

嵌合抗原受体 T 细胞与病毒相关的应用进展

钱乐琪, 亓发芝

(复旦大学附属中山医院 整形外科, 上海 200032)

摘要: 嵌合抗原受体 T 细胞(chimeric antigen receptor T cell, CAR-T)疗法是近年来新兴的细胞免疫疗法, 它通过基因工程技术使 T 细胞表达特异性嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR), 以非 MHC 依赖形式识别并杀伤表达相应抗原的靶细胞。CAR-T 疗法在血液系统恶性肿瘤的治疗中取得了令人振奋的结果, 但在实体瘤治疗领域仍然存在很多困难。溶瘤病毒可直接裂解实体瘤细胞, 逆转肿瘤局部的免疫抑制微环境, 与 CAR-T 疗法联用可以增强抗实体瘤效果。此外, CAR-T 疗法也显示出一定的抗病毒作用, 主要表现在抗人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)、HBV 等方面。文章从 CAR-T 与病毒的关系入手, 主要就 CAR-T 疗法抗病毒的研究现状及溶瘤病毒与 CAR-T 疗法联合抗实体瘤机制等方面展开综述, 以期拓宽 CAR-T 抗病毒治疗领域以及 CAR-T 的联合治疗方案制定提供新思路。

关键词: 嵌合抗原受体 T 细胞; 基因工程; 抗病毒治疗; 溶瘤病毒

中图分类号: R392.11

文献标志码: A

文章编号: 1001-2478(2022)03-0224-07

嵌合抗原受体 T 细胞(chimeric antigen receptor T cell, CAR-T)疗法是近年来飞速发展的细胞免疫疗法, 通过嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR)结构特异性识别、结合相应靶抗原, 并经胞内免疫受体酪氨酸激活基序(immunoreceptor tyrosine-based activation motif, ITAM)等转导激活信号, 激活 T 细胞免疫应答^[1]。CAR-T 在治疗血液系统恶性肿瘤领域取得了不菲成绩, 然而由于实体肿瘤靶点的异质性, 肿瘤局部物理屏障及免疫抑制微环境等固有特点, 限制了 CAR-T 在实体瘤中的应用。溶瘤病毒(oncolytic virus, OV)是一类可靶向并溶解肿瘤细胞、有效激活免疫细胞并改善肿瘤局部免疫抑制微环境的病毒, 因此将其与 CAR-T 疗法联用可以帮助缓解抗实体瘤治疗中的困难。目前发现 CAR-T 还具有抗病毒效应, 主要表现在抗人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)、HBV、HCV、人类巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)和人类疱疹病毒(Epstein-Barr virus, EBV)等方面。通过基因工程技术(γ 反转录病毒载体、慢病毒载体)将特异性高、序列保守、不易突变的

病毒包膜蛋白表位用作 CAR-T 攻击的靶标, 可以有效清除病毒。由此可见, 病毒与 CAR-T 疗法有着密切的联系。因此, 本文从该角度出发, 梳理了 CAR-T 抗病毒和抗肿瘤作用过程中与病毒的联系并予以综述, 以期拓宽 CAR-T 抗病毒治疗领域以及 CAR-T 联合治疗方案制定提供新思路。

1 CAR-T 疗法的抗病毒作用

某些病毒(如 HIV、HBV、HCV 等)可潜伏于人体, 逃避机体免疫系统的攻击, 使用抗病毒药物也无法完全清除它们, 一旦停药极易复发。因此, 亟需一种可长期控制病毒甚至消灭病毒的新型疗法。效应 T 细胞在机体抗病毒感染中发挥重要作用, CTL 可通过细胞毒性/非细胞毒性方式杀伤病毒感染细胞, 但由于病毒存在多种逃逸机制, 如抗原变异、MHC I 类分子表达下调、形成免疫抑制微环境等, 使得体内的免疫细胞无法发挥正常的病毒清除作用, CAR-T 疗法作为新兴的过继细胞免疫疗法可能为病毒感染提供了一个新选择。(图 1)

1.1 CAR-T 抗 HIV 作用 CAR-T 疗法抗 HIV 相关研究从 20 世纪 90 年代已经开始^[2]。特异性 CAR 的种类不断增多, CAR 导入的效应细胞类型也有着不断的创新。

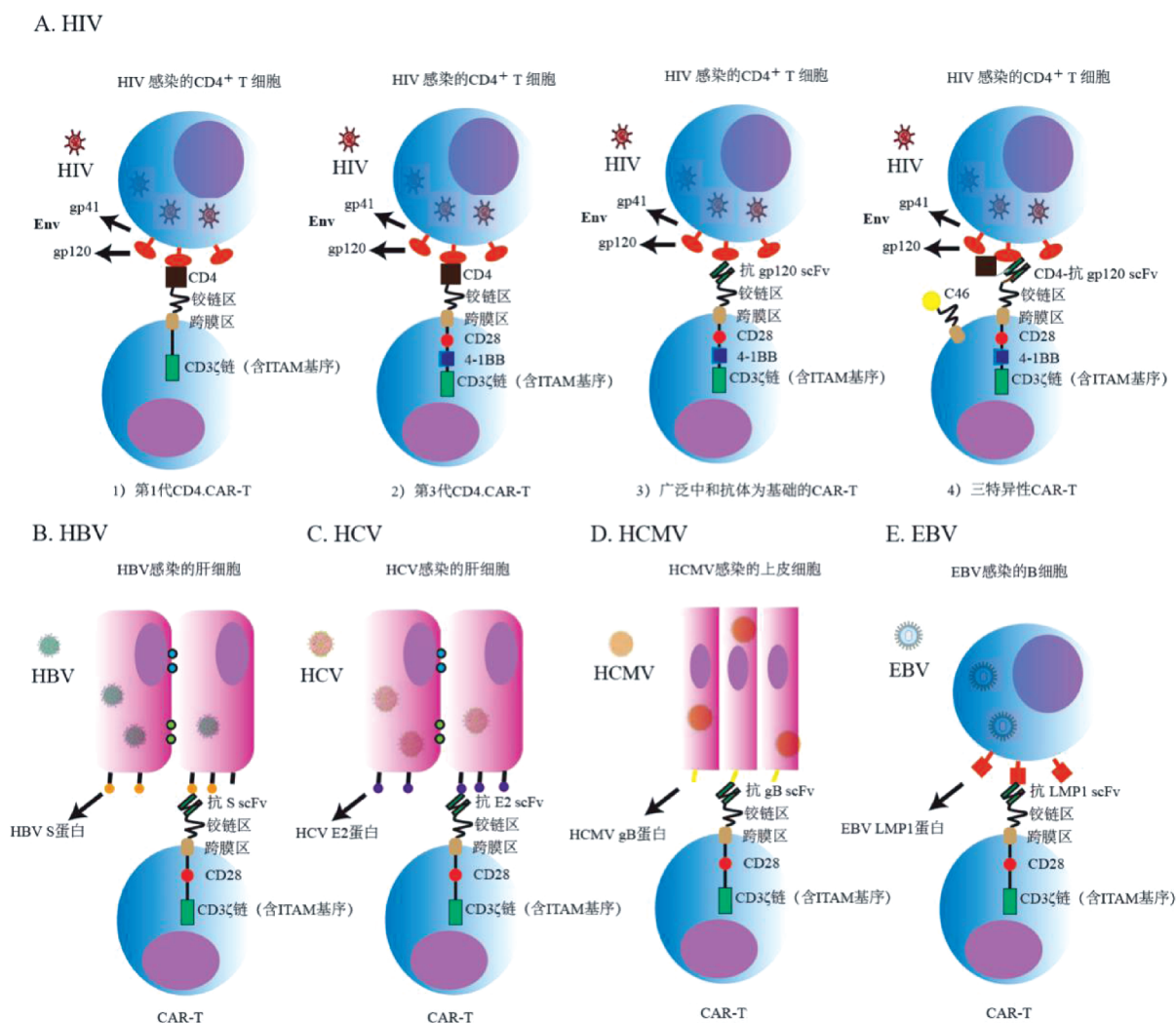
1.1.1 抗 HIV. CAR 的演变 CAR 结构的演变包括了其胞外结合域和胞内信号转导区的演变。第一代抗 HIV. CAR 是由与 HIV 包膜蛋白(envelope

收稿日期: 2020-06-24

基金项目: 国家重点研发计划重点专项(2016YFC110030); 国家自然科学基金青年科学基金项目(81802724); 国家自然科学基金面上项目(82172212)

作者简介: 钱乐琪(1996—), 女, 硕士生, 主要从事创面愈合的基础与临床转化研究

通信作者: 亓发芝(E-mail: qi.fazhi@zs-hospital.sh.cn)



注:图 A(1)~(4)展示了抗 HIV CAR-T 结构的演变过程。(1)第一代 CAR-T 由 CD4 与 CD3 ζ 链融合产生;(2)第三代 CAR-T 在第一代基础上胞内添加了 2 个共刺激信号区;(3)以广泛中和抗体为基础的 scFv-CAR-T,其对应抗原种类较多,如 CD4 结合位点, gp120 的部分抗原表位(图例), gp41 的膜近段区域,富含甘露糖区和可变聚糖区等;(4)三特异性 CAR-T 在双特异性 CAR-T (如 CD4-抗 gp120 scFv. CAR-T 与 CD4-MBL. CAR-T)的基础上添加 C46 肽,抑制病毒感染。图 B. CAR-T 抗 HBV 感染作用靶点为 S 蛋白。图 C. CAR-T 抗 HCV 感染作用靶点为 E2 蛋白。图 D. CAR-T 抗 HCMV 感染作用靶点为 gB 蛋白。图 E. CAR-T 抗 EBV 感染作用靶点为 LMP1 蛋白。

图 1 CAR-T 疗法抗病毒作用

protein, Env)特异性结合的 CD4 和转导胞内信号的 CD3 ζ 链融合产生的(CD4 ζ CAR)^[3], 临床试验证明该 CAR 安全, 但无持久的抗病毒效力。因此, 科学家在上述基础上对胞内信号转导区进行改造, 加入共刺激信号, 生成第二代/第三代 CAR, 显示出更稳定的抗病毒作用, 能产生更多有效的细胞因子, 更好地控制病毒载量^[4]。此外, 科学家们还发现 CAR-T 活化不足可能与缺少 CD4⁺ T 细胞辅助有关, 因此在体内保留 CD4⁺ T 细胞, 使得 CAR-T 能更好地扩增并发挥作用。然而, 将 CD4 作为胞外结合域, CAR-T 有被感染的风险。为解

决这个问题, CD4 ζ CAR 装备了病毒融合抑制剂(C46 肽)或使用 shRNA/ ZFNs/ TALEN/ CRISPR/Cas9 敲除 HIV 感染的共受体 CCR5 并降解病毒 RNA, 从而使 CD4 ζ CAR-T 细胞可有效抵抗 HIV 感染^[5-6], 更持久地发挥抗病毒作用。

随后发展出了以靶向包膜蛋白的广泛中和抗体(broadly neutralizing antibodies, bNAbs)为基础的单链可变区片段(single-chain variable fragment, scFv)作为 CAR 的胞外结合域, 靶点包括 CD4 结合位点、糖蛋白 120(glycoprotein 120, gp120)的部分抗原表位、gp41 的膜近段区域、富含

甘露糖区和可变聚糖区^[7]。依据多种靶点构建的 CAR-T 均显示出良好的抗病毒作用。比较第一代 CD4⁺ CAR-T 和第三代抗 gp120 scFv CAR-T, 后者的效果可能更好, 预示着第三代抗 gp120 scFv CAR-T 可能是有潜力的抗病毒疗法之一。然而, 以单一 scFv 作为识别域也有其局限性, 存在病毒靶位点变异导致 CAR-T 失效的风险。

针对这一局限性, 双特异性/三特异性 CAR 应运而生, 目的是减少因抗原变异导致的免疫逃逸和脱靶效应。双特异性 CAR 最常见的为 CD4 片段与抗 CD4 诱导 gp120 表位的 scFv 或 CD4 片段与 C 型凝集素结合, 即 CD4-抗 gp120 scFv. CAR 与 CD4-MBL. CAR, 后者显示出更强的抗病毒效应, 伴随着更强的脱靶效应^[8]。三特异性 CAR 则是在双特异性基础上添加 C46 肽, 抑制病毒感染 CAR-T^[9]。此外, 共表达趋化因子如 CXCR5 或 CCR7 趋化因子受体、L 选择蛋白、CD62L 等有利于 CAR-T 被靶向运输至 B 淋巴滤泡, 有效杀伤其中感染的 CD4⁺ T 细胞^[10]。

1.1.2 表达 CAR 的效应细胞类型 T 细胞是转染 CAR 最安全的靶细胞, 因此 CAR 大多转入 T 细胞表达。然而, 由于 CAR-T 作用的毒性较大且不够持久等问题, 科学家们开始探索新的转染效应细胞。NK 细胞具有强大的细胞杀伤作用, 因此具有抗病毒的潜力。源自人类胚胎干细胞或诱导性多能干细胞的第三代 CD4⁺ CAR-NK 细胞显示出对 HIV 感染细胞增强的溶细胞活性, 且作用持久^[11], 但在体内效果和毒性尚未被证明。造血干细胞和祖细胞也是近期被研究的热点效应细胞, 因为其具有多向分化潜能, 穿透能力强, 低抗原水平刺激下能保持高活性, 分化过程中经历胸腺阴性选择等特点。Zhen 等^[12]研究了前体细胞分化的 CD4⁺ CAR 细胞在体内抗病毒效果, 其可分化为 T 细胞、B 细胞、NK 细胞等, 并富集于淋巴结、肠道、胸腺以及骨髓中, 可减轻病毒血症, 无明显的毒副作用, 且有记忆性细胞形成, 显示了人多能干细胞 (human pluripotent stem cell, hPSC) 作为效应细胞在抗病毒中光明的应用前景。

1.2 CAR-T 抗 HBV 作用 中国是 HBV 感染大国, HBV 感染也是肝硬化和肝癌的重要致病因素之一。目前针对 HBV 的抗病毒药物仅限于反转录酶抑制剂和 α 干扰素, 需终身服药, 且极少数可被治愈, 易复发易耐药, CAR-T 疗法的出现为 HBV

的治疗带来了希望。HBV 的特异性抗原为乙肝表面抗原 S 蛋白和 L 蛋白, 故分别构建抗 S 蛋白和 L 蛋白的 CAR-T, 抗-S. CAR-T 表现出更强更快的抗病毒效应, 可产生更多的 IFN- γ 和 IL-2, 裂解杀伤受感染肝细胞, 这可能与感染细胞中 S 蛋白表达量更高有关。但是, HBV 核心蛋白和基因组却因为被包裹在衣壳中难以被清除^[13]。关于建立 CAR-T 抗 HBV 的动物模型, 存在较多困难。因为感染 HBV 的人体仍然具有一定的免疫力, 选用在 HIV 研究中常用的无免疫力小鼠模型显然是不合理的, 而使用具有免疫力的小鼠模型会使人源 CAR-T 很快被清除, 而无法观察到后续 CAR-T 抗 HBV 作用。因此, Festag 等^[14]通过亚致死性放射建立了耐受抗-S. CAR 治疗的小鼠模型, 表达抗-S. CAR 的 T 细胞可以长期存在并发挥抗 HBV 作用, 然而并不能完全清除病毒, 这可能与靶抗原表达量低, CAR 亲和力不够, 放射线影响其他免疫细胞功能, 肝组织对外来抗原天然容忍度大及局部免疫微环境情况有关。最近, 一种基于长间隔序列设计的 HBs-G4m-CAR-T 被发现可有效降低感染 HBV 的人肝嵌合小鼠的血浆和组织中 HBV 水平, 不引起明显肝损伤, 因此可考虑与抗病毒药物联合使用^[15]。

1.3 CAR-T 抗 HCV、HCMV 和 EBV 作用 近期发现了 CAR-T 在抗 HCV、HCMV、EBV 等方面的应用潜力。在抗 HCV 方面, HCV E2 糖蛋白可作为 CAR 靶点^[16]; 在抗 HCMV 方面, 糖蛋白 B (glycoprotein B, gB) 可作为靶点, 第二代抗-gB. CAR-T 的效果因 CMV 编码抗凋亡蛋白有所减弱, 长间隔序列可能会帮助抗-gB. CAR-T 杀伤 CMV^[17]; 在抗 EBV 方面, 潜伏膜蛋白 1 (latent membrane protein 1, LMP1) 是良好的靶点, LMP1 已被证实与 EBV 相关肿瘤 (霍奇金淋巴瘤、鼻咽癌、胃癌等) 的转移相关^[18]。

CAR-T 疗法在抗病毒感染方面已经观察到可喜的结果, 尤其是抗 HIV 方面, 但大多处于临床前研究阶段, 且病毒极易发生免疫逃逸, 因此距离临床应用还有很长一段路要走。需注意抗病毒与抗肿瘤治疗的不同, 病毒感染者依靠抗病毒药物有时能维持较长的生存时间, 因此在保证疗效的同时降低 CAR-T 的毒性就显得尤为重要, 这就对 CAR-T 的优化提出了更高的要求。优化策略包括引入自杀基因 (HSV-TK 系统), 双特异性衔接子, 设计双

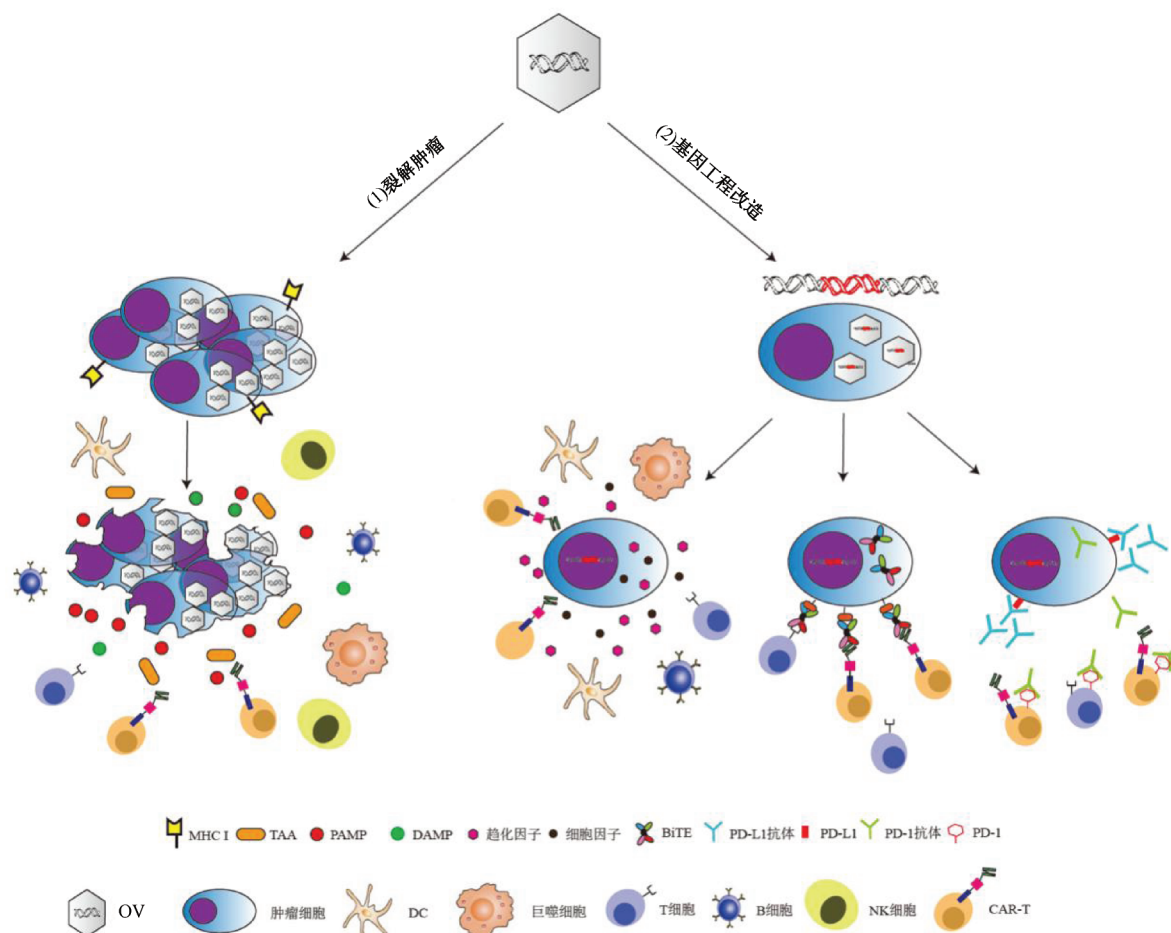
特异性/三特异性、合成缺口 (syntheticNotch, synNotch)、开关型 CAR 等,从而增强治疗效果,减轻毒副作用。

2 OV 与 CAR-T 联合抗实体瘤作用

2.1 OV 疗法 OV 疗法是一种新型抗肿瘤免疫疗法,利用天然或基因改造后的病毒特异性感染并杀死肿瘤细胞。OV 通过识别肿瘤表面高表达的受体或胞内异常的通路感染杀伤肿瘤细胞,也可携带外源性基因至肿瘤局部表达。OV 包括 DNA 病毒如腺病毒、牛痘病毒、疱疹病毒等以及 RNA 病毒如部分呼吸道和肠道病毒等。OV 主要通过以下机制杀伤肿瘤:在肿瘤细胞中选择性复制导致溶瘤作用;肿瘤裂解后释放肿瘤相关抗原 (tumor-associated antigen, TAA)、损伤相关分子模式 (damage-assoc-

iated molecular pattern, DAMP) 和 PAMP, 刺激免疫细胞活化,打破免疫抑制微环境,将“冷”肿瘤变为“热”肿瘤;破坏肿瘤血管并间接杀伤肿瘤;通过基因改造,插入细胞因子/自杀基因/细胞外基质降解酶/免疫检查点抗体基因等,增强抗肿瘤作用^[19-20]。但 OV 疗法也存在局限性,如对体积大,有远处转移的肿瘤效果较差。因此,OV 疗法需要与其他免疫疗法联用,从而发挥协同作用。CAR-T 疗法对转移瘤治疗效果较好,但仍存在实体瘤靶向浸润困难,免疫抑制等局限性,将 OV 与 CAR-T 联合应用可发挥协同作用^[19-20]。

2.2 OV 与 CAR-T 的协同作用机制 OV 主要通过直接裂解肿瘤和基因工程改造两方面机制增强 CAR-T 抗肿瘤效应。(图 2)



注: (1)OV 直接裂解肿瘤,有利于 CAR-T 浸润;肿瘤裂解后释放 TAA、PAMP 和 DAMP,激活免疫细胞;上调肿瘤细胞 MHC I 和 $\beta 2$ 微球蛋白的表达,增强抗原提呈作用。(2)通过基因工程技术加工 OV,使其在靶细胞内表达相应产物,如趋化因子和细胞因子,募集和激活免疫细胞;表达双特异性 T 细胞衔接子 (bispecific T cell engager, BiTE),同时结合 TAA 与 T 细胞;表达抗 PD-L1 等免疫检查点相关抗体,抑制 T 细胞耗竭。

图 2 OV 与 CAR-T 联合抗实体瘤机制

2.2.1 直接裂解肿瘤 OV可直接溶解大块致密的肿瘤病灶,为CAR-T的浸润创造条件。Diaz等^[21]研究发现溶瘤型水疱口炎病毒(oncolytic vesicular stomatitis virus, oVSV)可显著促进CD8⁺T细胞浸润,提高患者的生存率。

肿瘤组织局部无氧呼吸旺盛,可产生大量乳酸,局部浸润的肿瘤相关巨噬细胞、Treg、髓样抑制细胞和抑制性细胞因子等共同构成了肿瘤免疫抑制微环境,抑制T细胞发挥正常作用。OV溶解肿瘤细胞后后者释放TAA、DAMP和PAMP等,可招募并激活免疫细胞,增强局部APC的抗原提呈作用。

OV可促进肿瘤细胞MHC I类分子和 $\beta 2$ 微球蛋白的表达。已有研究证明麻疹病毒可诱导肿瘤细胞MHC I类分子和共刺激分子表达^[22];呼吸道肠道病毒可诱导肿瘤细胞MHC I类分子、 $\beta 2$ 微球蛋白、抗原处理相关转运体蛋白1(transporter associated with antigen processing 1, TAP-1)和TAP-2表达^[23],进一步激活T细胞。

2.2.2 基因工程改造 OV经基因工程改造,表达趋化因子,促进内源性T细胞与CAR-T的浸润;也可表达炎性细胞因子,活化免疫细胞。溶瘤性II型疱疹病毒瘤内给药可促进多种趋化因子的表达(如CCL2、CCL3、CCL4、CXCL9、CXCL10和CXCL11等),募集T细胞至靶组织发挥杀伤作用^[24]。溶瘤腺病毒(oncolytic adenovirus, Onc. Ad)被改造表达TNF- α 和IL-2,将该OV与抗间皮素CAR-T联合应用于胰腺癌和间皮瘤模型,显示出较单一疗法更长的生存时间,且可有效抑制胰腺导管腺癌的肺转移^[25]。此外,通过OV同时表达IL-15和RANTES(CCL5编码基因)可促进肿瘤局部抗GD2.CAR-T细胞浸润,帮助维持有效的抗神经母细胞瘤作用^[26]。

OV经基因改造产生BiTE,可将T细胞重定向至肿瘤局部。BiTE含2条特异性scFv,可分别与肿瘤细胞和T细胞结合,起到衔接作用。溶瘤牛痘病毒被改造表达EphA2 BiTE,可在肺肿瘤移植模型中显示出更好的作用^[27]。同样,Onc. Ad被改造表达源自西妥昔单抗克隆抗体的EGFR-BiTE(Onc. Ad-EGFR. BiTE),临床上用于治疗结肠癌和头颈部鳞状细胞癌,极大促进了T细胞的增殖,抑制肿瘤生长^[28]。同时Onc. Ad-EGFR. BiTE与抗叶酸CAR-T联合应用也增强了其杀伤低叶酸

表达量卵巢癌等肿瘤的作用^[29]。

OV经基因改造产生免疫检查点抑制剂(如PD-L1/CTLA-4抑制剂)可减少T细胞耗竭,增强抗肿瘤活性。Tanoue等^[30]使用OV表达抗PD-L1微小抗体(CAdVECPD-L1),从而阻断了PD-1介导的免疫抑制通路,增强CAR-T活性,且CAdVECPD-L1与抗-HER2.CAR-T联用组中小鼠的存活时间长于单一疗法组2倍。共表达IL-12p70(激活STAT4)与CAdVECPD-L1能进一步增强抗-HER2.CAR-T对头颈部鳞状细胞癌的杀伤作用,在异体移植模型中较未处理组存活时间增加超过100 d^[31]。

尽管肿瘤细胞善于运用各种方法避免免疫攻击,但将OV与CAR-T联用可有效针对这些逃逸机制,帮助机体恢复有效的抗肿瘤作用。OV通过裂解肿瘤细胞和基因工程改造增强CAR-T的作用,而CAR-T也可通过循环杀伤转移的肿瘤细胞克服OV对转移瘤效果差的短板^[19-20],未来这种组合疗法或成为更有效、更安全的抗实体瘤疗法。

3 结语

肿瘤免疫疗法在2013年被《Science》杂志评为年度十大科技突破之首,CAR-T疗法在其中占有重要的一席之地。目前CAR-T疗法抗病毒作用及与OV联合应用抗肿瘤的研究大多处于起步阶段,故还有很多值得探索的地方。

综上所述,CAR通过靶向特异性、序列保守的病毒包膜蛋白而显示出良好的抗病毒作用,如抗-gp120.CAR-T、CD4-MBL.CAR-T与CAR-NK、CAR-hPSC等均显示了良好的抗HIV作用;而抗-S.CAR-T有抗HBV作用。此外,OV可通过直接裂解肿瘤细胞和基因工程改造机制打破肿瘤局部免疫抑制微环境,与CAR-T发挥协同抗肿瘤作用。因此,CAR-T抗病毒应用与抗肿瘤联合疗法有望为部分患者带来曙光。

参考文献

- [1] Feins S, Kong W, Williams EF, *et al.* An introduction to chimeric antigen receptor (CAR) T-cell immunotherapy for human cancer[J]. *Am J Hematol*, 2019, 94(s1): S3-S9.
- [2] Romeo C, Seed B. Cellular immunity to HIV activated by CD4 fused to T cell or Fc receptor polypeptides[J]. *Cell*, 1991, 64(5): 1037-1046.
- [3] Roberts MR, Qin L, Zhang D, *et al.* Targeting of human immunodeficiency virus-infected cells by CD8⁺ T lymphocytes

- armed with universal T-cell receptors[J]. *Blood*, 1994, 84(9): 2878-2889.
- [4] Leibman RS, Richardson MW, Ellebrecht CT, *et al.* Supraphysiologic control over HIV-1 replication mediated by CD8 T cells expressing a re-engineered CD4-based chimeric antigen receptor[J]. *PLoS Pathog*, 2017, 13(10): e1006613.
- [5] Mock U, Machowicz R, Hauber I, *et al.* mRNA transfection of a novel TAL effector nuclease (TALEN) facilitates efficient knockout of HIV co-receptor CCR5[J]. *Nucleic Acids Res*, 2015, 43(11): 5560-5571.
- [6] Wang W, Ye C, Liu J, *et al.* CCR5 gene disruption via lentiviral vectors expressing Cas9 and single guided RNA renders cells resistant to HIV-1 infection[J]. *PLoS One*, 2014, 9(12): e115987.
- [7] Liu B, Zou F, Lu L, *et al.* Chimeric antigen receptor T cells guided by the single-chain Fv of a broadly neutralizing antibody specifically and effectively eradicate virus reactivated from latency in CD4⁺ T lymphocytes isolated from HIV-1-infected individuals receiving suppressive combined antiretroviral therapy[J]. *J Virol*, 2016, 90(21): 9712-9724.
- [8] Ghanem MH, Bolivar-Wagers S, Dey B, *et al.* Bispecific chimeric antigen receptors targeting the CD4 binding site and high-mannose Glycans of gp120 optimized for anti-human immunodeficiency virus potency and breadth with minimal immunogenicity[J]. *Cytotherapy*, 2018, 20(3): 407-419.
- [9] Anthony-gonda K, Bardhi A, Ray A, *et al.* Multispecific anti-HIV duoCAR-T cells display broad in vitro antiviral activity and potent in vivo elimination of HIV-infected cells in a humanized mouse model [J]. *Sci Transl Med*, 2019, 11(504): eaav5685.
- [10] Haran KP, Hajduczek A, Pampusch MS, *et al.* Simian immunodeficiency virus (SIV)-specific chimeric antigen receptor-T cells engineered to target B cell follicles and suppress SIV replication[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 492.
- [11] Glienke W, Esser R, Priesner C, *et al.* Advantages and applications of CAR-expressing natural killer cells[J]. *Front Pharmacol*, 2015, 6: 21.
- [12] Zhen A, Peterson CW, Carrillo MA, *et al.* Long-term persistence and function of hematopoietic stem cell-derived chimeric antigen receptor T cells in a nonhuman primate model of HIV/AIDS[J]. *PLoS Pathog*, 2017, 13(12): e1006753.
- [13] Bohne F, Chmielewski M, Ebert G, *et al.* T cells redirected against hepatitis B virus surface proteins eliminate infected hepatocytes[J]. *Gastroenterology*, 2008, 134(1): 239-247.
- [14] Festag MM, Festag J, Frögle SP, *et al.* Evaluation of a fully human, hepatitis B virus-specific chimeric antigen receptor in an immunocompetent mouse model[J]. *Mol Ther*, 2019, 27(5): 947-959.
- [15] Kruse RL, Shum T, Tashiro H, *et al.* HBsAg-redirected T cells exhibit antiviral activity in HBV-infected human liver chimeric mice[J]. *Cytotherapy*, 2018, 20(5): 697-705.
- [16] Sautto GA, Wisskirchen K, Clementi N, *et al.* Chimeric antigen receptor (CAR)-engineered T cells redirected against hepatitis C virus (HCV) E2 glycoprotein[J]. *Gut*, 2016, 65(3): 512-523.
- [17] Proff J, Brey CU, Ensser A, *et al.* Turning the tables on cytomegalovirus: targeting viral Fc receptors by CARs containing mutated CH₂-CH₃ IgG spacer domains[J]. *J Transl Med*, 2018, 16(1): 26.
- [18] Tang X, Zhou Y, Li W, *et al.* T cells expressing a LMP1-specific chimeric antigen receptor mediate antitumor effects against LMP1-positive nasopharyngeal carcinoma cells *in vitro* and *in vivo*[J]. *J Biomed Res*, 2014, 28(6): 468-475.
- [19] Lan Q, Xia S, Wang Q, *et al.* Development of oncolytic virotherapy: from genetic modification to combination therapy[J]. *Front Med*, 2020, 14(2): 160-184.
- [20] Ajina A, Maher J. Synergistic combination of oncolytic virotherapy with CAR T-cell therapy[J]. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2019, 164: 217-292.
- [21] Diaz RM, Galivo F, Kottke T, *et al.* Oncolytic immunovirotherapy for melanoma using vesicular stomatitis virus[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(6): 2840-2848.
- [22] Gauvrit A, Brandler S, Sapède-Peroz C, *et al.* Measles virus induces oncolysis of mesothelioma cells and allows dendritic cells to cross-prime tumor-specific CD8 response[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(12): 4882-4892.
- [23] Gujar SA, Pan DA, Marcato P, *et al.* Oncolytic virus-initiated protective immunity against prostate cancer[J]. *Mol Ther*, 2011, 19(4): 797-804.
- [24] Fu X, Rivera A, Tao L, *et al.* An HSV-2 based oncolytic virus can function as an attractant to guide migration of adoptively transferred T cells to tumor sites[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(2): 902-914.
- [25] Havunen R, Siurala M, Sorsa S, *et al.* Oncolytic adenoviruses armed with tumor necrosis factor alpha and interleukin-2 enable successful adoptive cell therapy[J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2017, 4: 77-86.
- [26] Louis CU, Savoldo B, Dotti G, *et al.* Antitumor activity and long-term fate of chimeric antigen receptor-positive T cells in patients with neuroblastoma[J]. *Blood*, 2011, 118(23): 6050-6056.
- [27] Yu F, Wang X, Guo ZS, *et al.* T-cell engager-armed oncolytic vaccinia virus significantly enhances antitumor therapy[J]. *Mol Ther*, 2014, 22(1): 102-111.
- [28] Tao YG, Auperin A, Sire C, *et al.* Improved outcome by adding concurrent chemotherapy to cetuximab and radiotherapy for locally advanced head and neck carcinomas: results of the GORTEC 2007-01 phase III randomized trial[J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(31): 3084-3090.
- [29] Kershaw MH, Westwood JA, Parker LL, *et al.* A phase I study on adoptive immunotherapy using gene-modified T cells for ovarian cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(20 pt 1): 6106-6115.
- [30] Tanoue K, Rosewell Shaw A, Watanabe N, *et al.* Armed

oncolytic adenovirus-expressing PD-L1 mini-body enhances antitumor effects of chimeric antigen receptor T cells in solid tumors[J]. *Cancer Res*, 2017, 77(8): 2040-2051.

[31] Rosewell Shaw A, Porter CE, Watanabe N, *et al.* Adenovi-

rotherapy delivering cytokine and checkpoint inhibitor augments CAR T cells against metastatic head and neck cancer [J]. *Mol Ther*, 2017, 25(11): 2440-2451.

Progress on chimeric antigen receptor T cells in virus-related application

QIAN Le-qi, QI Fa-zhi (*Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Zhongshan Hospital Affiliated to Fudan University, Shanghai 200032, China*)

Abstract: Chimeric antigen receptor T cell (CAR-T) therapy is a novel cellular immunotherapy developed in recent years which uses genetic engineering techniques to make T cells express specific chimeric antigen receptor (CAR). CAR-T cells are capable of specifically recognizing and killing target cells with corresponding antigens independent of MHC. Currently, CAR-T therapy has achieved unprecedented clinical success in patients with hematological malignancies. However, there are still many obstacles to its applications in solid tumors. Oncolytic viruses can directly lyse solid tumor cells and reverse the immunosuppressive tumor microenvironment, showing synergistic effects when combined with CAR-T therapy in solid tumors treatment. In addition, CAR-T therapy also plays some roles in anti-viral infections, including human immunodeficiency virus (HIV) and HBV. This review focuses on the relationship between CAR-T and viruses, mainly discusses the progress of CAR-T cell therapy targeting viral infections and the mechanism of combination of oncolytic viruses and CAR-T therapy against solid tumors, and provides new perspectives on the applications of CAR-T in virus infections and combined immunotherapy.

Key words: chimeric antigen receptor T cell; genetic engineering; anti-virus treatment; oncolytic virus

(上接第 212 页)

Abstract: The study aims to compare the immunosuppressive property of exosome (Exo) isolated from myeloid-derived suppressor cell (MDSC) culture supernatant under normoxia (21% O₂) and hypoxia (1% O₂) conditions. MDSCs were isolated from the spleen of colon cancer-bearing mice by affinity magnetic beads and Exo was extracted from the supernatant of MDSC culture medium under normoxia and hypoxia conditions. The morphology and quality of the MDSC-derived exosome (MDSC-Exo) were identified by transmission electron microscopy, flow cytometric, and Western blotting. MDSC-Exo were added to CD4⁺ and CD8⁺ T cell cultures in vitro to test their effect on the proliferation of these cells. Compared to MDSC-Exo isolated from normal conditions, MDSC-Exo from hypoxia conditions inhibited both CD4⁺ and CD8⁺ T cell proliferation more effectively (both $P < 0.05$). Meanwhile, hypoxia MDSC-Exo contained significantly increased arginase 1 (Arg-1) ($P < 0.01$), which was inhibited by the interference of hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α) ($P < 0.01$). Taken together, hypoxia endows the MDSC-Exo with stronger immunosuppressive function and this property depends on the expression of Arg-1 mediated by HIF-1 α .

Key words: hypoxia; myeloid-derived suppressor cell; exosome; hypoxia-inducible factor 1 α