



安徽医科大学学报

Acta Universitatis Medicinalis Anhui

ISSN 1000-1492, CN 34-1065/R

《安徽医科大学学报》网络首发论文

题目：一种基于 OX40L 胞内域的靶向 IL-13R α CAR 巨噬细胞的构建与验证
作者：薛慧, 薛梓萌, 陈维乐, 邱佳琪, 朱梦娟, 陈义昭, 涂佳杰
收稿日期：2026-03-17
网络首发日期：2026-05-14
引用格式：薛慧, 薛梓萌, 陈维乐, 邱佳琪, 朱梦娟, 陈义昭, 涂佳杰. 一种基于 OX40L 胞内域的靶向 IL-13R α CAR 巨噬细胞的构建与验证[J/OL]. 安徽医科大学学报. <https://link.cnki.net/urlid/34.1065.r.20260514.1356.002>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

一种基于 OX40L 胞内域的靶向 IL-13R α CAR 巨噬细胞的构建与验证

薛 慧¹, 薛梓萌¹, 陈维乐¹, 邱佳琪¹, 朱梦娟¹, 陈义昭², 涂佳杰¹

[¹安徽医科大学药学科学学院 临床药理研究所, 抗炎免疫药物教育部重点实验室 (安徽医科大学), 合肥 230032; ²安徽医科大学第三附属医院药学部, 合肥 230032]

2026-03-17 接收

基金项目: 国家自然科学基金项目 (编号: 82373877)

作者简介: 薛 慧, 女, 硕士研究生;

涂佳杰, 男, 教授, 博士生导师, 通信作者, E-mail: tujiajie@ahmu.edu.cn

摘要 **目的** 构建靶向白细胞介素-13 受体 α (IL-13R α) 且胞内域整合可双重激活巨噬细胞与 T 细胞的信号接头蛋白 OX40L 的嵌合抗原受体巨噬细胞 (CAR-M)。**方法** 设计并合成以 OX40L 为胞内信号域、靶向 IL-13R α 的 CAR 分子 (IL-13R α -OX40L-CAR), 将其定向克隆至腺病毒表达载体。采用佛波酯诱导 THP-1 细胞分化为巨噬细胞 (THP-1-M) 后, 用重组腺病毒感染该细胞, 构建稳定表达绿色荧光蛋白 (GFP) 标记的 anti-IL-13R α CAR 的 THP-1 巨噬细胞。通过流式细胞术监测 CAR 分子的表达效率; 以空载体组为阴性对照、CD3 ζ 组为阳性对照、OX40L-CD3 ζ 组为实验组, 通过体外共培养实验, 检测各组巨噬细胞对 IL-13R α 高表达胶质瘤细胞 (U251) 及低表达胶质瘤细胞 (T98G) 的吞噬功能差异。**结果** CAR 腺病毒高效率转染 THP-1-M, 获得 anti-IL-13R α CAR-M。与不同 IL-13R α 表达水平的胶质瘤细胞共培养后, 流式细胞术结果显示, 对于低表达 IL-13R α 的 T98G 细胞, 三组间差异无统计学意义; 在与 IL-13R α 高表达的 U251 细胞共培养后, 与空载体组相比, CD3 ζ 组表现出增强的吞噬作用 ($P < 0.05$), 与 CD3 ζ 组相比, OX40L-CD3 ζ 组吞噬能力进一步增强 ($P < 0.05$)。**结论** 通过构建 IL-13R α -OX40L-CAR 腺病毒并转染经 PMA 诱导分化的 THP-1-M, 成功构建了 anti-IL-13R α -OX40L-CAR-M, 且其能通过特异性靶向吞噬高表达 IL-13R α 的胶质瘤细胞, 并表现出优于传统 CD3 ζ 胞内域的激活。

关键词 嵌合抗原受体; 巨噬细胞; 胶质瘤; 吞噬效应; OX40L; 免疫治疗

中图分类号 R739.41; R-331

**Construction and validation of IL-13R α CAR-targeted THP-1 macrophages
based on OX40L intracellular domain**

Xue Hui¹, Xue Zimeng¹, Chen Weile¹, Qiu Jiaqi¹, Zhu Mengjuan¹, Chen Yizhao², Tu Jiajie¹

[¹ Institute of Clinical Pharmacology, School of Pharmacy, Anhui Medical University; Key Laboratory of Anti-inflammatory and Immune Medicine (Anhui Medical University), Ministry of Education, Hefei 230032; ² Department of Pharmacy, Third Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230032]

Abstract Objective To construct a chimeric antigen receptor macrophage (CAR-M) targeting interleukin-13 receptor α (IL-13R α) and intracellular domain integration, which can double activate the signal adaptor protein OX40 L of macrophages and T cells. **Methods** The CAR molecule targeting IL-13R α (IL-13R α -OX40L-CAR) with OX40L as the intracellular signal domain was designed and synthesized, and it was cloned into the adenovirus expression vector. After THP-1 cells were induced to differentiate into macrophages (THP-1-M) by phorbol ester, the cells were infected with recombinant adenovirus to construct THP-1 macrophages stably expressing green fluorescent protein (GFP) labeled anti-IL-13R α CAR. The expression efficiency of CAR molecules was monitored by flow cytometry. The empty vector group was used as the negative control, the CD3 ζ group was used as the positive control, and the CD3 ζ -OX40L group was used as the experimental group. The phagocytic function of macrophages in each group on IL-13R α high expression glioma cells (U251) and low expression glioma cells (T98G) was detected by in vitro co-culture experiments. **Results** CAR adenovirus was efficiently transfected into THP-1-M to obtain anti-IL-13R α CAR-M. After co-cultured with glioma cells with different expression levels of IL-13R α , the results of flow cytometry showed that there was no significant difference among the three groups for T98G cells with low expression of IL-13R α . After co-culture with U251 cells with high expression of IL-13R α , the CD3 ζ group showed enhanced phagocytosis compared with the empty vector group ($P < 0.05$). Compared with the CD3 ζ group, the phagocytosis ability of the CD3 ζ -OX40L group was further enhanced ($P < 0.05$). **Conclusion** Anti-IL13R α -OX40L-CAR-M is successfully constructed by constructing IL-13R α -OX40L-CAR adenovirus and transfecting PMA-induced differentiated THP-1-M. It can engulf glioma cells with high expression of IL-13R α by specific targeting, and shows activation of intracellular domain superior to traditional CD3 ζ .

Key words chimeric antigen receptor; macrophages; glioma; phagocytosis effect; OX40L; immunotherapy

Fund program National Natural Science Foundation of China (No. 82373877)

Corresponding author Tu Jiajie, E-mail: tujiajie@ahmu.edu.cn

抗原嵌合受体巨噬细胞 (chimeric antigen receptor-macrophage, CAR-M) 是一种经过 CAR 基因工程改造的巨噬细胞, 已经成为 CAR 免疫细胞治疗平台中的新兴疗法^[1]。CAR 通常由胞外抗原识别结构域、铰链/跨膜区及胞内信号结构域组成, 可赋予巨噬细胞特异识别肿瘤相关抗原的能力, 并触发吞噬、促炎因子释放及抗原呈递等效应^[2]。

白细胞介素 13 受体 α 亚基 (interleukin-13 receptor subunit alpha, IL-13R α) 是 IL-13 的高亲和力膜受体, 在正常组织中低表达, 在黑色素瘤、肾细胞癌、肾上腺皮质癌以及多种脑肿瘤中过表达^[3-4]。IL-13 与肿瘤细胞表面受体结合后可激活 AP-1、ERK 等信号通路, 促进肿瘤进展^[5-6]。针对 IL-13R 目前已研发出多种靶向策略, 例如重组免疫毒素^[7-8]和单克隆抗体用于特异杀伤^[9]。统 CAR 多采用 CD3 ζ 等 T 细胞相关信号域, 在巨噬细胞体系中可能存在信号适配不足等问题。OX40 配体 (OX40 Ligand, OX40L) 不仅能通过 OX40-OX40L 轴增强 T 细胞的存活与杀伤功能, 其胞内信号还可反向调控巨噬细胞, 促进其向促炎 M1 表型极化并增强吞噬活性^[10]。基于此, 本研究拟构建靶向 IL-13R α 且整合 OX40L 胞内信号域的 CAR-M。通过在人单核细胞白血病 (human monocytic leukemia cell line 1, THP-1) 分化的巨噬细胞中表达该受体, 验证其对 IL-13R α 高表达胶质瘤细胞的特异性吞噬效应, 为胶质瘤的免疫治疗提供新的策略。

1 材料与方法

1.1 材料

人源单核细胞系 THP-1 和人源脑胶质瘤细胞系 U251、T98G 购自武汉普诺赛生命科技有限公司; 胰蛋白酶 (货号: C100C1) 购自苏州新赛美生物科技有限公司; 青-链霉素溶液 (货号: PB180120) 购自武汉普诺赛生命科技有限公司; RPMI-1640 培养基、MEM 培养基、磷酸缓冲盐溶液 (phosphate buffered saline, PBS) 缓冲液 (货号: 01-100-1ACS、01-026-1ACS、B310KJ) 购自上海源培生物科技股份有限公司; 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS, 货号: 087-150) 购自维森特生物技术 (南京) 有限公司; anti-human IL-13R α 抗体 (货号: 756135) 购自美国 BD Pharmingen™ 公司; Cell Tracker™ Red CMTPX 荧光染料 (货号: C34552) 购

自美国 Invitrogen 公司。

1.2 方法

1.2.1 基于腺病毒构建 CAR 载体

本研究构建包含 CD8 α 信号肽、抗 IL-13R α 的 scFv、CD8 α 铰链跨膜区以及通过柔性连接肽串联的 CD3 ζ 或 OX40L 胞内信号域的全长 CAR 基因, 经密码子优化后化学合成并引入 HindIII/XhoI 酶切位点。见图 1。

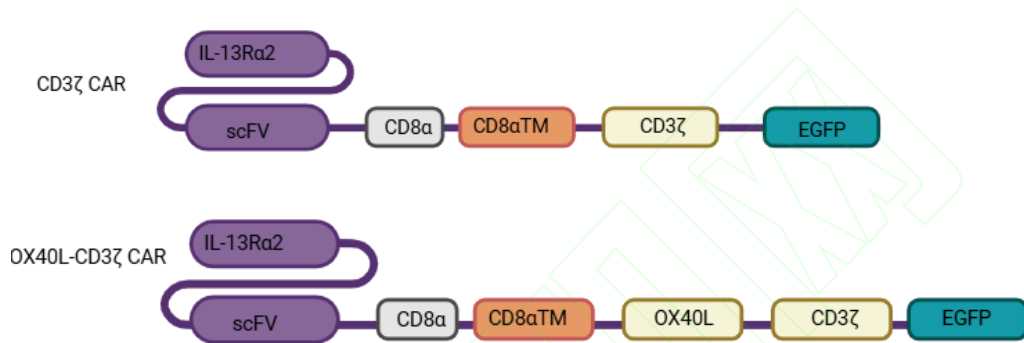


图 1 CAR 分子结构示意图

Fig.1 Schematic diagram of CAR molecule structure

1.2.2 腺病毒转染 THP-1

THP-1 培养在 RPMI-1640 培养基中, 其中添加 10% FBS 和 1%的青-链霉素溶液维持细胞生长, 待细胞密度长到 80%时可用于后续实验。首先将 THP-1 以 3×10^5 个/mL 的密度接种于 12 孔板内, 然后在其中加入终浓度为 100 ng/mL 的佛波酯, 孵育处理 48 h。待细胞完全贴壁后更换新鲜培养基继续培养 24 h, 即可得到 M0 巨噬细胞。按照感染复数 (multiplicity of infection, MOI) =100 及相应病毒滴度加入病毒, 培养 4 h 后更换完全培养基继续培养 48 h。培养结束后, 通过流式细胞术分析细胞内绿色荧光蛋白 (green fluorescent protein, GFP) 的表达情况来判断转染效率。

1.2.3 IL-13R α^{high} 和 IL-13R α^{low} 肿瘤细胞鉴定

U251、T98G 细胞采用 MEM 培养基进行常规培养, 培养基中添加 10% FBS 及 1%青-链霉素溶液, 并放于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、含 5% CO_2 的培养箱中培养, 等细胞密度长至 80%左右时开始后续实验。采用 0.25%胰蛋白酶消化细胞以制备单细胞悬液, 随后用 PBS 洗涤细

胞 2 次。洗涤后的细胞以 100 μ L PBS 重悬, 并在 4 $^{\circ}$ C 条件下与抗人 IL-13R α 抗体共同孵育 30 min。在 4 $^{\circ}$ C 条件下用抗人 IL-13R α 抗体孵育 30 min, 孵育结束后, 再次使用 PBS 清洗细胞, 最终以 300 μ L PBS 重悬细胞。通过流式细胞术检测 U251、T98G 细胞中 IL-13R α 的表达。

1.2.4 转染后的 THP-1M 分别与 IL-13R α ^{high}U251 和 IL-13R α ^{low}T98G 细胞共培养

将 IL-13R α ^{high} U251 和 IL-13R α ^{low} T98G 细胞用 PBS 洗涤细胞 2 次后, 使用含有 Red CMTPIX 荧光染料的染色工作液重悬, 在 37 $^{\circ}$ C 培养箱孵育 30 min 后离心收集细胞, 置于 37 $^{\circ}$ C 培养箱中孵育 30 min。随后离心收集细胞, 再次以 PBS 洗涤 2 次, 最终以 500 μ L 无 FBS 的 MEM 培养基重悬。将构建成功的 CAR-THP-1 和 Red CMTPIX 标记的 IL-13R α ^{high} U251 和 IL-13R α ^{low} T98G 细胞在 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂ 湿润环境中分组按 3:1 的比例共培养。共培养 4 h 后, 收集培养基, 采用 0.25%胰蛋白酶消化共培养体系中的细胞, 收集至 EP 管中, 以 1 000 r/min 离心 5 min, 沉淀以 PBS 重悬后, 通过流式细胞术检测吞噬情况。

1.3 统计学处理

使用 GraphPad Prism 10 软件进行数据分析与作图。所有定量数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。对于多组间数据的比较 (如空载体组、CD3 ζ 组与 OX40L-CD3 ζ 组在同一细胞系中的比较), 采用单因素或双因素方差分析进行统计分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CAR 腺病毒高效转染 THP-1 来源的巨噬细胞

经同源重组、包装与纯化, 成功构建并制备获得高滴度 IL-13R α -CD3 ζ CAR 腺病毒和 IL-13R α -OX40L CAR 腺病毒。用 CAR 腺病毒 (MOI=100) 感染 PMA 诱导分化的 THP-1 巨噬细胞, 感染 48 h 后, 通过流式细胞术评估 CAR 腺病毒的转染效率。结果显示, 空载体、IL-13R α -CD3 ζ CAR 和 IL-13R α -OX40L CAR 腺病毒的转染效率均处于较高水平 (图 2)。上述结果表明, 本研究采用的腺病毒载体可高效地将 CAR 基因递送至巨噬细胞。

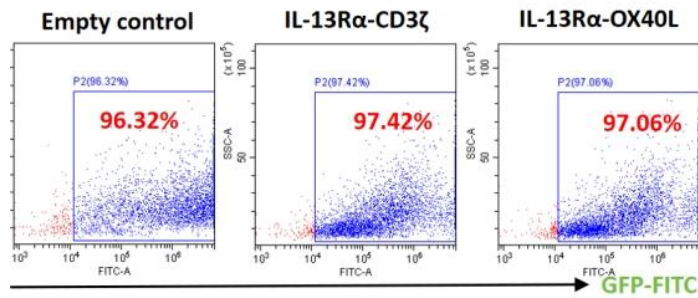


图 2 流式细胞术分析 CAR 腺病毒转染效果

Fig.2 Analysis of CAR adenovirus transfection efficiency by flow cytometry

2.2 筛选 IL-13Rα^{high} and IL-13Rα^{low} 肿瘤细胞

采用流式细胞术检测 U251、T98G 细胞表面 IL-13Rα 表达。结果显示，在 T98G 细胞系中，IL-13Rα 表达比例较低；在 U251 细胞系中，IL-13Rα 表达比例远高于 T98G 细胞系（图 3）。

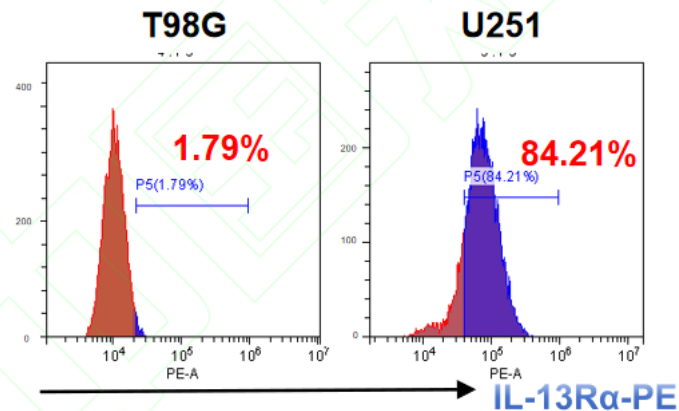


图 3 流式细胞术检测 U251 与 T98G 细胞表面的 IL-13Rα 表达

Fig.3 Detection of IL-13Rα expression on the surface of U251 and T98G cells by flow cytometry

2.3 Anti-IL-13RαCAR-M 与不同 IL-13Rα 表达水平的胶质瘤细胞共培养后的吞噬结果

将空载体，anti-IL-13Rα-CD3ζ-CAR-M（CD3ζ 组）和 IL-13RαCAR-M（OX40L-CD3ζ 组）分别与 U251/T98G 共培养 4 h 后，使用流式细胞术检测各组 CAR 巨噬细胞的吞噬情况。

结果显示,空载体 THP-1 与 IL-13R α^{high} U251 和 IL-13R α^{low} T98G 细胞共培养后,空载体 THP-1 对 IL-13R α^{high} U251 细胞吞噬比例为 (11.93 \pm 0.24)%, 空载体 THP-1 和 IL-13R α^{low} T98G 细胞吞噬比例为 (14.38 \pm 0.37) %。空载体组对 IL13R α^{high} U251 和 IL13R α^{low} T98G 细胞的吞噬结果差异无统计学意义。CD3 ζ 组与 IL-13R α^{high} U251 和 IL-13R α^{low} T98G 细胞共培养后, CD3 ζ CAR-M 对 IL-13R α^{high} U251 细胞吞噬比例为 (23.49 \pm 3.27)%, CD3 ζ CAR-M 对 IL-13R α^{low} T98G 细胞吞噬比例为 (13.28 \pm 0.29) %。CD3 ζ CAR-M 对 IL-13R α^{high} U251 和 IL-13R α^{low} T98G 细胞的吞噬结果差异有统计学意义 ($P=0.0305$)。OX40L-CD3 ζ 组与 IL-13R α^{high} U251 和 IL-13R α^{low} T98G 细胞共培养后, OX40L CAR-M 对 IL-13R α^{high} U251 细胞吞噬比例为 (30.49 \pm 0.54)%, OX40L CAR-M 对 IL-13R α^{low} T98G 细胞吞噬比例为 (13.89 \pm 0.33) %。OX40L CAR-M 对 IL-13R α^{high} U251 和 IL-13R α^{low} T98G 细胞的吞噬结果差异有统计学意义 ($P=0.0037$)。此外, CD3 ζ 组与 OX40L-CD3 ζ 组对 IL-13R α^{high} U251 细胞的吞噬差异有统计学意义 ($P=0.0064$) (图 4), 这表明增加的 OX40L 的胞内域能够增强 CD3 ζ 的吞噬活性。

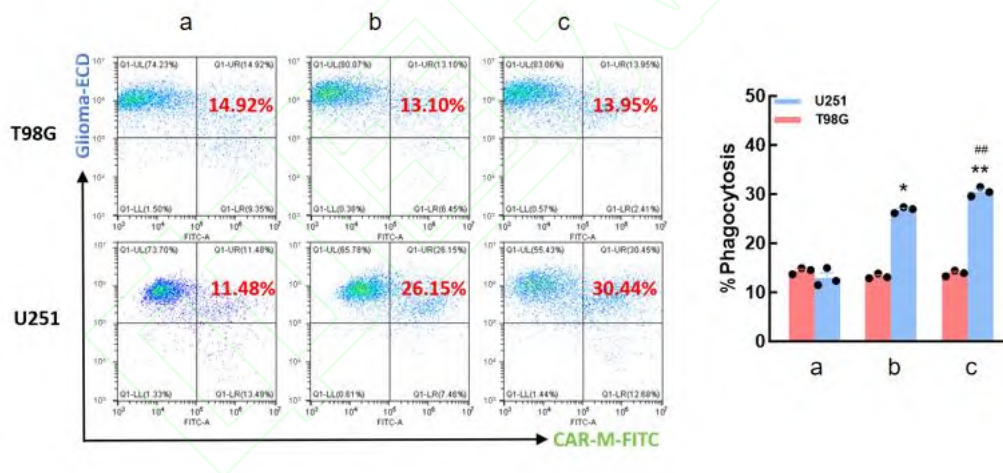


图 4 流式细胞术检测 CAR-M 对 U251 和 T98G 细胞的吞噬情况

Fig.4 Phagocytosis of U251 and T98G cells by CAR-M macrophages detected by flow cytometry

注: a: Empty control; b: IL-13R α -CD3 ζ -CAR-M; c: IL-13R α -OX40L-CAR-M; * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs T98G group; ## $P<0.01$ vs U251 group.

2.4 Anti-IL-13R α CAR-M 与胶质瘤细胞共培养后的杀伤结果

将空载体, anti-IL-13R α -CD3 ζ -CAR-M (CD3 ζ 组) 和 IL-13R α CAR-M (OX40L-CD3 ζ 组) 分别与 U251 共培养 24 h 后, 使用流式细胞术检测各组 CAR 巨噬细胞的吞噬情况。结果显示, 与空载体组相比, IL-13R α -CD3 ζ -CAR-M 组 U251 细胞存活率显著降低, anti-IL13R α -OX40L-CAR-M 组 U251 细胞存活率存活率最低, 且显著低于 IL-13R α -CD3 ζ -CAR-M 组。此外, CD3 ζ 组与 OX40L-CD3 ζ 组对细胞的杀伤差异有统计学意义 ($P=0.0203$) (图 4), 这表明 OX40L 的加入能够增强 CD3 ζ 的杀伤活性。

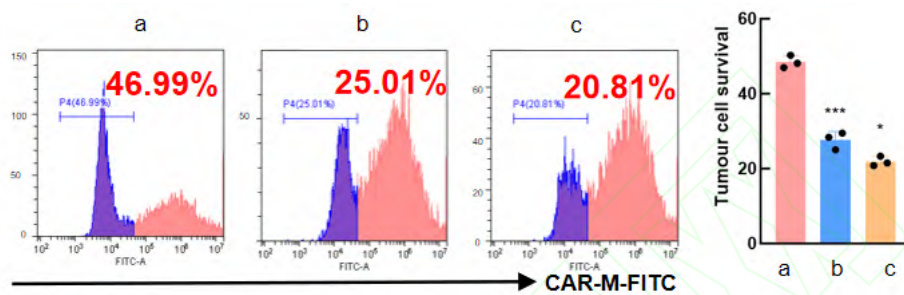


图 5 流式细胞术检测 CAR-M 对 U251 细胞的杀伤情况

Fig.5 Flow cytometric analysis of CAR-M-mediated killing of U251 cells

注: a: Empty control; b: anti-IL13R α -CD3 ζ -CAR-M; c: anti-IL13R α -OX40L-CAR-M;
 *** $P < 0.001$ vs Empty control; * $P < 0.05$ vs Empty control.

3 讨论

目前 CAR-T 疗法已经在血液系统恶性肿瘤的治疗中广泛应用, 但是仍有局限性。巨噬细胞具有强大的吞噬能力、抗原呈递能力和自然浸润肿瘤微环境能力, 基于巨噬细胞改造的 CAR-M 疗法让细胞具有更强大的抗肿瘤能力, 弥补了 CAR-T 疗法的缺陷^[11-12]。与 CAR-T 疗法相比, 除了独特的吞噬能力之外, CAR-M 还能改善抗原呈递, 促进 T 细胞产生更强的细胞毒性反应, 展现出卓越的杀肿瘤能力, 在实体瘤中具有治疗潜力。

IL-13R α 在胶质母细胞瘤中高水平表达, 而在正常组织中低表达。该靶点的肿瘤限制性表达模式是 CAR 细胞疗法的理想靶点的关键, 能够最大限度的降低非肿瘤靶向毒性。目前, 已经有靶向 IL-13R α 的单抗被开发, 可以精准作用于胶质瘤细胞, 减少对正常细胞的毒副作用^[13]。此外, IL-13R α 可直接参与胶质瘤的病理过程, IL-13 通过与配体结合, 激活 AP/TGF

的信号通路参与肿瘤的侵袭、迁移和免疫逃逸等过程。

OX40L 在多种抗原呈递细胞表面都有表达，比如巨噬细胞。有研究^[14]表明，OX40L 过表达 M1 巨噬细胞外泌体能富集在肿瘤组织中，参与细胞间信息传导，将 M2 样巨噬细胞重编程为 M1 样巨噬细胞。过表达 OX40L 的 M1 巨噬细胞还可以协同 CD8⁺T 细胞激活适应性免疫。OX40L⁺ M1-exos 可以与 T 细胞表面的 OX40 结合，激活 OX40/OX40L 通路，促进 CD8⁺ T 细胞的活化。同时 CD8⁺T 细胞还能分泌干扰素 γ 来促进 M2 样巨噬细胞向 M1 样巨噬细胞的转化。与传统 CAR-M 相比，OX40L-CAR-M 不通过驱动巨噬细胞自身的活化，而是通过 T 细胞间接发挥作用，启动和放大 T 细胞介导的抗肿瘤免疫。综上所述，OX40L 可能通过增强巨噬细胞自身功能和对适应性免疫的激活来增强抗肿瘤免疫。

靶向 IL-13R α 的 OX40L-CAR-M 利用了巨噬细胞浸润肿瘤组织的特点，通过特异性靶点 IL-13R α 、高效载体和多功能胞内域的组合，精准契合胶质瘤的病理特征和治疗需求。本研究结果表明，基于 OX40L 胞内域激活的 CAR-M 能够高效识别并吞噬高表达 IL-13R α 的胶质瘤细胞，其效果优于传统的 CD3 ζ ，其潜在机制可能是因为 CD3 ζ 主要依赖免疫受体酪氨酸激活基序介导的激酶级联反应，更契合 T 细胞的核心激活信号。在 CAR-M 中，CD3 ζ 主要通过 Syk/PI3K 通路激活巨噬细胞，但其缺乏共刺激信号，单一的 CD3 ζ 可能不足以维持巨噬细胞的持续活化，易导致免疫细胞耗竭或功能不全。而 OX40L 与 T 细胞表面的 OX40 结合，提供共刺激信号可能通过与肿瘤坏死因子受体相关因子适配蛋白激活核因子 κ B、MAPK 等多条信号通路，通路不仅增强巨噬细胞自身的活化、存活和吞噬能力，还能促进抗原呈递和免疫记忆形成。其次，OX40L 可诱导巨噬细胞向 M1 型极化，增强其吞噬、抗原呈递和促炎因子分泌能力。而 CD3 ζ 信号则缺乏对巨噬细胞极化的明确调控作用。最后，OX40L 是 T 细胞表面 OX40 的配体。OX40L-CAR-M 不仅自己吞噬肿瘤，其表面的 OX40L 结构域还能与周围 T 细胞表面的 OX40 结合，激活 CD8⁺ T 细胞^[14]。活化后的 T 细胞会分泌干扰素- γ ，干扰素- γ 是诱导巨噬细胞向 M1 型极化和增强其吞噬功能的最强效细胞因子之一。这种巨噬细胞激活 T 细胞，T 细胞反过来进一步激活巨噬细胞的正向反馈回路，是 CD3 ζ 胞内域所不具备的。

本研究创新性地引入了 OX40L 胞内域。本实验数据表明，在同条件下，OX40L 胞内域驱动的 CAR-M 在吞噬和杀伤高表达 IL-13R α 胶质瘤细胞的能力上均显著优于 CD3 ζ 组，证明了该信号域更适配巨噬细胞的生物学特性，能有效增强其效应功能。然而本研究主要利用 THP-1 细胞系诱导分化的巨噬细胞作为体外模型，其生物学特性与人体内来源的某些原

代巨噬细胞仍存在差异。未来研究需进一步在原代人源巨噬细胞中验证该 CAR 分子的表达效率及功能，以提高临床转化的参考价值。

参考文献

- [1] 宋羽佳, 汪 晨, 王恩秀, 等. 基于多链结构的 CD30 CAR-T 细胞的抗肿瘤作用研究[J]. 安徽医科大学学报, 2024, 59(4): 666-70. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.04.017.
- Song Y J, Wang C, Wang E X, et al. Study on the anti-tumor effect of CD30 CAR-T cells based on multi-chain structure[J]. Acta Univ Med Anhui, 2024, 59(4): 666-70. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.04.017.
- [2] Peng J J, Wang L, Li Z, et al. Metabolic challenges and interventions in CAR T cell therapy[J]. Sci Immunol, 2023, 8(82): eabq3016. doi:10.1126/sciimmunol.abq3016.
- [3] Klichinsky M, Ruella M, Shestova O, et al. Human chimeric antigen receptor macrophages for cancer immunotherapy[J]. Nat Biotechnol, 2020, 38(8): 947-53. doi:10.1038/s41587-020-0462-y.
- [4] Ulasov I V, Borovjagin A, Laevskaya A, et al. The IL13 α 2R paves the way for anti-glioma nanotherapy[J]. Genes Dis, 2023, 10(1): 89-100. doi:10.1016/j.gendis.2021.08.006.
- [5] Márquez-Ortiz R A, Contreras-Zárate M J, Tesic V, et al. IL13R α 2 promotes proliferation and outgrowth of breast cancer brain metastases[J]. Clin Cancer Res, 2021, 27(22): 6209-21. doi:10.1158/1078-0432.ccr-21-0361.
- [6] Bhardwaj R, Suzuki A, Leland P, et al. Identification of a novel role of IL-13R α 2 in human Glioblastoma multiforme: interleukin-13 mediates signal transduction through AP-1 pathway[J]. J Transl Med, 2018, 16(1): 369. doi:10.1186/s12967-018-1746-6.
- [7] Kawakami K, Kioi M, Liu Q, et al. Evidence that IL-13R α 2 chain in human glioma cells is responsible for the antitumor activity mediated by receptor-directed cytotoxin therapy[J]. J Immunother, 2005, 28(3): 193-202. doi:10.1097/01.cji.0000161393.04207.e1.
- [8] Todhunter D A, Hall W A, Rustamzadeh E, et al. A bispecific immunotoxin (DTAT13) targeting human IL-13 receptor (IL-13R) and urokinase-type plasminogen activator receptor (uPAR) in a mouse xenograft model[J]. Protein Eng Des Sel, 2004, 17(2): 157-64. doi:10.1093/protein/gzh023.
- [9] Lavin L, Geller S. Cutaneous T cell lymphoma following dupilumab therapy in patients with

atopic dermatitis: clinical review and recommendations[J]. *Am J Clin Dermatol*, 2025, 26(5): 723-31. doi:10.1007/s40257-025-00955-7.

[10] Knudson K M, Hwang S, McCann M S, et al. Recent advances in IL-13R α 2-directed cancer immunotherapy[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 878365. doi:10.3389/fimmu.2022.878365.

[11] Lu J, Ma Y, Li Q, et al. CAR Macrophages: a promising novel immunotherapy for solid tumors and beyond[J]. *Biomark Res*, 2024, 12(1): 86.

doi:10.1186/s40364-024-00637-2.[12]Kawakami M, Kawakami K, Takahashi S, et al. Analysis of interleukin-13 receptor alpha2 expression in human pediatric brain tumors. *Cancer*. 2004 Sep 1;101(5):1036-42. doi: 10.1002/encr.20470I .

[13] Hou A J, Shih R M, Uy B R, et al. IL-13R α 2/TGF- β bispecific CAR-T cells counter TGF- β -mediated immune suppression and potentiate anti-tumor responses in glioblastoma[J]. *Neuro Oncol*, 2024, 26(10): 1850-66. doi:10.1093/neuonc/noae126.

[14] Yang Z, Hai L, Chen X, et al. OX40 ligand promotes follicular helper T cell differentiation and development in mice with immune thrombocytopenia[J]. *J Zhejiang Univ SCIENCE B*, 2025, 26(3): 240-53. doi:10.1631/jzus.B2300947.