

T淋巴细胞在肿瘤免疫中的双重作用及其免疫治疗现状

罗 慧, 汪 琪, 张大昕

(哈尔滨医科大学附属第一医院, 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要:肿瘤免疫治疗作为一种新的手段取得了备受瞩目的临床疗效,在晚期肿瘤中甚至可以达到临床治愈。T细胞亚群作为机体细胞免疫功能的重要组成部分,在抗肿瘤免疫及肿瘤免疫逃避中均发挥着十分重要的作用。全文就T细胞亚群的生物学特性、在肿瘤免疫激活及肿瘤免疫逃避中的作用和机制及相关肿瘤免疫治疗研究进展作一综述。

关键词:免疫治疗; T淋巴细胞亚群; CD4+T细胞; CD8+T细胞; 记忆性T细胞; Treg细胞

中图分类号: R730.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2019)11-0936-05

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2019.11.B002

Dual Roles of T Lymphocytes in Tumor Immunity and Application in Anti-tumor Immunotherapy

LUO Hui, WANG Qi, ZHANG Da-xin

(First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China)

Abstract: Compared with radiotherapy and chemotherapy, anti-tumor immunotherapy as a new modality of cancer treatment has achieved remarkable clinical efficacy, even reaching clinically cure for advanced tumors. As important parts of the cellular immunity T lymphocyte subsets play dual roles in anti-tumor immunity as well as in tumor immune escape. In this article, the biological characteristics of T lymphocyte subsets, its mechanism in tumor immune activation and tumor immune escape, and related research progress in anti-tumor immunotherapy are reviewed.

Subject words: immunotherapy; T lymphocyte subsets; CD4+ T cells; CD8+ T cells; memory T cells; regulatory T-lymphocytes

免疫治疗在恶性肿瘤中发挥着越来越重要的作用,旨在促进肿瘤特异性T细胞反应。针对T细胞免疫检查点抑制的新型免疫疗法,包括细胞毒性T淋巴细胞相关抗原(CTLA)-4和程序性细胞死亡(PD)-1,近年来在癌症临床治疗方面取得了突破性进展^[1]。

1 T淋巴细胞在肿瘤免疫中的生物学基础

肿瘤特异性T细胞反应的基础研究源于肿瘤抗原的发现。肿瘤在发生发展过程中产生抗原物质,包括肿瘤特异性抗原和肿瘤相关抗原。这些肿瘤抗

原在体内经由抗原提呈细胞(APC)的捕捉、加工处理成免疫原性多肽,并以抗原肽-MHC分子复合物形式存在APC表面^[2]。T细胞表面表达一系列特异性分子标记(如TCR、CD3、CD4、CD8、CD28等)。APC表面的抗原肽-MHC分子与TCR结合,同时APC表达共刺激分子与T细胞表面的相应配体结合,激活抗原特异性的T细胞免疫反应。T淋巴细胞介导的特异性免疫反应作为抗肿瘤细胞免疫的重要组成部分,与肿瘤发生发展及转移及预后密切相关。因TCR的抗原识别具有(MHC)限制性,故将T淋巴细胞分为CD4+T细胞家族和CD8+T细胞家族两个重要的功能亚群^[3]。CD4+T细胞具有MHC II类分子限制性,介导对多种肿瘤相关病原体的适应性免疫,其发挥抗肿瘤效应的主要是Th1亚群。CD8+细胞毒性T淋巴细胞(CTL)是靶向肿瘤的首选工具,因

通信作者:张大昕,肿瘤科主任,主任医师,博士;哈尔滨医科大学附属第一医院肿瘤科,黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路194号(150001);E-mail: daxinmay@126.com

收稿日期:2018-11-12;修回日期:2019-02-12

为它们检测的是由所有肿瘤细胞类型表达的 MHC I 类分子所呈现的细胞内抗原^[4]。记忆性 T 淋巴细胞, 主要在再次遭遇同种抗原时立即发挥抗肿瘤作用。当部分肿瘤细胞发生突变时, 表面抗原不能作为“非己”成分被识别清除, 即发生肿瘤免疫逃避, 在体内迅速扩增。相关研究表明, 调节性 T 细胞参与此过程, 促进肿瘤发展和转移。调节性 T 细胞(Treg 细胞)作为 CD4+T 细胞家族的亚群之一, 约占健康人外周血 CD4+T 细胞 5%~10%, 是发挥免疫抑制功能的主要 T 细胞亚群^[5]。

2 T 淋巴细胞在肿瘤免疫激活中的作用

2.1 CD4+辅助性 T 细胞在肿瘤免疫激活中的作用

研究表明, CD4+T 细胞通过一系列机制参与调节肿瘤的固有和适应性免疫。依据其功能不同可划分为多个亚群, 主要包括 Th1、Th2、Th17 等。Th1 被认为是参与肿瘤免疫激活的主要细胞群^[6]。脱落肿瘤细胞或可溶性抗原与 APC 表面的 MHC II 分子形成复合物并与 Th 细胞表面的 TCR 结合, 协同共刺激信号激活后直接杀伤肿瘤细胞, 这些激活的 T 细胞经历了一个强有力的克隆扩增和向效应细胞或记忆细胞分化的阶段^[7]。激活的效应性 Th 细胞可以通过分泌 TNF- α 等细胞因子或通过 TNF 相关的诱导凋亡配体(TRAIL)或 Fas/Fas 配体(FasL)途径直接诱导肿瘤细胞凋亡。Th 参与体液免疫发挥“载体效应”的观点源自于 20 世纪 70 年代, 该学说认为 B 细胞激活产生高亲和力抗体需要两个激活信号, 一个是通过其表面的抗原的免疫球蛋白抗体与肿瘤抗原相结合, 还需要 Th 细胞通过一系列复杂机制与 B 细胞相互作用^[8]。Th 也介导 NK 细胞对肿瘤细胞杀伤过程。当然, 他们对抗肿瘤作用的主要贡献被认为是通过提供必要的刺激信号帮助来产生和增强肿瘤特异性 CTL 反应。Th 细胞可以直接为 CTL 激活提供帮助, 也可以通过辅助 APC、NK 细胞等间接发挥作用^[9]。最新研究证据显示, 为 CTL 提供帮助的关键途径依赖 Th 细胞, Th 细胞表面的 CD40 配体与 APC 细胞表面的 CD40 表位结合作为共刺激信号在激活 APC 细胞将抗原呈递给 CD8+ CTL 细胞的过程中发挥关键作用^[10]。

2.2 CD8+细胞毒性 T 细胞在肿瘤免疫激活中的作用

CD8+ T 淋巴细胞在肿瘤细胞免疫中起着核心

作用, 其在肿瘤组织浸润在大多数肿瘤中被看作是一个有利的预后因素。恶性肿瘤细胞表面表达的人类白细胞抗原-I 及 $\beta 2$ 微球蛋白 (HLA-I 和 $\beta 2m$) 与特异性抗原肽段形成复合物, CD8+ T 淋巴细胞主要通过表面的 T 细胞受体(TCR)和该复合物相结合来执行杀伤功能^[11]。TCR 和相关的信号分子聚集在 T 细胞/肿瘤细胞接触区域的中心, 形成所谓的免疫突触并启动级联反应, 导致细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)效应功能的执行。CTL 主要通过突触胞外分泌含有穿孔素和颗粒酶的细胞毒性颗粒直接导致癌细胞的破坏, 或间接地通过分泌细胞因子, 包括干扰素 γ (IFN- γ)和肿瘤坏死因子(TNF)等杀伤细胞^[12]。CTL 上的共刺激分子, 主要是淋巴细胞相关抗原-1 (LFA-1 CD11a / CD18 或 $\alpha L / \beta 2$)和 CD103($\alpha E / \beta 7$)蛋白, 在 TCR 介导的杀伤中发挥着十分关键作用, 包括同源配体的相互作用、细胞间黏附分子 1 (或 CD54)和钙黏蛋白, 指导胞外分泌的溶解性颗粒至癌细胞表面等杀伤途径^[13]。NKG2D 是一种表达于活化淋巴细胞上的 C 型凝集素分子, 参与诱导 T 细胞介导的细胞毒性和 CTL 依赖的肿瘤排斥。NKG2D 配体包括主要的组织相容性复合体 I 类相关链 A (MICA)和 MICB, 以及 U16 结合蛋白 1、2 和 3, 这些配体在细胞应激(如肿瘤转化)时上调, 并在大多数癌细胞特别是上皮细胞中表达^[14]。抗原提呈细胞(APC)激活初始性 CD8 T 细胞涉及与 CD3 复合物相关的 TCR 与特异性肽—主要组织相容性复合体 I (pMHC-I)复合体的结合, 以及协同刺激分子 CD28 和 CD2 与各自的配体 CD80/CD86 和 LFA-3 的相互作用。协同刺激受体, 如 TNF 受体家族成员 4 (TNFRSF4, 最著名的是 OX40 或 CD134)和成员 9 (TNFRSF9, 最著名的是 4-1BB 或 CD137)也在 T 细胞启动和抗肿瘤免疫反应中发挥重要作用^[15]。

2.3 记忆性 T 细胞在肿瘤免疫激活中的作用

记忆性 T 淋巴细胞主要介导再次遇到同种肿瘤抗原时的快速杀伤效应。效应 T 细胞与肿瘤抗原初次作用后, 肿瘤抗原被清除, 绝大多数发挥效应的 T 细胞也走向凋亡, 其中仅 5%~10%效应细胞存活下来转化为记忆性 T 细胞^[16]。这些抗原特异性 T 细胞可长期存活, 免疫记忆 T 细胞在表型特征及功能上都存在多样性; 其中, 在抗肿瘤免疫中发挥效应的主要为特异性记忆性 CTL^[17]。研究表明, 影响记忆 T

细胞形成的因素包括抗原及细胞因子。CD4+记忆Th细胞的长期存活依赖于共刺激分子(OX40/OX40L)和白细胞介素-7(IL-7)等有效细胞因子的参与,当机体遭遇同种抗原再次攻击时发挥效应^[18]。特异性记忆性CTL与初次反应时抗原诱导激活的CD8+T细胞数量有关,同时初次激活时相关的细胞因子对记忆性T细胞形成起着非常重要的作用^[19]。实验鼠模型显示IL-12诱导T-bet表达,低表达T-bet被认为与KLRG1^{hi}IL-7R^{hi}记忆细胞前体细胞形成有关^[20]。IFN- γ 可增强效应CD8+T细胞扩增能力及杀伤能力,限制记忆细胞的形成。初次免疫反应肿瘤抗原被清除后,特异性记忆性CTL的维持不再依赖MHC分子,被证实与IL-7、IL-15细胞因子有关^[21]。IL-7R突变及IL-15敲除的小鼠均可产生特异性记忆性CD8+T细胞,但失去了再增殖的能力^[22]。当机体再次遭遇相同肿瘤抗原时,记忆性T细胞无需共刺激信号参与,较初次应答更为迅速,大量扩增CTL,同时释放大量的细胞因子(如IFN-g,穿孔素和颗粒酶B)协同杀伤效应,反应速度及强度较初次时明显增加^[23]。

3 T淋巴细胞在肿瘤免疫逃避中的作用

肿瘤微环境介导的免疫逃避是由多种因素共同参与的。调节性T淋巴细胞(Treg细胞)作为其组成成分之一,参与介导肿瘤免疫抑制调节。IL-2受体 α 链(CD25)作为其重要表面标记,同时特异性表达Foxp3转录因子,主要包括CD4+CD25^{hi}CTreg、Th3(TGF- β +T细胞)和IL-10T细胞(Tr1)等^[24]。CD4+CD25^{hi}Foxp3⁺Treg被证明存在于多种肿瘤组织中,如非小细胞肺癌、卵巢癌、肾细胞癌等,具有抑制周围“常规”T细胞的潜力^[25]。Treg细胞在肿瘤浸润性淋巴细胞、外周血淋巴细胞及肿瘤患者局部淋巴结淋巴细胞中占较大比例,它被认为与肿瘤进展密切相关,与治疗效果呈反比^[26]。肿瘤特异性Treg细胞需要配体特异性激活和细胞间接触才能对肿瘤特异性效应细胞发挥抑制作用,主要通过产生免疫抑制细胞因子、IL-10和TGF- β 等。消耗IL-2或表达抑制细胞毒性T淋巴球相关抗原4(CTLA4)的分子等途径,涉及减少效应细胞毒性、增殖及Th1细胞因子的分泌^[27]。通过耗尽或阻断Treg细胞可以增强对肿

瘤相关抗原的免疫识别,这些抗原以自身抗原形式表达。对小鼠的Treg细胞功能分析表明,这些细胞通过TCR自然激活,这种刺激需要发挥抑制功能并组织传统细胞免疫反应的激活和扩张,其抑制活性与它们抑制IL-2产生能力及细胞周期进展有关。其作用的确切机制尚不清楚,但一旦激活,其抑制功能就是抗原非特异性的,需要细胞间的接触,可能通过CTLA-4和/或GITR传递信号^[28]。细胞因子在Treg细胞介导的免疫调节作用中的作用尚不明确。因此,提出了一种由细胞介导的免疫抑制新模型,通过活化T细胞上表达的共刺激分子B7进行反向信号传递。有研究认为高表达CTLA-4的Treg细胞不仅可以提供一个抑制增殖信号,但也可以作为配体与激活的效应T细胞表面B7分子结合,发送一个反作用信号,抑制其活化。在该系统中,CTLA-4似乎是B7激活反向信号的关键抑制分子,因为在体外阻断CTLA-4/B7相互作用完全消除了调节性Treg细胞介导的抑制^[29]。

4 T淋巴细胞的肿瘤免疫治疗现状

免疫治疗逐渐成为癌症一种与手术、放疗和化疗并驾齐驱的标准治疗方式。肿瘤细胞固有的弱免疫原性及肿瘤微环境抑制了肿瘤特异性T淋巴细胞免疫活性^[30]。癌症免疫疗法可以通过治疗性接种或基于抗体的免疫调节来启动并维持T细胞持久的抗肿瘤反应。增强CD4+T细胞有助于改善CTL在癌症免疫治疗中的反应,可以通过多种不同的方法来实现。以抗体为基础的T细胞免疫调节,如CD27抗体可以替代CD4+T细胞传递的信号,可能与程序性细胞死亡受体1(PD-1)阻断剂协同工作,以减轻肿瘤相关的免疫抑制^[31]。过继细胞治疗、嵌合抗原受体T细胞疗法(目的是转移富集具有高度肿瘤活性效应细胞的T细胞群)均在肿瘤治疗中取得了较好的疗效。基础研究显示,针对Treg细胞的抗体在荷瘤小鼠中的使用可明显提高其肿瘤效应,与抗PD-1抗体联合应用时可产生抗肿瘤协同效应^[32],相关临床试验有待更进一步的研究。免疫检查点抑制剂使用抗体阻止CD8+T细胞共抑制受体细胞毒性T细胞相关抗原4(CTLA-4)和程序性细胞死亡1(PD-1)来促进抗肿瘤CTL反应,在转移性黑色素瘤、

非小细胞肺癌、肾细胞癌等多种癌症中得到了较好的临床疗效^[33]。以 PD-1/PD-L1 为代表的免疫治疗改变了当前肿瘤治疗的局面。卡瑞利单抗作为我国自主研发的 PD-1 单抗,中山大学肿瘤防治中心张力教授团队开展的临床研究发现 PD-1 单抗(卡瑞利单抗)单药及联合吉西他滨+顺铂方案对鼻咽癌具有良好的安全性及疗效,作为目前全球样本量最大的晚期鼻咽癌免疫治疗的报道,在鼻咽癌免疫治疗新方案方面取得重大突破^[34]。随着免疫检查点抑制剂在临床上的广泛使用,另一项基于其治疗毒性的研究,分别从剂量、类别、严重程度及不同肿瘤等层面进行研究,结果对各种免疫检查点抑制在“所有等级毒性”、“3~4 级毒性”的安全性进行排序,为临床应用安全性做出了重大贡献^[35]。

肿瘤患者外周血 T 淋巴细胞在预测放化疗疗效、总生存预后等方面均有一定的潜力,需要进一步大样本的临床试验验证。同时,拮抗 Treg 细胞效应的单克隆抗体正在进行基础实验研究,有望成为肿瘤免疫治疗的又一重大突破。此外,越来越多的研究表明 CD8+ 和 CD4+ T 细胞对突变新表位的识别与癌症免疫治疗的临床反应之间存在联系,这有待更进一步研究。

参考文献:

- [1] Kassardjian A, Shintaku PI, Moatamed NA. Expression of immune checkpoint regulators, cytotoxic T lymphocyte antigen 4 (CTLA-4) and programmed death-ligand 1 (PD-L1) in female breast carcinomas[J]. *PLoS One*, 2018, 13(4): e0195958.
- [2] Shimizu J, Zou JP, Ikegame K, et al. Antigen-presenting cells constitutively bind tumor antigens in the tumor-bearing state in vivo to construct an effective immunogenic unit[J]. *Japanese Journal of Cancer Research Gann*, 2010, 82(3): 262-265.
- [3] Siaghani PJ, Song JY. Updates of peripheral T cell lymphomas based on the 2017 WHO classification[J]. *Current Hematologic Malignancy Reports*, 2018, 13(1): 25-36.
- [4] Durgeau A, Virk Y, Corgnac S, et al. Recent advances in targeting CD8 t-cell immunity for more effective cancer immunotherapy[J]. *Frontiers in Immunology*, 2018, 9: 14.
- [5] Fontenot JD, Gavin MA, Rudensky AY. Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells[J]. *Journal of Immunology*, 2017, 198(3): 986-992.
- [6] Richard Kennedy, Esteban Celis. Multiple roles for CD4+ T cells in anti-tumor immune responses [J]. *Immunological Reviews*, 2008, 222: 129-144.
- [7] Borst J, Ahrends T, Bařabařa N, et al. CD4+ T cell help in cancer immunology and immunotherapy [J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18(10): 635-647.
- [8] Nocera NF, Lee MC, De La Cruz LM, et al. Restoring lost anti-Her-2 Th1 immunity in breast cancer: a crucial role for th1 cytokines in therapy and prevention[J]. *Front Pharmacol*, 2016, 7: 356.
- [9] Smallwood DT, Apollonio B, Willmott S, et al. Extracellular vesicles released by CD40/IL-4 stimulated chronic lymphocytic leukemia cells confer altered functional properties to CD4+ T cells[J]. *Blood*, 2016, 128(4): 542-552.
- [10] Wang L, Liu JQ, Talebian F, et al. IL-10 enhances CTL-mediated tumor rejection by inhibiting highly suppressive CD4(+) T cells and promoting CTL persistence in a murine model of plasmacytoma[J]. *Oncoimmunology*, 2015, 4(7): e1014232.
- [11] Corgnac S, Boutet M, Kfoury M, et al. The emerging role of CD8+ tissue resident memory T(TRM) cells in antitumor immunity: a unique functional contribution of the CD103 integrin[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1904.
- [12] Durgeau A, Virk Y, Corgnac S, et al. Recent advances in targeting CD8 T-cell immunity for more effective cancer immunotherapy[J]. *Frontiers Immunol*, 2018, 9: 14.
- [13] Teraki Y, Shiohara T. Preferential expression of $\alpha E\beta 7$ integrin (CD103) on CD8+ T cells in the psoriatic epidermis: regulation by interleukins 4 and 12 and transforming growth factor- β [J]. *British Journal of Dermatology*, 2015, 147(6): 1118-1126.
- [14] Osaki T, Saito H, Yoshikawa T, et al. Decreased NKG2D expression on CD8+ T cell is involved in immune evasion in patients with gastric cancer[J]. *Clinical Cancer Research*, 2007, 13(1): 382-387.
- [15] Florie Bertrand, Julia Rochotte, Céline Colacios, et al. Targeting TNF alpha as a novel strategy to enhance CD8+ T cell-dependent immune response in melanoma? [J]. *Onco Immunology*, 2016, 5(1): e1068495.
- [16] Masopust D, Kaeche SM, Wherry EJ, et al. The role of programming in memory T-cell development[J]. *Curr Opin Immunol*, 2004, 16(2): 217-225.
- [17] Molodtsov A, Turk MJ. Tissue resident CD8 memory T cell responses in cancer and autoimmunity [J]. *Frontiers Immunol*, 2018, 9: 2810.
- [18] Mei Z, Sheng Y. The role of OX40 and OX40L in tumor

- immunotherapy[J]. World Latest Medicine Information, 2009, 229(1): 173–191.
- [19] Reading JL, Galvez-Cancino F, Swanton, et al. The function and dysfunction of memory CD8+ T cells in tumor immunity[J]. Immunol Rev, 2018, 283(1): 194–212.
- [20] Xu M, Mizoguchi I, Morishima N, et al. Regulation of anti-tumor immune responses by the IL-12 family cytokines, IL-12, IL-23, and IL-27[J]. Clin Dev Immunol, 2016, 2016. pii: 832454.
- [21] Waldmann TA. The biology of IL-15: implications for cancer therapy and the treatment of autoimmune disorders[J]. J Invest Dermatol Symp Proc, 2013, 16(1): S28–S30.
- [22] Tan JT, Ernst B, Kieper WC, et al. Interleukin (IL)-15 and IL-7 jointly regulate homeostatic proliferation of memory phenotype CD8+ cells but are not required for memory phenotype CD4+ cells[J]. J Exp Med, 2002, 195(12): 1523–1532.
- [23] Sallusto F, Geginat J, Lanzavecchia A, et al. Central memory and effector memory T cell subsets: function, generation, and maintenance [J]. Annu Rev Immunol, 2004, 22: 745–763.
- [24] Qiu J L, Feng L. Peripheral regulatory CD4+CD25+(high) FOXP3+ T cells in patients with gastric cancer [J]. Chinese Journal of Clinical Oncology & Rehabilitation, 2015, 22(12): 1416–1419.
- [25] Hou PF, Zhu LJ, Chen XY, et al. Age-related changes in CD4+CD25+FOXP3+ regulatory T cells and their relationship with lung cancer[J]. PLoS One, 2017, 12(3): e0173048.
- [26] Kosmaczewska A, Ciszak L, Potoczek S, et al. The significance of Treg cells in defective tumor immunity [J]. Archivum Immunologiae Et Therapiae Experimentalis, 2008, 56(3): 181–191.
- [27] Kumar P, Bhattacharya P, Prabhakar BS. A comprehensive review on the role of co-signaling receptors and Treg homeostasis in autoimmunity and tumor immunity[J]. J Autoimmun, 2018 Aug 30. pii: S0896–8411(18)30407–4.
- [28] Zappasodi R, Li Y, Abuakeel M, et al. Abstract CT018; intratumor and peripheral Treg modulation as a pharmacodynamic biomarker of the GITR agonist antibody TRX-518 in the first in-human trial[J]. Cancer Research, 2017, 77(13 Supplement): CT018.
- [29] Jeffery HC, Jeffery LE, Lutz P, et al. Low-dose interleukin-2 promotes STAT-5 phosphorylation, tregs survival and CTLA-4-dependent function in autoimmune liver diseases: [J]. Clinical & Experimental Immunology, 2017, 188(3): 394–411.
- [30] Bo L, Severson E, Pignon JC, et al. Comprehensive analyses of tumor immunity: implications for cancer immunotherapy[J]. Genome Biology, 2016, 17(1): 174.
- [31] Lu B, Yang M, Wang Q. Interleukin-33 in tumorigenesis, tumor immune evasion, and cancer immunotherapy [J]. Journal of Molecular Medicine-jmm, 2016, 94(5): 535–543.
- [32] Ahrends T, Xiao Y. CD27 Agonism plus PD-1 blockade recapitulates CD4+ T-cell help in therapeutic anticancer vaccination [J]. Cancer Research, 2016, 76(10): 2921–2931.
- [33] Linedale R, Schmidt C, King BT, et al. Elevated frequencies of CD8 T cells expressing PD-1, CTLA-4 and Tim-3 within tumour from perineural squamous cell carcinoma patients.[J]. PLoS One, 2017, 12(4): e0175755.
- [34] Fang WS, Yang Y, Ma Y, et al. Camrelizumab (SHR-1210) alone or in combination with gemcitabine plus cisplatin for nasopharyngeal carcinoma: results from two single-arm, phase 1 trials[J]. Lancet Oncol, 2018, 19(10): 1338–1350.
- [35] Xu C, Chen YP, Du XJ, et al. Comparative safety of immune checkpoint inhibitors in cancer: systematic review and network meta-analysis[J]. BMJ, 2018, 363: K4226.