

· 专家论坛 ·

## 免疫组库测序在实体器官移植中的应用

梁厉飞 陈婷婷 杨橙

**【摘要】** 免疫组库一般指 T 细胞和 B 细胞的总称，它有着巨大的多样性，使免疫系统能够对多种抗原刺激做出反应。随着测序技术的发展，免疫组库测序可以从基因水平深入了解排斥反应发生时淋巴细胞克隆的变化，也为基于免疫组库测序的新型无创诊断技术的产生提供了可能。近年来，免疫组库测序在实体器官移植中的尝试不断增多，特别是在肾移植、肝移植、心脏移植以及移植后感染等领域。本文对以上领域中应用免疫组库测序的研究进行了综述，总结器官移植中免疫组库测序使用的现状和作为早期无创诊断排斥反应的新技术的潜力，以期为此项技术进一步发展并应用于临床提供借鉴。

**【关键词】** 免疫组库；T 细胞受体；B 细胞受体；器官移植；排斥反应；感染；供者来源性细胞游离 DNA (dd-cfDNA)；T 细胞介导的排斥反应 (TCMR)；抗体介导的排斥反应 (AMR)；供者特异性抗体 (DSA)；程序性细胞死亡蛋白 1

**【中图分类号】** R617, R392 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1674-7445 (2024) 02-0007-07

**Application of immune repertoire sequencing in solid organ transplantation** Liang Lifei\*, Chen Tingting, Yang Cheng.  
\*Department of Urology, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai Key Laboratory of Organ Transplantation, Shanghai 200032, China

Corresponding author: Yang Cheng, Email: esuperc@163.com

**【Abstract】** Immune repertoire is defined as the sum of T cells and B cells, which possesses high diversity and enables immune system to respond to various antigen stimuli. With the development of sequencing technique, immune repertoire sequencing can be utilized to deeply understand the changes of lymphocyte clones when rejection occurs at the gene level, and also provide the possibility for the emergence of novel non-invasive diagnostic techniques based on immune repertoire sequencing. In recent years, more and more attempts have been made to apply immune repertoire sequencing in solid organ transplantation, especially in the fields of kidney transplantation, liver transplantation, heart transplantation and post-transplantation infection. In this article, research progresses on the application of immune repertoire sequencing in these fields were reviewed, and current status of immune repertoire sequencing in organ transplantation and its potential as a novel technique for early non-invasive diagnosis of rejection were summarized, aiming to provide reference for subsequent development and clinical application of this technique.

**【Key words】** Immune repertoire; T cell receptor; B cell receptor; Organ transplantation; Rejection; Infection; Donor-derived cell-free DNA (dd-cfDNA); T cell-mediated rejection (TCMR); Antibody-mediated rejection (AMR); Donor specific antibody(DSA); Programmed cell death protein 1

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2023192

基金项目: 国家自然科学基金 (82170765); 上海市青年拔尖人才开发计划; 上海市临床重点专科 (shslczdzk05802)

作者单位: 200032 上海, 复旦大学附属中山医院泌尿外科上海市器官移植重点实验室 (梁厉飞、杨橙); 复旦大学附属中山医院药剂科 (陈婷婷); 上海浦东复旦大学张江科技研究院 (杨橙)

作者简介: 梁厉飞 (ORCID 0000-0001-8673-4969), 博士, 研究方向为肾移植及相关移植免疫, Email: lianglf98@163.com

通信作者: 杨橙 (ORCID 0000-0003-4060-2746), Email: esuperc@163.com



**作者简介:** 杨橙, 男, 博士, 副主任医师, 硕士研究生导师, 复旦大学附属中山医院肾移植亚专科副主任。兼任中华医学会器官移植学分会第九届委员会青年学组委员、中国生物医学工程学会免疫治疗工程分会委员、中国生物医学工程学会免疫治疗工程分会移植免疫专业委员会副主任委员、中国医药生物协会移植技术分会委员、上海市医学会器官移植专科分会青委会委员、美国移植协会会员、国际移植协会会员。兼任 *Journal of Translational Medicine*、*Frontiers in Cell and Developmental Biology*、*Frontiers in Molecular Medicine* 以及《器官移植》杂志编委。入选上海市卫生系统新优青计划、上海市委组织部青年拔尖人才开发计划、上海市科委青年科技启明星计划、复旦大学“卓越 2025”人才计划、中国器官移植发展基金会菁英计划, 入选上海市高水平地方高校创新团队。主持国家自然科学基金青年基金 1 项、面上项目 3 项, 以项目骨干身份参与 2018 国家重点研发计划干细胞及转化研究重点专项。累计 7 次获得美国移植协会、国际移植协会、欧洲移植协会颁发的青年科学家奖/基础科学奖。以第一作者或通信作者发表 SCI 论文 60 篇, 累计影响因子超过 310 分, 总被引超过 1 700 次。参编 *Kidney Transplantation* 等 6 本英文专著。获多肽药物 CHBP 发明专利 (2015) 及临床移植肾无创诊断系统发明专利 (2019)。

免疫组库包括个体循环中功能多样性 T 细胞和 B 细胞的多态性总和, 反映出整体免疫反应的情况<sup>[1]</sup>。随着测序技术的发展, 免疫组库测序逐渐应用于研发疫苗、肿瘤免疫治疗、辅助诊断以及免疫相关疾病, 包括器官移植相关领域的监测和研究<sup>[2-5]</sup>。本文总结了近年来器官移植领域中免疫组库测序相关的研究和临床应用情况, 旨在为进一步探索免疫组库测序作为移植后排斥反应无创诊断手段的价值以及规范标准提供参考。

## 1 免疫组库测序应用于器官移植的必要性

排斥反应是实体器官移植术后影响移植物长期存活的主要因素, 而能否在早期准确地诊断排斥反应的发生, 是准确制定治疗方案、维持移植物功能的关键。目前临床上诊断器官移植排斥反应的金标准仍然是移植物活组织检查 (活检), 但因其侵入性, 通常只在移植物功能出现异常且病因存疑时进行。供者来源性细胞游离 DNA (donor-derived cell-free DNA, dd-cfDNA) 作为一种新型无创的生物标志物, 在监测移植物预后和损伤方面已经表现出很大的潜力<sup>[6]</sup>, 然而, dd-cfDNA 对 T 细胞介导的排斥反应 (T cell-mediated rejection, TCMR) 和抗体介导的排斥反应 (antibody-mediated rejection, AMR) 尚无法精确区分并且没有稳定的连续监测方案, 目前不能在临床广泛开展。新型固相或细胞学抗人类白细胞抗原 (human leukocyte antibody, HLA) 抗体检测可以有效区分 TCMR 和 AMR, 但只有在损伤已经发生之后才能确认<sup>[7]</sup>。利用超声造影结合携带特定抗体, 如颗粒酶 B (Granzyme B) 抗体的微泡造影剂对移植物排

斥反应的无创诊断也有了研究<sup>[8-9]</sup>, 但其精确性和普及性尚不能作为主要的辅助诊断标准。基于目前的排斥反应监测手段, 需要新的损伤小并且更精准的方法来帮助判断排斥反应的发生及其类型, 以期在发生不可逆性损伤之前, 尽早发现并及时做出干预。

免疫组库测序通过获取 T 细胞受体 (T cell receptor, TCR) 和 B 细胞受体 (B cell receptor, BCR) 的多样性总和<sup>[10]</sup>, 来全面评估免疫系统的情况。基于移植后排斥反应发生的原理, 免疫组库测序有助于深入了解移植后免疫反应的情况。排斥反应主要由 T、B 细胞介导发生。在移植早期, 排斥反应首先由 TCR 结合供者 HLA 直接识别抗原启动, 伴随着抗原提呈细胞识别并向 T 细胞提呈抗原的间接识别过程, 长期的移植物排斥反应逐渐形成。无论是直接还是间接的抗原识别过程, 都是通过 TCR 接收、传递信号, 进而招募 CD8<sup>+</sup>T 细胞对移植物造成损伤<sup>[11]</sup>。不仅如此, 活化的辅助性 T 细胞 (helper T cell, Th) 向 B 细胞传递抗原信息<sup>[12]</sup>, B 细胞通过 BCR 接收抗原信号, 从而加快成熟和分化, 导致供者特异性抗体 (donor specific antibody, DSA) 的产生。在上述过程中, TCR 和 BCR 的抗原识别是 T、B 细胞活化的关键步骤, TCR 和 BCR 的多样性使获得性免疫系统能够对多种抗原刺激做出反应。TCR 和 BCR 的互补决定区 3 (complementarity-determining region 3, CDR3) 是决定抗原识别特异性的最可变基因区域<sup>[13-14]</sup>。CDR3 基因的多样性取决于可变 (V)、多样性 (D) 和连接 (J) 基因片段的重组, 以及基因的插入或缺失<sup>[15-16]</sup>。TCR 异源二聚体包括  $\alpha$  链和  $\beta$  链, 它们是通过 a 基因和 b 基因的随机重组而产生。TCR 的多样性主要取决于 TCRb 基因重组, 此过程是通过 D-J

重排后 V-DJ 重排的方式逐步发生的<sup>[16]</sup>。BCR 的多样性也是通过类似的方式产生的<sup>[17]</sup>。测序技术的进步使免疫组库在信使 RNA (messenger RNA, mRNA) 和 DNA 水平上的检测和分析成为可能, 并已被广泛应用, 这也为准确诊断和监测器官移植术后排斥反应的发生提供了新的思路和方法, 并可与现有多种无创诊断技术互补有无, 极大地增加诊断效能<sup>[18-19]</sup>。

## 2 免疫组库在肾移植中的应用

免疫组库测序目前在肾移植中应用较多, 特别是 TCR 测序。张家兴等<sup>[20]</sup>利用 TCR 测序对 3 例发生急性排斥反应的肾移植受者进行了观察和分析, 全面地绘制了肾移植早期排斥反应的 TCR CDR3 免疫图谱, 其中 T 细胞亚群中独特的 CDR3 以及 TCR 特征谱有助于评估急性排斥反应 (acute rejection, AR) 患者的免疫状态并指导临床及时对患者做出干预。Aschauer 等<sup>[21-22]</sup>在一项前瞻性研究中利用 TCR 免疫组库测序分析了肾移植术后发生或不发生 TCMR 患者外周血中 TCR 克隆多样性以及效应性 T 细胞的变化。结果表明与移植前相比, 移植后的 TCR 克隆型的整体数量并未出现明显变化, 而效应性 TCR 的克隆型多样性却明显减少, 并且效应性 T 细胞在发生排斥反应的移植肾中浸润明显增加。该研究也证明了外周血中 TCR 免疫组库可以反映移植肾中 T 细胞克隆表型的变化。其后续研究利用 TCR 免疫组库测序证明高致敏肾移植受者使用减量抗人 T 细胞免疫球蛋白诱导治疗可以起到与巴利昔单抗诱导相似的免疫抑制效果, 保留了 TCR 免疫组库的多样性, 降低了感染和肿瘤的易感性。

免疫组库的多样性是机体免疫系统可以对多种刺激做出反应的标志, 并在多种自身免疫性疾病发生时多样性降低。肾移植术后 T 细胞数量的延迟恢复以及 TCR 多样性降低与移植术后感染和肿瘤发生风险增加有关, TCR 测序提供了一种更直观的维度去观察移植前后 TCR 多样性及克隆丰度的变化。Lai 等<sup>[23]</sup>利用 TCR 测序分析了移植前 1 d、移植后 1 d 和移植后 7 d 的 TCR 变化。研究发现与正常组相比, 移植组的 TCR 多样性显著降低, 并且移植组出现少量的高丰度克隆, 而正常组中不存在高丰度克隆。结果表明, 移植后 1 d 可见 T 细胞耗竭以及 TCR 多样性降低, 移植后 7 d TCR 多样性有所回升但仍低于移植前 1 d。CDR3 长度、VD 和 DJ 插入长度在各时间点和移植受者之间差异均无统计学意义。该研究利用

TCR 多样性的减少描述了移植后免疫抑制的状态, 但尚不能将其作为诊断的方式。在感染新型冠状病毒的肾移植受者中, TCR 免疫组库测序显示在不同的受者之间 TCR 的克隆有很大的差异, 但在同一个体的不同器官中, TCR 免疫组库的变化是一致的、均匀的, 并且新型冠状病毒特异性 TCR 缺乏供者 HLA 限制性, 表明感染新型冠状病毒并不会直接对移植肾造成损失, 发展到肺炎阶段导致的移植肾功能障碍或失功可能是继发于全身强烈的炎症反应<sup>[24]</sup>。TCR 测序可以检测克隆性 CD8<sup>+</sup>T 细胞对不同细胞性排斥反应产生的变化<sup>[25]</sup>。在移植后发生肿瘤的患者中应用抗程序性细胞死亡蛋白 1 (programmed cell death protein 1, PD-1) 治疗导致发生排斥反应时检测 TCR 组库的变化, 发现了在这种环境下导致移植肾排斥反应发生的特异性 CD8<sup>+</sup>T 细胞亚群<sup>[26]</sup>。

相比于肾活检, 获取外周血更容易, 并且外周血中的免疫细胞变化可以一定程度上反映移植体内免疫反应的情况, 特别是在发生急性排斥反应时会伴随着 T 细胞比例的变化和极高的 TCR 翻转率<sup>[27]</sup>, 也体现出外周血 TCR 免疫组库测序可以作为移植前后排斥风险的预测指标之一。Alachkar 等<sup>[28]</sup>在一项前瞻性研究中, 收集了 50 例患者的样本, 并对 6 例患者的血液和活检样本进行 TCR 测序, 这 6 例患者中有 2 例在术后 3 个月内发生了 TCMR。结果表明, 与移植肾组织相比, 血液中的 TCR 多样性更高, 并且在发生 TCMR 的移植肾中排名前十的 TCR 克隆中, 有至少 6 个克隆在早期便可以在血液检测到, 体现出其作为预测和诊断排斥反应发生指标的可能性。但发生排斥反应与非排斥反应患者的 TCR 整体多样性并没有表现出明显的差异<sup>[28]</sup>。虽然这些研究中 TCR 免疫组库的量化指标受到不同的研究设计、分析方法以及样本数量较少的限制, 但这些研究为 TCR 免疫组库测序应用于肾移植临床诊断提供了很好的借鉴。

同样的, 很多研究致力于利用 BCR 测序分析去揭示排斥反应发生的更深层机制<sup>[29]</sup>。根据排斥反应发生的免疫机制, 类似于 TCR, BCR 在排斥反应发生时也会出现多样性减少, 个别克隆型急剧扩增的现象<sup>[30]</sup>。Pineda 等<sup>[14]</sup>在研究中利用 BCR 测序验证了这一点, 并且研究还发现, BCR 的多样性减少在排斥反应发生之前就已经能够观察到, 说明了这一现象与排斥反应的发生可能存在因果关系。该研究中更值得注意的一点是在发生排斥反应的样本中, 与驱动排斥反应过程相关的 IGHV3-23 等基因显著增加, 更加说

明 BCR 免疫组库测序在预测、指导治疗排斥反应方面具有重要的临床意义。Wang 等<sup>[31]</sup>对术前 1 d、术后 1 d 和术后 7 d 共 10 例患者的外周血样本同时进行了 TCR 和 BCR 免疫组库测序,全面地概括了肾移植围手术期 TCR/BCR CDR3 免疫组库的特点。结果表明,与健康对照组相比,患者的 TCR 和 BCR 多样性降低,但差异无统计学意义;与术前相比,术后 1 d 患者 TCR 和 BCR 的多样性有所下降,在术后 7 d 有所上升。他们还发现无论是 TCR CDR3 还是 BCR CDR3,部分 CDR3 克隆重叠序列的频率在移植受者中显著升高,并且确定了部分与移植免疫重建相关的 TCR CDR3 克隆序列。

由于体细胞高频突变和免疫球蛋白高变区域中点突变的累积在移植物中比在外周血中更多,所以通过外周血进行 BCR 免疫组库测序无法很全面地展示 AMR 所对应的 BCR 免疫组库图谱,这也导致单独使用 BCR 免疫组库测序诊断移植后排斥反应比较困难<sup>[32]</sup>。但是 BCR 免疫组库测序仍然对早期抗原特异性有很大的价值,与 TCR 免疫组库测序结合分析可以更全面地了解早期排斥反应的情况,特别是在病理无法做出准确判断时。

### 3 免疫组库测序在其他器官移植中的应用

免疫组库测序在其他实体器官移植中如肝移植、小肠移植和心脏移植等也开展了许多研究。Yang 等<sup>[33]</sup>对 6 例肝移植受者移植前、移植后 1 d 和移植后 7 d 的外周血进行了 TCR 免疫组库测序,研究了肝移植前后和与健康对照组之间 TCR 免疫组库的动态变化和差异。CDR3 和 VD/DJ 的序列长度在移植受者和对照组中相似,但移植受者的 TCR 多样性低于对照组,并且移植后 7 d 与移植后 1 d 相比多样性更低,这可能与新移植的肝脏和免疫抑制药的使用有关。其中,分别在移植前、移植后 1 d 和移植后 7 d 的最高丰度的克隆型在 DNA 和氨基酸序列之间几乎没有相似之处,但却出现了相同的 V-J 组合。Savage 等<sup>[34]</sup>利用 TCR  $\beta$  链的测序对 8 例肝移植受者的供者反应性 T 细胞克隆进行了跟踪,结果发现移植后 6 例患者的供者反应性 TCR  $\beta$  序列显著减少,而在所有的 8 例肝移植受者中,供者反应性 TCR  $\beta$  序列比其他序列的减少更明显。这些结果说明,TCR 测序不仅可以确定肝移植后 T 细胞免疫组库的变化,还可以特异性地监测供者特异性克隆的强度,以指导后续治疗和

了解预后。虽然外周血的 TCR 测序可以更加方便地在一定程度上反映移植后免疫反应的情况,但移植肝 TCR 和 BCR 组库测序图谱显示<sup>[35]</sup>,移植肝与外周血中 T 细胞亚群不同,仅在急性排斥反应中表现一致,在正常移植物或亚临床排斥反应中不一致,所以外周血 TCR 测序并不能完全反映移植肝内免疫反应的情况<sup>[36]</sup>,BCR 测序尚无研究有证据说明其有效性。因此移植肝活检 T 细胞免疫组库的变化能够更准确地了解移植后排斥反应的情况,也更具有特异性。

Zuber 等<sup>[37]</sup>详细地研究了小肠移植后受双向同种异体反应影响的移植物黏膜中受体来源 T 细胞的替换率。他们对 7 例小肠移植受者的 18 例活检样本进行了 TCR CDR3 测序分析,预先确定并追踪了供者反应性 TCR,并且发现在移植物排斥反应发生时供者特异性克隆占受者来源 T 细胞的 80%。这挑战了以往认为的在排斥反应发生时,大多移植物中浸润的淋巴细胞不是移植物特异性淋巴细胞的观点,因为高达 80% 的 CD4<sup>+</sup>T 细胞和 CD8<sup>+</sup>T 细胞克隆存在于经历早期 TCMR 的移植物中。

在心脏移植中,有研究将 BCR 测序应用于监测 12 例受者对免疫抑制的反应,其中有 6 例受者出现中至重度排斥反应。该研究首先描述了在没有发生排斥反应时免疫球蛋白重链 (immunoglobulin heavy chain, IgH) 的特征,然后在移植后和免疫抑制 6 个月后进行 IgH 转录的检测,并将其归类为低表达和高表达转录。低表达的转录仅出现一种类型的 Ig 分子,可能由幼稚或不活跃的 B 细胞表达。高表达的转录可见多个分子表达,可能由活化的 B 细胞表达。虽然检测到的高表达 IgH 转录谱系的总数在各时间点没有发生变化,但高表达的 IgA、IgE、IgG 以及突变的 IgM 序列在更晚的时间点中的贡献相对于总的转录谱减少。基于此,研究者提出了活化的 B 细胞序列 (activated B-cell sequence, ABS) 即高表达的 IgA、IgD、IgE、IgG 和突变的 IgM 与总体序列的比值。ABS 不仅与免疫抑制的程度呈反比,并且在心内膜活检和 dd-cfDNA 诊断为排斥反应时,其中位数增加了 3 倍。ABS 可以比活检提前 4 个月发现排斥反应,体现了其诊断心脏移植早期排斥反应的潜力<sup>[38]</sup>。

在一项手移植的病例报告中, Kim 等<sup>[39]</sup>利用高通量测序对移植手活检和外周血样本的 TCR 免疫组库进行了检测和比较,并且分析了移植物中浸润的淋巴细胞的情况。结果表明外周血中 TCR 克隆型虽然

与移植物浸润的 TCR 克隆型有所差异, 但变化趋势大体相同。其先前的研究提出, 穿刺活检的结果不能完全代表移植手的免疫细胞浸润情况, 而 TCR 免疫组库测序再次证明了这一点。

#### 4 免疫组库测序在器官移植感染中的应用

机会性病毒感染是实体器官移植中免疫抑制造成的严重并发症, 并且也使患者更容易发生排斥反应。常见的病毒有 BK 病毒、巨细胞病毒 (cytomegalovirus, CMV)、爱泼斯坦-巴尔病毒 (Epstein-Barr virus, EBV) 等<sup>[40]</sup>。免疫组库测序有助于动态监测移植后感染的情况和风险, 并且为进一步了解病毒感染影响排斥反应发生的机制提供了新的角度。

有研究利用 TCR 免疫组库测序, 对 11 例 CMV 血清抗体阳性和 HLA I 类不匹配但免疫风险较低的肾移植受者进行了分析。研究在外周血和移植肾中发现了与供者抗原和 CMV 发生交叉反应的 T 细胞及其克隆型, 证明了这些交叉反应性克隆在 CMV 相关排斥反应发生机制中起到了关键作用<sup>[41]</sup>。在进行过继性 T 细胞治疗 (adoptive T-cell therapy, ACT) 治疗 CMV 感染的 I 期临床试验中<sup>[42]</sup>, 应用 TCR 测序对治疗后的免疫组库的变化和影响进行了监测。结果显示 ACT 治疗有效的患者其 TCR 克隆偏向 ACT 中 T 细胞的克隆型或 CMV 特异性的 T 细胞克隆型, 而对 ACT 无应答的患者的 TCR 免疫组库克隆型几乎没有改变。了解治疗前后免疫组库的变化为 CMV 细胞治疗的临床应用提供了好的平台和参考依据。

EBV 是人体中最常见的病毒之一, 在免疫功能低下的人群中会导致严重的感染甚至肿瘤。Nguyen 等<sup>[43]</sup>利用 TCR 免疫组库测序在感染 EBV 的肺移植受者中观察到移植前后 EBV 特异性 CD8<sup>+</sup>T 细胞克隆随时间的动态变化, 并且提示了早期检测 EBV 特异性 T 细胞可以作为 EBV 血症的预测因子。

BK 病毒感染和 BK 病毒性肾病是肾移植术后感染相关移植物失功的常见原因<sup>[44]</sup>, 目前活检仍是诊断 BK 病毒性肾病主要方法。Stervbo 等<sup>[45]</sup>利用 TCR 测序结合流式细胞技术开发了一种新的评估 BK 病毒感染的诊断工具。研究对 7 例感染 BK 病毒的肾移植受者的 TCR 免疫组库进行了分析, 结果认为移植受者对 BK 病毒的清除与 TCR 克隆多样性和

BK 病毒特异性 T 细胞耗竭标志物相关。利用这一方法, 他们对 1 例移植术后 6 周血清肌酐升高的活体肾移植受者进行了检测, 发现 BK 病毒特异性 TCR 克隆大量扩增并占到整个免疫组库的 81.6%, 并根据这一结果制定了相应的 BK 病毒治疗方案, 使得该受者情况改善并在之后的 2 年随访中肾功能保持稳定。

#### 5 小结

通过 TCR 和 BCR 免疫组库测序对免疫组库进行量化分析, 可以从基因和细胞水平更直观地认识器官移植术后受者免疫状态的变化, 有利于早期准确诊断排斥反应并及时做出针对性治疗。目前, 免疫组库测序在肾移植中应用最多, 在肝移植、心脏移植中也已经开始应用。总体来说, 移植术后 TCR 和 BCR 的多样性相对于移植前或健康人群减少, 在发生排斥反应或者感染时, 会出现多样性显著减少伴随着异常扩增的克隆型出现, 不同的患者高丰度的克隆型可能相差甚远, 但研究发现患者的反应性克隆之间存在着相同的重叠序列, 这也为诊断和制定相应的治疗提供了依据。

虽然免疫组库测序已经逐渐在临床开展应用, 但因检测数量少, 缺乏大样本的队列研究, 尚不能制定免疫组库测序对实体器官移植排斥反应的诊断标准。经济原因也不能忽视, 在单个病例诊治中往往需要多次检测, 期望未来能进一步降低检测成本。免疫组库测序已经开始在临床展现出它的准确性和预见性, 能够通过特定的克隆型或预测因子在早期发现可能发生的排斥反应或感染, 有望成为器官移植精准诊疗的有力武器。

#### 参考文献:

- [1] 付钰, 杨国胜, 吴松. 免疫组库的临床应用[J]. 国际免疫学杂志, 2014, 37(5): 411-414,423. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4394.2014.05.012.  
FU Y, YANG GS, WU S. Immune repertoire in clinic application[J]. Int J Immunol, 2014, 37(5): 411-414,423. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4394.2014.05.012.
- [2] MUSVOSVI M, HUANG H, WANG C, et al. T cell receptor repertoires associated with control and disease progression following Mycobacterium tuberculosis infection[J]. Nat Med, 2023, 29(1): 258-269. DOI: 10.1038/s41591-022-02110-9.
- [3] FRANK ML, LU K, ERDOGAN C, et al. T-cell receptor repertoire sequencing in the era of cancer immunotherapy[J]. Clin Cancer Res, 2023, 29(6): 994-1008. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-22-2469.

- [4] PAUKEN KE, LAGATTUTA KA, LU BY, et al. TCR-sequencing in cancer and autoimmunity: barcodes and beyond[J]. *Trends Immunol*, 2022, 43(3): 180-194. DOI: 10.1016/j.it.2022.01.002.
- [5] WONG P, CINA DP, SHERWOOD KR, et al. Clinical application of immune repertoire sequencing in solid organ transplant[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1100479. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1100479.
- [6] OELLERICH M, SHERWOOD K, KEOWN P, et al. Liquid biopsies: donor-derived cell-free DNA for the detection of kidney allograft injury[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2021, 17(9): 591-603. DOI: 10.1038/s41581-021-00428-0.
- [7] SCHINSTOCK CA, MANNON RB, BUDDE K, et al. Recommended treatment for antibody-mediated rejection after kidney transplantation: the 2019 expert consensus from the Transplantation Society Working Group[J]. *Transplantation*, 2020, 104(5): 911-922. DOI: 10.1097/TP.0000000000003095.
- [8] JIN Y, GAO P, LIANG L, et al. Noninvasive quantification of granzyme B in cardiac allograft rejection using targeted ultrasound imaging[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1164183. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1164183.
- [9] GAO T, YI L, WANG Y, et al. Granzyme B-responsive fluorescent probe for non-invasive early diagnosis of transplant rejection[J]. *Biosens Bioelectron*, 2023, 232: 115303. DOI: 10.1016/j.bios.2023.115303.
- [10] LIU X, WU J. History, applications, and challenges of immune repertoire research[J]. *Cell Biol Toxicol*, 2018, 34(6): 441-457. DOI: 10.1007/s10565-018-9426-0.
- [11] SIU JHY, SURENDRAKUMAR V, RICHARDS JA, et al. T cell allorecognition pathways in solid organ transplantation[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 2548. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02548.
- [12] DEWOLF S, SYKES M. Alloimmune T cells in transplantation[J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(7): 2473-2481. DOI: 10.1172/JCI90595.
- [13] DAVIS MM, BJORKMAN PJ. T-cell antigen receptor genes and T-cell recognition[J]. *Nature*, 1988, 334(6181): 395-402. DOI: 10.1038/334395a0.
- [14] PINEDA S, SIGDEL TK, LIBERTO JM, et al. Characterizing pre-transplant and post-transplant kidney rejection risk by B cell immune repertoire sequencing[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 1906. DOI: 10.1038/s41467-019-09930-3.
- [15] BRACIAK TA, PEDERSEN B, CHIN J, et al. Protection against experimental autoimmune encephalomyelitis generated by a recombinant adenovirus vector expressing the V beta 8.2 TCR is disrupted by coadministration with vectors expressing either IL-4 or -10[J]. *J Immunol*, 2003, 170(2): 765-774. DOI: 10.4049/jimmunol.170.2.765.
- [16] SCHATZ DG, OETTINGER MA, SCHLISSEL MS. V(D)J recombination: molecular biology and regulation[J]. *Annu Rev Immunol*, 1992, 10: 359-383. DOI: 10.1146/annurev.iy.10.040192.002043.
- [17] ALT FW, OLTZ EM, YOUNG F, et al. VDJ recombination[J]. *Immunol Today*, 1992, 13(8): 306-314. DOI: 10.1016/0167-5699(92)90043-7.
- [18] LIU H, PAN W, TANG C, et al. The methods and advances of adaptive immune receptors repertoire sequencing[J]. *Theranostics*, 2021, 11(18): 8945-8963. DOI: 10.7150/thno.61390.
- [19] FU J, KHOSRAVI-MAHARLOOEI M, SYKES M. High throughput human T cell receptor sequencing: a new window into repertoire establishment and alloreactivity[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 777756. DOI: 10.3389/fimmu.2021.777756.
- [20] 张家兴, 陈怀周, 赖柳生, 等. 肾移植术后急性排斥反应相关的 T 细胞受体免疫组库变化[J]. *中华肾脏病杂志*, 2018, 34(4): 281-287. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-7097.2018.04.009.
- ZHANG JX, CHEN HZ, LAI LS, et al. Study of T cell receptor in patients with acute rejection after renal transplantation[J]. *Chin J Nephrol*, 2018, 34(4): 281-287. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-7097.2018.04.009.
- [21] ASCHAUER C, JELENCISICS K, HU K, et al. Effects of reduced-dose anti-human T-lymphocyte globulin on overall and donor-specific T-cell repertoire reconstitution in sensitized kidney transplant recipients[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 843452. DOI: 10.3389/fimmu.2022.843452.
- [22] ASCHAUER C, JELENCISICS K, HU K, et al. Prospective tracking of donor-reactive T-cell clones in the circulation and rejecting human kidney allografts[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 750005. DOI: 10.3389/fimmu.2021.750005.
- [23] LAI L, WANG L, CHEN H, et al. T cell repertoire following kidney transplantation revealed by high-throughput sequencing[J]. *Transpl Immunol*, 2016, 39: 34-45. DOI: 10.1016/j.trim.2016.08.006.
- [24] FU J, RUST D, FANG Z, et al. T cell repertoire profiling in allografts and native tissues in recipients with COVID-19 after solid organ transplantation: insight into T cell-mediated allograft protection from viral infection[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1056703. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1056703.
- [25] SHI T, BURG AR, CALDWELL JT, et al. Single-cell transcriptomic analysis of renal allograft rejection reveals insights into intragraft TCR clonality[J]. *J Clin Invest*, 2023, 133(14): e170191. DOI: 10.1172/JCI170191.

- [26] DUNLAP GS, DITORO D, HENDERSON J, et al. Clonal dynamics of alloreactive T cells in kidney allograft rejection after anti-PD-1 therapy[J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 1549. DOI: 10.1038/s41467-023-37230-4.
- [27] SIGDEL TK, FIELDS PA, LIBERTO J, et al. Perturbations of the T-cell immune repertoire in kidney transplant rejection[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1012042. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1012042.
- [28] ALACHKAR H, MUTONGA M, KATO T, et al. Quantitative characterization of T-cell repertoire and biomarkers in kidney transplant rejection[J]. *BMC Nephrol*, 2016, 17(1): 181. DOI: 10.1186/s12882-016-0395-3.
- [29] ZHENG B, YANG Y, CHEN L, et al. B-cell receptor repertoire sequencing: deeper digging into the mechanisms and clinical aspects of immune-mediated diseases[J]. *iScience*, 2022, 25(10): 105002. DOI: 10.1016/j.isci.2022.105002.
- [30] WU TH, LIAO HT, LI TH, et al. High-throughput sequencing of complementarity determining region 3 in the heavy chain of B-cell receptor in renal transplant recipients: a preliminary report[J]. *J Clin Med*, 2022, 11(11): 2980. DOI: 10.3390/jcm11112980.
- [31] WANG G, SUI W, XUE W, et al. Comprehensive analysis of B and T cell receptor repertoire in patients after kidney transplantation by high-throughput sequencing[J]. *Clin Immunol*, 2022, 245: 109162. DOI: 10.1016/j.clim.2022.109162.
- [32] FERDMAN J, PORCHERAY F, GAO B, et al. Expansion and somatic hypermutation of B-cell clones in rejected human kidney grafts[J]. *Transplantation*, 2014, 98(7): 766-772. DOI: 10.1097/TP.000000000000124.
- [33] YANG G, OU M, CHEN H, et al. Characteristic analysis of TCR  $\beta$ -chain CDR3 repertoire for pre- and post-liver transplantation[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(77): 34506-34519. DOI: 10.18632/oncotarget.26138.
- [34] SAVAGE TM, SHONTS BA, LAU S, et al. Deletion of donor-reactive T cell clones after human liver transplant[J]. *Am J Transplant*, 2020, 20(2): 538-545. DOI: 10.1111/ajt.15592.
- [35] SHAN Y, QI D, ZHANG L, et al. Single-cell RNA-seq revealing the immune features of donor liver during liver transplantation[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1096733. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1096733.
- [36] MEDERACKE YS, NIENEN M, JAREK M, et al. T cell receptor repertoires within liver allografts are different to those in the peripheral blood[J]. *J Hepatol*, 2021, 74(5): 1167-1175. DOI: 10.1016/j.jhep.2020.12.014.
- [37] ZUBER J, SHONTS B, LAU SP, et al. Bidirectional intragraft alloreactivity drives the repopulation of human intestinal allografts and correlates with clinical outcome[J]. *Sci Immunol*, 2016, 1(4): eaah3732. DOI: 10.1126/sciimmunol.aah3732.
- [38] VOLLMERS C, DE VLAMINCK I, VALANTINE HA, et al. Monitoring pharmacologically induced immunosuppression by immune repertoire sequencing to detect acute allograft rejection in heart transplant patients: a proof-of-concept diagnostic accuracy study[J]. *PLoS Med*, 2015, 12(10): e1001890. DOI: 10.1371/journal.pmed.1001890.
- [39] KIM JY, LEI Z, MAIENSCHN-CLINE M, et al. Longitudinal analysis of the T-cell receptor repertoire in graft-infiltrating lymphocytes following hand transplantation[J]. *Transplantation*, 2021, 105(7): 1502-1509. DOI: 10.1097/TP.0000000000003535.
- [40] SIM BZ, YONG KY, SLAVIN MA, et al. Risk factors and outcome of concurrent and sequential multiviral cytomegalovirus, Epstein-Barr virus, BK virus, adenovirus and other viral reactivations in transplantation[J]. *Curr Opin Infect Dis*, 2022, 35(6): 536-544. DOI: 10.1097/QCO.0000000000000888.
- [41] STRANAVOVA L, PELAK O, SVATON M, et al. Heterologous cytomegalovirus and allo-reactivity by shared T cell receptor repertoire in kidney transplantation[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2549. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02549.
- [42] SMITH C, CORVINO D, BEAGLEY L, et al. T cell repertoire remodeling following post-transplant T cell therapy coincides with clinical response[J]. *J Clin Invest*, 2019, 129(11): 5020-5032. DOI: 10.1172/JCI128323.
- [43] NGUYEN TH, BIRD NL, GRANT EJ, et al. Maintenance of the EBV-specific CD8<sup>+</sup> TCR $\alpha\beta$  repertoire in immunosuppressed lung transplant recipients[J]. *Immunol Cell Biol*, 2017, 95(1): 77-86. DOI: 10.1038/icb.2016.71.
- [44] BORRIELLO M, INGROSSO D, PERNA AF, et al. BK virus infection and BK-virus-associated nephropathy in renal transplant recipients[J]. *Genes (Basel)*, 2022, 13(7): 1290. DOI: 10.3390/genes13071290.
- [45] STERVBO U, NIENEN M, WEIST BJD, et al. BKV clearance time correlates with exhaustion state and T-cell receptor repertoire shape of BKV-specific T-cells in renal transplant patients[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 767. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00767.

(收稿日期: 2023-11-07)

(本文编辑: 林佳美 鄢加佳)