

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2023.03.010

· 综述 ·

CD4⁺CAR-T 细胞亚群在肿瘤治疗中作用的研究进展

Advances in the study of the function of CD4⁺CAR-T cell subsets in tumor therapy

李田田 综述;李琳,廖力微 审阅(昆明医科大学附属延安医院 中心实验室,云南省肿瘤免疫防治研究重点实验室,云南 昆明 650000)

[摘要] 嵌合抗原受体T(CAR-T)细胞疗法是目前治疗癌症最有效的一种免疫治疗方法,但CAR-T细胞功能障碍很大程度限制其自身对癌症治疗的效果。T细胞功能的差异以及记忆和效应T细胞的作用被证明在CAR-T细胞治疗中极为重要。CD8⁺T细胞作为发挥抗癌作用的主要效应细胞一直是研究焦点,而对CD4⁺T细胞的关注较少。CD4⁺T细胞不仅可以通过激活CD8⁺T细胞使其杀伤肿瘤细胞,还可以独立发挥抗肿瘤作用。现有研究发现,细胞因子、共刺激域和细胞代谢等因素均可影响CD4⁺CAR-T细胞亚群的增殖和分化。本文主要综述了CD4⁺CAR-T细胞亚群在治疗肿瘤中的重要性以及影响其增殖分化因素的研究进展,为进一步研发高效的CAR-T细胞提供新思路。

[关键词] CD4⁺细胞;CAR-T细胞;共刺激域;肿瘤免疫治疗

[中图分类号] R730.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2023)03-0255-06

近年来,过继细胞治疗(adoptive cell transfer therapy, ACT)作为免疫疗法的主要形式之一,已经成为癌症治疗的新方法^[1]。ACT主要包括肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)治疗、细胞受体基因工程化T(TCR-T)细胞治疗、嵌合抗原受体基因修饰的T(CAR-T)细胞疗法及NK细胞疗法等,其原理皆是通过向患者体内输注免疫细胞,从而杀灭血液及组织内的病原体、癌细胞,以上治疗中应用最广泛的仍是T细胞。近几年,靶向CD19的CAR-T细胞在治疗B细胞恶性肿瘤方面取得的显著成功^[2-8],引起了人们对于CAR-T细胞用于治疗实体肿瘤的广泛兴趣。然而,CAR-T细胞在实体肿瘤的临床疗效较低,主要原因包括肿瘤微环境的免疫抑制、T细胞持久性差、T细胞终端分化 and 功能障碍等^[7,9-10]。有研究^[7,11]表明,CAR-T细胞在体内的持久性除了与临床反应相关,也取决于输注的细胞中CD4⁺CAR-T细胞亚群和中央记忆细胞(CD45RO⁺CD62L⁺)的数量。最近,抗原特异性CD4⁺T辅助细胞被认为在诱导最佳抗肿瘤反应中起到关键作用^[12-15]。由于T细胞亚群在CAR-T细胞疗法中发挥不同的作用,所以对T细胞亚群激活、扩增和分化的研究至关重要^[16-18]。因此,进一步加强CD4⁺CAR-T细胞亚群的功能、分化和增殖的了解,可以改进下一代CAR-T细胞免疫疗法,实现CAR-T细胞更加高效的抗肿瘤作用。

1 CAR-T细胞

CAR-T细胞治疗是指利用基因工程技术使T细胞能够准确识别肿瘤相关抗原,将抗原抗体结合机制和T细胞的杀伤作用相结合,能够特异性杀伤肿瘤

或其他病变细胞的治疗方法。嵌合抗原受体(CAR)是CAR-T细胞的核心部件,CAR的结构目前可分为五个不同的代次^[19-21]。CAR可以通过质粒或病毒载体(如腺病毒、逆转录病毒或慢病毒)转入T细胞^[20,22-25]。有研究^[26]发现,在体外培养的CAR-T细胞和未转导的T细胞相比,CAR-T细胞更容易发生耗竭及出现细胞因子分泌功能减弱的现象。CAR世代之间的主要差异在于特定的共刺激分子,因此通过优化CAR载体,可以提高CAR-T细胞治疗的安全性和有效性。

2 CD4⁺亚群在CAR-T细胞治疗肿瘤中的重要性

T细胞根据其表面表达CD8糖蛋白或CD4糖蛋白可分为CD8⁺T细胞或CD4⁺细胞(辅助T细胞)。CD4⁺T细胞又可根据其分泌不同细胞因子和多种免疫调节功能分为不同的亚群:Th1、Th2、Th3、Th9、Th17、Th22、Treg细胞、Tfh(卵泡辅助T细胞)和TR1细胞^[12,27-28](图1)。

了解CAR-T细胞的最佳特性能极大改善CAR-T细胞疗法,其中包括CAR-T细胞中CD4⁺和CD8⁺亚群的适当组成^[4,7,29]。与CD8⁺CAR-T细胞相比,CD4⁺CAR-T细胞直接杀伤肿瘤的能力较弱,但在宿主免疫激活方面CD4⁺CAR-T细胞更有效。有报道^[30]称,相较于CD8⁺CAR-T细胞,CD4⁺CAR-T细胞增加

[基金项目] 云南省科技厅科技计划项目(No. 202201AS070068);
昆明市科技计划项目(No. 2019-1-N-25318000002027),

[作者简介] 李田田(1995—),女,硕士生,主要从事肿瘤免疫治疗的研究,E-mail:118271429225@163.com

[通信作者] 廖力微,E-mail:841434725@qq.com

了内源性 $CD4^+$ T 细胞、DC 和单核细胞的数量。在一些体内模型中发现, $CD4^+$ CAR-T 细胞在介导肿瘤消退方面要优于 $CD8^+$ CAR-T 细胞^[31]。一方面, $CD4^+$ T 细胞可以通过提供细胞因子和共同刺激等因素,从

而激活记忆 $CD8^+$ T 细胞使其发挥作用;另一方面, $CD4^+$ T 细胞还可以通过获得细胞毒活性直接发挥抗肿瘤作用,参与独立于 $CD8^+$ T 细胞的抗肿瘤免疫应答^[32]。

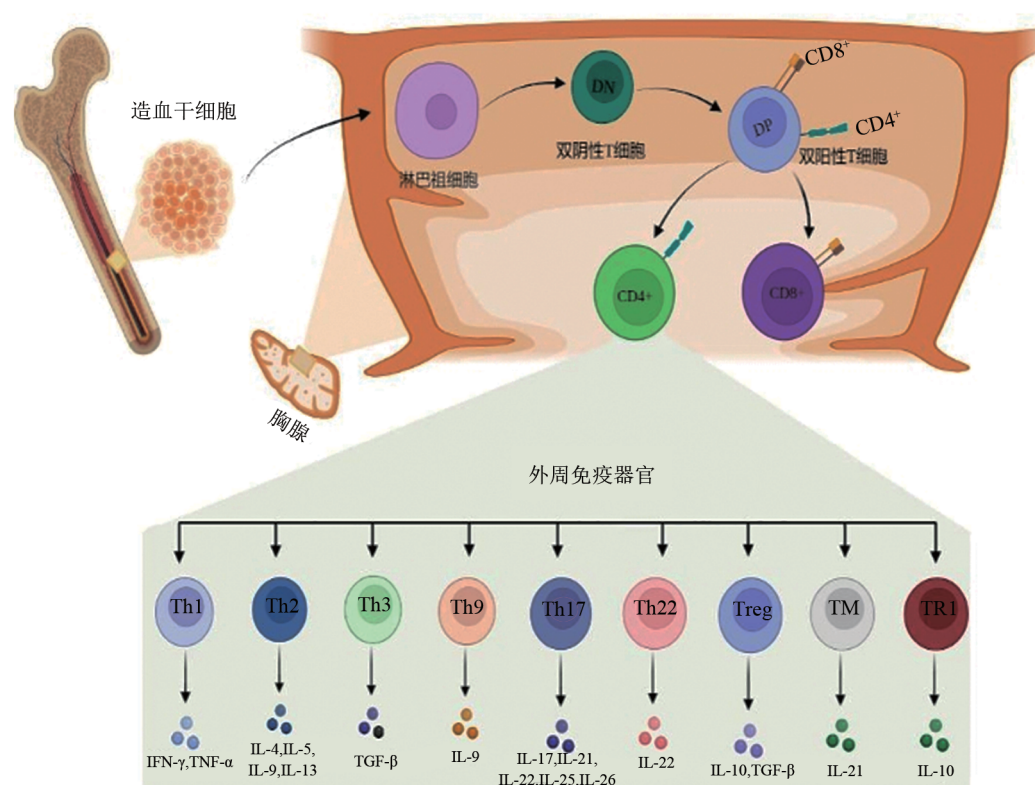


图1 $CD4^+$ T 细胞分化过程

有研究^[33]表明, CAR-T 细胞治疗有两个主要阶段:以 $CD8^+$ T 细胞为主的初始反应阶段和以独特的增殖性与细胞毒性 $CD4^+$ CAR-T 细胞表型为主的长期缓解阶段。在细胞治疗期间发现, $CD4^+$ CAR-T 细胞中的颗粒酶 A、颗粒酶 K 和穿孔素 1 基因出现上调,这些都支持了 $CD4^+$ CAR-T 细胞可直接发挥细胞毒性功能。在靶抗原负荷较高的情况下,由于 $CD8^+$ CAR-T 细胞更容易衰竭,而 $CD4^+$ CAR-T 细胞的衰竭较少,其抗肿瘤效应可能更好^[34-35]。是否可通过改变注射途径影响 CAR-T 细胞和抗原阳性靶细胞的比例,从而提高 CAR-T 细胞的抗肿瘤能力,这也有可能是 $CD4^+$ CAR T 细胞的潜在优势。有临床研究^[33]发现,细胞毒性 $CD4^+$ CAR-T 细胞与长期白血病缓解有关,而 $CD4^+$ 亚群的维持也与胶质母细胞瘤患者中 CAR-T 细胞的长期抗肿瘤能力呈正相关^[4, 32],这些都进一步表明体内增加 $CD4^+$ CAR-T 细胞对 CAR-T 细胞治疗的重要性。此外,有研究^[7, 12]发现, $CD4^+$ Treg 细胞会抑制 CAR-T 细胞疗法的疗效。综上,通过抑制 $CD4^+$ Treg 细胞的激活或者诱导 $CD4^+$ CAR-T 细胞的其他亚型分化可作为提高 CAR-T 细胞疗效的研究

方向之一。

3 $CD4^+$ CAR-T 细胞亚群的分化

T 细胞激活的三个基本信号是:(1)触发 TCR 信号;(2)充分的共刺激,例如 CD28 信号轴;(3)细胞因子,如 IL-1、IL-2、IL-7、IL-12、IL-17 等^[36-37]。有研究^[32]表明,在体外获得的各种 $CD4^+$ T 细胞亚群主要是通过培养过程中添加不同细胞因子诱导分化而来。IL-12 除了诱导 Th1 分化外,还能增强活化 T 细胞的增殖,诱导细胞介导免疫。此外,IL-1 能够直接作用于 $CD4^+$ T 细胞,尤其是对 Th17 细胞的作用极为显著,可提高其扩增能力和存活率。研究^[32]表明,尽管在 CAR-T 细胞中所有主要的分化亚群(如幼稚细胞、中央记忆细胞、效应记忆细胞和效应细胞)都被检测到,然而 CAR-T 细胞活化过程与经典 T 细胞明显不同。CAR-T 细胞中 CAR 的单链可变片段(scFv)外结构域与靶向肿瘤细胞表面表达的抗原结合,并通过穿膜接头将信号传递至细胞内信号结构域,该过程不同于 TCR 介导的信号转导。而且 CAR-T 活化过程中主要表现为混合的 Th1/Th2 表型,这些都表明

CAR-T细胞的活化是一个经典过程。

3.1 CAR构建中的共刺激域对CD4⁺CAR-T细胞亚群分化的影响

CAR结构包含不同共刺激域,这些共刺激域一方面可促进CAR-T细胞的体外扩增,另一方面也发挥其特定的功能。研究^[38]发现,在体外培养中使用CD3/CD28抗体刺激的CAR-T细胞可以极大地提高细胞增殖的能力。除了CD28,TNF受体超家族的共刺激信号,如OX-40、4-1BB、CD27和LIGHT,也可能诱导T细胞活化。另外,肿瘤微环境中LIGHT的表达已被证实可以增加T细胞的扩增、活化和浸润^[32,39]。与CD3.z联合添加共刺激域,如CD28或CD137(4-1BB)的信号域,已被证明可以增强体内CAR-T细胞的功能和持久性^[12,40]。然而,一部分CAR-T细胞经过特定抗原刺激可降低CD4⁺T细胞的数量,且抑制了大部分中央记忆T细胞(central memory T cell, Tcm)向效应记忆T细胞(effector memory T cell, Tem)的定向分化。因此,探索不同共刺激域作为构建CAR结构的候选信号域,需要进一步阐明它们在CAR-T细胞活化过程中发挥的生物学作用。综上,通过增加单个或多个共刺激域可以达到改善CAR-T细胞扩增、提高抗肿瘤活性和持久性的目的。

3.1.1 CD28 研究^[29]发现,含有CD28共刺激域的CAR-T细胞(CD28.z CAR-T)富含Tem,并且这些细胞还具有较强的增殖能力,并在体外通过反复刺激后可以维持CD4⁺T细胞。CD28.z CAR-T细胞在体内外都表现出较强的抗肿瘤活性。但也有研究^[40]表明,CD28.z CAR-T细胞会发生细胞发育障碍,而LIGHT是一个新的非CD28依赖的T细胞共刺激分子,可促进T细胞的增殖和分化。LIGHT共刺激途径优先诱导Th1细胞反应,而阻断LIGHT共刺激则减少Th1细胞分泌的细胞因子的产生^[41]。因此,构建同时含有CD28和LIGHT共刺激域的CAR-T细胞有可能解决CD28.z CAR-T细胞出现的发育障碍问题。

3.1.2 4-1BB(CD137) 有一项关于治疗HIV-1感染的研究^[40]中发现,4-1BB而非CD28共刺激域诱导HSC的分化并改善了来自CAR修饰的HSC的CAR-T细胞的抗病毒功能。而且在早期未经治疗的HIV-1感染期间,将4-1BB添加到CD4⁺CAR-T细胞中能更快地抑制病毒血症。研究^[42]表明,增加了4-1BB共刺激域的CAR-T细胞(4-1BB.z CAR-T)增加了Tcm的分化,并显著减少了终末效应记忆T细胞(terminally differentiated effector memory T cell, Temra)的分化。Temra是显示衰老表型的最终分化T细胞,Tcm具有显著的持久性和增殖能力,可以支持更长的持续应答时间,并维持免疫记忆。据报道^[7,42],具有诱导性T

细胞共刺激(inducible co-stimulatory, ICOS)细胞内信号域的CAR-T细胞可以稳定Th17细胞的功能。与4-1BB.z CAR-T细胞相比,同时有ICOS和4-1BB细胞内信号域的CAR-T细胞针对实体肿瘤可能有更强的疗效。

3.1.3 OX-40(CD134) 研究^[38]表明,在TCR刺激后,OX-40在CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞中瞬时表达,且OX-40在CD4⁺T细胞上的表达高于CD8⁺T细胞。同样地,在三阴性4T1乳腺癌小鼠肿瘤模型中对肿瘤组织、引流淋巴结和脾脏的免疫细胞的分析表明,局部添加 α -OX40治疗增加了这三种组织中CD4⁺细胞和CD8⁺T细胞的浸润,并抑制了骨髓源性抑制细胞的积累^[43]。虽然OX-40对CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞都可以发挥刺激作用,但其主要针对CD4⁺T细胞发挥的作用更加显著。因此,以OX-40作为构建CAR-T细胞的共刺激域可能增强CD4⁺CAR-T细胞亚群的功能,从而提高CAR-T细胞的抗肿瘤作用。

3.1.4 CD81 CD81是四肽家族的一员,与T细胞表面的CD4和CD8有物理联系^[44]。CD81被证明具有独立的共刺激特性,当与抗CD3和CD28抗体一起使用时,与效应和记忆T细胞相比,优先激活幼稚T细胞。CD81的添加增强了Tcm和Tem群体的激活,并诱导体外分离的原始T细胞向记忆表型转变,而这种作用在未分化的CD4⁺T细胞中最为明显^[45]。但有研究^[44]表明,分离的幼稚CD4⁺T细胞对CD81的共刺激反应较弱,可通过添加细胞因子IL-6显著增加CD81协同刺激幼稚CD4⁺T细胞的激活。另外,CD28的共刺激增加了CD4⁺Foxp3⁺Treg细胞的数量及其激活水平,而CD81的共刺激并没有使CD4⁺Foxp3⁺Treg细胞的数量增加。而在肿瘤中Treg细胞高表达Foxp3可能会阻断任何针对癌症细胞的免疫反应。综上,以CD81作为共刺激域构建CAR-T细胞,且在体外培养过程中添加IL-6有可能得到更多的幼稚和记忆CD4⁺CAR-T细胞,从而提高CAR-T细胞的扩增能力、自我更新能力及抗肿瘤活性。

3.1.5 C3aR C3a受体(C3aR)是识别补体片段C3a的受体,不仅介导先天免疫反应,还参与诱导T细胞反应^[46-47]。据报道^[48],将C3aR作为结构域插入CAR结构中并生成靶向CD19的BB-z-C3aR CAR-T细胞,在急性淋巴细胞白血病(ALL)和多发性骨髓瘤(MM)模型中,输注CAR-T细胞后表现出Th17细胞、Tcm细胞和Tem细胞增加和Treg细胞减少,这表明C3aR共刺激域促进了CAR-T细胞的记忆功能。C3aR的添加增加了Th17细胞的激活,同时抑制了Treg细胞的分化。总之,添加C3aR作为共刺激域构建CAR-T细胞,可通过增加CAR-T细胞中Th17细胞

和记忆性T细胞的数量以及抑制Treg细胞,提高其清除肿瘤细胞的能力。

3.2 细胞因子对CD4⁺CAR-T细胞亚群分化的影响

细胞因子在诱导细胞分化的转录因子中起主要作用,在体外培养细胞过程中,添加不同的细胞因子可诱导T细胞向不同的亚群分化^[28, 49]。研究^[12]表明, Th1和Th2 CD4⁺T细胞亚群分泌的细胞因子可以驱动第二代含有CD28共刺激域的CAR-T细胞产生不同类型的细胞毒性。与IL-2相比,补充IL-7/IL-15介导了靶向CD19的CAR-T细胞CD4⁺亚群的扩增。同样,IL-7和IL-15可促进低分化T细胞表型,使其持续时间更长、抗肿瘤效果更好^[17, 29]。另有研究^[50]显示, CD4⁺Treg细胞重建受IL-2的剂量和患者的调节程度的影响,并与患者对治疗的反应呈负相关。在第五代CAR结构中已经添加了IL-2R β 作为其中一个共刺激域,但尚未有成熟、安全的五代CAR-T细胞用于临床治疗。因此,将IL-7/IL-15受体作为潜在共刺激域可以为构建更高效的CAR-T细胞提供新思路。

3.3 细胞代谢对CD4⁺CAR-T细胞亚群分化的影响

由于原始T细胞和效应T细胞的代谢途径不同, CAR-T细胞的分化也可能受到CAR-T细胞代谢的影响^[32]。当机体的营养物质被分解产生能量时,静止的T细胞或记忆细胞进行分解代谢,而激活的T细胞则进行合成代谢,以支持细胞增殖。Th1、Th2和Th17细胞亚群主要是依靠糖酵解,而Treg细胞依赖脂质代谢。有研究^[42]表明,激活的T细胞中共刺激性CD28信号通过激活PI3激酶和下游AKT诱导糖酵解。另外,4-1BB.z CAR-T细胞在代谢上与CD28.z CAR-T细胞不同,前者表现出更大的氧化代谢能力,这可能有助于增强4-1BB.z CAR-T细胞的中枢记忆分化和持久性。因此,可以通过从分解代谢转变为合成代谢的方法来调节CAR-T细胞代谢,也可通过干预Treg细胞的脂质代谢抑制Treg细胞,从而增加CAR-T细胞的功能。

4 结 语

尽管CAR-T细胞免疫治疗在血液肿瘤方面取得了可观的成绩,但CAR-T细胞治疗在实体肿瘤临床应用中存在不可忽视的缺陷。本文综述了CD4⁺CAR-T细胞亚群在CAR-T细胞免疫治疗中的重要性,以及阐述了影响CD4⁺CAR-T细胞在体外增殖和分化的因素。强调了CD4⁺T辅助细胞亚群(特别是Th1和Th17细胞)来诱导强效抗肿瘤反应的重要性,同时也分析了将效应亚群分化为记忆细胞以帮助防止复发的必要性^[32]。事实上,在CAR-T细胞结构中不同共刺激域对CAR有不同的影响,这强烈

地表明,应该根据CAR分子和疾病的背景来选择和利用不同的共刺激域。目前关于CAR-T细胞治疗的研究多聚焦于促进细胞的体外增殖方面,但有研究^[18]表明,T细胞的突然高剂量激活会导致细胞衰竭;而轻度激活速度可能有助于减少细胞衰竭,增加记忆性T细胞。因此,CAR-T细胞的CD4⁺与CD8⁺细胞亚群组成比例、体外增殖及分化程度和CAR-T细胞的结构成分(如共刺激域)等因素都可影响CAR-T细胞在临床应用中的疗效,针对于这些影响因素的深入了解,对于研发出高效、安全的CAR-T细胞至关重要。

[参 考 文 献]

- [1] YANG J C, ROSENBERG S A. Adoptive T-cell therapy for cancer [J/OL]. *Adv Immunol*, 2016, 130: 279-294[2022-11-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26923004/>. DOI: 10.1016/bs.ai.2015.12.006.
- [2] KOUKOULIAS K, PAPADOPOULOU A, KOUIMTZIDIS A, *et al*. Non-transplantable cord blood units as a source for adoptive immunotherapy of leukaemia and a paradigm of circular economy in medicine[J]. *Br J Haematol*, 2021, 194(1): 158-167. DOI: 10.1111/bjh.17464.
- [3] VAN CAENEGHEM Y, DE MUNTER S, TIEPPO P, *et al*. Antigen receptor-redirectioned T cells derived from hematopoietic precursor cells lack expression of the endogenous TCR/CD3 receptor and exhibit specific antitumor capacities[J/OL]. *OncoImmunology*, 2017, 6(3): e1283460[2022-11-10]. <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/2162402X.2017.1283460>. DOI: 10.1080/2162402X.2017.1283460.
- [4] WANG D R, AGUILAR B, STARR R, *et al*. Glioblastoma-targeted CD4⁺ CAR T cells mediate superior antitumor activity[J/OL]. *JCI Insight*, 2018, 3(10): e99048[2022-11-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29769444/>. DOI: 10.1172/jci.insight.99048.
- [5] IMURA Y, ANDO M, KONDO T, *et al*. CD19-targeted CAR regulatory T cells suppress B cell pathology without GvHD[J/OL]. *JCI Insight*, 2020, 5(14): e136185[2022-11-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32525846/>. DOI: 10.1172/jci.insight.136185.
- [6] ADUSUMILLI P S, CHERKASSKY L, VILLENA-VARGAS J, *et al*. Regional delivery of mesothelin-targeted CAR T cell therapy generates potent and long-lasting CD4-dependent tumor immunity[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2014, 6(261): 261ra151[2022-11-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25378643/>. DOI: 10.1126/scitranslmed.3010162.
- [7] STOCK S, SCHMITT M, SELLNER L. Optimizing manufacturing protocols of chimeric antigen receptor T cells for improved anticancer immunotherapy[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(24): 6223[2022-11-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31835562/>. DOI: 10.3390/ijms20246223.
- [8] JEREMY S, Abramson, MD, *et al*. Lisocabtagene maraleucel for patients with relapsed or refractory large B-cell lymphomas (TRANSCEND NHL 001): a multicentre seamless design study[J]. *Lancet*, 2020, 396(10254): 839-852. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31366-0.
- [9] GENNERT D G, LYNN R C, GRANJA J M, *et al*. Dynamic chromatin

- regulatory landscape of human CAR T cell exhaustion[J/OL]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2021, 118(30): e2104758118[2022-11-10]. <https://www.pnas.org/doi/full/10.1073/pnas.2104758118>. DOI: 10.1073/pnas.2104758118.
- [10] XU Y, ZHANG M, RAMOS C A, *et al*. Closely related T-memory stem cells correlate with *in vivo* expansion of CAR-CD19-T cells and are preserved by IL-7 and IL-15[J]. *Blood*, 2014, 123(24): 3750-3759. DOI: 10.1182/blood-2014-01-552174.
- [11] PORTER D L, LEVINE B L, KALOS M, *et al*. Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia[J]. *N Engl J Med*, 2011, 365(8): 725-733. DOI: 10.1056/nejmoa1103849.
- [12] GOLUBOVSKAYA V, WU L J. Different subsets of T cells, memory, effector functions, and CAR-T immunotherapy[J/OL]. *Cancers*, 2016, 8(3): 36[2022-11-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26999211/>. DOI: 10.3390/cancers8030036.
- [13] DING Z C, SHI H D, ABOELELLA N S, *et al*. Persistent STAT5 activation reprograms the epigenetic landscape in CD4⁺ T cells to drive polyfunctionality and antitumor immunity[J/OL]. *Sci Immunol*, 2020, 5(52): eaba5962[2022-11-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33127608/>. DOI: 10.1126/sciimmunol.aba5962.
- [14] NELSON M H, KNOCHELMANN H M, BAILEY S R, *et al*. Identification of human CD4⁺ T cell populations with distinct antitumor activity[J/OL]. *Sci Adv*, 2020, 6(27): eaba7443[2022-11-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32937437/>. DOI: 10.1126/sciadv.aba7443.
- [15] HAMMILL J A, KWIECIEN J M, DVORKIN-GHEVA A, *et al*. A cross-reactive small protein binding domain provides a model to study off-tumor CAR-T cell toxicity[J/OL]. *Mol Ther Oncolytics*, 2020, 17: 278-292[2022-11-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32368616/>. DOI: 10.1016/j.omto.2020.04.001.
- [16] KNOCKE S, FLEISCHMANN-MUNDT B, SABOROWSKI M, *et al*. Tailored tumor immunogenicity reveals regulation of CD4 and CD8 T cell responses against cancer[J]. *Cell Rep*, 2016, 17(9): 2234-2246. DOI: 10.1016/j.celrep.2016.10.086.
- [17] KREITER S, VORMEHR M, VAN DE ROEMER N, *et al*. Mutant MHC class II epitopes drive therapeutic immune responses to cancer[J]. *Nature*, 2015, 520(7549): 692-696. DOI: 10.1038/nature14426.
- [18] TALEBI M, NOZAD CHAROUDEH H, MOVASSAGHPOUR AKBARI A A, *et al*. Acellular Wharton's jelly, potentials in T-cell subtypes differentiation, activation and proliferation[J]. *Adv Pharm Bull*, 2020, 10(4): 617-622. DOI: 10.34172/apb.2020.074.
- [19] CHEN N, LI X Y, CHINTALA N K, *et al*. Driving CARs on the uneven road of antigen heterogeneity in solid tumors[J/OL]. *Curr Opin Immunol*, 2018, 51: 103-110[2022-11-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29554494/>. DOI: 10.1016/j.coi.2018.03.002.
- [20] MARTINEZ M, MOON E K. CAR T cells for solid tumors: new strategies for finding, infiltrating, and surviving in the tumor microenvironment[J/OL]. *Front Immunol*, 2019, 10: 128[2022-11-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30804938/>. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00128.
- [21] QU J J, MEI Q H, CHEN L J, *et al*. Chimeric antigen receptor (CAR)-T-cell therapy in non-small-cell lung cancer (NSCLC): current status and future perspectives[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2021, 70(3): 619-631. DOI: 10.1007/s00262-020-02735-0.
- [22] CASTELLA M, CABALLERO-BAÑOS M, ORTIZ-MALDONADO V, *et al*. Point-of-care CAR T-cell production (ARI-0001) using a closed semi-automatic bioreactor: experience from an academic phase I clinical trial[J/OL]. *Front Immunol*, 2020, 11: 482[2022-11-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35334951/>. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00482.
- [23] CARDLE I I, CHENG E L, JENSEN M C, *et al*. Biomaterials in chimeric antigen receptor T-cell process development[J/OL]. *Acc Chem Res*, 2020, 53(9): 1724-1738[2022-11-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32528460/>. DOI: 10.1021/acs.accounts.0c00335.
- [24] MICKLETHWAITE K P, GOWRISHANKAR K, GLOSS B S, *et al*. Investigation of product-derived lymphoma following infusion of piggyBac-modified CD19 chimeric antigen receptor T cells[J]. *Blood*, 2021, 138(16): 1391-1405. DOI: 10.1182/blood.2021010858.
- [25] WEIDNER T, AGARWAL S, PERIAN S, *et al*. Genetic *in vivo* engineering of human T lymphocytes in mouse models[J]. *Nat Protoc*, 2021, 16(7): 3210-3240. DOI: 10.1038/s41596-021-00510-8.
- [26] GARGETT T, TRUONG N, EBERT L M, *et al*. Optimization of manufacturing conditions for chimeric antigen receptor T cells to favor cells with a central memory phenotype[J]. *Cytotherapy*, 2019, 21(6): 593-602. DOI: 10.1016/j.jcyt.2019.03.003.
- [27] MARTIN-OROZCO N, MURANSKI P, CHUNG Y, *et al*. T helper 17 cells promote cytotoxic T cell activation in tumor immunity[J]. *Immunity*, 2009, 31(5): 787-798. DOI: 10.1016/j.immuni.2009.09.014.
- [28] ZHU J F, YAMANE H, PAUL W E. Differentiation of effector CD4 T cell populations (*)[J/OL]. *Annu Rev Immunol*, 2010, 28: 445-489[2022-11-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20192806/>. DOI: 10.1146/annurev-immunol-030409-101212.
- [29] CSAPLÁR M, SZÖLLÖSI J, GOTTSCHALK S, *et al*. Cytolytic activity of CAR T cells and maintenance of their CD4⁺ subset is critical for optimal antitumor activity in preclinical solid tumor models[J/OL]. *Cancers*, 2021, 13(17): 4301[2022-11-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34503109/>. DOI: 10.3390/cancers13174301.
- [30] BOULCH M, CAZAUX M, LOE-MIE Y, *et al*. A cross-talk between CAR T cell subsets and the tumor microenvironment is essential for sustained cytotoxic activity[J/OL]. *Sci Immunol*, 2021, 6(57): eabd4344[2-22-11-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33771887/>. DOI: 10.1126/sciimmunol.abd4344.
- [31] YANG Y M, KOHLER M E, CHIEN C D, *et al*. TCR engagement negatively affects CD8 but not CD4 CAR T cell expansion and leukemic clearance[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(417): eaag1209[2022-11-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29167392/>. DOI: 10.1126/scitranslmed.aag1209.
- [32] SCHLUCK M, HAMMINK R, FIGDOR C G, *et al*. Biomaterial-based activation and expansion of tumor-specific T cells[J/OL]. *Front Immunol*, 2019, 10: 931[2022-11-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31130945/>. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00931.
- [33] MELENHORST J J, CHEN G M, WANG M, *et al*. Decade-long leukaemia remissions with persistence of CD4⁺ CAR T cells[J]. *Nature*, 2022, 602(7897): 503-509. DOI: 10.1038/s41586-021-04390-6.
- [34] AGARWAL S, HANAUER J D S, FRANK A M, *et al*. *In vivo* generation of CAR T cells selectively in human CD4⁺ lymphocytes[J]. *Mol Ther*, 2020, 28(8): 1783-1794. DOI: 10.1016/j.ymthe.2020.05.005.
- [35] LI T, WU B, YANG T, *et al*. The outstanding antitumor capacity of

- CD4⁺ T helper lymphocytes[J/OL]. *Biochim Biophys Acta BBA Rev Cancer*, 2020, 1874(2): 188439[2022-11-10]. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304419X2030158X>. DOI: 10.1016/j.bbcan.2020.188439.
- [36] SEDER R A, DARRAH P A, ROEDERER M. T-cell quality in memory and protection: implications for vaccine design[J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(4): 247-258. DOI: 10.1038/nri2274.
- [37] COPPOLA C, HOPKINS B, HUH N S, *et al.* Investigation of the impact from IL-2, IL-7, and IL-15 on the growth and signaling of activated CD4⁺ T cells[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(21): 7814 [2022-11-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33105566/>. DOI: 10.3390/ijms21217814.
- [38] BUCHAN S L, ROGEL A, AL-SHAMKHANI A. The immunobiology of CD27 and OX40 and their potential as targets for cancer immunotherapy[J]. *Blood*, 2018, 131(1): 39-48. DOI: 10.1182/blood-2017-07-741025.
- [39] QIAO G L, QIN J Z, KUNDA N, *et al.* LIGHT elevation enhances immune eradication of colon cancer metastases[J]. *Cancer Res*, 2017, 77(8): 1880-1891. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-1655.
- [40] ZHEN A J, CARRILLO M A, MU W L, *et al.* Robust CAR-T memory formation and function *via* hematopoietic stem cell delivery[J/OL]. *PLoS Pathog*, 2021, 17(4): e1009404[2022-11-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33793675/>. DOI: 10.1371/journal.ppat.1009404.
- [41] TAMADA K, SHIMOZAKI K, CHAPOVAL A I, *et al.* Modulation of T-cell-mediated immunity in tumor and graft-versus-host disease models through the LIGHT co-stimulatory pathway[J]. *Nat Med*, 2000, 6(3): 283-289. DOI: 10.1038/73136.
- [42] KAWALEKAR O U, O CONNOR R S, FRAIETTA J A, *et al.* Distinct signaling of coreceptors regulates specific metabolism pathways and impacts memory development in CAR T cells[J]. *Immunity*, 2016, 44(2): 380-390. DOI: 10.1016/j.immuni.2016.01.021.
- [43] GAO J X, YUAN X L, YUAN J, *et al.* Complete rejection of large established breast cancer by local immunochemotherapy with T cell activation against neoantigens[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2021, 70(11): 3291-3302. DOI: 10.1007/s00262-021-02919-2.
- [44] SAGI Y, LANDRIGAN A, LEVY R, *et al.* Complementary costimulation of human T-cell subpopulations by cluster of differentiation 28 (CD28) and CD81[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(5): 1613-1618. DOI: 10.1073/pnas.1121307109.
- [45] SCHULTZ L M, CZERWINSKI D K, LEVY R, *et al.* CD81 costimulation skews CAR transduction toward naive T cells[J/OL]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2022, 119(5): e1910844119[2022-11-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8812682/>. DOI: 10.1073/pnas.1910844119.
- [46] LIU J B, LIN F, STRAINIC M G, *et al.* IFN-gamma and IL-17 production in experimental autoimmune encephalomyelitis depends on local APC-T cell complement production[J]. *J Immunol*, 2008, 180(9): 5882-5889. DOI: 10.4049/jimmunol.180.9.5882.
- [47] GADWA J, BICKETT T E, DARRAGH L B, *et al.* Complement C3a and C5a receptor blockade modulates regulatory T cell conversion in head and neck cancer[J/OL]. *J Immunother Cancer*, 2021, 9(3): e002585[2022-11-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33789881/>. DOI: 10.1136/jitc-2021-002585.
- [48] LAI P L, CHEN X M, WANG Y L, *et al.* C3aR costimulation enhances the antitumor efficacy of CAR-T cell therapy through Th17 expansion and memory T cell induction[J/OL]. *J Hematol Oncol*, 2022, 15(1): 68[2022-11-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35597971/>. DOI: 10.1186/s13045-022-01288-2.
- [49] AGLIARDI G, LIUZZI A R, HOTBLACK A, *et al.* Intratumoral IL-12 delivery empowers CAR-T cell immunotherapy in a pre-clinical model of glioblastoma[J/OL]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 444[2022-11-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33469002/>. DOI: 10.1038/s41467-020-20599-x.
- [50] YAO X, AHMADZADEH M, LU Y C, *et al.* Levels of peripheral CD4⁺FoxP3⁺ regulatory T cells are negatively associated with clinical response to adoptive immunotherapy of human cancer[J]. *Blood*, 2012, 119(24): 5688-5696. DOI: 10.1182/blood-2011-10-386482.

[收稿日期] 2022-11-19

[修回日期] 2023-02-09

[本文编辑] 向正华, 沈志超