

TCR/BCR 免疫组库为诊疗提供哪些信息

一、什么是 TCR 与 BCR

TCR 即 T 淋巴细胞受体，是 T-cell receptor 的简称。TCR 免疫组库（T-cell receptor repertoire），是指个人体内产生的各种 TCR 亚型的组合。TCR 是 T 细胞特异性识别和结合抗原肽-MHC 分子的分子结构，大多数 TCR 由 α 和 β 肽链组成，少数 T 细胞的 TCR 由 γ 和 δ 肽链组成。每条肽链又可分为可变区（V 区），恒定区（C 区），跨膜区和胞质区等几部分，而 α 和 β 两条肽链的 V 区（ $V\alpha$ 、 $V\beta$ ）又各有三个高变区 CDR1、CDR2、CDR3，其中以 CDR3 变异最大，直接决定了 TCR 的抗原结合特异性。TCR 的 CDR3 由 V、D、J 三个基因编码，在淋巴细胞的成熟过程中，通过 V、D、J 基因的重排形成了各种重组序列片段，再加上 DNA 碱基的 SNP、Indel 突变形成了 T 细胞的多样性。

类似的，BCR 即 B 淋巴细胞受体，是 B-cell receptor 的简称。BCR 免疫组库（B-cell receptor repertoire），是指个人体内产生的各种 BCR 亚型的组合。不同的是，BCR 不仅编码 B 细胞上的受体，也编码从浆细胞释放出的游离的抗体。某一亚型（IgD、IgM、IgA、IgG 或者 IgE）的膜结合免疫球蛋白（mIg）。除了 C 端疏水的膜结合区和胞内区，这些膜结合免疫球蛋白和分泌型的免疫球蛋白单体是相同的，有两条重链（IgHs）和两条轻链（IGLs）。

理论上，TCR α 与 TCR β 组合的多样性达 10^{18} 种，BCR 则高达 5×10^{13} 种。实际上，人体内免疫细胞数量较这理论值来得较少，而且 TCR/BCR 的多样性受到年龄和疾病的影响。TCR/BCR 免疫组库中每一种免疫蛋白彼此间结构差异很小，但亚型种类繁多，正是这种多样性对健康起着至关重要的作用，免疫蛋白的亚型越多，越能有效抵抗病原体，亚型越少越容易感染疾病。通过 TCR/BCR 组库的检测，可以分析免疫力的健康状态，也能监测与之相关的疾病的动态变化，为及时的采取相应措施提供诊断依据。

二、TCR/BCR 异常与哪些疾病相关

TCR/BCR 的形成与 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞的成熟周期有关。影响 TCR/BCR 多样性的因素主要有以下几方面。

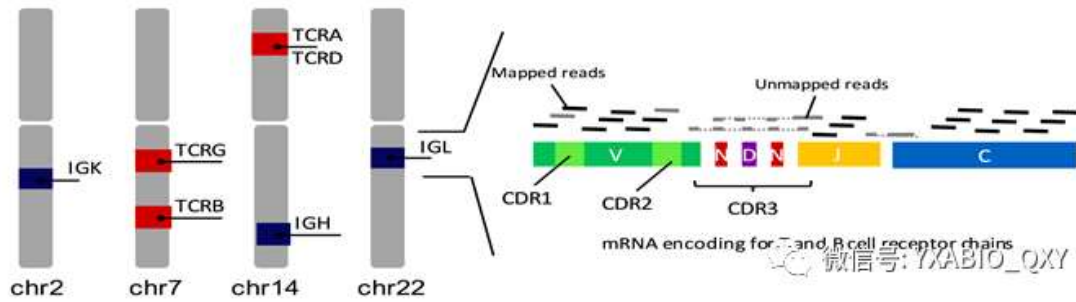
年龄：随着年龄的变化，免疫系统发生一定的变化，TCR/BCR 多样性随年龄增长而降低。

病毒、细菌、寄生虫等病原感染：病原的感染会诱导与病原的抗原特性的 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞的扩增，在 TCR/BCR 组库表现出某些克隆的数量及占比显著上升。

肿瘤：肿瘤产生的特异抗原也会影响免疫系统应激，导致 TCR/BCR 组库多样性变化。此外，有些血液肿瘤可能的病因是病变的 T 淋巴细胞或 B 淋巴细胞。

细胞/器官移植：细胞或器官移植，会影响体内免疫系统，导致 TCR/BCR 组库的变化；干细胞移植一般会使多样性恢复。

其他影响免疫系统的治疗：抗原的接种及免疫系统调节剂的使用，通过 T/B 淋巴细胞数量及种类的改变。



由此可见，与免疫组库相关的疾病主要有以下 3 大类。

1. 血液瘤及实体肿瘤：如 ALL、AML、B 淋巴瘤、各种实体瘤等
2. 病毒等病原感染：如 CMV、EBV、HIV 等病毒感染
3. 自免疫疾病：如全身性红斑狼疮 SLE、多发硬化症 MS、类风湿性关节炎 RA、类风湿性血管炎、强直性脊柱炎等。



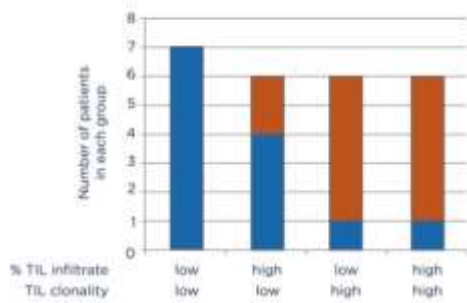
三、TCR/BCR 检测在实体瘤诊治中的意义

肿瘤的形成，是癌细胞增长与免疫系统对其清除之间失衡的结果，癌细胞的免疫逃逸在肿瘤发生过程起重要的作用。肿瘤组织微环境中淋巴细胞的浸润情况以及外周血循环的淋巴细胞都会受到肿瘤及其凋亡细胞的影响。另一方面，淋巴细胞群也影响了肿瘤的生长和治疗效果。TCR/BCR 免疫组库在实体瘤的诊治过程具有重要意义。

1. TIL 的多样性与免疫治疗效果正相关

黑色素瘤浸润的肿瘤浸润淋巴细胞(Tumor Infiltrating Lymphocytes, TILs)的多样性越高，其疗效越好。

TCR判断黑色素瘤患者TILs数量及多样性与治疗效果关系



TCR多样性高，疗效好
TCR多样性低，疗效差

Quantitative sequencing of TCRB in patients with melanoma. Progressors (blue) were associated with both a lower number of TILs (shown as percentage TIL infiltrate) and a lower TIL clonality than responders (orange).

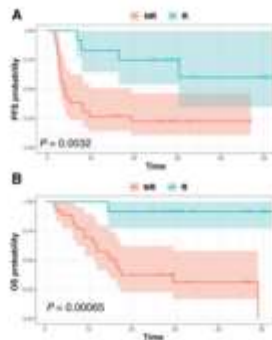
参考文献: Tumei et al. (2014) Nature 515(7528):568-571.

微信号: YXABIO_QXY

燕旭安·关注人体微生态与免疫健康

2. 外周血 TCR 响应可作为免疫治疗的伴随诊断指标

外周血中的 TCR 组库的响应也可作为免疫治疗有效性的指标，因此 TCR 组库的变化可作为免疫治疗的伴随诊断指标。



外周血中的TCR组库响应可作为
免疫治疗的有效性预测及分组

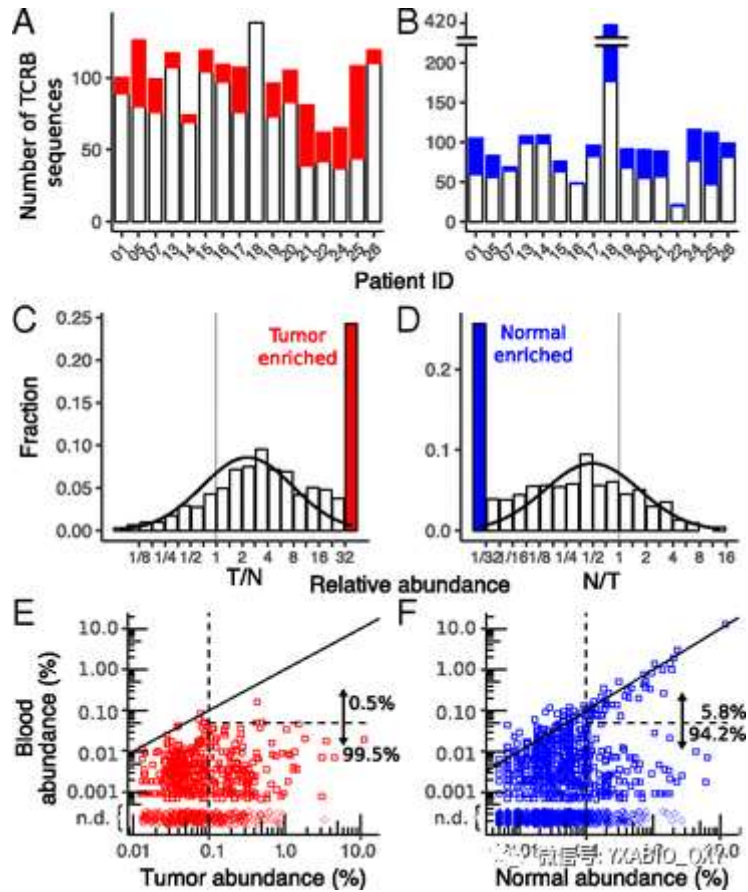
TCR可作为FDA批准PD-1治疗的伴随诊断

Figure 2
Kaplan-Meier plots showing survival in melanoma patients stratified by TCR clonality in peripheral blood. Colored bands represent different TCR clonality levels. A, PFS probability. B, OS probability.

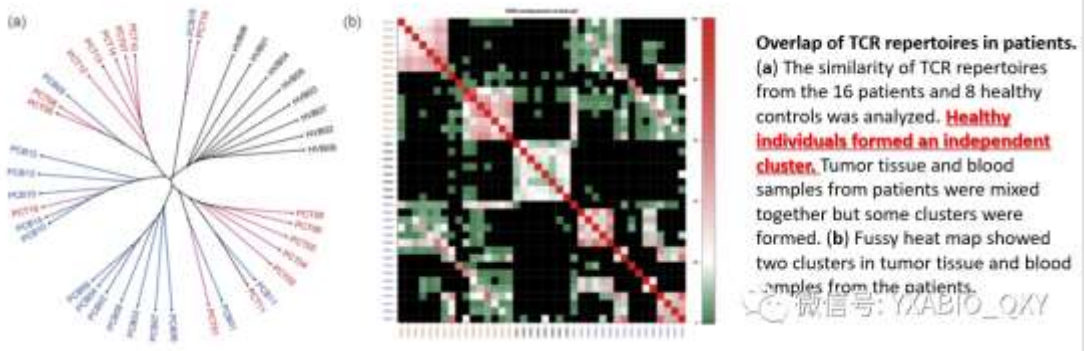
参考文献: Hogan SA, Courtier A, Cheng PF, et al., Peripheral blood TCR repertoire profiling may facilitate stratification for immunotherapy against melanoma. Cancer Immunology Research. DOI: 10.1158/2326-6066.CCR-18-0136 Published January 2019

微信号: YXABIO_QXY

肿瘤的发生，或者肿瘤新抗原的治疗，会引起肿瘤抗原特异性 TCR 数量上升。



3. 外周血 TCR 及肿瘤指数作为伴随诊断指标

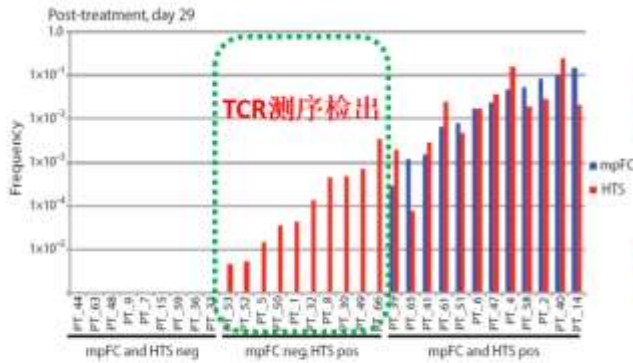


由于健康人群与癌症患者的 TCR 组库有所区别，我们已经能够通过大数据分析，区分恶性肿瘤与健康对照，同时也能应用“肿瘤指数”来监测治疗效果。

免疫组库在实体肿瘤的伴随诊断方面具有广阔的应用前景，特别是 PD-1 抑制免疫治疗的适用性评估及疗效监测等方面。

四、TCR/BCR 检测在血液瘤诊治中的意义

1. T 细胞 ALL 的 MRD 监测， TCR 指标较流式分析具有更高的灵敏性。



1. HTS比mpFC更灵敏
2. HTS灵敏度:
1TC in 10,000~100,000 healthy cells

HTS: 高通量TCR测序
mpFC: 多参数流式细胞检测

Science Translational Medicine
High-Throughput Sequencing Detects Minimal Residual Disease in Acute T Lymphoblastic Leukemia
David Wu et al.
Sci Transl Med 4, 134ra63 (2012);
DOI: 10.1126/scitranslmed.3003658

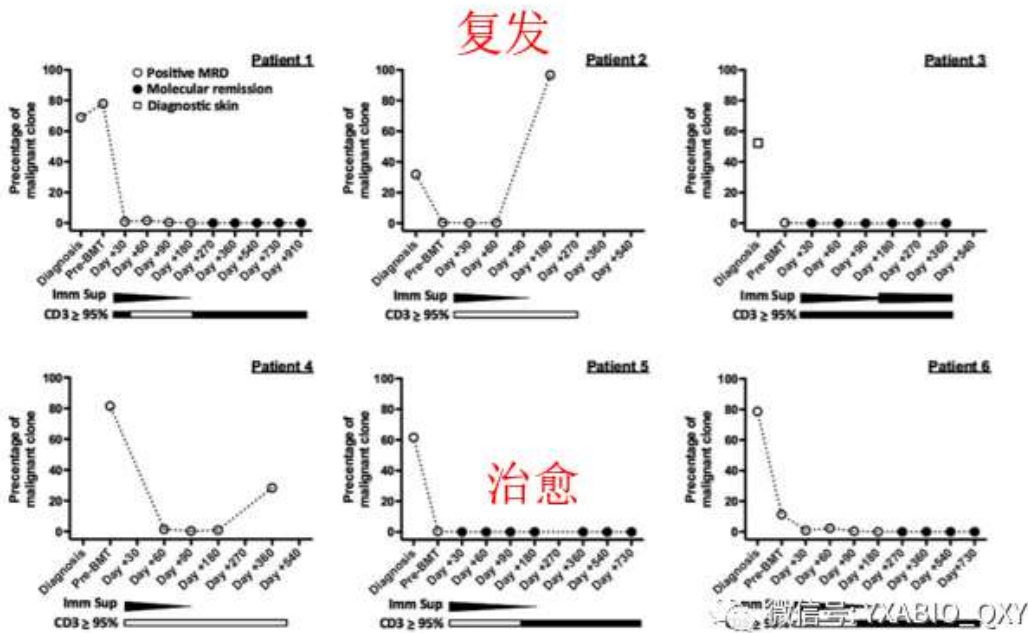
微信号: YXABIO_QXY

2. T 细胞淋巴瘤的 MRD 监测, TCR 指标较流式分析具有更高的灵敏性.



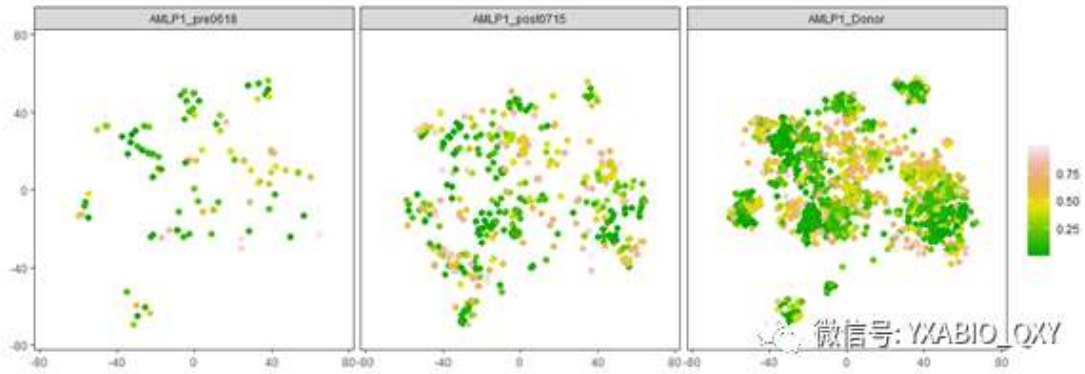
Minimal Residual Disease Monitoring with High-Throughput Sequencing of T Cell Receptors in Cutaneous T Cell Lymphoma
Wen-Kai Weng et al.
Sci Transl Med 5, 214ra171 (2013);
DOI: 10.1126/scitranslmed.3007420

微信号: YXABIO_QXY



微信号: YXABIO_QXY

3. 干细胞移植后的免疫重建



五、TCR/BCR 检测在自免疫疾病诊治中的意义

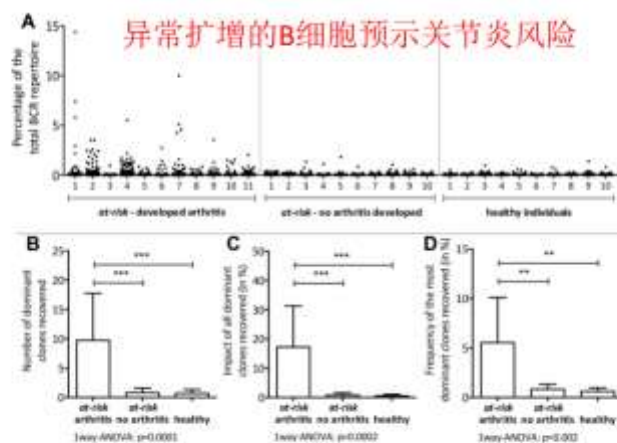
1. 类风湿性关节炎的诊断



燕旭安
YAN XU AN
BIOTECHNOLOGY

类风湿性关节炎RA的B细胞及BCR变化

- Autoantibody production. Infiltrating lymphocytes. as large follicle-like structures, known as synovial germinal centres. the proportion of peripheral blood plasmablasts is positively correlated with disease activity in RA
- **BCR变化:**
 1. enrichment of **IGHV4** gene family usages, specifically **IGHV4-34**.
 2. **B-cell clonal expansions** in the **synovial tissue** of patients with RA
 3. RA risk: the presence of ≥ 5 dominant BCR clones, defined as clonally related BCRs representing $> 0.5\%$ of the total repertoire
 4. patients with RA were enriched for longer CDR3 lengths in both the heavy-chain and light chain (kappa, I κ k)
 5. evaluated the effect of rituximab on B-cell repertoires in two patients with active RA, and showed that B-cell depletion lasted between 5 and 7 months. B-cell reconstitution was characterized by a diverse BCR repertoire and IGHV gene usages similar to that of healthy adults.



参考文献: Tak PP, Doorenspleet ME, de Hair MJH, et al Dominant B cell receptor clonality in peripheral blood predicts onset of arthritis in individuals at risk for rheumatoid arthritis *Annals of the Rheumatic Diseases* 2017;76:1924-1930.

2. 强直性脊柱炎与免疫组库诊断

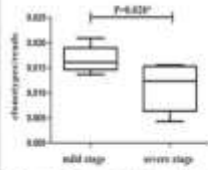
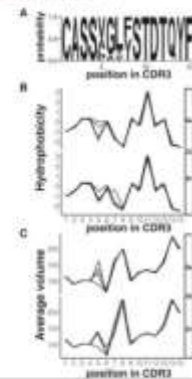


Fig. 4. Repertoire of TCR sequences shows a decrease in the peripheral blood of AS patients. The statistical T test was applied to the comparison of the mean values between the groups by significance level. P < 0.05 is considered statistically significant.

• TCR/BCR变化:

1. A lower TCR repertoire diversity is detected in peripheral blood of AS
2. TCR repertoire diversity related with clinical severity in AS patients
3. Usage frequency deviation of certain V/J/V-J genes in AS patients is little
4. AS的TCRB—CDR3的特有motifs

Fig. 5. AS-related clonalotypes have similar profiles for CDR3 amino acid properties.



参考文献: Hum Immunol. 2018 Jun;79(6):485-490. doi: 10.1016/j.humimm.2018.03.003. Epub 2018 Mar 31.

3. 红斑狼疮与免疫组库诊断

- Significantly decreased numbers of naive B-cells.
- More self-reactive B-cells than healthy individuals.
- Increased frequencies of double-negative (CD27-class switched) B-cells, which has been shown to correlate with increased autoantibody titres.
- Increased levels of CD19^{low}CD27^{high} plasma cells, which may be a consequence of systemic inflammation.
- **BCR变化:**
 1. enrichment of IGHV4 gene family usages, specifically IGHV4-34.
 2. SLE exhibit increased B-cell clonality compared with healthy individuals, polyclonal expansion
 3. SLE display significantly shorter CDR3 lengths in Bcells from peripheral blood than controls

参考文献: Tak PP, Doorenspleet ME, de Hair MJH, et al Dominant B cell receptor clones in peripheral blood predict onset of arthritis in individuals at risk for rheumatoid arthritis Annals of the Rheumatic Diseases 2017;76:1924-1930.

4. 其他自免疫诊断