

DOI: 10.13376/j.cbls/2021323

文章编号: 1004-0374(2021)04-0466-06

TCR组库及其在肿瘤免疫中的应用前景与挑战

赵静静^{1,2}, 简星星^{2,3}, 王广志², 澹小秀², 谢 鹭^{1,2*}

(1 上海海洋大学食品学院, 上海 201306; 2 上海生物信息技术研究中心,
上海 201203; 3 中南大学湘雅医院血液科, 长沙 410008)

摘要: TCR组库是指机体在特定时间内免疫循环中T细胞克隆的总和, 其多样性程度与机体健康密切相关。借助免疫组库测序技术(immune repertoire sequencing, IR-seq), 靶向扩增TCR抗原互补决定区(complementarity determining region, CDR) 1-3可有效获取特定时期内疾病患者TCR组库完整的多样性信息。基于此, TCR组库分析可为肿瘤免疫研究提供新型生物标记物, 用于监测免疫状态和评估患者预后; 同时, TCR组库也可作为TCR-T过继免疫疗法的检测与追踪提供有效途径。另外, 基于靶向抗原的TCR CDR3序列特征, 通过机器学习算法开发“TCR-抗原”识别预测的生物信息学工具, 将有利于促进肿瘤免疫研究和治疗应用方面的发展。该文综述了当前TCR组库的检测技术与分析方法, 及其在肿瘤免疫中的应用前景与挑战。

关键词: T细胞受体; TCR组库; 互补决定区; 肿瘤免疫研究

中图分类号: R730.51 **文献标志码:** A

TCR repertoire and its application prospect and challenge in tumor immunology research

ZHAO Jing-Jing^{1,2}, JIAN Xing-Xing^{2,3}, WANG Guang-Zhi², TAN Xiao-Xiu², XIE Lu^{1,2*}

(1 College of Food Science & Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2 Shanghai Center for Bioinformation Technology, Shanghai Academy of Science and Technology, Shanghai 201203, China; 3 Department of Hematology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China)

Abstract: TCR repertoire refers to the sum of T cell clones in the body's immune circulation in a specific time, of which the diversity is closely related to human health. With the aid of immune repertoire sequencing (IR-seq) technology, through the targeted amplification of the TCR complementarity determining region (CDR) 1-3, the whole diversity information of disease-related TCR repertoire can be effectively acquired in a specific period. Based on those, TCR repertoire analysis can provide novel biomarkers for tumor immunity research, which can be applied to detect the immunological status and evaluate prognosis. Meanwhile, TCR repertoire analysis would pave an efficient way to monitor and trace TCR-T adoptive immunotherapy. Besides, sequence characteristics of TCR CDR3 can help develop bioinformatics tools regarding “TCR-antigen” recognition and prediction using machine learning algorithms, which could promote the progress of tumor immunology research and application. In this paper, we reviewed the current methods of TCR immune repertoire detection and diversity analysis, as well as the related application prospects and challenges in tumor immunology.

Key words: T cell receptor; TCR repertoire; complementarity determining region; tumor immunology research

收稿日期: 2020-09-11; 修回日期: 2020-10-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(31870829)

*通信作者: E-mail: luxix2017@outlook.com

目前, TCR组库通常是指机体在特定时间内免疫循环中T细胞克隆的总和。据统计, 个体免疫组库中TCR克隆数量高达 $10^7 \sim 10^{11}$ 种^[1], 且TCR组库的多样性程度是机体免疫能力强弱的象征^[2-3]。一般来说, TCR组库的多样性越高, 机体免疫能力越强, 反之机体疾病易感性则越高。

T细胞受体(T cell receptor, TCR)是指分布于T细胞表面的受体分子, 它能特异性识别由抗原提呈细胞 (antigen-presenting cell, APC)加工, 并与组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC)结合的抗原, 从而诱导机体免疫应答^[4]。TCR是由两条不同肽链构成的二聚体, 包括 $\gamma\delta$ TCR和 $\alpha\beta$ TCR两种类型。在外周血中, $\alpha\beta$ TCR约占90%~95%, 是肿瘤免疫研究的主要目标^[1]。以TCR α 、 β 链为例, 两条链均有胞外和胞内两个部分。胞外区又由恒定区(constant region, C)和可变区(variable region, V)构成。基于V区识别特性的不同, 又可将其分成三个互补决定区(complementarity determining region 1-3, CDR1-3), 其中的CDR1-2区识别MHC, 而CDR3区则直接参与抗原特异性识别(图1a)。此外, 如图1b所示, TCR α 、 β 链在发育过程中经历特定的重排事件: 首先发生的是 β 链重排, 包含胚系基因D-J部分重排和V-DJ完全重排两个过程; 以及 α 链重排, 由胚系基因V-J重排组成。在V-J、D-J或者V-DJ重排的过程中还会随机插入核苷酸N进一步增加重排的多样性。然后, 重排完成的 α 链和 β 链与相应恒定区连接。最后, 经转录剪接、翻译及 α 链与 β 链配

对, 生成具有功能特性的 $\alpha\beta$ TCR。正是由于以上胚系基因片段随机组合与连接, 才形成多样性极为丰富的TCR组库。

当前, 通过免疫组库测序技术(immune repertoire sequencing, IR-seq), 研究者可以较完整地获取患者特定时期内TCR组库的多样性信息, 极大地促进了肿瘤免疫疗法的发展。近年来, TCR组库已经与肿瘤免疫疗法联合应用于临床肿瘤治疗, 包括癌症疫苗(tumor vaccine)^[5]、免疫检查点疗法(immune checkpoint inhibitor, ICI)^[6]及过继T细胞免疫疗法(adoptive cell transfer therapy, ACT)^[7]等联合免疫疗法。其中, TCR组库还是过继T细胞修饰疗法(TCR-T)的重要基础。例如, 靶向NY-ESO-1的TCR-T疗法已经在黑色素瘤^[8]、滑膜肉瘤^[9]及肺癌^[10]等的临床试验中展示了良好的安全性和有效性, 也是目前实体瘤治疗的重要研究方向。尽管TCR组库的应用为理解疾病与免疫系统之间的关系搭建了沟通桥梁, 但由于TCR组库的复杂性以及缺乏TCR功能注释工具等原因, TCR组库在肿瘤免疫中的应用仍极具挑战性。因此, 本文就当前TCR组库的检测技术与分析方法, 及其在肿瘤免疫中的应用前景与挑战进行了简要综述(图2)。

1 TCR组库的生物信息学方法研究

1.1 TCR组库测序及分析流程

得益于二代测序技术的迅猛发展, IR-seq可对TCR组库中 α 、 β 两条肽链同时进行分析, 且覆盖

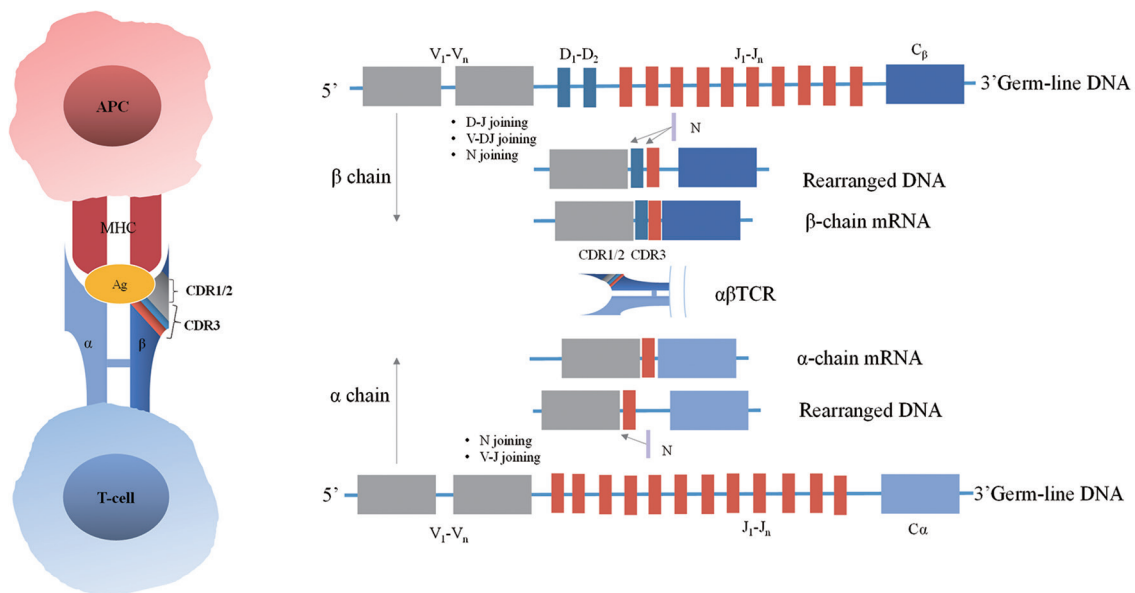


图1 TCR对抗原的特异性识别及其 α 、 β 链的发育过程

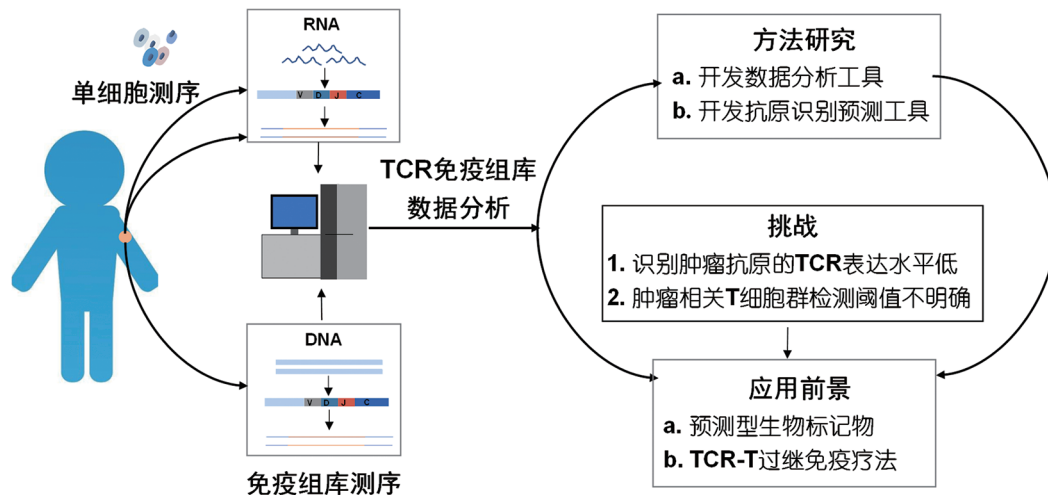


图2 TCR组库的检测技术与分析方法

CDR1-3区^[11]。值得注意的是,由于TCR β 链的CDR3区多样性变化最大,在抗原特异性识别过程中发挥最为关键的作用,所以通常TCR组库测序主要是从机体T细胞中获取DNA或RNA片段,基于多重PCR或5'RACE技术,靶向扩增 β 链CDR3区,随后构建文库进行测序。此外,单细胞测序技术可更精确地获取机体的TCR组库^[12]。例如,Zheng等^[13]结合单细胞分选技术对来自6例肝癌患者的5 063个T细胞进行测序分析,基于T细胞克隆群间独特的TCR信息,在单细胞水平上描绘了肝癌微环境的免疫图谱。

TCR组库数据分析包含初级和高级两个流程^[14]。初级分析一般是指测序数据的质控、拼接和比对。在该过程中,IgBLAST、MiXCR、IMonitor、TRUST等生物信息学工具可用于鉴定V、D、J基因与CDR3序列^[15-18]。TCR组库高级分析则主要针对TCR α 、 β 链在基因水平(V、D、J基因与V-J、V-D-J基因组合的种类、数量、频率及V、J基因和样本间V-J、V-D-J基因组合的差异表达)与氨基酸水平(CDR3氨基酸的种类、频率、长度分布及样本间共享和个体化的CDR3序列)上进行多样性的分析。针对该过程也开发了多种生物信息学分析工具,从而快速解析患者免疫系统中T细胞的克隆扩增情况,如VDJtools、VDJviz、tcR (R包)等,而其多样性通常以Shannon指数、Simpson指数及Gini系数进行量化^[19-22]。

TCR组库中序列多样性的变化及基因扩增偏好性均与疾病发生直接关联。例如,朱莹等^[23]对胃癌患者外周血、癌旁组织与肿瘤组织的TCR组库进行

了差异分析,鉴定到23种TRBV-TRBJ偏好配对基因和41种CDR3特征序列,这些差异表达的基因及序列可能成为潜在的预测胃癌发生的生物标记物。另一项代表性研究通过对880万个TCR进行测序(346个健康人和肿瘤患者的免疫组库),揭示了TCR组库的多样性与病理之间的关联^[24]。

1.2 TCR组库相关的生物信息学工具开发

当前,随着TCR测序研究越来越多,已建立了一些数据库,用于储存这些宝贵的信息,如IMGT、IEDB、VDJdb、McPAS-TCR、PIRD、TCRdb等^[25-30]。然而,TCR序列的抗原特异性结合是其最重要的功能特征。为此,基于TCR序列特征研究揭示其特异性识别的潜在模式,继而开发“TCR-抗原”识别预测工具意义重大^[31]。其中,基于抗原递呈过程的研究,已有一系列的预测工具被开发,可用于预测筛选出免疫原性较高的抗原肽,并应用于癌症疫苗的研发^[32-34]。类似地,基于TCR识别特征,研究者也希望将该策略应用于“TCR-抗原”识别预测工具开发,提高抗原预测的准确率^[35]。Dash等^[36]于2017年发现靶向同一抗原的T细胞群,其TCR序列间存在相同的氨基酸排列,即核心基序,这提示可以通过核心基序扫描寻找驱动TCR功能的关键特征,用于开发将TCR序列与其功能相关联的生物信息学工具。随后,De Neuter等^[31]首次通过随机森林算法探讨了TCR识别抗原的模式,其中所构建的两个HLA-B*08限制的表位(FLKEKGGL, $AUC = 0.81 \pm 0.06$; EIYKRWII, $AUC = 0.89 \pm 0.04$)模型预测效果均表现良好。此外,他们还发现TCR序列的长度及CDR3序列中精氨酸的使用频率均能影响T细胞

的识别功能。相关研究也表明, 基于TCR序列的理化特性, 可将其用于揭示T细胞识别抗原的机制与开发“TCR-抗原”识别预测工具^[36-38]。但是, 由于TCR序列长度的不均一性、TCR序列间交叉识别的复杂性以及当前可使用的TCR-pMHC数据过少, 使得通过机器学习算法进行模型构建仍受到较大的限制, 相应的工具开发在实际中也十分受限。

然而, 2020年, 一项研究打破了这些限制, 为开发T细胞功能注释工具提供了新思路。Beshnova等^[39]从TCGA上32个癌种的4 200个RNA-seq数据中获取了43 000条CDR3序列, 他们发现这些序列间存在共同的理化特征(疏水残基、核心基序等), 并且这些特征在正常组织中并不存在。基于此, 他们利用深度卷积神经网络, 针对TCR的理化特征开发了DeepCAT算法工具, 实现了从患者外周血T细胞的应答结果中诊断早期癌症的设想。该工具在250个肿瘤患者和600个健康人的验证数据集中均显示较好的性能(AUC \geq 0.95)。虽然“滴血验癌”这一想法不太切合实际, 但是可以确定的是TCR组库与肿瘤免疫研究日渐紧密。

2 TCR组库在肿瘤免疫中的应用前景与挑战

2.1 作为预测型生物标记物

TCR组库丰富的多样性保证了机体足以抵御内外环境中数以万计的抗原的入侵。正常情况下, 机体免疫组库多样性呈均匀的高斯分布^[3]。而疾病状态下, 由于肿瘤抗原持续刺激导致某些T细胞克隆群显著扩增, TCR组库多样性呈非正态分布。同时, TCR在基因水平与氨基酸水平也呈现一致性变化^[23, 40]。因此, TCR胚系基因与CDR3序列的变化均可作为免疫疗效及患者预后的生物标记物。

TCR组库多样性的变化在免疫检查点疗法(ICI)中具有重要参考价值。ICI采用药物阻断检查点分子的抑制信号, 引起TCR组库多样性发生独特变化。Robert等^[41]认为评估这种变化是预测ICI疗法最简单有效的方法。他们发现在接受tremelimumab治疗的21个患者中, 有19个患者的外周血TCR组库多样性增加30% (Shannon index, $p = 0.04$)。此外, Choudhury等^[42]发现, 治疗前免疫组库多样性低的患者临床获益较小。而且, Rudqvist等^[43]在小鼠模型中发现, 接受联合免疫疗法的小鼠TCR组库多样性较接受单一疗法的小鼠多样性更高。这暗示通过评估TCR组库多样性, 还可以帮助患者选择获益更高的免疫疗法。

最后, 动态监测TCR组库多样性也可预测患者预后。Luo等^[44]为了研究TCR组库标准化与晚期结肠癌发病阶段的相关性, 通过监测患者TCR组库多样性变化, 发现处于肿瘤舒缓期的患者相较于处于发展期的患者, 有更标准化的TCR组库。该研究暗示了动态监测TCR组库潜在的预后价值。2018年, Hopkins等^[45]研究接受ICI与其他疗法的胰腺癌患者外周血免疫组库变化时发现, ICI疗法下其TCR组库变化更明显, 进一步表明了TCR组库多样性作为生物标记物预测患者治疗预后的潜力。

2.2 TCR-T过继T细胞免疫疗法新手段

TCR-T是近年来癌症治疗新手段的关注焦点, 它能显著提高T细胞对肿瘤抗原的特异性识别能力, 精准识别和杀伤肿瘤细胞。TCR-T疗法是将肿瘤浸润淋巴细胞的TCR基序或该TCR的编码基因, 通过载体导入成熟T细胞, 并在体外扩增与激活, 过继回输实现肿瘤治疗^[46]。因TCR-T疗效显著、副作用少, 在实体瘤治疗中获得普遍关注。然而, 经修饰的T细胞回输后, 该TCR-T细胞在体内是否扩增及其持续活化的时间, 仍是待解决的问题。

TCR组库的应用为检测与追踪宿主免疫循环中识别肿瘤抗原的特殊T细胞群提供了可行途径。研究表明, 通过肿瘤浸润性淋巴细胞过继输入, 可使黑色素瘤患者的肿瘤消退, 其肿瘤体积明显缩小, 并且1年后仍可在免疫循环中追踪到该特异性T细胞^[47]。2018年, Zhu等^[48]发现, AFP₁₅₈修饰的T细胞可杀伤小鼠HepG2肿瘤, 随后他们又将小鼠AFP₁₅₈特异性TCR基因重定向至人T细胞, 体外实验显示该TCR-T依旧可以杀伤肝癌细胞。该结果为TCR-T肿瘤过继免疫治疗提供了理论基础, 并展现了其广阔的应用潜力。

截至目前, TCR-T疗法的研究多是针对肿瘤相关抗原。然而, 近年来随着肿瘤新抗原研究的深入, 研究人员提出了以新抗原为靶点进行自体T细胞修饰的策略^[49-50]。相关的研究也表明, 新抗原相关的T细胞克隆扩增与肿瘤清除直接相关^[42]。Kalaora等^[51]发现, 一组可以特异性识别黑色素瘤的T细胞克隆群是黑色素瘤消退的主要原因, 并且体内、体外实验均表明约80%的肿瘤细胞能够被有效杀伤, 这一结果鼓舞了以新抗原为靶点的基因修饰T细胞研究。

虽然新抗原介导的TCR-T过继疗法逐渐得到认可, 但由于识别肿瘤新抗原的TCR表达水平低、检测阈值不明确等问题, 使得新抗原介导的TCR检测及分离的难度较高^[52]。为此, Lu等^[53]提出应用单

细胞RNA-seq, 可从患者免疫循环中快速鉴定到多个新抗原驱动的T细胞克隆, 并将其TCR转化到自体T细胞中, 该TCR-T细胞可特异性识别APCs提呈的新抗原。尽管靶向新抗原的TCR基序推动了过继免疫疗法的发展, 但目前距离临床应用还尚早。不过可以相信的是, 随着研究的深入, 靶向新抗原的TCR-T疗法必将为肿瘤患者带来新希望。

3 展望

近年来, 随着测序技术的迅猛发展, TCR组库数据正在产出和积累。TCR组库多样性变化的结果可作为肿瘤免疫研究的生物标记物应用于疗效监测和预后评估, 并为肿瘤免疫治疗提供新思路, 尤其是在免疫检查点及TCT-T疗法中应用前景甚广。另一方面, 基于免疫识别肿瘤抗原的特异性TCR CDR3氨基酸序列特征研究, 结合机器学习或深度学习算法开发“TCR-抗原”识别预测工具, 也是未来肿瘤免疫研究的重要方向。

[参 考 文 献]

- [1] 周光炎. 免疫学原理(4版)[M]. 北京: 科学出版社, 2018
- [2] Britanova OV, Putintseva EV, Shugay M, et al. Age-related decrease in TCR repertoire diversity measured with deep and normalized sequence profiling. *J Immunol*, 2014, 192: 2689-98
- [3] Hou X, Wang M, Lu C, et al. Analysis of the repertoire features of TCR β chain CDR3 in human by high-throughput sequencing. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 39: 651-67
- [4] 王广志, 李雨雨, 谢鹭. 个性化肿瘤新抗原疫苗中抗原肽预测研究进展. *生物化学与生物物理进展*, 2019, 46: 14-21
- [5] Aris M, Bravo AI, Pampena MB, et al. Changes in the TCR β repertoire and tumor immune signature from a cutaneous melanoma patient immunized with the CSF-470 vaccine: a case report. *Front Immunol*, 2018, 9: 955-64
- [6] Riaz N, Havel JJ, Makarov V, et al. Tumor and microenvironment evolution during immunotherapy with nivolumab. *Cell*, 2017, 171: 934-49.e16
- [7] Ikeda H. Adoptive therapy with TCR gene-modified T cells for hematological malignancies and solid tumors. *Rinsho Ketsueki*, 2019, 60: 716-22
- [8] Nowicki TS, Berent-Maoz B, Cheung-Lau G, et al. A pilot trial of the combination of transgenic NY-ESO-1-reactive adoptive cellular therapy with dendritic cell vaccination with or without Ipilimumab. *Clin Cancer Res*, 2019, 25: 2096-108
- [9] Robbins PF, Morgan RA, Feldman SA, et al. Tumor regression in patients with metastatic synovial cell sarcoma and melanoma using genetically engineered lymphocytes reactive with NY-ESO-1. *J Clin Oncol*, 2011, 29: 917-24
- [10] Xia Y, Tian X, Wang J, et al. Treatment of metastatic non-small cell lung cancer with NY-ESO-1 specific TCR engineered-T cells in a phase I clinical trial: a case report. *Oncol Lett*, 2018, 16: 6998-7007
- [11] Rosati E, Dowds CM, Liaskou E, et al. Overview of methodologies for T-cell receptor repertoire analysis. *BMC Biotechnol*, 2017, 17: 61-77
- [12] De Simone M, Rossetti G, Pagani M. Single cell T cell receptor sequencing: techniques and future challenges. *Front Immunol*, 2018, 9: 1638-45
- [13] Zheng C, Zheng L, Yoo JK, et al. Landscape of infiltrating T cells in liver cancer revealed by single-cell sequencing. *Cell*, 2017, 169: 1342-56.e16
- [14] Heather JM, Ismail M, Oakes T, et al. High-throughput sequencing of the T-cell receptor repertoire: pitfalls and opportunities. *Brief Bioinform*, 2018, 19: 554-65
- [15] Ye J, Ma N, Madden TL, et al. IgBLAST: an immunoglobulin variable domain sequence analysis tool. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41: W34-40
- [16] Bolotin DA, Poslavsky S, Mitrophanov I, et al. MiXCR: software for comprehensive adaptive immunity profiling. *Nat Methods*, 2015, 12: 380-1
- [17] Zhang W, Du Y, Su Z, et al. IMonitor: a robust pipeline for TCR and BCR repertoire analysis. *Genetics*, 2015, 201: 459-72
- [18] Chen SY, Liu CJ, Zhang Q, et al. An ultra-sensitive T-cell receptor detection method for TCR-Seq and RNA-Seq data. *Bioinformatics*, 2020, 36: 4255-62
- [19] Shugay M, Bagaev DV, Turchaninova MA, et al. VDJtools: unifying post-analysis of T cell receptor repertoires. *PLoS Comput Biol*, 2015, 11: e1004503-19
- [20] Bagaev DV, Zvyagin IV, Putintseva EV, et al. VDJviz: a versatile browser for immunogenomics data. *BMC Genomics*, 2016, 17: 453-64
- [21] Nazarov VI, Pogorelyy MV, Komech EA, et al. tcR: an R package for T cell receptor repertoire advanced data analysis. *Bmc Bioinformatics*, 2015, 16: 175
- [22] 王芳, 房建成, 许媛丽, 等. 三种统计指标在IGH免疫组库分析中的应用. *中国免疫学杂志*, 2018, 34: 1720-3
- [23] 朱莹, 丁顺凯, 林烈文, 等. 胃癌患者肿瘤组织与外周血T细胞受体CDR3的差异分析. *转化医学电子杂志*, 2018, 5: 21-5
- [24] Simnica D, Akyüz N, Schliffke S, et al. T cell receptor next-generation sequencing reveals cancer-associated repertoire metrics and reconstitution after chemotherapy in patients with hematological and solid tumors. *Oncoimmunology*, 2019, 8: e1644110-21
- [25] Lefranc MP, Lefranc G. IMGT(®) and 30 years of immunoinformatics insight in antibody V and C domain structure and function. *Antibodies (Basel)*, 2019, 8: 29-50
- [26] Mahajan S, Vita R, Shackelford D, et al. Epitope specific antibodies and T cell receptors in the immune epitope database. *Front Immunol*, 2018, 9: 2688-709
- [27] Bagaev DV, Vroomans RMA, Samir J, et al. VDJdb in 2019: database extension, new analysis infrastructure and a T-cell receptor motif compendium. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48: D1057-62

- [28] Tickotsky N, Sagiv T, Prilusky J, et al. McPAS-TCR: a manually curated catalogue of pathology-associated T cell receptor sequences. *Bioinformatics*, 2017, 33: 2924-9
- [29] Zhang W, Wang L, Liu K, et al. PIRD: pan immune repertoire database. *Bioinformatics*, 2020, 36: 897-903
- [30] Chen SY, Yue T, Lei Q, et al. TCRdb: a comprehensive database for T-cell receptor sequences with powerful search function. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49: D468-74
- [31] De Neuter N, Bittremieux W, Beirnaert C, et al. On the feasibility of mining CD8⁺ T cell receptor patterns underlying immunogenic peptide recognition. *Immunogenetics*, 2017, 70: 159-68
- [32] Jurtz V, Paul S, Andreatta M, et al. NetMHCpan-4.0: improved peptide-MHC class I interaction predictions integrating eluted ligand and peptide binding affinity data. *J Immunol*, 2017, 199: 3360-8
- [33] Wang G, Wan H, Jian X, et al. INeo-Epp: a novel T-cell HLA class-I immunogenicity or neoantigenic epitope prediction method based on sequence-related amino acid features. *Biomed Res Int*, 2020, 2020: 5798356-68
- [34] Tan X, Li D, Huang P, et al. dbPepNeo: a manually curated database for human tumor neoantigen peptides. *Database (Oxford)*, 2020, 2020: baaa004
- [35] Gielis S, Moris P, Bittremieux W, et al. Detection of enriched T cell epitope specificity in full T cell receptor sequence repertoires. *Front Immunol*, 2019, 10: 2820-45
- [36] Dash P, Fiore-Gartland AJ, Hertz T, et al. Quantifiable predictive features define epitope-specific T cell receptor repertoires. *Nature*, 2017, 547: 89-93
- [37] Glanville J, Huang H, Nau A, et al. Identifying specificity groups in the T cell receptor repertoire. *Nature*, 2017, 547: 94-8
- [38] Freeman JD, Warren RL, Webb JR, et al. Profiling the T-cell receptor β -chain repertoire by massively parallel sequencing. *Genome Res*, 2009, 19: 1817-24
- [39] Beshnova D, Ye J, Onabolu O, et al. *De novo* prediction of cancer-associated T cell receptors for noninvasive cancer detection. *Sci Transl Med*, 2020, 12: eaaz3738-52
- [40] Ma J, Sun G, Zhu P, et al. Determination of the complexity and diversity of the TCR β -chain CDR3 repertoire in bladder cancer using high-throughput sequencing. *Oncol Lett*, 2019, 17: 3808-16
- [41] Robert L, Tsoi J, Wang X, et al. CTLA4 blockade broadens the peripheral T-cell receptor repertoire. *Clin Cancer Res*, 2014, 20: 2424-32
- [42] Choudhury NJ, Kiyotani K, Yap KL, et al. Low T-cell receptor diversity, high somatic mutation burden, and high neoantigen load as predictors of clinical outcome in muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol Focus*, 2016, 2: 445-52
- [43] Rudqvist NP, Pilonis KA, Lhuillier C, et al. Radiotherapy and CTLA-4 blockade shape the TCR repertoire of tumor-infiltrating T cells. *Cancer Immunol Res*, 2018, 6: 139-50
- [44] Luo W, Liao WJ, Huang YT, et al. Normalization of T cell receptor repertoire diversity in patients with advanced colorectal cancer who responded to chemotherapy. *Cancer Sci*, 2011, 102: 706-12
- [45] Hopkins AC, Yarchoan M, Durham JN, et al. T cell receptor repertoire features associated with survival in immunotherapy-treated pancreatic ductal adenocarcinoma. *JCI Insight*, 2018, 3: e122092
- [46] Ye B, Stary CM, Gao Q, et al. Genetically modified T-cell-based adoptive immunotherapy in hematological malignancies. *J Immunol Res*, 2017, 2017: 5210459-72
- [47] Morgan RA, Dudley ME, Wunderlich JR, et al. Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes. *Science*, 2006, 314: 126-9
- [48] Zhu W, Peng Y, Wang L, et al. Identification of α -fetoprotein-specific T-cell receptors for hepatocellular carcinoma immunotherapy. *Hepatology*, 2018, 68: 574-89
- [49] Strønen E, Toebes M, Kelderman S, et al. Targeting of cancer neoantigens with donor-derived T cell receptor repertoires. *Science*, 2016, 352: 1337-41
- [50] Blankenstein T, Leisegang M, Uckert W, et al. Targeting cancer-specific mutations by T cell receptor gene therapy. *Curr Opin Immunol*, 2015, 33: 112-9
- [51] Kalaora S, Wolf Y, Feferman T, et al. Combined analysis of antigen presentation and T-cell recognition reveals restricted immune responses in melanoma. *Cancer Discov*, 2018, 8: 1366-75
- [52] Zhang J, Wang L. The emerging world of TCR-T cell trials against cancer: a systematic review. *Technol Cancer Res Treat*, 2019, 18: 1533033819831068
- [53] Lu YC, Zheng Z, Robbins PF, et al. An efficient single-cell RNA-seq approach to identify neoantigen-specific T cell receptors. *Mol Ther*, 2018, 26: 379-89