

IMUNSKI SISTEM IN RAZVOJ RAKA

Prof. dr. Alojz Ihan, dr. med.,

Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Medicinska fakulteta
Univerze v Ljubljani

Uvod

Imunski sistem ima ključno vlogo pri nadzoru in preprečevanju nastanka raka. Koncept imunskega nadzora raka (cancer immunosurveillance), ki se je razvil skozi zadnja desetletja, poudarja sposobnost imunskega sistema, da prepozna in odstranjuje transformirane celice. Vendar pa tumorji lahko razvijejo mehanizme za izogibanje imunskemu nadzoru, kar vodi v njihovo napredovanje. Razumevanje interakcij med imunskim sistemom in rakavimi celicami je ključno za razvoj imunoterapevtskih strategij.

Tumor in imunski sistem

Tumorske celice nastajajo iz normalnih celic. V telesu se tekom življenja razdeli ogromno število celic (blizu 10¹⁶). V življenju celic in ob njihovih delitvah prihaja tudi do sprememb - mutacij - v genetskem materialu. Nekatere od mutacij lahko prizadenejo gene, ki so vpleteni v regulacijo celičnega ciklusa. Brez zahajanja v mehanizme onkogeneze lahko povzamemo, da iz zdrave celice nastane tumorska v primeru, če ji mutacije omogočajo prednost rasti pred normalnimi celicami v sicer zelo kompetitivnem okolju - tkivu (1). Najpogostejše mutacije, ki tumorski celici omogočijo razrast, so mutacije genov, ki določajo ekspresijo proteinov, regulatorjev celičnega ciklusa - jedrnih proteinov, rastnih faktorjev in njihovih receptorjev, proteinov, ki prevajajo receptorske signale v celico (2). Ker delovanje celic omogočajo številni, med seboj odvisni uravnavni mehanizmi, za nastanek uspešne tumorske celice (take, ki pozneje zraste v tumor) ni dovolj ena sama mutacija, ampak ustrezna kombinacija mutacij, ki se dogodijo v isti celični liniji. To omogoči maligni celici razmnoževanje, neodvisno od zunanjih rastnih signalov, ki so jim podvržene zdrave celice. Avtonomna rast je poglavitna lastnost malignega obolenja (tabela 1).

Tabela 1. Značilnosti tumorskih celic

Avtonomna rast, ki ne zahteva zunanjih rastnih signalov
Neodzivnost na rastne signale za normalno rast in celjenje tkiva
Invazivna rast preko normalnih tkivnih meja
Zasevanje prek krvi, limfe in metastatska rast v oddaljenih organih
Vse celice določenega tumorja izvirajo iz ene same prekursorke celice
Spremenjeno izražanje membranskih proteinov v primerjavi z netumorskimi celicami istega tkivnega izvora

Imunski sistem prepozna »tuje« molekule. Molekule, ki jih imunski sistem specifično prepozna z receptorji limfocitov T ali B, imenujemo "antigeni". Ob prepoznavi antigenov se lahko sproži zavrnitvena imunska reakcija (navadno gre za virusne, bakterijske, parazitske; v patoloških primerih tudi lastne molekule). V drugih okoliščinah se sproži tolerančna reakcija (navadno gre za lastne molekule, molekule hrane v prebavilih, vdihane molekule).

Normalne celice pridobijo lastnosti tumorskih zaradi delovanja mutiranih genov, virusnih genov ali normalnih genov, katerih izražanje je napačno uravnavano. Nenormalni geni se prepisujejo v nenormalne proteine. Ker takih proteinov zdrave celice nimajo, jih imunski sistem lahko prepozna kot tuje molekule - tumorske antigene. Številna klinična in eksperimentalna opažanja dokazujejo, da tumorski antigeni lahko vzbudijo protitumorsko imunsko reakcijo (3).

Številni tumorji (maligni melanom, timom, seminom, medularni karcinom dojke) vsebujejo velike količine infiltriranih limfocitov T, celic NK in makrofagov. Taki infiltrati niso povezani z običajnimi vnetnimi procesi, in verjetno nastanejo zaradi imunske reakcije proti tumorskim celicam. V bezgavkah, ki drenirajo področja tumorske rasti, pogosto zasledimo proliferacijo limfocitov. V tumorjih je mogoče izmeriti povečane koncentracije limfokinov, ki omogočajo aktivacijo imunskih celic. Klinične študije kažejo, da je prisotnost limfocitnega infiltrata v nekaterih tumorjih (medularni karcinom dojke, maligni melanom) povezana z boljšo prognozo v primerjavi s podobnimi tumorji brez infiltrata. Ljudje s pomanjkljivo imunostjo so tudi bolj izpostavljeni obolenju za določenimi tumorji (4).

Mehanizmi specifičnega prepoznavanja in ubijanja tumorskih celic

Ker nastanek tumorske celice omogoči ustrezna, za rast tumorja uspešna kombinacija mutiranih genov, ki se prepisujejo v mutirane proteine, lahko imunski sistem s prepoznavo spremenjenih proteinov razloči tumorske celice od normalnih. In kako imunski sistem prepozna mutirane proteine? Slehera celica del svojih novo sintetiziranih proteinov encimsko razseka na peptidne fragmente (5). Peptidni fragmenti (8 - 9 aminokislin) se z lahkimi in težkimi verigami molekul MHC I povežejo v komplekse, ki potujejo do celičnih membran. Na ta način celice na površinah predstavljajo imunskim celicam (citotoksičnim limfocitom T) vzorce izdelkov svoje proteinske sinteze. Na predstavljene peptide naletijo citotoksični limfociti T, ko preiskujejo celične površine. V primeru, da je proteinska sinteza celic tumorsko spremenjena (celice sintetizirajo nenormalne, mutirane proteine, t.j. tumorske antigene), citotoksični limfociti T prepoznajo spremenjene peptide, in s svojimi ubijalskimi mehanizmi povzročijo smrt tumorskih celic.

Vendar ne zadostuje, da specifični citotoksični limfociti T z antigenskimi receptorji prepoznajo peptide tumorskih celic. Ob prepoznavi tumorskih antigenov potrebujejo še dodatne signale - limfokine. Limfokine izločajo celice T pomagalk, ko s svojimi antigenskimi receptorji prepoznajo tumorske antigene, predstavljene v membranah makrofagov. Makrofagi v fagolizosomih razgradijo tumorske proteine na fragmente, ki jih nato kot tumorske antigene vklopijo v molekularne komplekse MHC II. Ob prepoznavi tumorskih antigenov celice T pomagalk izločajo limfokine(6).

Za uspešno specifično protitumorsko reakcijo je torej potrebno, da po eni strani makrofagi uspešno predstavijo tumorske antigene celicam T pomagalkam, tumorske celice pa morajo uspešno predstaviti svoje antigene citotoksičnim limfocitom T. Na ta način citotoksični limfociti T prepoznajo tumorske celice, in jih ob prisotnosti ustreznih limfokinov ubijejo.

Kaže, da tumorsko toleranco lahko povzroči pomanjkljivo predstavljanje tumorskih antigenov citotoksičnim limfocitom T (s strani tumorskih celic) ali celicam T pomagalkam (s strani makrofagov). Čeprav molekule MHC I izražajo vse telesne celice, imajo mnoge tumorske celice zavrto sintezo teh molekul. Take celice ne predstavljajo citotoksičnim limfocitom T svojih antigenov. Po drugi strani je možen vzrok za toleranco tudi pomanjkljiva zmožnost makrofagov, da fagocitirajo in predstavijo dovolj tumorskih antigenov celicam T pomagalkam (7).

Imunski nadzor raka

Koncept imunskega nadzora je bil prvič predlagan že v 20. stoletju (Burnet, 1957) in temelji na hipotezi, da imunski sistem stalno nadzira in odstranjuje predrakave in rakave celice. Ta nadzor je sestavljen iz treh faz, znanih kot imuno-urejanje (immunoediting): eliminacija, ravnotežje (equilibrium) in izogibanje (escape) (Dunn et al., 2002).

Eliminacija: V tej fazi prirojeni in pridobljeni imunski mehanizmi (npr. naravne celice ubijalke – NK, citotoksični T-limfociti, makrofagi) uničujejo tumorske celice, ki izražajo nenormalne antigene.

Ravnotežje: Če vse tumorske celice niso odstranjene, se preostale lahko zadržujejo v stanju imunološkega ravnotežja, kjer jih imunski sistem nadzoruje, a ne uniči popolnoma.

Izogibanje: Tumorji, ki preživijo imunski pritisk, lahko razvijejo mehanizme za inhibicijo imunskega sistema, npr. s sekrecijo imunosupresivnih citokinov ali izražanjem zaviralnih molekul (npr. PD-L1), kar vodi v napredovanje bolezni. (6-8)

Specifični tumorski antigeni (STA) in tumorju pridruženi antigeni (TAA)

Že vse od najzgodnejših začetkov razvoja seroloških tehnik, zlasti pa z razvojem tehnologije monoklonskih protiteles, številni raziskovalci skušajo opredeliti molekule na tumorskih celicah, ki bi bile značilne samo za tumorske celice. Take molekule imenujemo tumorski antigeni. Monoklonska protitelesa, s katerimi dokazujemo tumorske antigene, pridobivamo tako, da imuniziramo miši s celicami človeških tumorjev. Po ustrezni selekciji pridobimo protitelesa, ki v idealnem primeru reagirajo s tumorskimi celicami, ne reagirajo pa z netumorskimi celicami istega tkivnega porekla. Taka protitelesa so zato primerna za histološko razlikovanje tumorskih in netumorskih celic v določenem tkivu. Upoštevati pa moramo, da gre pri tvorbi takih protiteles za reakcijo imunskega sistema miši proti človeškim celicam. Zato so antigeni, ki jih protitelesa prepoznavajo, v glavnem normalni človeški proteini. Zaradi motenj diferenciacije, tumorske celice pogosto izražajo proteine, ki jih netumorske celice istega tkiva ne izražajo. Navadno pa enake proteine izražajo normalne celice drugih tkiv. S stališča imunskega sistema rakavega bolnika taki proteini niso antigeni ampak molekule lastnega organizma, ki jih imunski sistem tolerira. "Pravi" antigeni so lahko samo nenormalni, spremenjeni proteini tumorskih celic, ki so v procesu tumorske pretvorbe nastali zaradi sprememb celičnega genoma. Nanje imunski sistem lahko reagira kot na tuje proteine. Zato se v novejših terminologijah pojem tumorskih antigenov deli na dve kategoriji: Izraza tumorski

antigeni (TA - tumor antigens) in specifični tumorski antigeni (TSA tumor specific antigens) se uporabljata samo za antigene, ki jih prepozna imunski sistem bolnika s tumorjem. Izraz "tumorju pridruženi antigeni" (TAA - tumor associated antigens) pa se uveljavlja za poimenovanje vseh ostalih antigenov, ki služijo kot uporabne molekule za opredelitev posameznih tumorjev. Med tumorju pridružene antigene štejemo zlasti onkofetalne antigene in tkivno-specifične antigene.(7):

Onkofetalni antigeni so proteini, ki jih normalno izražajo razvijajoča se (fetalna) tkiva, pri odraslem pa vnetja tkiva in v malih količinah tudi ostala tkiva. Ker gre za normalne, lastne proteine, jih imunski sistem tolerira. Med njimi sta za diagnostične namene najuporabnejša alfa-fetoprotein (AFP) in karcinoembrionalni antigen (CEA). AFP je 70 kD glikoprotein, ki ga v fetusu tvorijo jetra in rumenjakova vrečka. V fetalnem serumu doseže koncentracijo 2-3 mg/ml. Kasneje AFP v serumu izgine, nadomesti pa ga albumin. V serumu odraslega se lahko koncentracija AFP zelo poveča pri hepatocelularnem karcinomu, včasih pa tudi pri karcinomu želodca ali trebušne slinavke. CEA je 180 kD integralni membranski protein. V fetalnem obdobju je močno izražen v črevesju, trebušni slinavki in jetrih. Pri odraslem ostane v manjših količinah izražen v črevesju ter v dojkah med laktacijo. V serumu odraslega se koncentracija CEA močno poveča pri karcinomih črevesa.

Tkivno-specifični antigeni na tumorskih celicah.Vsaka vrsta celic zaradi svoje specializirane funkcije izraža specializirane proteine, ki jih je z monoklonskimi protitelesi mogoče identificirati. Take proteine imenujemo tkivno-specifični antigeni. Tumorske celice kljub preobrazbi navadno še izražajo tkivno-specifične antigene celic, iz katerih so se transformirale. S histološkim pregledom tumorja je pogosto težko ugotoviti, iz kakšnih celic so se transformirale tumorske celice. Opredelitev tkivno-specifičnih antigenov na tumorskih celicah lahko razjasni izvor tumorskih celic. Tkivno-specifični antigeni so podobno kot onkofetalni antigeni normalni telesni proteini, zato nimajo odločilne vloge pri imunski obrambi organizma proti tumorju. (8)

Iskanje proteinov tumorskih celic, ki jih imunski sistem prepozna kot tuje (specifičnih tumorskih antigenov, STA), je iz etičnih razlogov lažje izvedljivo pri živalih kot pri ljudeh, zato večina informacij o specifičnih tumorskih antigenih izhaja iz živalskih eksperimentov. Več vrst STA je pravzaprav posledica različnih vrst

eksperimentov, s katerimi so raziskovalci iskali specifične tumorske antigene. Najbolj znane vrste STA so:

Tumor-specifični transplantacijski antigeni. V liniji singenskih miši (miši, ki so genetsko identične) je mogoče v posamezni miški s kemičnim ali fizikalnim karcinogenom povzročiti nastanek tumorja. Tumor lahko nato presadimo v drugo singensko miško in opazujemo imunsko reakcijo proti tumorju, t.j. zmožnost zavračanja tumorja singenske miške. Ker gre za singenske miši, zavračanje tumorja ne moremo pripisati običajni transplantacijski reakciji, ampak le imunski reakciji proti specifičnim tumorskim antigenom. Biokemijska karakterizacija antigenov je pokazala, da gre za nekatere mutirane celične proteine (naprimer mutirane "Heat Shock" proteine (HSP), katerih funkcija v celici je, da omogočajo novo sintetiziranim proteinom, da se zvijejo v pravilno konformacijo, napačne proteine pa odstranjujejo; ali mutirane proteine MHC I, ki omogočajo predstavitev celičnih proteinov imunskim celicam).

TSA v "in vitro" limfocitno-tumorskih kulturah. Pri ljudeh eksperiment presaditve tumorja na singenskega prejemnika ni mogoč, zato je postopek iskanja specifičnih tumorskih antigenov manj direkten. Sestoji v tem, da rakavemu bolniku odvzamemo nekaj krvi, iz krvi izoliramo limfocite, nato pa limfocite v "in vitro" kulturi stimuliramo z bolnikovimi tumorskimi celicami (avtologna mešana limfocitno-tumorska kultura). Iz take kulture pogosto pridobimo limfocite T, ki so zmožni ubijati bolnikove tumorske celice. Zato sklepamo, da tudi celice človeških tumorjev, podobno kot bolje preučeni živalskih, sintetizirajo nekatere mutirane proteine, ki jih imunske celice lahko prepoznajo kot tuje molekule.

TSA, ki jih kodirajo onkogeni in zaviralni tumorski geni. Onkogeni so spremenjene (mutirane) oblike normalnih genov, ki uravnavajo proliferacijo in diferenciacijo celic. V skladu z izrazom zato normalne oblike takih genov imenujemo proto-onkogeni. Proto-onkogeni običajno pospešujejo proliferacijo celic. Proto-onkogene lahko delovanje karcinogenov ali virusov spremeni - hiperaktivira - do te mere, da pretirano pospešujejo proliferacijo celic, in vodijo v tumorsko transformacijo. Zaviralni tumorski geni (tumor-supresor genes, TSG) v nasprotju z onkogeni kodirajo proteine, ki negativno uravnavajo celično proliferacijo. Njihova inaktivacija (mutacija, delecija) povzroči prevlado proliferativnih signalov in poveča verjetnost tumorske preobrazbe. Onkogeni in TSG so torej mutirane oblike normalnih genov.

Proteini, ki jih kodirajo, imajo spremenjena aminokislinska zaporedja, zato so potencialne tarče limfocitov T. Pri miših in ljudeh je bila dokazana reakcija limfocitov T proti produktom različnih onkogenov in zaviralnih tumorskih antigenov (proteini ras, p53, bcr-abl).

TSA, ki jih kodirajo onkogeni virusi. Virusi, ki povzročajo tumorje, vnesejo v okuženo celico virusni genom, ki se navadno prepisuje v virusne proteine. Ti proteini se podobno kot vsi celični proteini vklaplajo v komplekse MHC I in so potencialne tarče za limfocite T. Znano je, da osebe z imunsko pomanjkljivostjo pogosteje obolijo za limfomom, povezan z Epstein-Barr virusno infekcijo ali za kožnim rakom, povezanim z infekcijo s humanim papiloma virusom. (9)

Imunski sistem prepoznava tumorske celice predvsem preko tumorsko specifičnih antigenov (TSA) in tumorsko povezanih antigenov (TAA), ki jih predstavijo antigen-predstavljajoče celice (APC), kot so dendritične celice. Prezentacija vodi do aktivacije T-limfocitov in njihovega citotoksičnega odziva.

Glavne komponente vključujejo:

Naravne celice ubijalke (NK): Prepoznajajo in ubijajo celice z zmanjšano ekspresijo MHC I.

CD8+ T-celice: Uničujejo tumorske celice, ki izražajo tumorske peptide v kontekstu MHC I.

CD4+ T-celice: Regulirajo imunski odziv, spodbujajo aktivacijo drugih efektorskih celic in produkcijo citokinov, kot sta IFN- γ in IL-2.

Tumorski mehanizmi izogibanja imunskemu odzivu

Tumorji izražajo antigene, ki jih imunski sistem lahko prepozna kot tuje. Vendar imunski sistem pogosto ne prepreči nastanek malignega obolenja. Tumorska imunologija skuša razumeti mehanizme, s katerimi se tumorji izognejo imunskemu nadzoru. Imunski sistem sestavljajo imunske celice, ki v telesu razpoznajajo molekule in nanje reagirajo bodisi obrambno, bodisi tolerančno. Zelo nepopolno je še znanje o tem, kateri mehanizmi vodijo imunsko reakcijo v eno ali drugo smer(10). Vemo naprimer, da molekule, ki jih imunski sistem prvič razpozna že v fetalnem obdobju, povzročijo nastanek tolerance. Tudi imunski sistem odraslega organizma lahko ob prepoznavi nove molekule reagira tolerančno.

Rakave celice uporabljajo različne strategije za izogibanje imunskemu nadzoru, med njimi:

Izguba antigenskosti: zmanjšana ekspresija tumorskih antigenov ali molekul MHC.

Imunosupresivno mikrokolje: produkcija citokinov, kot so TGF- β , IL-10, ki inhibirajo efektorske T-celice.

Imunosupresivne celice: povečanje regulatornih T-celic (Treg), mieloidnih zaviralnih celic (MDSC), ki zavirajo citotoksične odzive.

Zaviralni imunološki checkpointi: izražanje molekul, kot so PD-L1, CTLA-4, ki zavirajo aktivacijo T-celic.

V številnih poskusih je bilo pokazano, da žival, ki ji vbrizgamo manjše količine tumorskih celic, zavrne tumor, če pa ji vbrizgamo napr. desetkrat več celic, se tumor rasraste. Če limfocite živali s tumorjem vbrizgamo v drugo singensko žival, in slednji nato vbrizgamo še manjšo količino tumorskih celic, bo manjša količina tumorskih celic povzročila razrast tumorja. Rezultat poskusa kaže, da limfociti živali s tumorjem pomagajo pri razrasti tumorskih celic v drugi singenski živali, ki bi bila sicer zmožna zavrniti vbrizgane tumorske celice.

Iz takih poskusov se je oblikovala zamisel o supresorskih imunskih celicah, specifičnih za tumor. Ob prvi prepoznavi tumorskih antigenov se imunski sistem usmeri k tolerančni reakciji; aktivirajo se supresorske celice in zavrejo zavrnitev tumorja. Zakaj imunski sistem reagira tolerančno, ni znano (7). V zadnjem času je nekaterim raziskovalcem uspelo izolirati in klonirati limfocite T, ki so zmožni zavreti protitumorsko imunsko reakcijo. Taki limfociti T so posebej številni med limfociti, ki infiltrirajo človeške tumorje (TIL - tumor infiltrating lymphocytes), naprimer maligni melanom. Zdi se, da limfociti v tumorju skrbijo za ohranjanje tolerance na tumorske antigene (9).

Čeprav je toleranca med najpomembnejšimi razlogi za "uspeh" posameznega tumorja, so v skoraj stoletju obstoja tumorske imunologije raziskovalci predlagali vrsto mehanizmov, s pomočjo katerih se nastajajoč tumor izogne zavrnitvi.

Teorija o imunoselekciji temelji na opazovanju, da naglo razmnožujoče se tumorske celice pogosto mutirajo svoje gene. Zato posamezne celice istega tumorja izražajo različne tumorske antigene. Na nekatere od antigenov imunski sistem reagira obrambno. Sčasoma se v tumorju selekcionirajo celice, ki izražajo samo tumorske antigene, ki jih imunski sistem tolerira.

Tumorska imunosupresija. Serumi nekaterih rakavih bolnikov vsebujejo snovi, ki zavirajo imunsko obrambo proti tumorju. Nekatere od teh snovi lahko izločajo supresorski limfociti in na ta način vzdržujejo toleranco do tumorja. Druge snovi so se "naučile" izločati tumorske celice. Dokazano je že nekaj fiziološko aktivnih proteinskih mediatorjev, ki neposredno (TGF beta - "transforming growth factor beta" ; P15E) zavirajo dejavnost imunskih celic pri napadu na tumor. Še več, z izločanjem ustrezne kombinacije mediatorjev lahko tumorske celice pretvorijo imunske celice iz nasprotnic v sodelavke. Znano je naprimer, da tumorske celice z izločanjem nekaterih mediatorjev (M-CSF, monocitni kemotaktični protein) privabijo makrofage v tumor, pospešujejo njihovo razmnoževanje v tumorju in povsem zavrejo njihovo zmožnost uničevanja tumorskih celic. Taki makrofagi s svojimi izločki celo pospešujejo rast tumorskih celic in omogočajo hitrejšo tvorbo novih krvnih žil v tumorju, s čemer pripomorejo tumorju v rasti (10).

Vnetje in rak

Čeprav imunski sistem ščiti telo pred rakom, lahko kronično vnetje spodbuja njegovo nastanek. Stanja, kot so kronične okužbe (npr. s HPV, HCV), avtoimunske bolezni in dolgotrajno draženje, lahko vodijo do trajne aktivacije imunskih celic, sproščanja prostih radikalov, rastnih faktorjev in citokinov, ki spodbujajo mutagenezo, proliferacijo in angiogenezo. (10)

Zaključek

Imunski sistem igra dvojno vlogo v razvoju raka: kot varuh pred maligno transformacijo in kot potencialni spodbujevalec tumorogeneze v primeru kroničnega vnetja. Hkrati predstavlja močno orodje za terapijo tumorjev. Razumevanje kompleksne dinamike med rakavimi celicami in imunskim sistemom je temelj prihodnjega razvoja natančnih, personaliziranih terapij.

Literatura

1. Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. "The immunobiology of cancer immunoediting and immunoescape." *Nat Immunol.* 2002;3(11):991–998.
2. Vesely MD, Kershaw MH, Schreiber RD, Smyth MJ. "Natural innate and adaptive immunity to cancer." *Annu Rev Immunol.* 2011;29:235–271.
3. Hanahan D, Weinberg RA. "Hallmarks of cancer: the next generation." *Cell.* 2011;144(5):646–674.
4. Vallentin, B. et al. Innate Lymphoid Cells in Cancer. *Cancer Immunol. Res* 2015;3:1109–14
5. Tian, Z., van Velkinburgh, J. C., Wu, Y. & Ni, B. Innate lymphoid cells involve in tumorigenesis. *Int. J. Cancer* 2016;138, 22–29
6. Klose, C. S. N. & Artis, D. Innate lymphoid cells as regulators of immunity, inflammation and tissue homeostasis. *Nat. Immunol.* 17, 765–774 (2016).
7. Palucka, A. & Coussens, L. The Basis of Oncoimmunology. *Cell.* 2016;164: 1233–1247
8. Cohen, J. et al. Isolation of neoantigen-specific T cells from tumor and peripheral lymphocytes. *The Journal of Clinical Investigation.* 2015;125(10):3981–3991.
9. Ilyas, S. & Yang, J. Landscape of Tumor Antigens in T Cell Immunotherapy. *J Immunol.* 201;195:5117–5122
10. Strønen, E. et al. Targeting of cancer neoantigens with donor-derived T cell receptor repertoires. 2016;Science. 10.1126.