

四川省医药爱心基金会 科研课题公益资助项目申报书

项 目 名 称：基于 DC-Th-CTL-B 空间功能域对胰腺癌免疫联合
治疗敏感性预测机制研究

申 报 单 位：四川大学

协 作 单 位：

项目负责人：赵成建

起 止 年 限：2025 年 8 月至 2027 年 8 月

通 讯 地 址：四川省成都市武侯区人民南路三段 17 号

联 系 电 话：18328342430

申 请 日 期：2025 年 6 月 20 日

四川省医药爱心基金会

二〇二五年制

填写说明

一、项目申请人即项目（课题）负责人。

二、单位性质分为三类：(1)医疗卫生机构(含民营)(2)医学科研院所(3)医学院校；

三、证件类型指：身份证、军官证和护照；

四、申请书填写注意以下要求：

1、文字叙述要简明扼要、层次分明；

2、预期成果：属理论性研究成果，要注明水平和影响；属应用性研究成果，要注明其应用前景，可能达到的技术指标，以及可以产生的经济、社会效益等；

3、外来语要同时用原文和中文表达；第一次出现的缩写词须注出全称。

五、研究方向：主要包括传染病、常见病多发病防治、突发公共卫生事件、创新医药产品、健康促进、数字健康等领域的临床诊疗、疾病防控、卫生管理、科学普及、医学教育等新技术、新方法和新模式研究；

基本信息

申请人信息	姓 名	赵成建	性 别	男	出生年月	1985. 11	民 族	汉
	最高学位	博士	职 称	教授				
	联系电话	18328342430			电子邮箱	chjianzhao@scu.edu.cn		
	工作单位及部门	四川大学			从事专业	免疫学研究		
	证件类型	身份证		证件号码	510681198511011519			
申报单位情况	课题申报单位	名称	四川大学					
		地址邮编	四川省成都市武侯区人民南路三段 17 号（610065）					
		单位电话						
	课题合作单位	名称						
		地址邮编						
		单位电话						
项目基本信息	项目名称	基于 DC-Th-CTL-B 空间功能域对胰腺癌免疫联合治疗敏感性预测机制研究						
	学科分类	免疫学研究			代码			
	课题组人员	共 25 人	其中高级 2 人		中级 1 人	辅助 22 人		
	研究期限	2025 年 8 月 8 日至 2026 年 8 月 8 日						
	总经费	申请经费 20 （万元）						
自筹或政府支持 20 （万元）								
是否涉及相关审批		☐ 医学伦理 ☐ 人类遗传资源 ☐ 动物伦理 ☐ 其他（请注明：_____）						

一、项目摘要(简述项目研究目的和主要研究内容等，800 字以内)

肿瘤免疫治疗 (tumor immunotherapy) 已在多种恶性实体瘤如黑色素瘤、非小细胞肺癌、食管癌以及肾癌等治疗中展示出了显著的治疗效果。然而，单一免疫检查点抑制剂在胰腺导管腺癌治疗中的效果并不理想。无论是抗 PD-1/PD-L1 抗体，还是抗细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 4 (cytotoxic T lymphocyte-Associated protein 4, CTLA-4) 的抗体，这些单一药物均未能显著改善晚期 PDAC 患者的生存期^[1, 2]。尽管免疫检查点抑制剂在少数高微卫星不稳定性 (MSI-H) 或 DNA 错配修复缺陷 (dMMR) 患者中显示出一定疗效，然而这类患者非常少见，仅占总 PDAC 患者的 1%-2%^[1, 2]。因此，基于现有免疫治疗的局限性，联合免疫治疗 (免疫+化疗/放疗/靶向等) 已成为提升 PDAC 治疗效果的潜在策略。已有临床研究表明，免疫检查点抑制剂联合 AG 化疗方案安全有效，且对肿瘤缓解率有所改善。如在 KEYNOTE-158 研究中，帕博利珠单抗联合白蛋白紫杉醇和吉西他滨在晚期 PDAC 中显示出一定的疗效^[2]。在一项 II 期临床研究中，联合化疗与 PD-1 单抗 (Nivolumab) 或 CD40 激动剂 (Sotigalimab) 治疗可显著提升 PDAC 患者生存率，突显了联合免疫策略在 PDAC 治疗中的前景^[3]。这些研究皆表明，部分晚期 PDAC 患者对免疫化疗联合治疗方案可能具有潜在的敏感性。因此，准确预测哪些患者能够从免疫联合治疗中获益，并探索其底层分子机制，是制定 PDAC 精准联合免疫治疗，及开发更为高效的联合治疗方案的重要临床研究方向。

前期工作中，课题组研发了一种基于循环酪酰胺信号放大 (TSA, Tyramide signal amplification) 技术的超多指标染色平台 (CmTSA)，该循环免疫染色方法可实现批量石蜡切片 (20-30 张切片/次) 的超多指标共染色 (>30 指标)，在单细胞水平可视化 TIME 中各种细胞的类型及空间分布。基于该技术基础，课题在前期完成了一项晚期胰腺癌的免疫联合化疗治疗 (anti-PD-1+AG 方案) 临床研究 (No. ChiCTR2000032293，纳入 72 例胰腺癌病人)，并通过预训练的细胞分割 AI 模型 (Stardist-PDAC) 绘制了治疗响应患者和非响应患者的肿瘤免疫微环境单细胞空间图谱。基于空间图谱进一步进行单细胞空间互作分析以及功能域差异分析研究发现，治疗响应患者 (responder) 微环境内富集了树突状细胞 (DC)-T 辅助细胞 (Th)-细胞毒性 T 淋巴细胞 (CTL) 免疫功能域，而该功能域内包含的细胞互作 (DC-Th, DC-CTL) 可为免疫联合治疗 (anti-PD-1+AG 方案) 的关键疗效预测因子 (AUC=0.8)。

本研究项目中，一方面，课题组拟进一步从循环染色技术，到单细胞空间图谱绘制技术及全切片免疫功能域解析算法等方面优化基于 CmTSA 肿瘤免疫微环境可视化及分析平台，进而提升绘制患者单细胞空间图谱的效率及通量（同时运算超过 1000 万细胞的空间关系），以适配临床研究中对阵列 PDAC 患者微环境特征的深度解析工作。另一方面，课题组将建立单细胞空间蛋白组学（Single-cell Spatial Proteomics）以及单细胞转录组学（scRNA-Seq）联用策略，在分子水平进一步解析 PDAC 免疫治疗响应患者微环境内 DC-Th-CTL 预测功能域的具体功能以及功能维持机制。最终，课题组将基于该功能域的激发及维持机制，尝试设计更为有效的临床可用的 PDAC 免疫联用治疗方案，期望能整体提升 PDAC 患者对于联合免疫治疗的响应比率，延长患者的整体生存期。

二、申报正文

（一）研究背景和依据(国内外研究现状、发展趋势、必要性、新颖性、 创新点、研究意义)

胰腺导管腺癌（Pancreatic Ductal Adenocarcinoma, PDAC）是一种侵袭性极强的恶性肿瘤，其发病率和死亡率持续上升。PDAC 的预后极差，5 年生存率仅为 10%。大数据研究结果显示，预计在 2030 年前，胰腺癌将超越乳腺癌和结直肠癌，成为全球第二大致死癌种^[4, 5]。由于胰腺解剖位置隐匿，早期胰腺癌缺乏典型症状，导致大多数患者在确诊时已进入晚期。尽管早期胰腺癌可实施手术进行根治，但大部分患者会在短期内复发及转移^[6-8]。因此，针对晚期 PDAC，探索更为系统性的有效治疗策略非常迫切。

肿瘤免疫治疗（tumor immunotherapy）是继手术、化疗和放疗之后的第 4 种有效肿瘤治疗手段。近几年，肿瘤免疫治疗已在多种肿瘤如黑色素瘤、非小细胞肺癌、食管癌以及肾癌等治疗中展示出了显著的治疗效果。目前在临床上，免疫治疗有逐渐成为肿瘤治疗主流方案的趋势^[9]。2020 年肿瘤免疫治疗开发管线涵盖了 6 个大类，包括：靶向 T 细胞的免疫调节剂、细胞疗法、肿瘤疫苗、溶瘤病毒、靶向 CD3 的双特异性抗体以及其他

类型的免疫调节剂，总计 4 720 种，较 2019 年增长了 22%^[10]。目前肿瘤免疫疗法的临床实验申请数量呈爆发性增长，预计其在未来 10 年内将超过肿瘤靶向治疗成为肿瘤各种疗法中的最大市场占有者。肿瘤免疫治疗是目前最前沿以及最具有潜力的肿瘤治疗方案，其在未来相当长一段时间将在肿瘤学研究以及肿瘤临床应用中占据主导地位^[11]。

然而，单一免疫检查点抑制剂在 PDAC 治疗中的效果并不理想。无论是抗 PD-1/PD-L1 抗体，还是抗细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 4(cytotoxic T lymphocyte-Associated protein 4, CTLA-4) 的抗体，这些单一药物均未能显著改善晚期 PDAC 患者的生存期^[1, 2]。尽管免疫检查点抑制剂在少数高微卫星不稳定性 (MSI-H) 或 DNA 错配修复缺陷 (dMMR) 患者中显示出一定疗效，然而这类患者非常少见，仅占总 PDAC 患者的 1%-2%^[1, 2]。因此，基于现有免疫治疗的局限性，联合免疫治疗（免疫+化疗/放疗/靶向等）已成为提升 PDAC 治疗效果的潜在策略。已有临床研究表明，免疫检查点抑制剂联合白蛋白紫杉醇联合吉西他滨 (AG) 化疗方案安全有效，且对肿瘤缓解率有所改善。如在 KEYNOTE-158 研究中，帕博利珠单抗联合白蛋白紫杉醇和吉西他滨在晚期 PDAC 中显示出一定的疗效^[2]。在一项 II 期临床研究中，联合化疗与 PD-1 单抗 (Nivolumab) 或 CD40 激动剂 (Sotigalimab) 治疗可显著提升 PDAC 患者生存率，突显了联合免疫策略在 PDAC 治疗中的前景^[3]。这些研究皆表明，部分晚期 PDAC 患者对免疫化疗联合治疗方案可能具有潜在的敏感性。因此，**准确预测哪些患者能够从免疫联合治疗中获益，并探索其底层分子机制，是制定 PDAC 精准联合免疫治疗，及开发更为高效的联合治疗方案的重要临床研究方向。**

肿瘤免疫微环境 (tumor immune microenvironment, TIME) 组成复杂，其包含了肿瘤组织内的肿瘤细胞，各类免疫细胞，间质细胞以及胞外基质等^[12, 13]。肿瘤病人个体免疫微环境内的各种细胞成分，功能以及空间分布特征，对于肿瘤进展预后以及免疫治疗效果具有重要指示意义^[14, 15]。目前研究表明，肿瘤微环境存在的各种不同免疫细胞及间质细胞对于肿瘤免疫治疗的影响差异很大。肿瘤微环境中一些细胞组分，如调节性 T 细胞 (Treg)，肿瘤相关巨噬细胞 (TAMs)，肿瘤相关成纤维细胞 (CAFs) 以及指示高 VEGF 表达的高密度内皮细胞等，对免疫微环境具有很强的抑制作用，这些细胞组分往往预示了病人预后不佳^[13, 16, 17]。而微环境中存在的 CD8+PD1+ T 细胞，PDL1 高表达的炎症细胞/肿瘤细胞，以及三级淋巴结构 (TLS) 等往往预示病人对肿瘤免疫治疗具有良好反应^[17-19]。目前，临床上主要通过免疫组化染色 (IHC) 结合肿瘤组织的基因测序的方法，

尝试对免疫微环境进行评分以评估病人免疫微环境状态，进而鉴别免疫治疗敏感病人以及预测免疫治疗效果^[20]。虽然该类免疫评分方法能获取病人肿瘤组织内免疫细胞的丰度及一些免疫细胞种类信息，然而由于技术本身缺乏空间信息，因此无法评估肿瘤免疫微环境中不同种类免疫细胞的分布，聚集，以及特殊空间结构（如 TLS 等）等信息，然而这些空间特征对于免疫细胞状态及功能具有很强的指示作用^[14, 19-21]。尽管在乳腺癌、肺癌等肿瘤类型中，基于空间特征的研究已揭示了免疫微环境的调控机制和对免疫治疗反应的预测作用^[12, 22-24]，但在 PDAC 中的相关研究仍然有限。肿瘤微环境由群落形式的细胞组成，细胞通过信号分子或直接接触相互影响。已有研究表明，基线空间免疫组成与乳腺癌、黑色素瘤和非小细胞肺癌等肿瘤的免疫治疗反应和预后显著相关^[12, 22-24]。然而既往研究对胰腺癌微环境的研究多集中于分析单一免疫细胞的密度、分布和表型，忽视了肿瘤组织中的细胞间相互作用和空间组织结构^[25-27]。因此对肿瘤微环境的细胞异质性和空间结构进行可视化，已成为深入理解疾病进展机制和治疗反应的重要手段。

采用先进的技术手段，可视化肿瘤微环境中细胞组分，细胞状态以及空间分布特征，绘制单细胞分辨率的肿瘤免疫微环境空间图谱 (Single-cell spatial landscapes of TIME)，进而精准的鉴别免疫治疗敏感病人，揭示个体病人免疫抑制微环境形成机制，制订个体化的联合免疫用药方案具有重要意义^[12, 28, 29]。目前在绘制肿瘤免疫微环境空间图谱的研究领域，主要有基于特异 mRNA 指纹(mRNA signature)以及特异蛋白标记(protein marker)两种技术研发方向。第一种以 10X Genomics Visium（单细胞空间转录组测序）技术为代表，第二种以 Hyperion Imaging Mass Cytometry（成像质谱流式）技术为代表。空间转录组测序通过将组织冰冻切片附在空间转录组芯片上，利用条形码引物捕获显微结构内 mRNA，通过原位逆转录以及原位二代测序，可在识别样本 mRNA 的同时保留被测序 mRNA 的空间位置信息。最后通过分析 mRNA 测序结果的矩阵信息，可通过空转分析软件投射所有被测序 mRNA 的空间位置，进而绘制肿瘤微环境空间图谱^[30, 31]。成像质谱流式利用不同金属同位素标记的一抗组合（Metal-labeled antibody panel），基于特异抗体抗原结合原理，对组织切片进行预标记，随后使用激光对组织进行逐点剥蚀并同时利用质谱流式仪进行检测，最终实现对组织样本上每个激光剥蚀点的细胞识别，进而绘制肿瘤免疫微环境空间图谱^[20, 21, 32]。目前两种技术仍处于研发阶段，尚未成熟。空间转录组测序获取的组织空间图谱分辨率仍未达到单细胞分辨率，同时测序数据量以及质量远不如常规 10X Genomics 单细胞测序结果，数据分析难度很大。而成像质谱流式由于依赖金属

同位素标记的特殊一抗，该类金属标记抗体获取困难，价格昂贵，数量有限，且都未经临床验证；而成像质谱流式需要使用的激光剥蚀模块仍有待开发及商业化^[33]。因此，目前从底层设计全新的单细胞分辨率的组织空间探测技术，建立高效率且稳定的肿瘤免疫微环境空间图谱绘制技术平台非常迫切。

前期工作中，课题组研发了一种基于循环酪酰胺信号放大(TSA, Tyramide signal amplification)技术的超多指标染色平台(CmTSA)，该循环免疫染色方法可实现批量石蜡切片(20-30 张切片/次)的超多指标共染色(>30 指标)，在单细胞水平可视化 TIME 中各种细胞的类型及空间分布。基于该技术基础，课题在前期完成了一项晚期胰腺癌的免疫联合化疗治疗(anti-PD-1+AG 方案)临床研究(No. ChiCTR2000032293, 纳入 72 例胰腺癌病人)，并通过预训练的细胞分割 AI 模型(Stardist-PDAC)绘制了治疗响应患者和非响应患者的肿瘤免疫微环境单细胞空间图谱。基于空间图谱进一步进行单细胞空间互作分析以及功能域差异分析研究发现，治疗响应患者(responder)微环境内富集了树突状细胞(DC)-T 辅助细胞(Th)-细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)免疫功能域，而该功能域内包含的细胞互作(DC-Th, DC-CTL)可为免疫联合治疗(anti-PD-1+AG 方案)的关键疗效预测因子(AUC=0.8)。

本研究项目中，一方面，课题组拟进一步从循环染色技术，到单细胞空间图谱绘制技术及全切片免疫功能域解析算法等方面优化基于 CmTSA 肿瘤免疫微环境可视化及分析平台，进而提升绘制患者单细胞空间图谱的效率及通量(同时运算超过 1000 万细胞的空间关系)，以适配临床研究中对于大队列 PDAC 患者微环境特征的深度解析工作。另一方面，课题组将建立单细胞空间蛋白组学(Single-cell Spatial Proteomics)以及单细胞转录组学(scRNA-Seq)联用策略，在分子水平进一步解析 PDAC 免疫治疗响应患者微环境内 DC-Th-CTL 预测功能域的具体功能以及功能维持机制。最终，课题组将基于该功能域的激发及维持机制，尝试设计更为有效的临床可用的 PDAC 免疫联用治疗方案，期望能整体提升 PDAC 患者对于联合免疫治疗的响应比率，延长患者的整体生存期。

参考文献：

- [1] TAÏEB J, SAYAH L, HEINRICH K, et al. Efficacy of immune checkpoint inhibitors in microsatellite unstable/mismatch repair-deficient advanced pancreatic adenocarcinoma: an AGEO European Cohort [J]. Eur J Cancer, 2023, 188: 90-7. DOI: 10.1016/j.ejca.2023.04.012.
- [2] MARABELLE A, LE D T, ASCIERTO P A, et al. Efficacy of Pembrolizumab in Patients With Noncolorectal High Microsatellite Instability/Mismatch Repair-Deficient Cancer: Results From the Phase II KEYNOTE-158 Study [J]. J Clin Oncol, 2020, 38(1): 1-10. DOI: 10.1200/jco.19.02105.
- [3] PADRÓN L J, MAURER D M, O'HARA M H, et al. Sotigalimab and/or nivolumab with chemotherapy in first-line metastatic pancreatic cancer: clinical and immunologic analyses from the randomized phase 2 PRINCE trial [J]. Nat Med, 2022, 28(6): 1167-77. DOI: 10.1038/s41591-022-01829-9.

- [4] RAWLA P, SUNKARA T, GADUPUTI V. Epidemiology of Pancreatic Cancer: Global Trends, Etiology and Risk Factors [J]. *World J Oncol*, 2019, 10(1): 10-27. DOI: 10.14740/wjon1166.
- [5] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-49. DOI: 10.3322/caac.21660.
- [6] ULLMAN N A, BURCHARD P R, DUNNE R F, et al. Immunologic Strategies in Pancreatic Cancer: Making Cold Tumors Hot [J]. *J Clin Oncol*, 2022, 40(24): 2789-805. DOI: 10.1200/jco.21.02616.
- [7] HALBROOK C J, LYSSIOTIS C A, PASCA DI MAGLIANO M, et al. Pancreatic cancer: Advances and challenges [J]. *Cell*, 2023, 186(8): 1729-54. DOI: 10.1016/j.cell.2023.02.014.
- [8] DA COSTA W L, JR., OLUYOMI A O, THRIFT A P. Trends in the Incidence of Pancreatic Adenocarcinoma in All 50 United States Examined Through an Age-Period-Cohort Analysis [J]. *JNCI Cancer Spectr*, 2020, 4(4): pkaa033. DOI: 10.1093/jncics/pkaa033.
- [9] DAGHER O K, SCHWAB R D, BROOKENS S K, et al. Advances in cancer immunotherapies [J]. *Cell*, 2023, 186(8): 1814-e1. DOI: 10.1016/j.cell.2023.02.039.
- [10] UPADHAYA S, HUBBARD-LUCEY V M, YU J X. Immuno-oncology drug development forges on despite COVID-19 [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19(11): 751-2. DOI: 10.1038/d41573-020-00166-1.
- [11] SHARMA P, SIDDIQUI B A, ANANDHAN S, et al. The Next Decade of Immune Checkpoint Therapy [J]. *Cancer Discov*, 2021, 11(4): 838-57. DOI: 10.1158/2159-8290.Cd-20-1680.
- [12] FU T, DAI L J, WU S Y, et al. Spatial architecture of the immune microenvironment orchestrates tumor immunity and therapeutic response [J]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1): 98. DOI: 10.1186/s13045-021-01103-4.
- [13] ANDERSON N M, SIMON M C. The tumor microenvironment [J]. *Curr Biol*, 2020, 30(16): R921-r5. DOI: 10.1016/j.cub.2020.06.081.
- [14] BINNEWIES M, ROBERTS E W, KERSTEN K, et al. Understanding the tumor immune microenvironment (TIME) for effective therapy [J]. *Nat Med*, 2018, 24(5): 541-50. DOI: 10.1038/s41591-018-0014-x.
- [15] ROZENBLATT-ROSEN O, REGEV A, OBERDOERFFER P, et al. The Human Tumor Atlas Network: Charting Tumor Transitions across Space and Time at Single-Cell Resolution [J]. *Cell*, 2020, 181(2): 236-49. DOI: 10.1016/j.cell.2020.03.053.
- [16] LAVIE D, BEN-SHMUEL A, EREZ N, et al. Cancer-associated fibroblasts in the single-cell era [J]. *Nat Cancer*, 2022, 3(7): 793-807. DOI: 10.1038/s43018-022-00411-z.
- [17] DE VISSER K E, JOYCE J A. The evolving tumor microenvironment: From cancer initiation to metastatic outgrowth [J]. *Cancer Cell*, 2023, 41(3): 374-403. DOI: 10.1016/j.ccell.2023.02.016.
- [18] VAN DER LEUN A M, THOMMEN D S, SCHUMACHER T N. CD8(+) T cell states in human cancer: insights from single-cell analysis [J]. *Nat Rev Cancer*, 2020, 20(4): 218-32. DOI: 10.1038/s41568-019-0235-4.
- [19] FRIDMAN W H, MEYLAN M, PETITPREZ F, et al. B cells and tertiary lymphoid structures as determinants of tumour immune contexture and clinical outcome [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2022, 19(7): 441-57. DOI: 10.1038/s41571-022-00619-z.
- [20] MOLDOVEANU D, RAMSAY L, LAJOIE M, et al. Spatially mapping the immune landscape of melanoma using imaging mass cytometry [J]. *Sci Immunol*, 2022, 7(70): eabi5072. DOI: 10.1126/sciimmunol.abi5072.
- [21] SORIN M, REZANEJAD M, KARIMI E, et al. Single-cell spatial landscapes of the lung tumour immune microenvironment [J]. *Nature*, 2023, 614(7948): 548-54. DOI: 10.1038/s41586-022-05672-3.
- [22] CABRITA R, LAUSS M, SANNA A, et al. Tertiary lymphoid structures improve immunotherapy and survival in melanoma [J]. *Nature*, 2020, 577(7791): 561-5. DOI: 10.1038/s41586-019-1914-8.
- [23] HAMMERL D, MARTENS J W M, TIMMERMANS M, et al. Spatial immunophenotypes predict response to anti-PD1 treatment and capture distinct paths of T cell evasion in triple negative breast cancer [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 5668. DOI: 10.1038/s41467-021-25962-0.
- [24] MEZHEYEUSKI A, BERGLAND C H, BACKMAN M, et al. Multispectral imaging for quantitative and compartment-specific immune infiltrates reveals distinct immune profiles that classify lung cancer patients [J]. *J Pathol*, 2018, 244(4): 421-31. DOI: 10.1002/path.5026.
- [25] WATTENBERG M M, COLBY S, GARRIDO-LAGUNA I, et al. Intratumoral Cell Neighborhoods Coordinate Outcomes in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma [J]. *Gastroenterology*, 2024, 166(6): 1114-29. DOI: 10.1053/j.gastro.2024.01.013.
- [26] LIUDAHL S M, BETTS C B, SIVAGNANAM S, et al. Leukocyte Heterogeneity in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: Phenotypic and Spatial Features Associated with Clinical Outcome [J]. *Cancer Discov*, 2021, 11(8): 2014-31. DOI: 10.1158/2159-8290.Cd-20-0841.

- [27] VÄYRYNEN S A, ZHANG J, YUAN C, et al. Composition, Spatial Characteristics, and Prognostic Significance of Myeloid Cell Infiltration in Pancreatic Cancer [J]. Clin Cancer Res, 2021, 27(4): 1069-81. DOI: 10.1158/1078-0432.Ccr-20-3141.
- [28] RYAN D J, SPRAGGINS J M, CAPRIOLI R M. Protein identification strategies in MALDI imaging mass spectrometry: a brief review [J]. Curr Opin Chem Biol, 2019, 48: 64-72. DOI: 10.1016/j.cbpa.2018.10.023.
- [29] CALDERARO J, SERAPHIN T P, LUEDDE T, et al. Artificial intelligence for the prevention and clinical management of hepatocellular carcinoma [J]. J Hepatol, 2022, 76(6): 1348-61. DOI: 10.1016/j.jhep.2022.01.014.
- [30] MONCADA R, BARKLEY D, WAGNER F, et al. Integrating microarray-based spatial transcriptomics and single-cell RNA-seq reveals tissue architecture in pancreatic ductal adenocarcinomas [J]. Nat Biotechnol, 2020, 38(3): 333-42. DOI: 10.1038/s41587-019-0392-8.
- [31] RAO A, BARKLEY D, FRANÇA G S, et al. Exploring tissue architecture using spatial transcriptomics [J]. Nature, 2021, 596(7871): 211-20. DOI: 10.1038/s41586-021-03634-9.
- [32] ARNETT L P, RANA R, CHUNG W W, et al. Reagents for Mass Cytometry [J]. Chem Rev, 2023, 123(3): 1166-205. DOI: 10.1021/acs.chemrev.2c00350.
- [33] ELHANANI O, BEN-URI R, KEREN L. Spatial profiling technologies illuminate the tumor microenvironment [J]. Cancer Cell, 2023, 41(3): 404-20. DOI: 10.1016/j.ccell.2023.01.010.
- [34] WEISS G J, BLAYDORN L, BECK J, et al. Phase Ib/II study of gemcitabine, nab-paclitaxel, and pembrolizumab in metastatic pancreatic adenocarcinoma [J]. Invest New Drugs, 2018, 36(1): 96-102. DOI: 10.1007/s10637-017-0525-1.
- [35] LE D T, DURHAM J N, SMITH K N, et al. Mismatch repAIr deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade [J]. Science, 2017, 357(6349): 409-13. DOI: 10.1126/science.aan6733.

(二)研究内容、拟解决的关键问题，拟采取的研究方案包括研究方法、 技术路线、实验手段、关键技术等

肿瘤免疫治疗是目前最具潜力的肿瘤治疗策略，其在未来相当长一段时间将在肿瘤学基础研究，以及肿瘤临床研究/应用方面中占据重要地位。肿瘤免疫微环境，包括微环境内各种细胞组成成分，以及细胞分布，聚集及空间结构特征，对于肿瘤病人预后及其对不同免疫治疗方案的响应效果都具有重要影响。研发超多指标染色技术，识别肿瘤微环境中各种免疫相关细胞，进而绘制单细胞分辨率的肿瘤免疫微环境空间图谱 (Single-cell spatial landscapes of TIME)，并建立 TIME 空间图谱数据库，对于推进肿瘤免疫治疗临床研究，以及设计精准的个体免疫治疗方案具有重要意义。基于此，本申请项目研究内容将在以下几个方面开展：

第一：基于胰腺癌石蜡切片的超多指标共染色技术，结合图的深度学习 AI 模型，绘制患者免疫微环境的全切片单细胞空间图谱（建立技术方案）。

为了能对患者肿瘤微环境进行单细胞水平的深入解析，课题组前期已完成开发一种能在同张切片实现超多指标染色（>30 色）技术（CmTSA）。本部分研究，将基于该技术体系，结合病理专家监督、以及深度学习 AI 模型算法，进一步提升对微环境内免疫细胞的识别及分割精度，提升绘制单细胞空间图谱效率。具体研究内容包括：

1) 开发无抗体种属限制的顺序多色共标技术：突破传统多色染色中，共染的异源抗

体数量限制（如小鼠、兔、大鼠共染等），实现无种属限制的更多指标共标记（>30 种）；

2）开发标记荧光循环技术：突破显微镜成像光谱范围（400~750nm）内，可区分的荧光信号数量的限制（4-6 种），通过对多色标记荧光的循环使用，支持更多荧光信号的同时检测（>30 种）；

3）深度机器学习 AI 模型以分割识别细胞：基于标准化胰腺癌超多指标染色图集数据库，结合病理专家标注，训练高精度 AI 模型（基于 StarDist/Cellpose 等算法+预标注标准图集），用于高精度的细胞识别与定位（可同时处理超多一百万细胞）。

4）基于 PDAC 患者基线单细胞转录组数据（scRNA-Seq），确定 PDAC 微环境内的免疫相关细胞种类及生物标记：基于 scRNA 测序数据，利用差异基因聚类以及特异细胞分类基因簇分析，确定 PDAC 患者微环境内所有可分辨的免疫相关细胞类型及标记（>20 种）。

5）对 PDAC 队列患者全切片实施超多指标共染色，可视化微环境内所有免疫相关细胞：针对 PDAC 微环境内免疫相关细胞的生物标记，设立全指标免疫微环境染色 panel，使用超多指标共染色技术（CmTSA 技术），对本研究队列的全部胰腺癌患者切片（约 80 例）完成平行共标记。

6）绘制患者微环境全切片单细胞空间图谱：利用训练后的细胞识别 AI 模型，对患者切片内的所有免疫相关细胞进行自动分割及识别，提取单细胞空间矩阵数据，绘制胰腺癌患者微环境全景单细胞空间图谱，实现个体患者免疫微环境的数字化。

第二：基于全切片单细胞空间图谱，提取患者免疫微环境内的多维度空间特征，并评估其与患者对免疫治疗响应程度的相关性。

课题组前期工作，首次绘制了临床研究队列内 PDAC 患者的全切片免疫微环境单细胞空间图谱（细胞数量~10-100 万/患者）。本部分研究将基于该图谱数据，建立各种维度的微环境内免疫细胞趋向性及空间互作算法（可并行运算超过 1000 万细胞），提取并比对队列内个体患者的免疫微环境空间特征，并评估与患者是否对免疫治疗响应的相关性。具体内容包括：

1）提取并分析队列患者微环境内各种免疫相关细胞的丰度及组成特征：个体患者肿瘤微环境内的免疫细胞种类及亚群很多（如 Th、Treg、CTL、effector/exhaust CTL、B cell、Plasma cell、NK、activated NK、NKT、成熟 Mφ/M1、抗炎 Mφ/M2、抗炎 monocyte、促炎 monocyte、Neutrophil、cDCs、MDSCs、Mast cell、Endothelial cells、My-CAF、pro-CAF、Tumor cell 等）（可超多 20 种），这些细胞在个体患者微环境内的丰度以及组成特征与患者的免疫治疗反应及预后具有潜在的相关性；

2）提取特殊的免疫活动相关多细胞结构的数量及特征：既往研究表明，个体患者肿瘤微环境内可通过细胞组成识别的一些特殊多细胞结构，如三级淋巴结（TLS），血管周免疫龕（perivascular niche）等，也与患者对免疫治疗的响应具有一定相关性；

3）免疫微环境内免疫细胞的空间趋向性特征：既往研究表明，免疫细胞的功能与其行为具有密切关系，其在微环境空间内表现为，空间离散聚集趋势，对肿瘤的穿透及浸润倾向等。这些空间特征发生频率及强度可能与患者治疗响应相关；

4）免疫微环境内成对细胞间的空间互作特征：免疫细胞之间的紧密空间互作（如免

疫突触），以及通过分泌因子产生的间接空间互作情况，都与患者肿瘤内的免疫活动及特征密切相关。因此提取及量化细胞对之间的空间互作频率及强度非常必要；

5) 免疫微环境内的免疫功能域识别及量化：肿瘤微环境内的各种免疫活动（免疫激活,免疫调节以及免疫抑制等）主要通过形成多细胞协同的免疫功能域行使功能(immune-niche)，建立空间邻域算法，在患者全切片免疫微环境水平（包含~100 万细胞），识别并量化个体患者微环境内的功能域，对于精准的评估患者微环境内的免疫活动特征非常重要。

6) 通过相关性分析识别与患者对免疫治疗响应相关的关键微环境特征：通过归一化等处理对以上所有被量化的细胞丰度特征及微环境空间特征进行标准化，然后使用单变量关联分析（二分类响应指标）以及多变量校正模型（Cox 比例风险模型及交互作用检验）评估各种特征向量与患者对免疫治疗响应的相关性；随后，使用随机森林及交叉验证评估各种特征的相对重要性。

第三：系统性整合患者免疫微环境空间特征、基因突变特征以及临床数据，构建多模态评分体系，并评估其预测免疫治疗响应 PDAC 患者的准确性。

前期工作中，我们发现有一部分 PDAC 患者对联合免疫治疗方案（anti-PD-1+AG）表现出较好应答，且响应患者具有特异的免疫微环境空间特征（DC-Th-CTL 功能域）。因此，本部分工作中，课题组拟结合患者临床（病理、血象、分型及基因突变谱等），以及微环境内各种相关的免疫特征，建立多模态复合预测体系，期望实现对潜在免疫治疗响应患者的精准筛选。具体内容包括：

1)对患者的微环境特征,基因突变以及临床变量进行数据模态对齐以及归一化处理：会影响患者对免疫治疗是否响应的多模态特征具有不同特性，在进行整合分析之前需要对齐（连续变量，二元变量以及分类变量等）以及归一化处理。

2) 预筛选患者各种多模态数据，获取重要特征：前期工作已完成对免疫微环境空间特征的预筛选工作。本部分将针对对齐后的临床变量及基因突变特征，使用 LASSO 回归或随机森林筛选各模态内的 Top 特征。另外，为了解决不同模态特征数据融合过程中可能存在的冗余信息和相互干扰问题，我们将对不同模态数据进行跨模态共线性剔除（如通过计算方差膨胀因子等）。

3) 融合临床，基因及微环境特征，构建多模态评分体系，用于预测治疗响应患者：目前课题组的临床研究队列已入组 47 例患者,虽然我们详尽地定义了各种模态数据，但其作为高维小样本数据的本质，促使我们会优先选择引入正则化的多元回归模型进行预测体系构建。该体系应该兼具特征因子筛选，处理多重共线问题以及支持关键因子可解释性特征。

4) 内部及外部队列中，综合评估多模态预测系统：在本项目的样本集中，通过划分子集，进行交叉验证评估系统的 AUC、敏感度/特异度。另外，使用第三方独立队列（计划在分院区及其他医院院区收集>100 例患者数据）测试系统的泛化能力。

5) 识别对预测模型贡献最大的特征，用于后续解析/解释模型：通过提取决策树的高权重路径规则，可以深入评估各种特征及因素的权重比，进而识别关键决策特征，为进一步解析/解释多模态预测模型提供方向。

第四：联用单细胞空间组学及单细胞转录组学数据，解析 PDAC 响应患者微环境内的 DCs-Th-CTL 互作功能域的具体免疫功能以及形成机制。

前期工作中，课题组发现患者微环境内 DCs-Th-CTL 功能域内细胞间的互作强度（DC-Th, DC-CTL）是患者是否对免疫治疗响应的关键决策特征。本部分内容将建立单细胞空间组学及转录组学数据联用策略，深度解析 DCs-Th-CTL 功能域的免疫功能以及形成机制，为激活该免疫功能域的治疗策略提供方向及靶点。具体内容包括：

1) 探索 DCs-Th-CTL 功能域在响应 PDAC 患者微环境中的免疫功能：基于功能域内细胞间空间互作特征数据，结合 scRNA-Seq 数据，利用 Cell-Chat 分析，提取功能域内 DCs-Th-CTL 的主要功能亚群，进而通过基因表达谱，以及细胞通讯分析，解析激活免疫功能域内的细胞交流机制。另外，细胞功能测试包括利用多重荧光染色评估 CTL 在功能域内的杀伤活性（Perforin, GrB 等）；检测 Th 细胞分泌的细胞因子（如 IFN- γ 、IL-21）对 DC/CTL 细胞的调控作用；验证 DC 与 Th/CTL 细胞的抗原呈递协同作用（通过 MHC-I/II 和共刺激分子）等。

2) 解析 DCs-Th-CTL 功能域的形成及维持机制：联用功能域内细胞空间互作量化数据，单细胞转录组数据（scRNA-Seq）以及空间转录组数据（10x Visium HD）：

2.1) 在趋化因子与细胞招募机制方面，通过空间转录组或 Luminex 多因子检测技术，鉴定功能域内高表达的趋化因子（如 CXCL9/10/13、CCL5/19/21）。通过体外趋化实验，如构建 Transwell 或微流控芯片模型，验证候选趋化因子对 CTL/Th/DC 细胞的定向招募能力，进而鉴定关键趋化因子；

2.2) 在关键配体-受体互作方面，利用 CellPhoneDB 或 NicheNet 联用单细胞数据以及细胞空间互作特征，分析并筛选功能域内关键受体-配体互作对（关注 CD40-CD40L、ICOSL-ICOS、CD80/CD86-CD28、IL-6-IL-6R、IL-15-IL-15R α 等配体受体互作对）；

2.3) 在体外功能阻断实验中，利用类器官或小鼠模型，使用中和抗体或小分子抑制剂靶向关键配体受体互作对，观察功能域结构的破坏情况。

3. 拟采取的研究方案及可行性分析

1：本研究项目理论依据充分，研究问题源于课题组临床实践，前期工作基础良好。

近 10 年，晚期胰腺癌的化疗方案发展迅速，取得了积极的进展，产生了多种新的联合化疗方案，如 AG 方案，mFOLFIRINOX 方案以及 NALIRIFOX 方案等。然而由于胰腺癌本身的晚发现，特殊肿瘤微环境以及异质性等特征，其整体的疗效仍然很差，平均生存期仅 8-11 个月。因此，在已有的优良化疗方案基础上，开发更加有效的和系统性的联合治疗方案是晚期胰腺癌治疗的非常迫切。已有多项临床研究表明，虽然单独的 ICI 免疫治疗对晚期胰腺癌病人无明显效果，但联合 AG 方案在却能让部分晚期胰腺癌患者明显获益^[3, 34, 35]。这些临床研究结果表明，一方面部分晚期胰腺癌患者对免疫化疗联合治疗方案具有潜在敏感性；另一方面晚期胰腺癌患者有可能通过联合化疗或者其它治疗方案，进而激活其免疫活性，使其对免疫治疗反应。因此，研发精确筛选对联合免疫治疗反应病人的策略，并探索激发不反应晚期胰腺癌患者免疫活性的方法，是目前胰腺癌精准联合免疫治疗的一项重要目标。

为了解决这临床一问题，前期工作中，课题组完成了一项晚期胰腺癌的免疫联合治

疗（anti-PD-1+AG 方案）前瞻性临床研究（No. ChiCTR2000032293，纳入 72 例胰腺癌病人）。结果表明，在 AG 方案中加入特瑞普利单抗（anti-PD-1）作为晚期胰腺癌的一线治疗方案的安全性是可控的。亚组分析表明 PD-L1 的表达状态与患者对联合免疫治疗的反应具有一定的相关性。因此，我们推测，在部分晚期胰腺癌患者中，anti-PD-1 免疫治疗能有效的提升 AG 方案对胰腺癌肿瘤的治疗效果。进一步，利用超多指标 CmTSA 染色技术以及空间分析策略，我们发现，对治疗反应良好的病人具有明显的 DCs-Th/CTL 多细胞相互作用现象，而该种 DCs-Th/CTL 多细胞相互作用在空间上会形成可被计算机空间分析所识别的高维多细胞空间结构域，该种空间结构域高频率的存在于反应良好的病人，其对敏感病人的预测准确率远高于单纯的 PD-L1 阳性评分结果。因此，课题组对于本项目的顺利实施已完成了充分的理论准备以及前期研究数据铺垫

2.对应临床需求的染色试剂以及来源需要具有极高的稳定性以及可靠性，商用试剂盒无法满足需求。

因此课题组拟与生物治疗国重抗体及化学合成实验室合作，对其中部分关键试剂实现自合成及标准化。

课题组拟通过与生物治疗全国重点实验室叶庭洪化学合成课题组合作，共同设计兼具高荧光激发效率，以及荧光淬灭效率的循环淬灭荧光小分子 cyclic-480, cyclic-550, cyclic-640, cyclic-730。该类小分子具有独特的荧光激发共轭键，能高效率激发同时也可高效率淬灭。

另一方面，高效率的 TSA 循环免疫染色，需要特殊的多聚 HRP 二抗配合。该种酶标抗体需要通过辣根过氧化物酶(HRP)-IgG 体系，以葡聚糖(Dex)作为载体，制备 Dex-HRP-IgG 结合物。该过程中需要对葡聚糖合成、辣根过氧化物酶纯化、以及其与羊抗鼠/兔 IgG 的结合等多过程进行优化及标准化。该部分研究课题组将于生物治疗国重实验室全爱平蛋白合成课题组联合完成。

3：多重循环免疫荧光染色（CmTSA）涉及到单细胞分辨率的超多指标的荧光标记，该技术对多色光学成像的速度以及通道数具有很高的要求，商用的多重染色成像设备无法满足需求。

因此，课题组拟基于 CmTSA 多重染色技术，通过与转化医学中心光学成像中心，搭建一种适配该技术的全新的多重染色病理切片扫描设备。目前实现超多色扫描的成像技术包括光谱拆分技术，循环淬灭技术以及窄带光谱成像技术。目前荧光光谱拆分技术仍

具有专利限制，且其成像的可靠性以及速度都不能满足高通量的临床病理片的扫描需求。因此，课题组拟与转化医学光学成像中心赵成建教授实验室合作，基于窄带光谱成像以及循环光成像两种技术，并结合软件的光谱成像合成技术，研发一种高效率的超多色扫描平台。

4：常规病理切片的组织面积一般超过 1cmX1cm，该区域至少跨越数百个高倍视野（20X），其中包含上百万细胞，而多重染色会进一步赋予这些细胞超过 10 种颜色。该种数量级的病理图像数据必须由具强大运算能力的病理分析软件进行分析。

目前国际上能处理该种多重免疫染色病理图像分析软件主要有三种，HALO AI™（Indica Labs，美国），TissueGnostics（TG，奥地利）以及 Visiopharm A/S（丹麦）软件。该类软件对多重免疫染色的病理图像数据处理具有非常多成熟的应用，且这些软件分析结果已发表大量顶刊水平文章，收到国内外同行认可。因此，课题组拟通过与相关生物公司直接合作，或者租借的方式获取了这些深度学习病理软件的使用权限，进而对产出的病理图像大数据进行免疫微环境免疫细胞肿瘤，组成以及空间分布特征分析。

另一方面，由于上述病理软件都由国外公司提供，虽然目前能满足我们对多重染色的组织细胞进行分割识别以及空间相互作用分析的要求，然而该类软件使用费用昂贵（搭配深度学习模块的三种软件本身价格都接近或者超过 100 万），同时其由于软件架构相对陈旧，因此其对宏观/大靶面的病理图像数据处理速度及效率较低。

生物治疗国重陈崇教授实验室长期以来，一直致力于利用单细胞测序数据，以及空间转录组数据，分析肿瘤发生，发展以及耐药性研究。该研究室对于 R、Python 和 MATLAB 等数据计算，视图分析/分割等软件的应用，及相关运行脚本等编写一直处于领域内领先水平。本项目中，课题组拟通过与陈崇教授课题组合作的方式，结合目前最新的 CV（Computer Vision，计算机视觉）技术以及 Python 编程语言，联合开发一种全新的高效率病理分析软件，应用于肿瘤免疫微环境分析。

5：基于多重免疫染色技术的肿瘤免疫微环境空间分析，其核心仍然是立足于病理免疫染色技术，以及对染色结果的判别分析。因此该种染色技术以及分析结果在临床应用上的稳定性及可靠性，需要临床病理指导训练及修改人工智能 AI 对病理图像的深度分析。

临床免疫组化 (IHC)染色主要通过染色特定的蛋白质标志物或其他标志物，用于识别病理组织内特定细胞及其特定蛋白的表达情况。其是病理科最常用的诊断技术，是近半个世纪以来针对实体瘤和细胞学标本的主流诊断工具。无论是何种多重免疫染色技术，

其核心仍然是免疫组化染色技术，其将单色的 IHC 染色结果，进一步拓展到 7 色甚至 20 色以上。对于单个或者多个指标对免疫微环境中不同细胞类型的识别，仍然需要病理专家通过蛋白表达特征以及细胞形态综合判定。因此，针对多重免疫染色的病理图像 AI 分析技术，整个研发过程需要病理专家的监督以及对 AI 的协助训练。

华西医院病理科是目前国内规模最大的病理科之一，其集医疗、教学、科研工作于一体，参与制定多项临床诊断标准以及指南的编写。近期，病理科何度医生带领的团队在中华医学会病理学分会主办的中国病理青年精英识图大会总决赛中取得了第一名的成绩，充分展示了华西病理科在国内临床病理诊疗领域的领先地位及权威性。本项目中，课题组在研发并训练人工智能 AI 对多重免疫染色的病理图像进行自动化分析过程中，将有何度医生团队参与协助及矫正 AI 对肿瘤微环境中各类免疫细胞的识别及分析流程，推进自动化肿瘤免疫微环境空间图谱绘制的高效率及稳定开展。

4. 本项目的特色与创新之处

1. 单细胞空间组学技术创新：自主研发针对临床石蜡切片的高通量单细胞空间分析平台（可低成本同时分析 20-30 患者的全切片肿瘤微环境特征）。

主要技术突破：针对临床石蜡切片，首创“光循环超多标染色技（CmTSA）”，突破进口技术（如 Codex/IMC 等）依赖寡核苷酸标签或稀有金属抗体的限制，兼容国内常规临床抗体，无需定制试剂，检测蛋白集可自由设计（>30 种标志物）；同时，开发“空间浸润-互作量化模型”（SOAPy-Par），支持临床大队列样本的并行运算，以及个体患者微环境内免疫功能域的自动识别与活性评分。

2. PDAC 免疫治疗响应机制创新：PDAC 免疫响应关键 DCs-Th-CTL 功能域的发现以及调控机制解析。

主要机制发现：通过 scRNA-Seq 与单细胞空间组学联用分析，明确功能域的具体功能（如 MIF-CD74 轴激活、抗原呈递增强），底层形成及维持机制（受体-配体，趋化或关键分子作用对，如 STING/IFN- γ ），为预测体系的建立，以及靶向激活提供理论依据（比如推进课题组尝试放疗+免疫+AG 三联方案，目前已在临床研究结果中初见成效）。

3. 多学科交叉融合，研发国际领先的免疫微环境可视化技术平台和数据库

肿瘤免疫微环境空间图谱绘制技术在国际上仍没有成熟的解决方案，本项目中课题组设计了一套从超多指标免疫染色技术，循环染色多通道成像技术，到基于计算机视觉的 AI 分析软件的完备解决方案。该方案涉及到特殊荧光小分子化学改构，基于光学及光化学的荧光淬灭技术，基于生物化学的抗体高级结构解聚技术，多光谱/通道光学成像硬件设计，以及基于计算机视觉的人工智能 AI 软件开发。因此，该项目针对于肿瘤免疫治疗领域的一个重要技术难点/瓶颈，交叉融合了化学，光学，生物化学以及计算机人工智

能等多学科知识，研发了一套国际领先的肿瘤免疫微环境空间图谱绘制技术完整解决方案。并且基于此技术，建立肿瘤免疫微环境图谱数据库具有非常重要的意义。在基础研究方面，大量肿瘤免疫微环境图谱数据的分析以及比对，对深入的研究肿瘤免疫微环境的进化规律以及机制，探索新的免疫治疗靶点以及治疗策略具有重要意义。在潜在的临床应用方面，通过绘制个体患者的免疫微环境图谱，通过与数据库整体数据对比，可以为患者选择最合适的免疫治疗方案，实施个体化免疫或者联合免疫治疗。

(三)成果应用前景、社会效益

本项目聚焦于肿瘤免疫治疗前沿领域中最核心的关键瓶颈——缺乏高维度、空间分辨率高、可量化的肿瘤免疫微环境可视化手段。项目成果在基础研究、临床应用与产业转化三个层面均具有显著的推广前景与社会效益：

1. 推动精准医学发展，服务国家重大健康战略

随着肿瘤免疫治疗的快速推进，临床对个体化免疫反应预测和疗效评估的迫切需求日益增强。本项目将建立国内首个大规模、高通量、可结构化的肿瘤免疫微环境空间图谱数据库，填补国内在肿瘤免疫可视化领域的空白，为精准免疫治疗提供高质量参考依据。这一技术平台的建成，将有助于突破“免疫治疗盲用”瓶颈，推动个体化、分型化、可调控的精准治疗模式，契合《“健康中国 2030”规划纲要》中“提升癌症精准防控水平”的核心任务。

2. 建设国际领先的技术平台，助力高水平基础科研

项目将形成一整套涵盖高通量免疫染色、国产多通道光学扫描设备、人工智能图像识别与空间分析的原创技术链条，推动我国在肿瘤空间病理图谱研究领域处于国际领先

水平。该技术体系的成熟化不仅能够服务本单位科研任务，同时也将为全国多家肿瘤专科医院与研究机构提供平台支持，持续助力我国肿瘤免疫机制、耐药机制、新靶点发现等方向的原创性科学研究。

3. 赋能临床诊疗流程，促进科技成果转化

本项目所建立的标准化空间图谱绘制流程及配套图像分析软件，将具备良好的临床兼容性和扩展性，未来可广泛应用于肿瘤多中心临床研究协同平台建设、药物联合治疗方案评估、免疫治疗疗效预测等多个临床诊疗环节，推动从“组织学分型”走向“功能性免疫分型”。同时，项目成果中的高端荧光探针试剂盒、多通道扫描仪及病理图像分析系统等核心模块具备明确的产业转化路径，具备申报发明专利和医疗器械注册的条件，未来可实现技术商品化与工程化推广，带动相关高端医疗器械和试剂产业发展。

4. 促进多学科交叉融合，提升人才培养与区域科研能级

项目汇聚免疫学、病理学、人工智能、光学工程、药学等多个学科，构建高度融合的交叉科研平台，为本单位及合作团队培养具备“临床+AI+光学+生物”复合能力的高水平科研与工程人才创造良好条件，有助于打造西部医学中心的科技创新高地，提升国家生物医药与健康产业核心竞争力。

5. 增强社会效益与促进公众健康

癌症是我国居民死亡的首要原因之一，肿瘤免疫治疗的快速普及带来了新的生存希望，但其高成本、高风险和低响应率问题仍影响群众受益广度。本项目通过推动精准免疫识别和靶向治疗，不仅有助于提升治疗效率和资源配置效益，更有望降低无效治疗带来的经济负担，增强大众的健康获得感、信任感与满意度，最终实现“科技为民、健康惠民”的重大社会价值。

(四)研究基础与工作条件(不得透露申请者单位和姓名信息)

1.研究基础(与本项目相关的研究工作积累和已取得的研究工作成绩)

1. 研究基础 (与本项目相关的研究工作积累和已取得的研究工作成绩);

在肿瘤病理切片超多色染色技术研发方面，申请人课题组已攻克部分关键技术难点，积累了部分研究工作，以支持该项目的顺利实施。现总结如下：

1) 已研发高效温和的抗体剥离试剂，解决了抗体种属对多色免疫染色的限制，实现了互相不交叉的顺序免疫染色。

目前免疫多色染色受限于抗体种属（小鼠，兔及大鼠等）限制，特异标记数量非常有限（一般不超过 3 色）。为了能解除多色免疫染色需要不同种属来源抗体配合的限制，申请人研发了一种温和而高效的抗体剥离（Ab strip）试剂，该试剂结合 TSA 共价荧光染色方法，可使抗体染色相互不干扰，实现同种属（如都是兔抗）来源抗体独立顺序染色（图 1）。

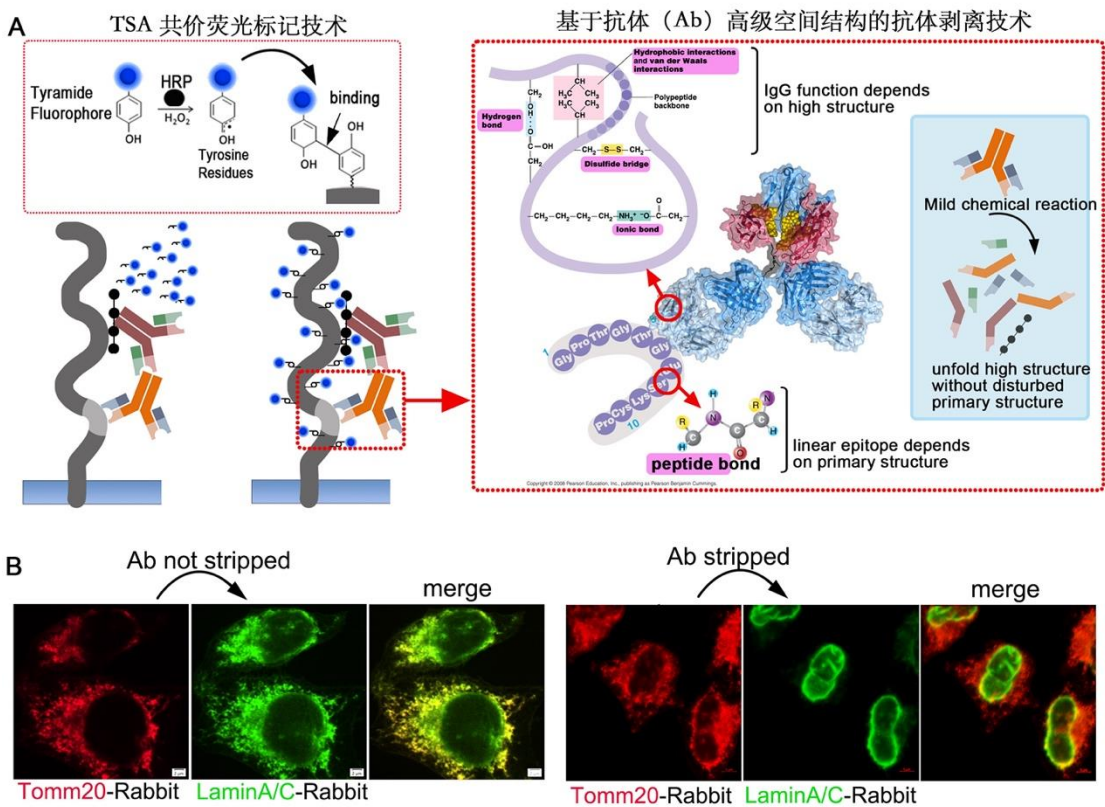


图 1：同种属来源抗体相互独立的顺序染色。（A）（左）图示展示 Tyramide signal amplification (TSA) 共价荧光染色原理；（右）与目标抗原不同，IgG 抗体（包括一抗和 HRP 二抗）的功能依赖于高级空间结构，基于此差异开发一种不影响抗原表位的温和抗体剥离技术。（B）利用抗体剥离（Ab strip）技术，在细胞爬片上实现了同种属（兔来源）抗体的双色染色。（研究结果未发表）。

2) 在超多色免疫染色技术方面，已研发标记荧光的差异淬灭试剂及设备，实现了标记荧光的特异淬灭，使循环染色成为可能。

通过光谱拆分技术，以及窄带光谱成像技术实现的多重免疫染色一般不超过 7 色。为了解决该限制，前期工作中，课题组通过修饰荧光分子化学结构，并自研了一种配套

的差异光谱淬灭设备，实现了对多色染色样本荧光标记的差异性淬灭，为循环染色奠定了基础（图2）。

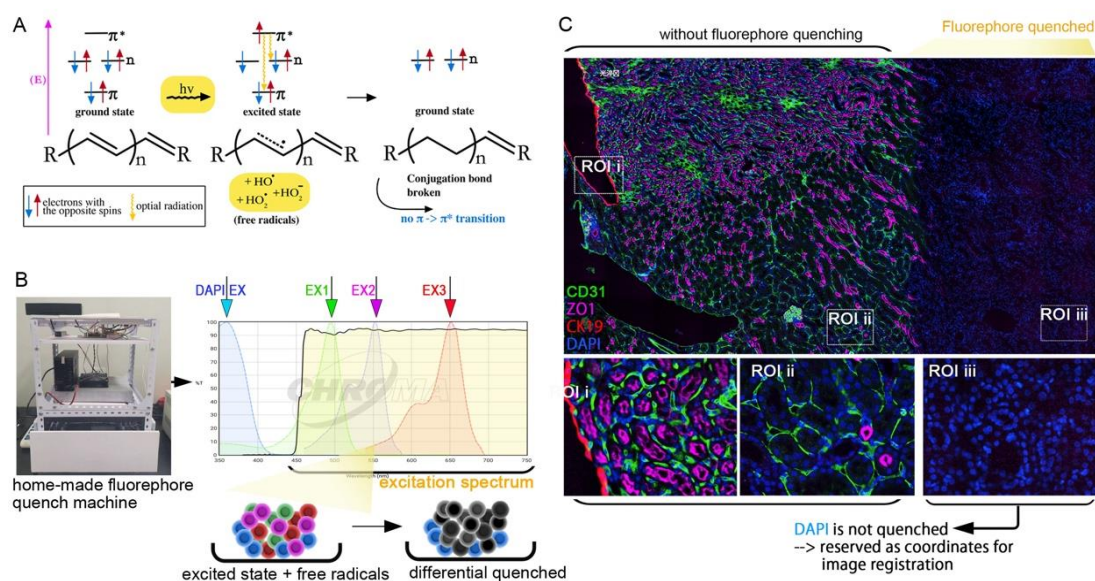
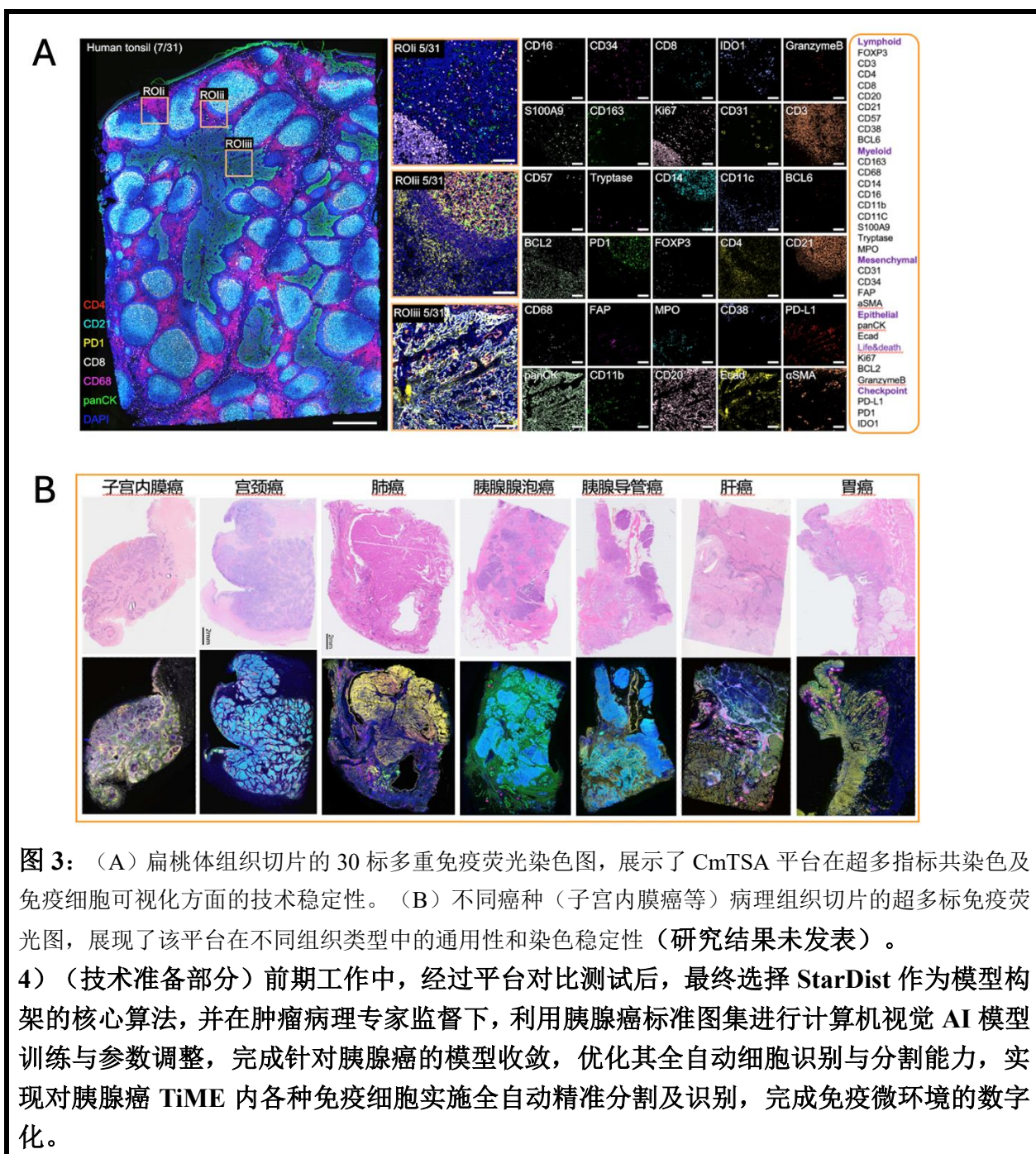
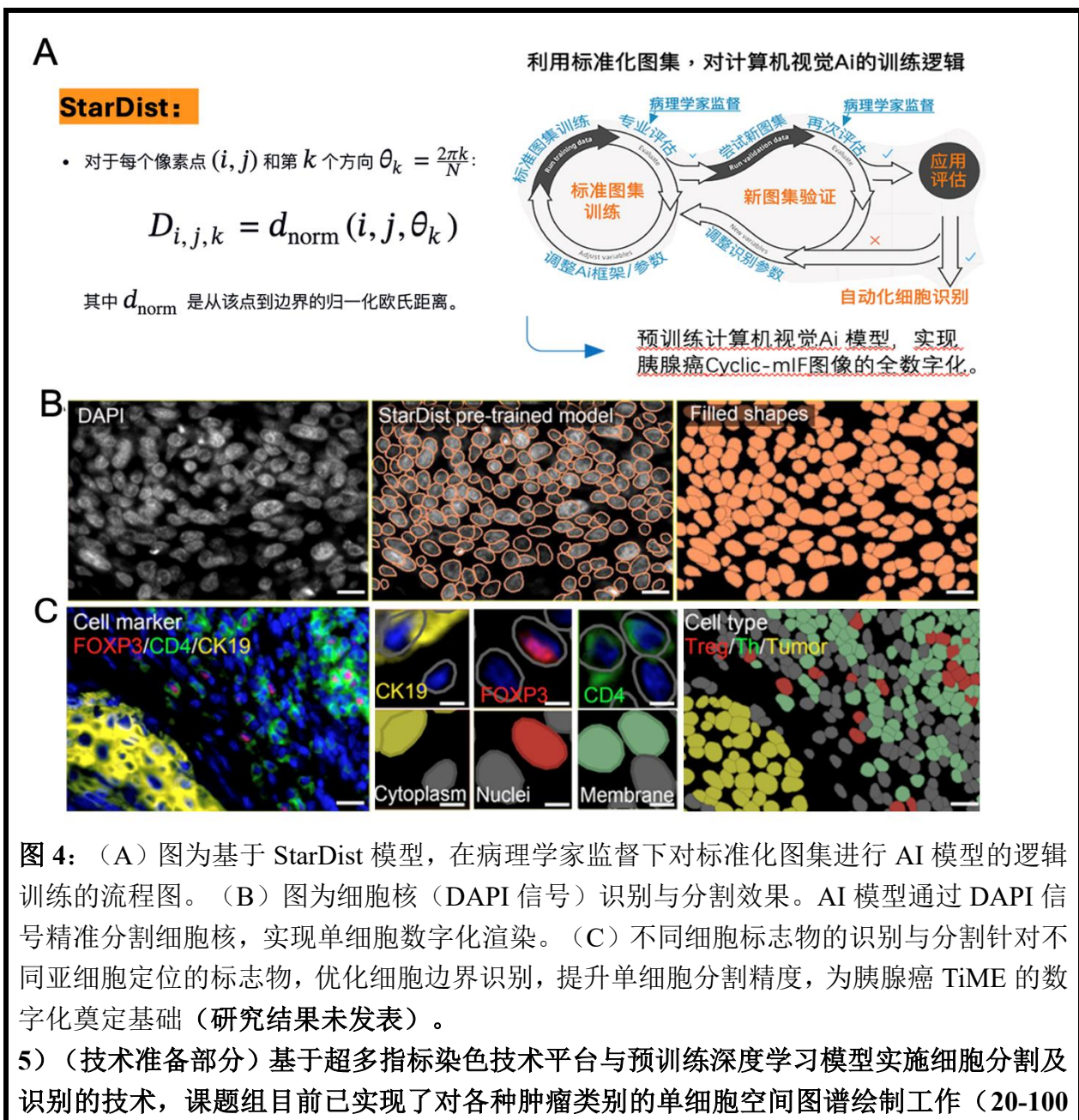


图2： 高效率的差异荧光标记淬灭。（A）示意图展示特异修饰荧光分子被激发过程中，电子跃迁过程中产生的特异光辐射，以及该过程中为电子云流动提供路径的共轭键被破坏后，荧光分子丧失电子跃迁及荧光激发能力情况。（B）图示展示自研荧光分子光淬灭设备对多色染色标本实施差异光淬灭原理。（C）小鼠肾切片实施多色染色后，部分组织 (ROI iii) 实施差异荧光剥离后，三种标记荧光被特异淬灭，而用于循环染色坐标的 DAPI 染色不受影响。（研究结果未发表）。

3）（技术准备部分）临床石蜡切片内细胞的 mRNA 相较于蛋白而言不太稳定，因此空间转录组学（如 10X visium HD）很难在临床大队列患者（>数十例患者）内稳定的提取每个患者的空间数据。本项目研发的基于 CmTSA 超多指标免疫染色技术平台能更为稳定的在单细胞水平可视化患者微环境内的各种免疫细胞，且对于各种肿瘤及临床样本（夹取，穿刺及手术大标本）具有广泛的通用型（图3）。





万细胞/患者切片)，充分展示了该技术平台的通用性。

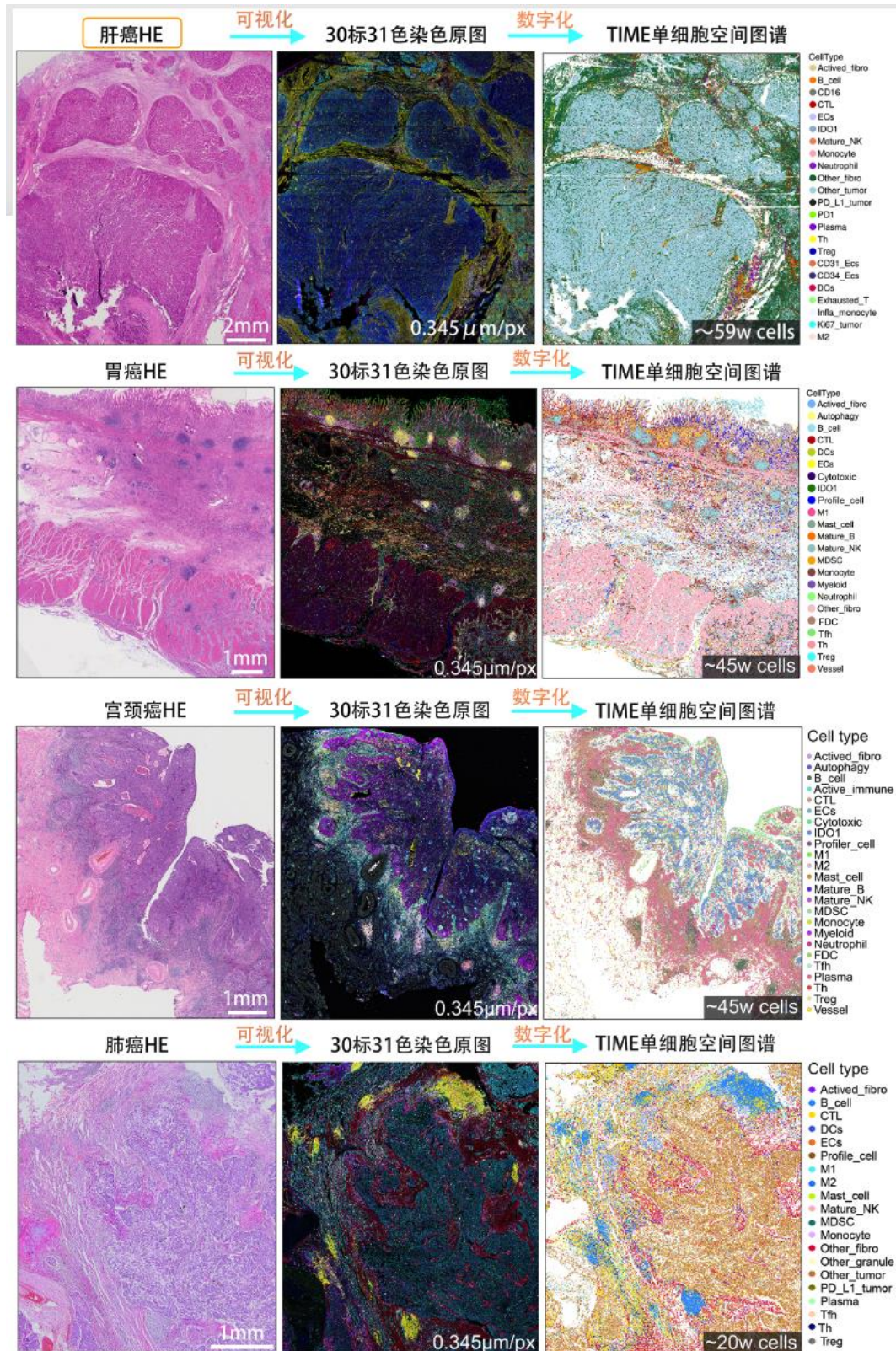


图 5：基于上述染色与 AI 细胞识别分割技术，对不同肿瘤组织切片进行全免疫微环境单细胞空间图谱绘制（图展示肝癌、胃癌、宫颈癌、肺癌的图谱）。通过在多种肿瘤组织上进行超多标染色与 AI 细胞识别分割，证明平台在绘制 TiME 单细胞空间图谱的稳定技术

支持与能力。

6) 在前期工作中, 课题组完成了一项晚期胰腺癌的免疫联合治疗 (anti-PD-1+AG 方案) 前瞻性临床研究 (No. ChiCTR2000032293, 纳入 72 例胰腺癌病人), 并评估了患者在 anti-PD-1+AG 联合治疗方案中的疗效。基于上述技术准备, 课题组收集了研究中所有患者胰腺癌病理组织切片进行 TiME 单细胞空间图谱绘制, 可视化其微环境中各种免疫细胞的空间分布特征 (前期临床研究结果部分)。

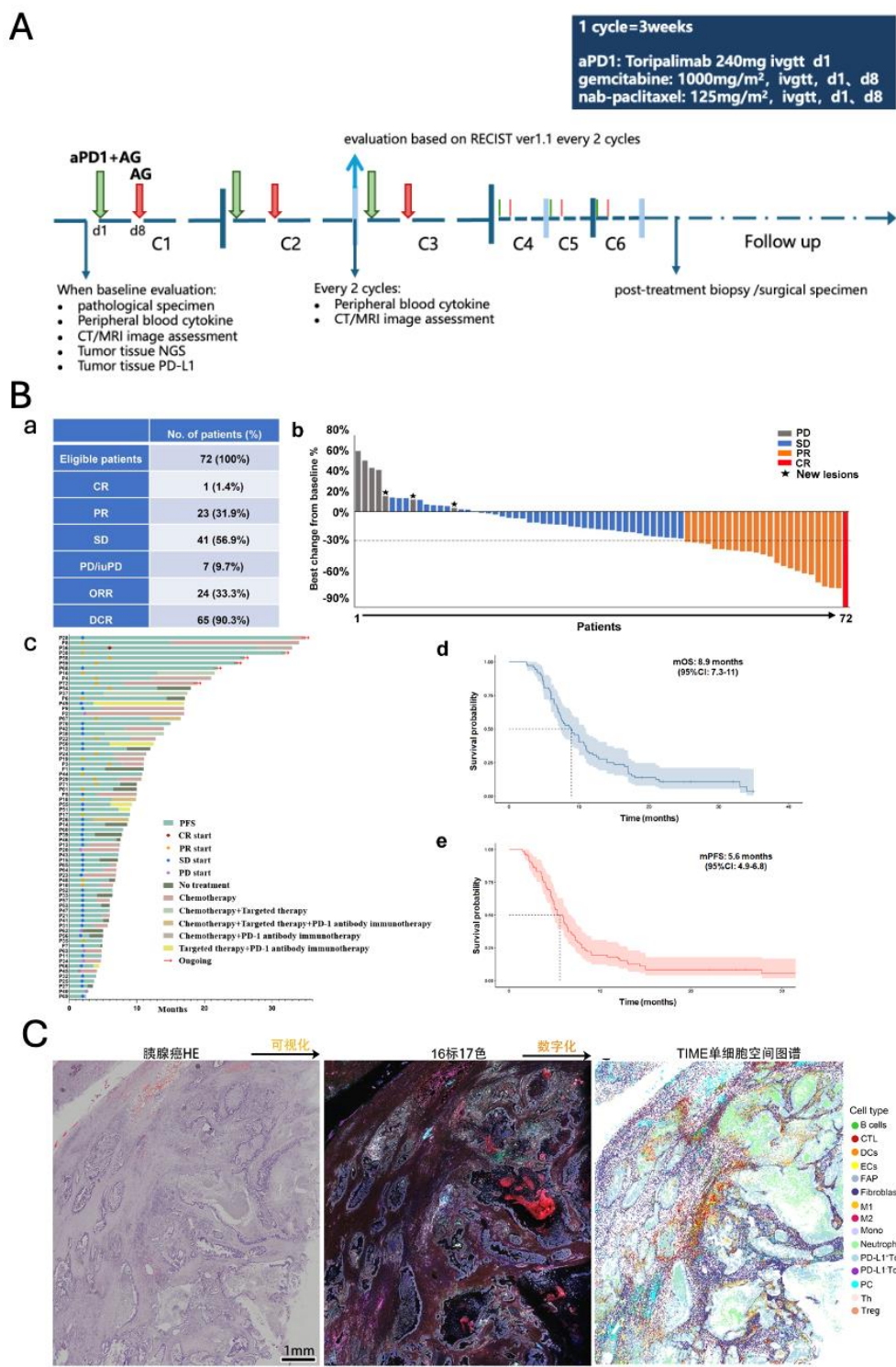


图 6: (A)图为胰腺癌 anti-PD-1+AG 联合治疗临床试验的临床处置示意图。(B)为该临

床试验疗效评价结果：(a) 根据固体肿瘤反应评估标准版 1.1 (Solid Tumor Response Evaluation version 1.1)，对意向治疗 (ITT) 人群进行肿瘤反应评估。列出了疗效结果 (CR, PR, SD, PD/iuPD, ORR 和 DCR)。CR, 完全缓解；PR, 部分缓解；SD, 稳定病变；PD, 进展性病变；iuPD, 免疫未确认进展；ORR, 总体反应率 (包括 CR 和 PR)；DCR, 疾病控制率 (包括 CR, PR 和 SD)。(b) 治疗反应的瀑布图。(c) 游泳者图，展示了所有参与者 (n=72) 的无进展生存期 (PFS) 以及首次治疗后随后的治疗类型，不同反应评估时间点用不同颜色的菱形标记。(d-e) 对整个 ITT 人群 (n=72) 使用 Kaplan-Meier 估计法绘制的无进展生存期和总体生存期曲线。虚线表示中位 PFS 和中位 OS。(C) 图为该临床试验患者胰腺癌病理连续切片的 H&E 染色图、与该区域对应的免疫荧光染色图以及 TiME 单细胞空间图谱。AI 模型通过细胞核识别对各个细胞进行了精确识别分割，数字化 TiME 多种细胞，清晰可视化肿瘤及免疫细胞的分布，显示 CmTSA 染色的准确性。

7) .基于临床研究中患者的 TiME 单细胞空间图谱，课题组深入分析微环境中的细胞丰度、细胞互作特征与空间特征。在微环境空间分析中，我们发现对治疗应答者（疗效评价为 PR 的患者）与非应答者（疗效评价为 PD 的患者）的 TME 中富集的免疫生态位 (INs) 类型存在差异（前期临床研究结果部分）。

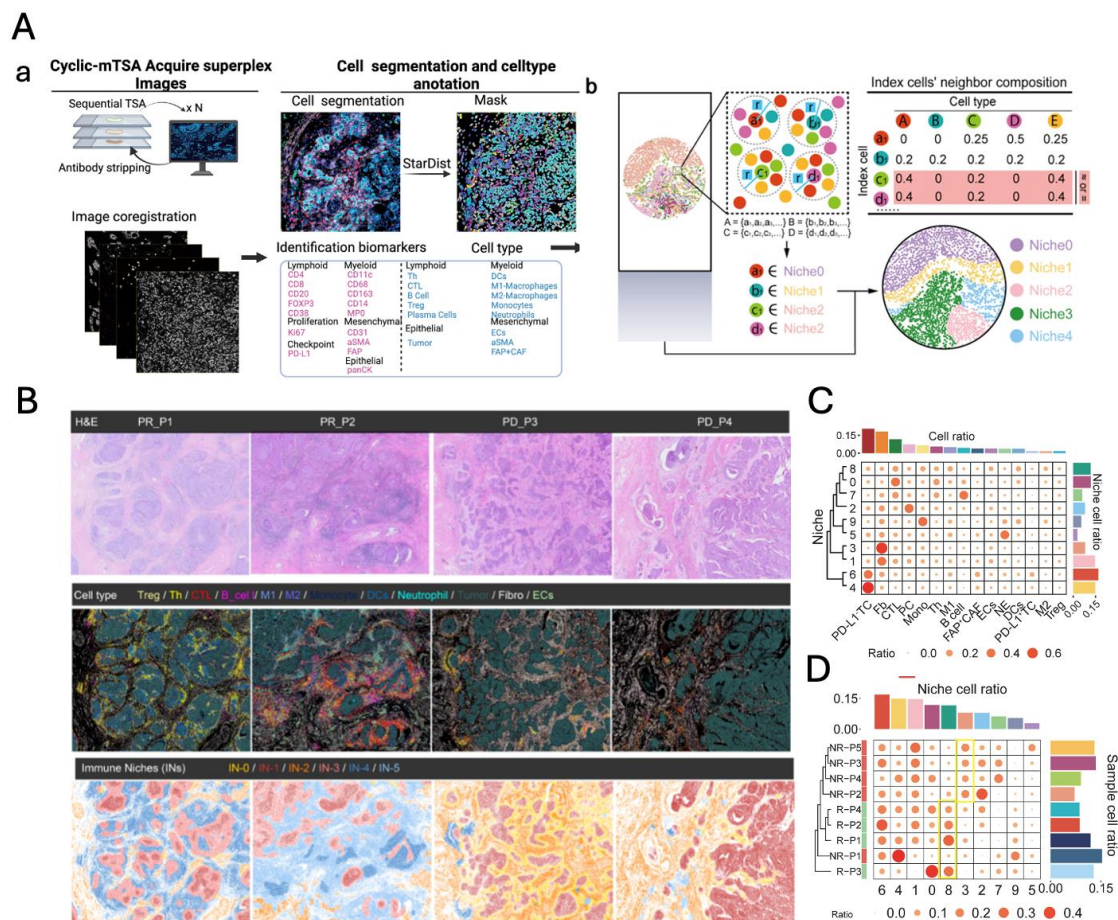


图 7：（A）图为 TiME 单细胞图谱绘制和细胞邻域分析流程图。（a）通过 CmTSA 超多标染色与细胞识别分割将胰腺癌 TiME 数字化，（b）展示 TME 中 INs 的定义：基于半径的网络，一个索引细胞及其周围在固定半径内的邻近细胞。使用 K 均值聚类将细胞聚

类成不同的 INs，热图展示了每个索引细胞周围邻近细胞类型的比例。（B）图为临床研究中治疗应答者（疗效评价为 PR 的患者）与非应答者（疗效评价为 PD 的患者）的 TiME 单细胞图谱以及 INs 渲染图，展示应答者与非应答者的主要构成其 TME 的 INs 存在显著差异。（C）所示热图展示了不同细胞类型占不同 INs 的比例，如 CTL、B 细胞、巨噬细胞和成纤维细胞，跨不同 INs 的比例。热图显示了应答者与非应答者之间 10 个不同免疫生态位的细胞组成。（D）热图展示了应答者（R）和非应答者（NR）中免疫生态位（IN-0 到 IN-9）的分布。无监督聚类揭示了不同的生态位组成，其中 IN-3 在非应答者中富集，而 IN-8 在应答者中更为常见。

8) 根据前期研究中在临床队列患者中观察到的应答者和非应答者 TME 中富集的 INs 类型差异，我们进一步研究解析了差异 INs 的细胞组成和其中的关键细胞互作类型及强度，发现非应答者 TME 中以 DC 与中性粒细胞、单核细胞和 M1 型巨噬细胞，以及强烈的成纤维细胞- T 细胞相互作用为主；而应答者 TME 以 DC 与 CTL、Th 和 M1 型巨噬细胞之间的相互作用为主（前期临床研究结果部分）。

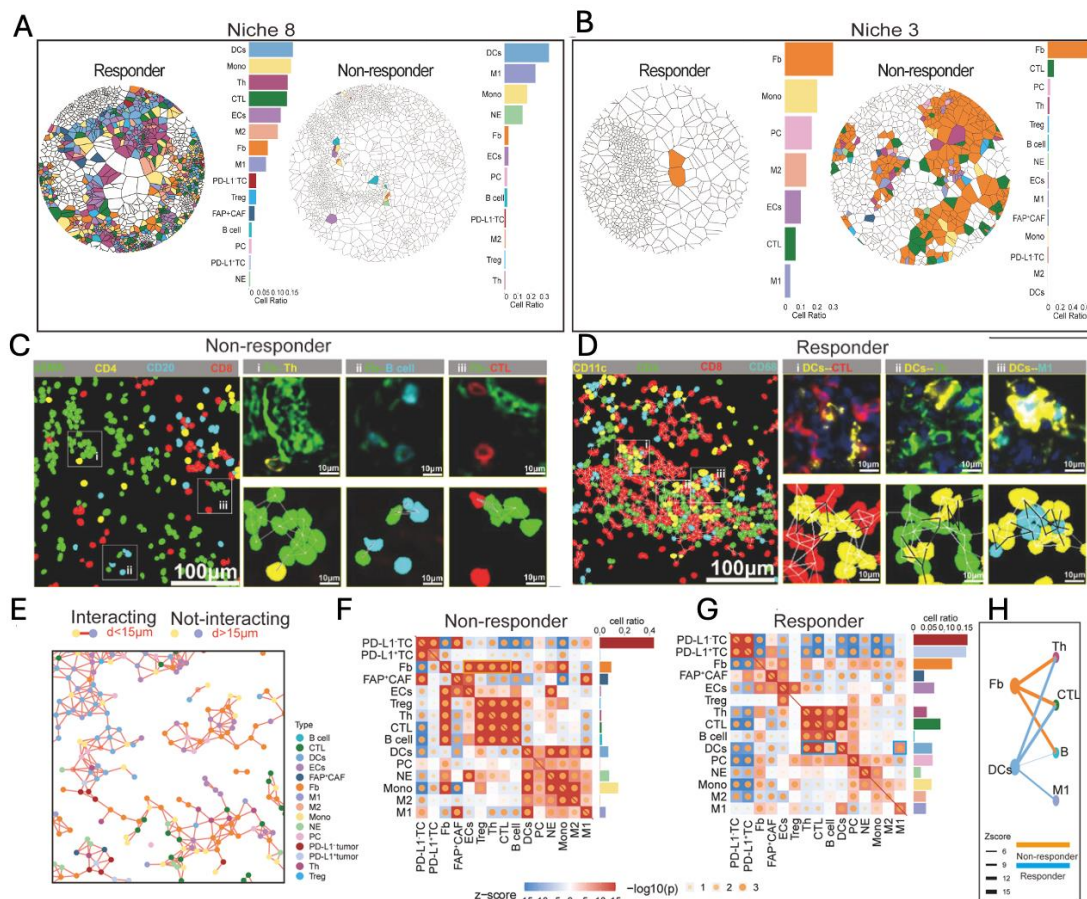


图 8: (A) 为 IN-8 的空间细胞图，比较应答者（左）和非应答者（右）。应答者表现出密集且多样的免疫细胞混合（DCs、单核细胞、CTL），而非应答者的免疫细胞浸润稀疏。（B）为 IN-3 的空间细胞图，比较应答者（左）和非应答者（右）。非应答者中成纤维细胞（Fb）丰富，免疫细胞较少，而应答者则显示出较少的成纤维细胞存在。（C）示意图展示了在非应答者中的成纤维细胞- Th（i）/ 成纤维细胞- B（ii）/ DCs- CTL（iii）之间的空

间相互作用，(D) 示意图展示在应答者中的 DC-Th (i) /DC-CTL (ii) /DC-M1 (iii) 之间的空间相互作用。(E) 展示 TME 中细胞-细胞相互作用的网络图。距离小于 $15\mu\text{m}$ 的细胞相连，而距离大于 $15\mu\text{m}$ 的细胞则不相连。(F-G) 细胞-细胞相互作用强度的热图：非应答者 (F) 展示了 DC 与中性粒细胞、单核细胞和 M1 型巨噬细胞的相互作用，以及强烈的成纤维细胞-T 细胞相互作用；而应答者 (G) 展示了 DC 与 CTL、Th 和 M1 型巨噬细胞之间的相互作用。(H) 为应答者与非应答者 TME 中主要细胞互作的示意图。

9) 根据在临床队列中观察到的应答者与非应答者在主要细胞互作类型上的差异，通过进一步在更多患者中比较不同细胞-细胞相互作用的强度，找出有差异的关键细胞互作对并研究其作为预测治疗反应的效力，最终发现 DCs 密度、以及 DCs 与 Th、CTL 之间的相互作用可作为治疗反应的主要预测因（前期临床研究结果部分）。

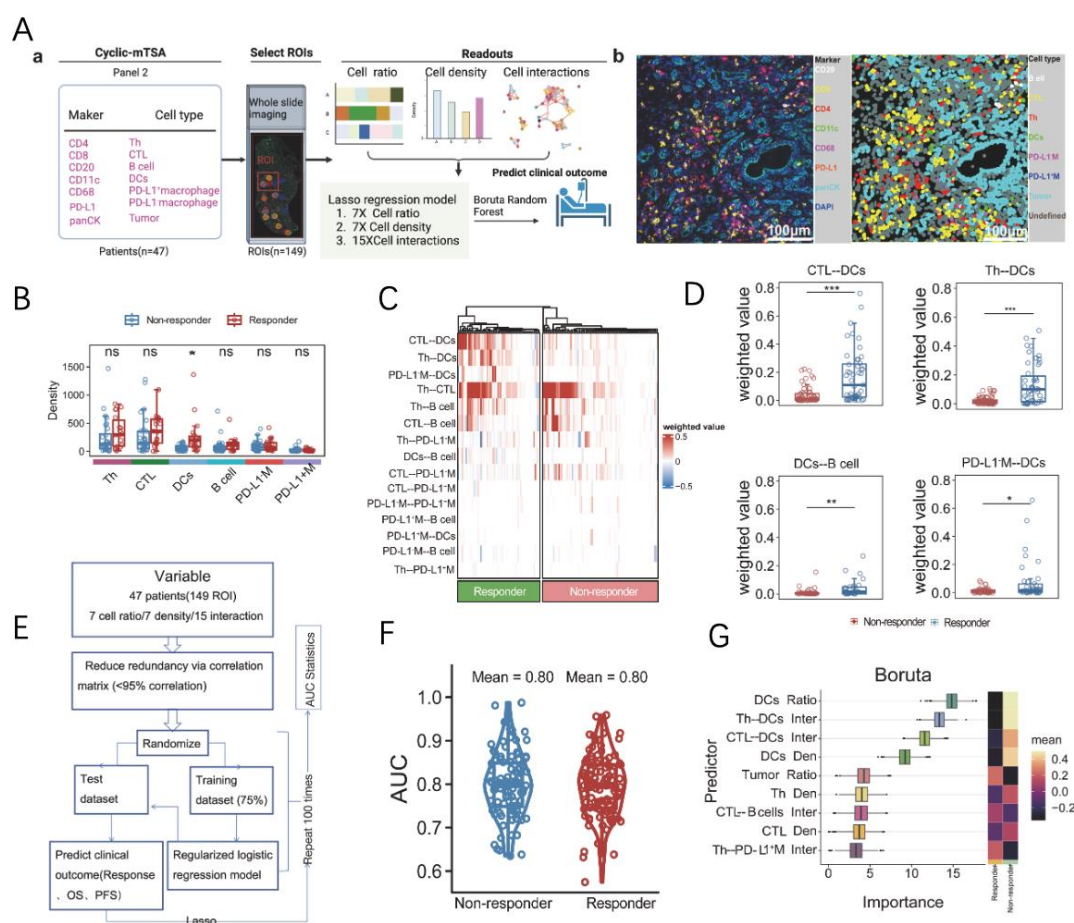


图 9： (A) 展示基于 47 名患者样本 CmTSA 工作流程和分析策略的示意图 (a) 以及临床样本的多重荧光染色示意图及对应的渲染图 (b)。其中染色示意图 marker 面板：DAPI（细胞核），广谱细胞角蛋白（panCK+），细胞毒性 T 细胞（CTL，CD8+），CD4+效应 T 细胞（Th，CD4+），B 细胞（CD20），PD-L1+巨噬细胞（PD-L1+M），PD-L1-巨噬细胞（PD-L1-M），树突状细胞（CD11c+）。渲染图面板表示组织内不同细胞类型的分割和标识。(B) 对应答者和非应答者之间的细胞密度进行定量分析。只有树突状细胞（DCs）显示出显著差异（ $P < 0.05$ ），而其他细胞类型在不同反应组之间没有显著变化（ns）。数据以均值 $\pm$ 标准误差（SEM）表示。(C) 热图展示了基于 47 名患者的 149 个

ROI（感兴趣区域）中细胞-细胞相互作用的强度。对应答者（绿色）与非应答者（红色）相比，树突状细胞与其他免疫细胞（如 CTL、Th、PD-L1-巨噬细胞）的相互作用更强。更高的相互作用评分（CTL--DCs、Th--DCs、DCs--B 细胞、PD-L1- M--DCs）与更好的反应结果相关。(D)比较应答者（蓝色）和非应答者（红色）之间的关键细胞对（CTL--DCs、Th--DCs、DCs--B 细胞、PD-L1- M--DCs）的细胞-细胞相互作用强度。箱型图显示，在应答者中，CTL--DCs ($P < 0.05$)、Th--DCs ($P < 0.05$)、DCs--B 细胞 ($P < 0.05$) 和 PD-L1-巨噬细胞 (PD-L1- M) --DCs ($P < 0.05$) 的相互作用评分显著较高。数据以均值 $\pm$ 标准误差 (SEM) 表示。(E) 基于多层次多重成像数据的预测建模分析过程。(F) 小提琴图展示了预测模型应用于应答者和非应答者的 AUC 值分布。(G) Boruta 特征重要性分析识别治疗反应的关键预测因子（双项 p 值 < 0.01 ），包括细胞比例、细胞密度（例如，DCs 密度，CTL 密度）和细胞-细胞相互作用（例如，Th--DCs 相互作用，CTL--B 细胞相互作用）。Inter，表示相互作用；Den，表示密度。

以上是本项目的前期研究基础，包括技术准备工作与前期临床研究结果以及正在开展的临床研究工作。本项目将基于这些前期的研究基础，进一步优化染色技术与计算机视觉 AI 模型，为大队列临床研究提供高效的基础技术支撑；同时，通过结合单细胞转录组数据 (scRNA-Seq) 以及空间转录组数据 (10x Visium HD) 数据，利用类器官或小鼠模型更加深入地探究 DCs-Th-CTL 激活与调节、行使功能与维持功能的机制。

2.工作条件(包括已具备的实验条件，尚缺少的实验条件和拟解决的途径)

本研究对于光学成像设备具有非常高的硬件需求。本研究内容将主要在生物治疗国家重点实验室开展。申请人团队成员（赵成建）作为国家重大基础设施（川大）-分子与细胞成像平台的建设负责人，熟悉本中心所有光学成像设备的应用以及硬件。中心具有 Zeiss 900/880 Alryscan 超分辨共聚焦显微镜，Zeiss 980 Stedicom 超分辨共聚焦显微镜，Olympus SpinSR10 高速扫描共聚焦，Olympus VS200 多色高通量扫片机以及 Olympus FVMPE-RS 双光子共聚焦等适应于本项目光学成像需求的高端设备。

另外，生物治疗国家重点实验室学术队伍多元化，具有化学合成，光学成像以及基因组学等研究领域的数十个国家级研究人才队伍，整体科研队伍年轻且富有朝气，学术氛围浓厚，各课题组相互协作交流。因此，申请人所在研究平台，具备本申请项目需要的各种研究技术及光学设备条件，能保证研究工作的顺利开展。

(五)组织实施及相关保障措施

1.项目的组织管理措施和保障措施

为确保本项目顺利推进，课题组将构建科学高效的项目管理与执行机制，从组织结构、任务分工、进度管理、质量控制等方面强化保障：

（1）建立项目协调与管理小组

由项目负责人牵头，联合参与单位的核心骨干成员成立项目管理小组，负责项目整体统筹协调、计划制定、任务分解、进度监督与资源调配。每月召开例会，研判阶段性成果，动态调整技术路径，确保任务目标达成。

（2）实行模块化分工协作机制

本项目涉及多学科交叉研究，任务涵盖化学合成、自动化仪器开发、荧光染色、生物信息学、病理图像 AI 分析等多个技术模块。项目组将根据专业特长设立五个研究子组（荧光标记试剂研发组、自动化染色组、多通道扫描组、AI 分析软件开发组、临床病理验证组），各小组配备技术负责人及研究骨干，独立推进并定期交叉检查。

（3）依托交叉实验平台与现有研究基础

项目依托国家重点实验室、医院转化医学中心及病理科等平台资源，涵盖设备共享、样本资源、实验人员、临床专家等多方面优势，为项目实验开展和转化验证提供有力支撑。

（4）设立多重质量控制机制

对实验试剂合成、染色图谱构建、图像分析及数据库开发等核心环节设置关键质控点（KQC），实施过程记录和评估，确保产出数据的科学性和重复性；项目中期和结题前，组织专家中期检查及成果评估。

（5）风险预警与应急机制

针对试剂不稳定、设备调试延误、数据分析延迟等可能风险，提前设置技术备选方案与跨组协作通道，确保核心技术路线稳定运行。如遇关键技术瓶颈，将依托外部合作团队协助突破。

2.知识产权与成果管理及权益分配

（1）成果归属与知识产权管理

项目所产生的关键技术成果（包括但不限于高通量染色试剂、成像设备控制模块、图像分析算法软件、空间图谱数据库等），其知识产权归属按照参与单位及资助方相关规定执行，优先以专利、软件著作权、数据库登记等形式确权。

（2）专利与软件申请计划

预计申请发明专利 3-5 项、实用新型专利 2 项，登记软件著作权 2-3 项。项目组设立成果申报与审查小组，配合科技成果转化中心统一管理申请材料及流程。

（3）成果转化与共享机制

对于具备产业化潜力的技术成果，如自动化染色平台、多色扫描仪等，将与产业单位进行联合开发，探索成果转化路径。对于非商业目的的科研用途数据库与软件平台，可采取有条件开放、合作共享等方式，推动学术交流与行业应用。

（4）权益分配机制

项目组成员参与的阶段性成果（如文章署名、专利发明人、软件研发者）将依据实际贡献、项目记录及团队共识进行公平分配。涉及技术转化的经济收益，将在科研单位管理制度指导下，合理分配至团队与研究人员，激励持续创新。

（六）项目总体目标、年度目标和考核指标(项目总体目标要明确，年度目标要合理和具有针对性，考核目标要具体和量化)

2026.03-2026.06 优化染色技术绘制单细胞全免疫图谱

1）胰腺癌石蜡切片超多指标共染色技术的优化与验证

1.1 技术开发与优化：完成无抗体种属限制的多色标记技术和荧光循环技术的开发与优化，确保其在大样本（>30 色）中的稳定性和可重复性。

1.2 建立标准化胰腺癌超多指标染色图集数据库，用于训练计算机视觉 AI 模型。

2）计算机视觉 AI 模型训练与免疫细胞矢量图谱绘制

2.1 基于标准化数据库，训练高精度 AI 模型（基于 StarDist/Cellpose 等算法，完成免疫细胞的识别与定位。

2.2 优化 AI 模型，提高其在处理超多一百万细胞时的准确性和效率

2.3 基于 PDAC 患者基线单细胞转录组数据（scRNA-Seq），确定 PDAC 微环境内的免疫相关细胞种类及生物标记

2.4 使用超多指标共染色技术（CmTSA 技术），对本研究队列的全部胰腺癌患者切片（约 80 例样本）完成平行共标记，绘制首批胰腺癌肿瘤全景免疫细胞空间分布图谱。

2026.06-2027.02 空间特征算法分析与高级多细胞功能域探索

1）提取并分析队列患者微环境中免疫细胞组成、细胞丰度、空间分布以及多细胞免疫结构数量及特征，如三级淋巴结（TLS），血管周免疫龛（perivascular niche）等。

2）开发并验证空间算法，量化细胞浸润、离散聚集趋势及细胞间相互作用。

3）建立空间邻域算法，在患者全切片免疫微环境水平（包含~100 万细胞），识别并量化个体患者微环境内的功能域。

4）完成免疫细胞丰度与组成、特殊免疫结构、免疫细胞空间趋向性、空间互作特征及免疫功能域的识别及量化，评估其与患者免疫治疗响应的相关性。

2027.02-2027.07 相关性分析及复合评分系统构建与验证

1）单因素和多因素 Cox 回归分析：通过 Cox 回归模型分析免疫微环境特征与患者生存期的关系，识别关键预后因素。

2）复合评分系统构建：通过标准化处理细胞丰度和空间特征数据，建立复合评分系统，并评估其与免疫治疗响应的相关性。

3）多模态数据整合与建模：结合免疫微环境、基因突变、临床数据等多模态信息，

使用 LASSO 回归、随机森林、Cox 回归等方法，构建预测免疫治疗反应的多模态评分体系。

4) 结合内部及外部队列，综合评估多模态预测系统：在本项目的样本集中，通过划分分子集，进行交叉验证评估系统的 AUC、敏感度/特异度。另外，使用第三方独立队列（计划在分院区及其他医院院区收集>100 例患者数据）测试系统的泛化能力。同时，识别对预测模型贡献最大的特征，用于后续解析/解释模型：通过提取决策树的高权重路径规则，可以深入评估各种特征及因素的权重比，进而识别关键决策特征，为进一步解析/解释多模态预测模型提供方向。

2027.07-2027.10 DCs-Th-CTL 功能域功能解析

- 1) 计算功能域内细胞间的直接和间接互作方式及强度，解析其免疫功能。
- 2) 基于 scRNA-Seq 数据，分析 DCs、Th、Tc 和 B 细胞的表型及功能特征。
- 3) 基于功能域内细胞间空间互作特征数据，结合 scRNA-Seq 数据，利用 Cell-Chat 分析，提取功能域内 DCs-Th-CTL 的主要功能亚群。通过基因表达谱和细胞通讯分析，解析激活免疫功能域内的细胞交流机制。
- 4) 进行细胞功能测试，包括多重荧光染色评估 CTL 在功能域内的杀伤活性(Perforin、GrB 等)，检测 TH 细胞分泌的细胞因子（如 IFN- γ 、IL-21）对 DC/CTL 细胞的调控作用，验证 DC 与 TH/CTL 细胞的抗原呈递协同作用（通过 MHC-I/II 和共刺激分子）。

2027.10-2028.01 功能域机制解析与验证

- 1) DCs-Th-CTL 功能域形成机制解析
 - 1.1 联用功能域内细胞空间互作量化数据、单细胞转录组数据（scRNA-Seq）以及空间转录组数据（10x Visium HD），鉴定功能域内高表达的趋化因子（如 CXCL9/10/13、CCL5/19/21）
 - 1.2 通过体外趋化实验（如 Transwell 或微流控芯片模型），验证候选趋化因子对 CTL/TH/DC 细胞的定向招募能力，鉴定关键趋化因子
 - 1.3 利用 CellPhoneDB 或 NicheNet 联用单细胞数据以及细胞空间互作特征，分析并筛选功能域内关键受体-配体互作对（如 CD40-CD40L、ICOSL-ICOS、CD80/CD86-CD28、IL-6-IL-6R、IL-15-IL-15R α 等）
 - 1.4 通过体外共培养和活细胞成像技术，模拟多细胞功能域的形成过程。
- 2) 关键分子筛选与功能验证
 - 2.1 利用 CRISPR-Cas9 或 RNA 干扰技术，筛选并验证关键分子（如 CD80/CD86、PD-1/PD-L1）对功能域形成的影响。
 - 2.2 通过 ELISA 或 Luminex 检测细胞因子的分泌水平，解析其在功能域形成中的作用。

2028.01-2028.03 整合研究数据发表研究结果

- 1) 整合所有研究数据，总结胰腺癌免疫微环境空间特征及多细胞功能域形成机制的。
- 2) 发表高水平研究论文 2-3 篇，申请专利 1-2 项，提升团队国际学术影响力。
- 3) 培养青年科研骨干 3-5 名，形成具有国际竞争力的研究团队。
- 4) 申请专利 1-2 项，推动研究成果的临床应用

五、科研项目费用预算表（包干制）

单位：184000元（人民币）

序号	科目名称	预算金额	备注（计算依据与说明）
1	支出类目		
2	一、直接费用		
3	1.设备费		
4	（1）设备购置费		
5	（2）设备试制费		
6	（3）设备改造与租赁费		
7	2.业务费	11.4	
8	（1）材料费	3.4	
9	（2）试验物资费	5	
10	（3）实验室检查费		
11	（4）受试者补助费		
12	（5）燃料动力费		
13	（6）差旅费		
14	（7）会议费		
15	（8）国际合作与交流费		
16	（9）档案/出版/文献/信息传播/知识产权事务费		
17	（10）数据管理与统计分析费		
18	（11）伦理审查费		
19	（12）其他直接费用支出		
20	3.劳务费	3	
21	（1）劳务费		
22	（2）专家咨询费		
23	二、间接费用	7	
24	1.依托单位管理费		
25	2.水、电、气、暖等消耗费		
26	3.项目绩效支出		
27	4. 其他		
28	项目预算资金合计：184000元（人民币）		

费用预算填写须知

项目（课题）的支出范围包括直接费用和间接费用两部分。

一、直接费用是指在项目（课题）实施过程中发生的与之直接相关的费用，按设备费、业务费、劳务费三大类编制预算。

（一）设备费：是指在项目实施过程中购置或试制专用仪器设备，对现有仪器设备进行升级改造，以及租赁外单位仪器设备而发生的费用。计算类仪器设备和软件工具可在设备费科目列支。应当严格控制设备购置，鼓励开放共享、自主研发、租赁专用仪器设备以及对现有仪器设备进行升级改造，避免重复购置。

（二）业务费：是指项目实施过程中消耗的各种材料、辅助材料等低值易耗品的采购、运输、装卸、整理等费用，发生的测试化验加工、燃料动力、出版/文献/信息传播/知识产权事务、会议/差旅/国内外合作交流协作等费用，以及其他相关支出。

1.材料支出主要用于在项目（课题）实施过程中消耗的各种原材料、辅助材料等低值易耗品的采购及运输、装卸、整理等费用。

2.测试化验加工支出主要用于由于依托单位自身的技术、工艺和设备等条件的限制，在项目（课题）实施过程中委托或与外单位合作（包括依托单位内部独立经济核算单位）进行的检验、测试、化验、加工、计算、试验、设计、制作等所支付的费用。

3.燃料动力支出主要用于在项目（课题）实施过程中相关大型仪器设备、专用科学装置等运行发生的可以单独测算的水、电、气、燃料消耗等费用。

4.差旅/会议/国际合作与交流支出主要用于在项目（课题）实施过程中为组织开展学术研讨、咨询论证，以及组织协调项目或课题等活动而发生的会议费用；开展科学实验（试验）、科学考察、业务调研、学术交流等所发生的城市间交通费、住宿费、伙食补助费和市内交通费；研究人员出国及外国专家来华

开展科学技术交流与合作的费用。

5.档案/出版/文献/信息传播/知识产权事务支出主要用于在项目（课题）实施过程中，需要支付的出版、资料购买及印刷、文献检索、专业通信、专利申请及其他知识产权事务等费用。

6.咨询支出主要用于项目（课题）实施过程中支付给临时聘请的咨询专家的费用。

7.其他支出主要用于项目（课题）实施过程中除上述支出之外的其他业务费支出。

（三）劳务费：劳务费主要用于在项目（课题）实施过程中支付给项目（课题）组成员、参与项目研究的研究生、博士后、访问学者以及项目（课题）组临时聘用的研究人员、科研辅助人员、科研财务助理的劳务性费用。项目（课题）聘用人员的社会保险补助、住房公积金等纳入劳务费列支。

本会参照《四川省激励科技人员创新创业十六条政策》（川委办〔2016〕47号）文件精神，规定：本会科研项目的主要研究者和管理者人员可从劳务费中获得一定报酬，但最高支出标准应控制在1万元/人·月以内，且项目负责人劳务所得最高不能超过项目劳务费支出总额的50%。

科研项目劳务费由项目负责人根据项目规模大小、研发人员实际贡献大小确定具体金额，且项目组人员获取劳务费时要按照国家税法规定纳税。

二、间接费用是指项目（课题）依托单位在组织实施项目（课题）过程中发生的无法在直接费用中列支的相关费用。主要包括绩效支出及管理费用。

（一）绩效支出是项目（课题）依托单位为提高科研工作绩效安排的相关支出。

参照《四川省激励科技人员创新创业十六条政策》（川委办〔2016〕47号）

文件精神，我会支持研究经费到达项目负责人所在单位后，在扣除单位管理费和科研项目材料、燃料、动力、仪器设备运行维护及折旧等相关间接成本费用后，剩余经费由科技人员（团队）在保证完成合同任务的前提下，根据工作内容和合同约定合理自主安排。项目结题验收后，结余经费可全部用于奖励科技人员。项目负责人所在单位对科技人员（团队）劳务报酬的支出不纳入本人绩效工资管理。受到绩效奖励的人员按规定向国家缴纳税费。

（二）管理费用主要包括项目（课题）依托单位为项目（课题）研究提供的现有仪器设备及房屋，水、电、气、暖等消耗，以及有关管理费用的补助支出等。

参照《四川省激励科技人员创新创业十六条政策》（川委办〔2016〕47号）文件精神，项目依托单位管理费提取比例通常不超过实收我会项目研究经费的10%，若有超过10%的情形必须由项目负责人据实写出理由；对中央在川医疗机构、四川省以外的与川科研合作的医疗机构实收我会科研经费的管理费标准，可按依托单位的实际规定比例执行。

六、项目研究人员情况					
姓 名	赵成建	性 别	男	民 族	汉
出生年月	1985. 11	职 称	教授	职 务	教授
所在单位	四川大学			从事专业	免疫学研究
主要业务经历及近两年承担科研项目情况					
国家自然科学基金面上项目：通过激活 Notch/Sox9 信号促进胆管分枝以治疗先天性肝内胆管发育不良症的作用及机制研究 82270542 55 万 2023/01-2026/12 在研，赵成建主持					
近两年科技成果获奖、专利情况(名称、时间、等级)					
国内外学术团体、专业学会、学术期刊任职情况					
近两年发表的主要论文(题目、刊名、时间)及主要论著					
CHENG K, LI X, LV W, et al. Spatial interactions of immune cells as potential predictors to efficacy of toripalimab plus chemotherapy in locally advanced or metastatic pancreatic ductal adenocarcinoma: a phase Ib/II trial [J]. Signal Transduct Target Ther, 2024, 9(1): 321. DOI: 10.1038/s41392-024-02031-8.2. (共同通讯作者)					
Li, X., W. Hou, C. Xiao, H. Yang, C. Zhao, and D. Cao. "Panoramic Tumor Microenvironment in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma." [In eng]. Cell Oncol (Dordr) 47, no. 5 (共同通讯作者)					
HOU W, XIAO C, ZHOU R, et al. Inhibiting autophagy selectively prunes dysfunctional tumor vessels and optimizes the tumor immune microenvironment [J]. Theranostics, 2025, 15(1): 258-76. DOI: 10.7150/thno.98285. (通讯作者)					

国内外学习、进修情况									
课题负责人在国内外学术组织、学术团体、学术期刊任职情况： 具体是：1.2.3.									
七、课题主要业务技术人员及管理人员简况									
序号	姓名	性别	年龄	学历	职称	职务	现从事专业	所在单位	在课题研究中承担的主要工作
1	李 小 英	女	29	博士	博士 后	无	肿瘤学	四 川 大 学 华 西 医 院	临床数据收集分析/图像数据的分析整理
2	肖 朝 新	女	28	博士 在读	无	无	细 胞 生 物 学	四川大学	染色图像的 AI 深度分析分析
3	王 欢 欢	女	28	博士 在读	无	无	生 物 信 息 学	四川大学	生物信息学分析
4	姚 晓 红	女	28	硕士	无	无	病理学	四川大学	病理鉴别与诊断分析
5	陈 琴	女	27	硕士	无	无	染 色 技 术 的 研 发	四川大学	病理染色及成像技术实施
6									
附：课题组成员近 5 年内与申报课题相关的发表论文情况、承担科研项目情况、获奖情况、知识产权情况，以及认证、许可情况。 1.·CHENG K, LI X, LV W, et al. Spatial interactions of immune cells as potential predictors to efficacy of toripalimab plus chemotherapy in locally advanced or metastatic pancreatic ductal adenocarcinoma: a phase Ib/II trial [J]. Signal Transduct Target Ther, 2024, 9(1): 321. DOI: 10.1038/s41392-024-02031-8.（IF:40.8 共同第一作者）									

2.LI X, HOU W, XIAO C, et al. Panoramic Tumor microenvironment in pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. Cell Oncol (Dordr), 2024, 47 (5) : 1561-78. DOI: 10.1007/s13402-024-00970-6.3. (IF:4.9 第一作者)

3. LI X, XIAO C, LI R, et al. Case report: Diverse immune responses in advanced pancreatic ductal adenocarcinoma treated with immune checkpoint inhibitor-based conversion therapies [J]. Front Immunol, 2024, 15: 1326556. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1326556. (IF:5.7 第一作者)

4. LI X, CAO D, ZHENG X, et al. Tissue factor as a new target for Tumor therapy-killing two birds with one stone: a narrative review [J]. Ann Transl Med, 2022, 10 (22) : 1250. DOI: 10.21037/atm-22-5067. (IF:3.6 第一作者)

八、课题参加单位及分工

序号	姓名	课题参加单位	分工内容
1			
2			
3			
4			
5			

九、查新检索摘要

十、本单位伦理审查意见



十一、项目负责人承诺

我承诺本申请书填报内容真实、完整和准确，不存在知识产权纠纷，绝不违反学术诚信相关要求，合规、合理使用课题研究经费。项目研究过程严格遵守国家法律法规相关规定，履行并获取相关审批手续和资格后方开展研究。

如有不符，我接受相关检查与监督，并承担由此引起的一切责任。

申请人（签字）：赵成建

2025年7月16日

十二、单位审核意见

申报单位
意见

同意课题申报。课题符合伦理原则，设计新颖合理、能有效指导临床诊治。课题负责人所在单位承诺作为课题研究的管理责任主体，切实履行在课题申请、科研伦理与科技安全审查、组织实施、中期检查、验收结题、资金使用、成果管理、诚信建设等方面的法人管理责任。



四川省医
药爱心基
金会意见

单位负责人（签章）：（单位公章）

年 月 日