资源丰富等优势,做好细胞资源储备战略布局,绘制稳态下、人生命全程、多组织、不同血细胞类型的血液生态图谱,将建立国际上最全、最精细的注释“金标准”,从造血干祖细胞、骨髓微环境、免疫、表观遗传、代谢、衰老等多维度研究稳态下的血液生态模式,进而建立健康状态评估体系,创立健康及亚健康人群免疫力的参考基线,以期提出预警指标和预防策略。同时,绘制疾病发生超早期至疾病发生、转移、复发、耐药的血液生态图谱,探究疾病发生、发展过程中血管、血液、免疫、代谢、微生态等多维度生态失衡关联研究,阐明其分子机制,提出疾病血液生态干预新策略,有望指导治疗方案实现新突破。依托血细胞活库建立的血液生态大图谱势必带来大数据,面对海量的单细胞测序原始数据,为实现科学监管及开放共享,所院

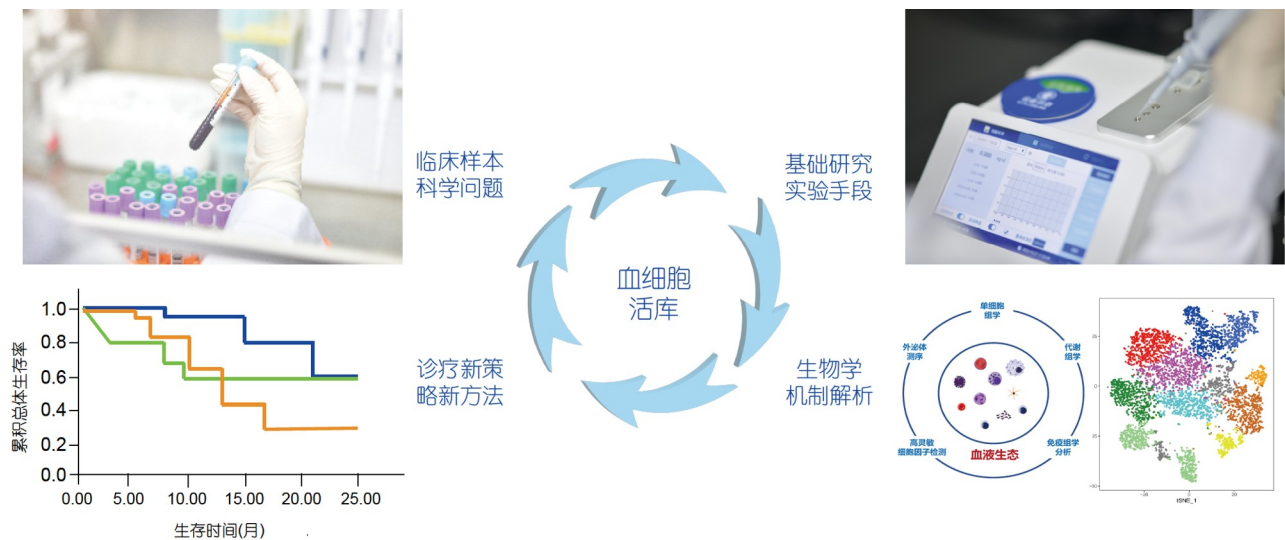


图 2 血细胞活库的应用

Figure 2 Application of blood biobank

遵照国家相关法律法规规定在科学技术部人类遗传资源信息备份平台上对每一套数据进行备案,并将其储存于国家基因组数据科学中心GSA-Human目录下(<https://ngdc.cncb.ac.cn/?lang=zh>).同时,为了防止数据被滥用或者商业使用,用户需要向国家基因组数据科学中心进行申请以获取原始数据。

目前,国内生物样本活库整体发展尚处在起步阶段,但活细胞样本资源的独特之处使其发展前景势不可挡。生物样本活库所储存的细胞样本活性良好,体外培养可再生,且再生出的人源细胞甚至组织器官可用于药物研发、组学分析、病理检测及发育研究等探索。与此同时,其独特的属性也极大地挑战了传统样本库的管理模式,需要从知情同意、个人信息保护、研究或治疗的风险/受益评估、活库资源的利益共享等方面关注^[6]。面对依托血细胞活库衍生的各类数据信息,如单细胞测序产生的海量原始数据,需严格按照相关法律法规进行数据汇交及备份

备案,由国家数据中心统一储存以实现科学监管及开放共享。尽快建立起生物样本活库的伦理管理和使用规范,才能使之更加科学有序地进入标准化发展阶段。

相信随着活库规范化建设进程的逐步深化,新型治疗技术及政策革新对药企的引导,将重点打造细胞活库,发展类器官技术,建立AI智能平台,从而尽可能减少动物使用,降低开发成本。并且利用活细胞或类器官的人源性对传统动物试验在全局性和整体性上提供补充,不仅能为生物样本库的资源共享拓宽应用前景,更将使从捐献的“样本”实现患者受益的“产品”成为可能,形成辅助新药上市、新治疗技术转化应用全链条一站式服务,结合“细胞图谱”计划,必将在基础研究、临床诊疗、干细胞与发育、再生医学、新药研发及细胞治疗等方面具有巨大的应用价值和发展前景,以“大血液、大健康”的理念,惠及广大患者,增进国民健康。

参考文献

- Hewitt R, Watson P. Defining biobank. *Biopreserv Biobank*, 2013, 11: 309–315
- Paskal W, Paskal A M, Dębski T, et al. Aspects of modern biobank activity—comprehensive review. *Pathol Oncol Res*, 2018, 24: 771–785
- Fransson M N, Rial-Sebbag E, Brochhausen M, et al. Toward a common language for biobanking. *Eur J Hum Genet*, 2015, 23: 22–28
- Riegman P H J, Morente M M, Betsou F, et al. Biobanking for better healthcare. *Mol Oncol*, 2008, 2: 213–222
- Asslaber M, Zatloukal K. Biobanks: transnational, European and global networks. *Brief Funct Genomic Proteomic*, 2007, 6: 193–201

- 6 Le J J, Zhou X X, Yao H S, et al. Living biobank: current development and ethical considerations (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2020, 50: 1464–1474 [乐晶晶, 周学迅, 姚海嵩, 等. 生物样本活库发展现状及伦理问题探讨. 中国科学: 生命科学, 2020, 50: 1464–1474]
- 7 Stewart A, Denoyer D, Gao X, et al. The FDA modernisation act 2.0: bringing non-animal technologies to the regulatory table. *Drug Discov Today*, 2023, 28: 103496
- 8 Triana S, Vonficht D, Jopp-Saile L, et al. Single-cell proteo-genomic reference maps of the hematopoietic system enable the purification and massive profiling of precisely defined cell states. *Nat Immunol*, 2021, 22: 1577–1589
- 9 Matek C, Krappe S, Münzenmayer C, et al. Highly accurate differentiation of bone marrow cell morphologies using deep neural networks on a large image data set. *Blood*, 2021, 138: 1917–1927
- 10 Gimsing P, Holmstrøm M, Wirenfelt Klausen T, et al. The danish national multiple myeloma registry. *Clin Epidemiol*, 2016, Volume 8: 583–587
- 11 van Rooij I A L M, van der Zanden L F M, Bongers E M H F, et al. AGORA, a data- and biobank for birth defects and childhood cancer. *Birth Defects Res*, 2016, 106: 675–684
- 12 Wu M L, Wang Z Q, Luo K, et al. The controllability collection and quality management of clinical biobank for blood biospecimen (in Chinese). *Transl Med J*, 2016, 5: 327–332 [吴曼丽, 王柱清, 罗凯, 等. 临床生物样本库血液样本的可控性采集和质量管理. 转化医学杂志, 2016, 5: 327–332]
- 13 Chen S J, Wu M F, Li P J. Construction and development of biobank (in Chinese). *Biol Chem Eng*, 2019, 5: 164–166 [陈思静, 吴茂锋, 李佩娟. 生物样本库的建设与发展. 生物化工, 2019, 5: 164–466]
- 14 López-Otín C, Kroemer G. Hallmarks of health. *Cell*, 2021, 184: 33–63
- 15 Stuart T, Satija R. Integrative single-cell analysis. *Nat Rev Genet*, 2019, 20: 257–272
- 16 Stoeckius M, Hafemeister C, Stephenson W, et al. Simultaneous epitope and transcriptome measurement in single cells. *Nat Methods*, 2017, 14: 865–868
- 17 Mimitou E P, Lareau C A, Chen K Y, et al. Scalable, multimodal profiling of chromatin accessibility, gene expression and protein levels in single cells. *Nat Biotechnol*, 2021, 39: 1246–1258
- 18 Huang J, Shen J, Qiu Y, et al. Abstract 5002: the prognostic relevance and underlying mechanisms of the novel oxygen sensor ADO in cancers. *Cancer Res*, 2022, 82: 5002
- 19 Chen W, Guillaume-Gentil O, Rainer P Y, et al. Live-seq enables temporal transcriptomic recording of single cells. *Nature*, 2022, 608: 733–740
- 20 Jacobsen S E W, Nerlov C. Haematopoiesis in the era of advanced single-cell technologies. *Nat Cell Biol*, 2019, 21: 2–8
- 21 Notta F, Zandi S, Takayama N, et al. Distinct routes of lineage development reshape the human blood hierarchy across ontogeny. *Science*, 2016, 351: aab2116
- 22 Velten L, Haas S F, Raffel S, et al. Human haematopoietic stem cell lineage commitment is a continuous process. *Nat Cell Biol*, 2017, 19: 271–281
- 23 Zhang Y, Xie X, Huang Y, et al. Temporal molecular program of human hematopoietic stem and progenitor cells after birth. *Dev Cell*, 2022, 57: 2745–2760.e6
- 24 Karamitros D, Stoilova B, Aboukhalil Z, et al. Single-cell analysis reveals the continuum of human lympho-myeloid progenitor cells. *Nat Immunol*, 2018, 19: 85–97
- 25 Drissen R, Buza-Vidas N, Woll P, et al. Distinct myeloid progenitor-differentiation pathways identified through single-cell RNA sequencing. *Nat Immunol*, 2016, 17: 666–676
- 26 Kwok I, Becht E, Xia Y, et al. Combinatorial single-cell analyses of granulocyte-monocyte progenitor heterogeneity reveals an early uni-potent neutrophil progenitor. *Immunity*, 2020, 53: 303–318.e5
- 27 van Galen P, Hovestadt V, Wadsworth II M H, et al. Single-cell RNA-seq reveals AML hierarchies relevant to disease progression and immunity. *Cell*, 2019, 176: 1265–1281.e24
- 28 Steen C B, Luca B A, Esfahani M S, et al. The landscape of tumor cell states and ecosystems in diffuse large B cell lymphoma. *Cancer Cell*, 2021, 39: 1422–1437.e10
- 29 Zhang Y, Chen H, Mo H, et al. Single-cell analyses reveal key immune cell subsets associated with response to PD-L1 blockade in triple-negative breast cancer. *Cancer Cell*, 2021, 39: 1578–1593.e8
- 30 Zhang Q, He Y, Luo N, et al. Landscape and dynamics of single immune cells in hepatocellular carcinoma. *Cell*, 2019, 179: 829–845.e20
- 31 Dong F, Hao S, Zhang S, et al. Differentiation of transplanted haematopoietic stem cells tracked by single-cell transcriptomic analysis. *Nat Cell Biol*, 2020, 22: 630–639

- 32 Xie X, Liu M, Zhang Y, et al. Single-cell transcriptomic landscape of human blood cells. *Natl Sci Rev*, 2021, 8: nwaa180
- 33 Xie X, Shi Q, Wu P, et al. Single-cell transcriptome profiling reveals neutrophil heterogeneity in homeostasis and infection. *Nat Immunol*, 2020, 21: 1119–1133
- 34 Shen J, Xu Y, Zhang S, et al. Single-cell transcriptome of early hematopoiesis guides arterial endothelial-enhanced functional T cell generation from human PSCs. *Sci Adv*, 2021, 7: eabi9787
- 35 Luo Y, Xu C, Wang B, et al. Single-cell transcriptomic analysis reveals disparate effector differentiation pathways in human Treg compartment. *Nat Commun*, 2021, 12: 3913
- 36 Liu C, Wu D, Xia M, et al. Characterization of cellular heterogeneity and an immune subpopulation of human megakaryocytes. *Adv Sci*, 2021, 8: e2100921
- 37 Wang H, He J, Xu C, et al. Decoding human megakaryocyte development. *Cell Stem Cell*, 2021, 28: 535–549.e8
- 38 Xu C, He J, Wang H, et al. Single-cell transcriptomic analysis identifies an immune-prone population in erythroid precursors during human ontogenesis. *Nat Immunol*, 2022, 23: 1109–1120
- 39 Zheng Z, He H, Tang X T, et al. Uncovering the emergence of HSCs in the human fetal bone marrow by single-cell RNA-seq analysis. *Cell Stem Cell*, 2022, 29: 1562–1579.e7
- 40 Wang F, He J, Liu S, et al. A comprehensive RNA editome reveals that edited *Azin1* partners with DDX1 to enable hematopoietic stem cell differentiation. *Blood*, 2021, 138: 1939–1952
- 41 Wang B, Wang C, Wan Y, et al. Decoding the pathogenesis of Diamond-Blackfan anemia using single-cell RNA-seq. *Cell Discov*, 2022, 8: 41
- 42 Zhu C, Lian Y, Wang C, et al. Single-cell transcriptomics dissects hematopoietic cell destruction and T-cell engagement in aplastic anemia. *Blood*, 2021, 138: 23–33
- 43 Tong J, Sun T, Ma S, et al. Hematopoietic stem cell heterogeneity is linked to the initiation and therapeutic response of myeloproliferative neoplasms. *Cell Stem Cell*, 2021, 28: 502–513.e6
- 44 Zhang Y, Wang S, Zhang J, et al. Elucidating minimal residual disease of paediatric B-cell acute lymphoblastic leukaemia by single-cell analysis. *Nat Cell Biol*, 2022, 24: 242–252
- 45 Qin P, Pang Y, Hou W, et al. Integrated decoding hematopoiesis and leukemogenesis using single-cell sequencing and its medical implication. *Cell Discov*, 2021, 7: 2
- 46 Wang X, Wen Y, Xie X, et al. Dysregulated hematopoiesis in bone marrow marks severe COVID-19. *Cell Discov*, 2021, 7: 60
- 47 Xie X, Cheng X, Wang G, et al. Single-cell transcriptomes of peripheral blood cells indicate and elucidate severity of COVID-19. *Sci China Life Sci*, 2021, 64: 1634–1644
- 48 Ren X, Wen W, Fan X, et al. COVID-19 immune features revealed by a large-scale single-cell transcriptome atlas. *Cell*, 2021, 184: 5838
- 49 Wang H, Liu C, Xie X, et al. Multi-omics blood atlas reveals unique features of immune and platelet responses to SARS-CoV-2 Omicron breakthrough infection. *Immunity*, 2023, 56: 1410–1428.e8
- 50 Guo Y, Zhang G, Yang Q, et al. Discovery and characterization of potent pan-variant SARS-CoV-2 neutralizing antibodies from individuals with Omicron breakthrough infection. *Nat Commun*, 2023, 14: 3537
- 51 Gao X, Hong F, Hu Z, et al. ABC portal: a single-cell database and web server for blood cells. *Nucleic Acids Res*, 2023, 51: D792–D804
- 52 Wen W, Zhang J P, Chen W, et al. Generation of integration-free induced pluripotent stem cells from human peripheral blood mononuclear cells using episomal vectors. *J Vis Exp*, 2017, 119: 55091
- 53 Wen W, Cheng T, Zhang X B. Episomal reprogramming of human peripheral blood mononuclear cells into pluripotency. In: Hu K, ed. *Nuclear Reprogramming. Methods in Molecular Biology*. New York: Humana, 2021. 117–133
- 54 Wen W, Zhang J P, Xu J, et al. Enhanced generation of integration-free iPSCs from human adult peripheral blood mononuclear cells with an optimal combination of episomal vectors. *Stem Cell Rep*, 2016, 6: 873–884
- 55 Wen W, Cheng X, Fu Y, et al. High-level precise knockin of iPSCs by simultaneous reprogramming and genome editing of human peripheral blood mononuclear cells. *Stem Cell Rep*, 2018, 10: 1821–1834
- 56 Shen J, Zhu Y, Zhang S, et al. Vitronectin-activated $\alpha\beta3$ and $\alpha\beta5$ integrin signalling specifies haematopoietic fate in human pluripotent stem cells. *Cell Prolif*, 2021, 54: e13012
- 57 Han X X, Ma Y G, Liang Z, et al. Establishment of blood biobank (in Chinese). *Prac J Organ Transplant (Electron Ver)*, 2023, 11: 464–469 [韩星星, 马艺戈, 梁昭, 等. 血液系统疾病生物样本库的建立. 实用器官移植电子杂志, 2023, 11: 464–469]

The living blood cells biobank supports atlas of blood cells project and blood ecosystem research

MA ShiHui^{1,2}, XIE XiaoWei^{1,2}, MA YiGe^{1,2}, HAN XingXing^{1,2}, HAO Sha^{1,2} & CHENG Tao^{1,2}

1 State Key Laboratory of Experimental Hematology, National Clinical Research Center for Blood Diseases, Haihe Laboratory of Cell Ecosystem, Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China;

2 Tianjin Institutes of Health Science, Tianjin 301600, China

Compared with traditional biobanks, the living biobank provides better support for “blood ecosystem” research. By standardized construction of the blood cell living biobank, a “data+sample+X” integrated management model was formed to provide support for the “atlas of blood cells” project, taking the lead in characterizing a complete set of molecular fingerprints of hematopoietic cells at the single-cell level, and establishing a refined blood single-cell data sharing platform, which provided valuable research resources and public analysis tools for research on blood physiology and related diseases, and new strategies for precise diagnosis and treatment.

living biobanks, blood cells, atlas of blood cells, blood ecosystem

doi: [10.1360/SSV-2023-0180](https://doi.org/10.1360/SSV-2023-0180)