



Anna C. Aschenbrenner, Elvira Mass, Joachim L. Schultze

3. Einzelzell-Omics in der Biomedizin gestern, heute und morgen

In:

Walter, Jörn / Schickl, Hannah (Hrsg.): Einzelzellanalyse in Forschung und Medizin : eine Stellungnahme der interdisziplinären Arbeitsgruppe Gentechnologiebericht.

ISBN: 978-3-939818-84-7

Berlin-Brandenburgische Akademie der Wissenschaften, 2019. S. 38-47

Persistent Identifier: urn:nbn:de:kobv:b4-opus4-32810



3. EINZELZELL-OMICS IN DER BIOMEDIZIN GESTERN, HEUTE UND MORGEN

3.1 NEUE WEGE DER EINZELZELL-OMICS¹ FÜR EINE NEUE WAHRNEHMUNG UND BEHANDLUNG VERBREITETER ERKRANKUNGEN

Die zelluläre Heterogenität innerhalb von Geweben war immer ein großes Hindernis im Verständnis und in der Behandlung von Krankheiten wie Krebs, chronisch entzündlichen Erkrankungen, Autoimmunerkrankungen, Infektionen oder neurodegenerativen Erkrankungen. Frühere Genomikansätze waren auf Massenanalysen beschränkt, die nur gemittelte Ergebnisse über alle Probezellen lieferten. Die Untersuchung der zellulären Heterogenität in der Einzelzellauflösung ist erst seit einigen Jahren möglich, und kommt heute weltweit zum Einsatz, um die Grundmechanismen und somit auch die Pathogenese solcher Erkrankungen zu begreifen. In diesem Kapitel soll ein Überblick darüber gegeben werden, wie Einzelzell-Omics langsam unser Verständnis von Krebs und neurodegenerativen Erkrankungen revolutionieren, wie aktuell Grundlagenforschung im klinischen Bereich Anwendung findet, und mit welchen innovativen und experimentellen Ideen neue Wege eingeschlagen werden können, um Patienten zu helfen und Behandlungen individuell gestalten zu können.

3.2 EINZELZELL-OMICS GESTERN

Krebs als fortgeschrittenstes Beispiel für die Anwendung von Einzelzell-Omics auf Krankheiten

Die Mikroumgebung eines Tumors zeichnet sich nicht nur durch unterschiedliche Zusammensetzungen aus Krebszellen aus, sondern auch durch infiltrierende Immunzellen sowie Stromazellen, die den Tumor umgeben. Da die umfassende Analyse von Krebs im Einzelzellbereich ein lang verfolgtes Ziel ist, stellt die Tumorforschung eine treibende Kraft im Bereich der Einzelzell-Omics dar.

¹ Einzelzell-Omics sind ein Forschungsbereich, in dem es um die kollektive Charakterisierung und Quantifizierung einzelner Zellen geht, die sich in der Funktion und Dynamik von Geweben niederschlagen. Dazu gehören mehrere unterschiedliche Technologien (z. B. Transkriptomik, Proteomik oder Metabolomik), die zu vielen unterschiedlichen Ebenen von Informationen über Zellen führen (z. B. über die Transkripte, Proteine oder Metaboliten).

Um das Ökosystem eines Tumors zu begreifen, wurden bereits Einzelzellatlanten von Brustkrebs (Wagner et al., 2019), Kopf- und Hals- (Puram et al., 2017), Lungen- (Lavin et al., 2017; Zilionis et al., 2019) und Nierenkrebs (Chevrier et al., 2017) – um nur einige Beispiele zu nennen – erstellt, die uns wertvolle Einblicke in die Tumorbiologie geben, neuartige Biomarker beschreiben, die Rückschlüsse auf pathogene Prozesse zulassen, und somit neue attraktive Ziele für die therapeutische Intervention definieren.

Die Massenzytometrie ist eine Methode zur Beurteilung von bis zu 50 Proteinen einer einzelnen Zelle und ermöglicht bereits heute einen großen Durchsatz in der Einzelzellanalyse. Die Charakterisierung von 26 Millionen Zellen aus insgesamt 144 Brusttumoren mithilfe von Massenzytometrie hat bereits gezeigt, dass 18 % der Tumore Muster einer starken T-Zell-Erschöpfung in Verbindung mit der Expression des ko-suppressiven Moleküls PD-1 aufweisen (Wagner et al., 2019). T-Zellen erkennen und greifen normalerweise fremde bzw. nicht eigene Zellen (wie z.B. Krebszellen) im Körper an. Jedoch entkommen manche Tumoren diesem Schutzmechanismus unseres Immunsystems. Sie deaktivieren die zytotoxische Aktivität von T-Zellen durch die Expression von PD-L1, dem Bindungspartner für PD-1, und tragen somit zur T-Zell-Erschöpfung bei. In diesem Fall sprechen Patienten normalerweise nicht gut auf Standardtherapien an, oder entwickeln eine Therapieresistenz und Metastasen. Aber mit diesem besonderen Wissen über die Tumorerheterogenität und die Stratifizierung von Patienten könnten Ärzte die Behandlung so anpassen, dass manche Patienten von einer Anti-PD-1- und Anti-PD-L1-Therapie profitieren könnten, die man auch als „Checkpoint-Blockade“ bezeichnet – ein Immuntherapieansatz, der bereits für viele unterschiedliche Tumortypen erfolgreich eingeführt wurde.

Im Gegensatz zu der großen Anzahl der Zellen, deren Proteine mit Massenzytometrie analysiert werden können, sind Einzelzell-Sequenzierungsansätze, die das Transkriptom abbilden, aufgrund der relativ hohen Kosten eingeschränkt. Das führt dazu, dass die Analyse auf kleinere Zellmengen aus Tumorbiopsien beschränkt werden muss. Die Beurteilung einer begrenzten Zellanzahl stellt daher möglicherweise nicht das vollständige Gesamtbild dar, das für die korrekte Diagnose und Klassifizierung des Tumors erforderlich ist, was aber eine Grundvoraussetzung für die richtige Behandlung wäre. Auf diese Aspekte wird jedoch in mehreren Studien auf der ganzen Welt eingegangen, und die Bemühungen, diese Studien zu kombinieren, sind bereits in vollem Gange.

Einzelzell-Omics am Gehirn und dessen Erkrankungen

Obwohl menschliche Gehirne nur schwer für Biopsien zugänglich sind, wurde inzwischen von der ersten Studie berichtet, die Einzelzell-RNA-Sequenzierung bei der Biopsie von postmortalen Gehirnen von Alzheimer-Patienten anwendet (Mathys et al., 2019). Die Alzheimer-Krankheit (AK) ist eine progressive neurodegenerative Erkrankung, die weltweit für die meisten Fälle altersbedingter Demenz verantwortlich ist. Trotz enormer Forschungsanstrengungen – vorwiegend in Tiermodellen – haben wir noch immer kein umfassendes Verständnis der AK. Auch klinische Studien, die auf Moleküle abzielten, die zuvor hauptsächlich in Tiermodellen identifiziert und charakterisiert worden waren, sind bisher gescheitert. Um diese Krankheit bekämpfen zu können, ist daher eine viel detailliertere Zellanalyse dringend erforderlich – am besten am Menschen. In einer neueren Studie an etwa 80.000 Einzelzell-Transkriptomen von 48 Patienten mit unterschiedlich ausgeprägter AK-Pathologie (Mathys et al., 2019) wurde als Schlüsselfaktor in der AK-Pathophysiologie eine veränderte Myelinisierung identifiziert, die mit einer schnelleren Wanderung von Nervenimpulsen einhergehen könnte. Außerdem wurde bei mehreren Zelltypen, einschließlich der Myelin-produzierenden Oligodendrozyten, eine geschlechtsabhängige molekulare Reaktion festgestellt. Diese Studie ist ein hervorragendes Beispiel dafür, wie Einzelzell-Omics unser Verständnis von verbreiteten Erkrankungen schärft, die für unsere Gesellschaft eine wichtige Rolle spielen. Nur die Einzelzellauflösung ermöglichte die Klärung dieser neuartigen pathophysiologischen Mechanismen, die jetzt mit ganz neuen therapeutischen Strategien angegangen werden können. Dies ist nur die Spitze des Eisbergs, weitere Erkenntnisse bei Erkrankungen des Gehirns und anderer wichtiger Organe sind zu erwarten.

3.3 EINZELZELL-OMICS HEUTE

Einzelzell-Omics entwickeln sich schnell und halten Einzug in die klinische Forschung

Die Grundlagenforschung profitiert im Moment stark von den Fortschritten mit neuartigen Einzelzelltechnologien. Dieses neue Auflösungs-niveau ermöglicht eine ungeahnte Sicht auf heterogene Zellpopulationen, die Gewebezusammensetzung sowie die Infiltration veränderter Immunzellen bei Krankheiten. Neu entwickelte Techniken können nun zudem auf mechanische oder enzymatische Zellvereinzelnung

verzichten und so zusätzlich räumliche Informationen innerhalb des Gewebes integrieren. Das prominenteste Beispiel aktueller Forschungsprojekte in diesem Bereich ist der Human Cell Atlas (HCA) – ein großer internationaler Zusammenschluss vieler Wissenschaftler zur systematischen, hochaufgelösten Kartierung aller Zellen des menschlichen Körpers als Basis für ein besseres Verständnis fundamentaler humanbiologischer Prozesse und schließlich als Referenzquelle zur Beleuchtung pathologischer Vorgänge (HCA, 2017; Regev et al., 2017). Neben dem HCA zur Charakterisierung unserer gesunden Zellen bilden sich weltweit große Konsortien zur Anwendung von Einzelzell-Omics auf krankheitsbezogene Fragen. Darunter wird die europäische LifeTime-Initiative (siehe hierzu Junker, Popp, Rajewsky, Kapitel 2) als eines der vielversprechendsten Expertennetzwerke wahrgenommen, die künftige Herausforderungen der Präzisionsmedizin mithilfe von Einzelzell-Omics-Technologien angehen wollen.

Die Anwendung von Einzelzell-Omics in klinischen Studien ist zum Greifen nah

Fortschritte in den Einzelzell-Omics haben es möglich gemacht, von reinen Machbarkeitsstudien zur Anwendung von Einzelzell-Omics in breiteren Zusammenhängen überzugehen. In der Grundlagenforschung sind die wichtigsten Ziele das Verständnis von Differenzierungsprozessen in der Entwicklung, die Beleuchtung von Immunzellheterogenität in klassisch definierten Zellpopulationen und die Untersuchung der Pathogenese in Modellsystemen. Neuere technische und rechnergestützte Fortschritte ermöglichen inzwischen, größere klinische Studien anzugehen, und eröffnen neue Wege sowohl zur Erforschung von Krankheiten als auch zur Entwicklung von Diagnostik, Therapien und Therapiemanagement (siehe Junker, Popp, Rajewsky, Kapitel 2).

Da Blut als humane Gewebeprobe am zugänglichsten ist, standen isolierte periphere Blutzellen lange im Fokus der Erforschung von Krankheiten oder dienen als Stellvertreter für Krankheiten in anderen Organen. Einzelzellansätze haben bereits zu Erkenntnissen zellulärer Heterogenität ausgebreiteter zirkulierender Immunzellpopulationen bei Leukämie geführt und Daten generiert, die mit klinischen Ergebnissen verknüpft werden können, beispielsweise zur Entwicklung von Signaturen zur Vorhersage der Überlebenschancen eines Patienten (Gawad, 2014; Levine, 2015). Humane Festgewebeproben sind schwieriger zu bekommen, aber unglaublich nützlich zur Untersuchung der Zellzusammensetzung und des funktionellen Zustandes der Zellen im erkrankten Gewebe.

3.4 EINZELZELL-OMICS MORGEN

Erweiterung der Anwendung von Einzelzell-Technologien auf größere Patientenkohorten

Die Einzelzell-Omics sind mittlerweile technisch so weit entwickelt, dass sie auch auf größere Patientenkohorten mit klinisch relevanten Erkrankungen angewendet werden können – ein Weg, der unser Verständnis von Krankheiten auf eine ganz neue Ebene heben wird. Umfassende molekulare Profilierung – unabhängig von bisherigen Annahmen oder Erkenntnissen – mithilfe von Einzelzell-Omics-Technologien wird es uns ermöglichen, die molekularen Pfade sowie die an pathophysiologischen Vorgängen beteiligten Moleküle innerhalb jeder einzelnen Zelle zu definieren. Das ist als Grundlage für die Präzisionsmedizin von entscheidender Wichtigkeit, da sie auf eine Verbindung zwischen molekularen Mechanismen mit Einzelzellauflösung und klinischen Phänotypen angewiesen ist. Wir erwarten, dass sich hieraus eine Veränderung der traditionellen Krankheitsklassifizierungen ergeben wird. Die Stratifizierung von Patienten wird sich anhand der durch Einzelzell-Omics gelieferten Informationen verbessern und präzisieren. Dadurch wird auch eine genauere Identifizierung der entsprechenden Biomarker, einschließlich derer zur Vorhersage und Überwachung von Krankheiten, ermöglicht. Zudem wird es möglich sein, neuartige und auch weniger gut definierte, seltene Krankheiten oder klinische Fälle mit unbestimmter Diagnose umfassend zu charakterisieren. Das gewonnene Wissen wird die Ansätze der Präzisionsmedizin wesentlich vorantreiben.

Da perspektivisch auch Vorhersagen des Ansprechens auf verfügbare Arzneimittel gemacht werden können, können durch das Screening von einzelnen Patienten fundierte Entscheidungen über geeignete therapeutische Wege getroffen werden, die molekulare Befunde auf Einzelzellebene berücksichtigen. Ein weiterer Anwendungsbereich werden zellbasierte Therapien sein, bei denen eine Einzelzellanalyse helfen kann, die verwendeten Zellpopulationen besser zu charakterisieren und zu verfeinern. Die Reinheit der Produkte zur CAR-T-Zell-Therapie² (CAR: chimärer Antigenrezeptor) könnte beispielsweise durch gezielte Einzelzell-Omics-Analysen vor der Produktanwendung am Patienten verbessert werden.

² Bei dieser Therapie werden patienteneigene Immunzellen mit gentherapeutischen Methoden in die Lage versetzt, Tumorzellen zu erkennen und zu vernichten.

Die klinische Anwendung bei immunvermittelten Erkrankungen ist äußerst vielversprechend

Die Humanimmunologie steht an der Spitze der Anwendung von Einzelzell-Omics-Technologien, da sich Immunzellen leicht aus peripherem Blut gewinnen lassen (Schultze/Aschenbrenner, 2019; Bassler et al., 2019). Außerdem ist bei Blut für nachgelagerte analytische Verfahren kein Gewebeaufschluss erforderlich, weil die Zellen bereits vereinzelt sind. Immunologen können ferner auf profundem Wissen aus molekularer Profilierung von Einzelzellen mithilfe von Durchflusszytometrie aufbauen – ein Messverfahren, das es ermöglicht, die Expression mehrerer Proteine in einer Zelle nachzuweisen, und seit fast 50 Jahren dazu genutzt wird, Immunzellen zu beschreiben und anhand von Zelloberflächenmarkern zu definieren. Deshalb kann davon ausgegangen werden, dass Krankheiten mit einer immunologischen Komponente, wie zum Beispiel chronische Infektionen, metabolische Syndrome, neurodegenerative Erkrankungen oder Krebsformen, für die Profilierung ganz oben auf der Liste stehen.

Solche Systemansätze, die an immer größeren Kohorten angewendet werden, werden auch die Variabilität zwischen einzelnen Patienten bezüglich ihrer Organfunktionen, inklusive der des Immunsystems, aufklären. Es hat sich deutlich abgezeichnet, dass die Kombination aus genetischer Anfälligkeit und Umweltfaktoren Einfluss auf die Gesundheit eines Menschen hat. Was das Immunsystem angeht, konnte kürzlich gezeigt werden, dass Immunseneszenz, das Altern des Immunsystems, stark von genetischen und umweltbedingten Einflussfaktoren abhängt und stärker mit dem Ausgang von Krankheiten und deren Entwicklung in Zusammenhang steht als das tatsächliche chronologische Altern (Alpert et al., 2019). Das große Potenzial der Beleuchtung von Variationen in Immunreaktionen bei gesunden Probanden wurde ebenfalls im Rahmen des Human Functional Genome Project gezeigt (HFGP; Ter Horst et al., 2016; Li et al., 2016). Wir gehen davon aus, dass solche großen Kohorten das Grundgerüst für künftige Einzelzell-Omics-Ansätze zur Beantwortung klinischer Fragen bilden werden. Diese Kohortenstudien liefern bereits heute wichtige Informationen zum Einfluss der Umwelt und zur genetischen Anfälligkeit von Immunfunktionen, die bei verbreiteten entzündlichen Erkrankungen (Krebs, Autoimmunerkrankungen, chronische Infektionen) gestört sind. Neben der Charakterisierung von Krankheitspathologie im Einzelzellbereich wird die weitere Abgrenzung der Faktoren, die sich auf Variationen im menschlichen Immunsystem auswirken, eine der

wichtigen Aufgaben für die nahe Zukunft sein, da dadurch die Entwicklung von Ansätzen der Präzisionsmedizin und Vorhersage von Erkrankungsrisiken gestützt werden. Die Häufigkeit einer bestimmten Untergruppe von Monozyten erwies sich beispielsweise als stark prädiktiv für den Behandlungsausgang mit einer Anti-PD-1-Immuntherapie, was zeigt, wie hochdimensionale Einzelzellanalysen das Ansprechen auf eine Checkpoint-Blockade vorhersagen kann (Krieg et al., 2018).

Multidisziplinäre Teams werden klinische Fragen angehen

Die kooperative Arbeit von Klinikärzten, Biologen, Bioinformatikern, KI-Spezialisten, aber auch Entwicklern medizinischer Geräte und Ingenieuren wird ein besonders wichtiger Bereich zur Ableitung medizinisch relevanter Implikationen aus der Vielzahl von Informationen sein, die Ansätze der Einzelzell-Omics hervorbringen. Wir gehen davon aus, dass Einzelzellansätze krankheitsspezifische Signaturen liefern werden, die anstelle herkömmlicher analytischer Parameter, die oft nicht spezifisch genug sind (wie z.B. die Anzahl weißer Blutkörperchen), für die Diagnostik eingesetzt werden können. Mit der laufenden Verbesserung der Techniken und Erfahrungen im Bereich der Einzelzell-Omics werden die Kosten langsam sinken, sodass diese viel tiefergreifenden Ansätze klinisch anwendbar werden. Das gewonnene Wissen kann eine Umstellung auf Tests definierter Marker oder sogar zurück zur Sequenzierung von Zellgemischen (z.B. aus Blut) begünstigen, sodass Einzelzell-Omics auch aus klinischer Sicht noch attraktiver werden könnten.

Ausblick – Künftige Entwicklungen und Erfordernisse

Einzelzell-Omics sind ein Gebiet, das sich extrem schnell weiterentwickelt. Die folgenden wichtigen Aspekte werden dieses Gebiet in den nächsten zehn Jahren vorantreiben. Zusätzlich zu Einzelzell-Omics von Zellen, die natürlicherweise (z. B. aus Blut) oder artifiziell (aus Gewebe) vereinzelt wurden, werden Technologien zum Erhalt von *räumlicher Information* über den Ursprung einzelner Zellen im klinischen Bereich zunehmend an Bedeutung gewinnen. Dies liegt an der Notwendigkeit, pathophysiologische Mechanismen im räumlichen Kontext zu verstehen. Zahlreiche unterschiedliche Technologien für die räumliche Einzelzell-Omics werden aktuell entwickelt. Dies ist ein Bereich mit großem Potenzial, insbesondere im Zusammenhang mit klinischen Anwendungen. Problematischer

wird dann aber die Beurteilung der zeitlichen Komponente einer Krankheit. Mit Ausnahme von Blut ist es schwierig, wiederholte Biopsien aus festen Organen zur Analyse mittels Einzelzell-Omics zu nehmen. Eine Strategie für dieses Problem könnte die Entwicklung blutbasierter Einzelzell-Omics als Surrogat für die Vorgänge im Gewebe sein. Das zweite Erfordernis ist die Anwendung von *KI-Methoden* auf alle analytischen Wege für Einzelzell-Omics-Daten. Diese Daten sind sowohl umfangreich als auch spärlich, was ganz besondere Herausforderungen mit sich bringt. Basierend auf ersten erfolgreichen Anwendungen von KI-Methoden (Eraslan et al., 2019) gehen wir davon aus, dass dieser Bereich für klinische Anwendungen von entscheidender Bedeutung sein wird (siehe auch Aliee, Sacher, Theis, Kapitel 4). Zur Steigerung des prädiktiven Werts von Modellsystemen werden *humane Organoide* zusammen mit Analysen auf Einzelzellebene unser Verständnis für Humanbiologie und verbreitete Erkrankungen weiter voranbringen (Velasco et al., 2019; Bolhaqueiro et al., 2019; Klaus et al., 2019; Xiang et al., 2019; Gehart et al., 2019; Roerink et al., 2018; siehe auch Junker, Popp, Rajewsky, Kapitel 2). Die Kombination aus Einzelzellanalyse, humanen Organoiden und KI wird außerdem die Entwicklung besserer Tiermodelle vorantreiben, die auch weiterhin erforderlich sein werden, um kausale Zusammenhänge zwischen molekularen Mechanismen zu bestimmen, die für verbreitete Erkrankungen verantwortlich sind. Die wahrscheinlich wichtigste Anforderung ist aber die Entwicklung von geeigneten Forschungsstrukturen, die alle genannten und für die Einzelzell-Omics relevanten unterschiedlichen Fachkompetenzen miteinander verbinden können (z. B. in internationalen Netzwerken). Für die klinische Entwicklung der Einzelzell-Omics ist es von entscheidender Bedeutung, dass diese Sektoren für eine nahtlose Zusammenarbeit effizient miteinander verbunden werden können.

3.5 LITERATUR

Alpert, A. et al. (2019): A clinically meaningful metric of immune age derived from high-dimensional longitudinal monitoring. In: *Nat. Med.* 25(3): 487–495.

Bassler, K. et al. (2019): The myeloid cell compartment-cell by cell. In: *Annu. Rev. Immunol.* 37: 269–239.

Bolhaqueiro, A. C. F. et al. (2019): Ongoing chromosomal instability and karyotype evolution in human colorectal cancer organoids. In: *Nat. Genet.* 51: 824–834.

Chevrier, S. et al. (2017): An immune atlas of clear cell renal cell carcinoma. In: *Cell* 169(4): 736–749.e18.

- Eraslan, G. et al. (2019): Single-cell RNA-seq denoising using a deep count autoencoder. In: *Nat. Commun.* 10(1): 390.
- Gawad, C. et al. (2014): Dissecting the clonal origins of childhood acute lymphoblastic leukemia by single-cell genomics. In: *Proc. Natl. Acad. Sci.* 111(50): 17947–17952.
- Gehart, H. et al. (2019): Identification of enteroendocrine regulators by real-time single-cell differentiation mapping. In: *Cell* 176(5): 1158–1173.e16.
- HCA (The Human Cell Atlas Consortium) (2017): The human cell atlas white paper, Online-Publikation 18.10.2017. Unter: https://www.humancellatlas.org/files/HCA_WhitePaper_18Oct2017.pdf [25.06.2019].
- Klaus, J. et al. (2019): Altered neuronal migratory trajectories in human cerebral organoids derived from individuals with neuronal heterotopia. In: *Nat. Med.* 25(4): 561–568.
- Krieg, C. et al. (2018): High-dimensional single-cell analysis predicts response to anti-PD-1 immunotherapy. In: *Nat. Med.* 24(4): 144–153.
- Lavin, Y. et al. (2017): Innate immune landscape in early lung adenocarcinoma by paired single-cell analyses. In: *Cell* 169(4): 750–765.e17.
- Levine, J. H. et al. (2015): Data-driven phenotypic dissection of AML reveals progenitor-like cells that correlate with prognosis. In: *Cell* 162(1): 184–197.
- Li, Y. et al. (2016): A functional genomics approach to understand variation in cytokine production in humans. In: *Cell* 167(4): 1099–1110.e14.
- Mathys, H. et al. (2019): Single-cell transcriptomic analysis of alzheimer's disease. In: *Nature*, Online-Publikation 01.06.2019. DOI: 10.1038/s41586-019-1195-2.
- Puram, S. V. et al. (2017): Single-cell transcriptomic analysis of primary and metastatic tumor ecosystems in head and neck cancer. In: *Cell* 171(7): 1611–1624.e24.
- Regev, A. et al. (2017): The human cell atlas. In: *eLife* 6, Online-Publikation 05.12.2017. DOI: 10.7554/eLife.27041.
- Roerink, S. F. et al. (2018): Intra-tumour diversification in colorectal cancer at the single-cell level. In: *Nature* 556(7702): 457–462.
- Schultze, J. L./Aschenbrenner, A. C. (2019): Systems immunology allows a new view on human dendritic cells. In: *Semin. Cell Dev. Biol.* 86: 15–23.
- Ter Horst, R. et al. (2016): Host and environmental factors influencing individual human cytokine responses. In: *Cell* 167(4): 1111–1124.e13.

Velasco, S. et al. (2019): Individual brain organoids reproducibly form cell diversity of the human cerebral cortex. In: *Nature*, Online-Publikation 05.06.2019. DOI: 10.1038/s41586-019-1289-x.

Wagner, J. et al. (2019): A single-cell atlas of the tumor and immune ecosystem of human breast cancer. In: *Cell* 177(5): 1330-1345.e18.

Xiang, Y. et al. (2019): hESC-derived thalamic organoids form reciprocal projections when fused with cortical organoids. In: *Cell Stem Cell* 24(3): 487–497.e7.

Zilionis, R. et al. (2019): Single-cell transcriptomics of human and mouse lung cancers reveals conserved myeloid populations across individuals and species. In: *Immunity* 50(5): 1317–1334.e10.