

[ 文章编号 ] 1007-385X( 2007 )01-0026-06

· 论 著 ·

## KIR 不相合的 NK 细胞对乳腺癌细胞的体外杀伤作用

叶韵斌<sup>1,2</sup>, 周智锋<sup>1</sup>, 郑蕊蕊<sup>1</sup>, 陈 强<sup>1</sup>, 林建银<sup>2</sup>, 李洁羽<sup>1</sup>( 1. 福建省肿瘤医院 肿瘤免疫学研究室, 福州 350014; 2. 福建医科大学 分子医学研究中心, 福州 350004 )

**[ 摘 要 ]** **目的:** 研究自然杀伤(natural killer, NK)细胞表面杀伤细胞免疫球蛋白样受体(killer immunoglobulin-like receptor, KIR)和 HLA-Cw 配体不相合的异基因 NK 细胞对乳腺癌细胞的体外杀伤作用;分析杀伤活化受体 NKG2D 及其 MICA 配体表达水平与 NK 细胞对乳腺癌细胞杀伤敏感性之间的关系。**方法:**取 10 例健康人及 5 例乳腺癌患者外周血 10 ml, 采用 MACS 系统 NK 细胞免疫磁珠分选试剂盒负向分选高纯度 NK 细胞。取乳腺癌细胞( MCF-7、MDA-MB-435s 和 SK-Br3 )和 NK 细胞各  $1 \times 10^5$  个, 碱裂解法抽提 DNA, PCR-SSP 方法分别检测 HLA-Cw 位点、KIR 位点表达。MTT 法检测 KIR 相合与不相合组的 NK 细胞对乳腺癌细胞的杀伤率。流式细胞术检测 NK 细胞 NKG2D 表达水平以及 RT-PCR 方法检测乳腺癌细胞 MICA 表达。**结果:** MACS 系统分选出的 NK 细胞, 经流式细胞术检测, 其纯度在 90% 以上; KIR 与 HLA-Cw 相合组的 NK 细胞对乳腺癌细胞株的杀伤率明显高于不相合组,  $G_1$  组和  $G_2$  组 NK 细胞对 MDA-MB-435s(  $G_1$  组 ) 杀伤率分别为  $(73.2 \pm 14.5)\%$  和  $(34.2 \pm 7.6)\%$ , 对 SK-Br3(  $G_1$  组 ) 杀伤率为  $(67.3 \pm 12.5)\%$  和  $(36.5 \pm 7.7)\%$ , 而对 MCF-7(  $G_2$  组 ) 杀伤率分别为  $(36.7 \pm 8.5)\%$  和  $(76.5 \pm 11.7)\%$ 。结果还显示, 3 株乳腺癌细胞均表达 MICA 分子; NK 细胞与 MCF-7 细胞共培养, 可上调 NK 细胞表面 NKG2D 的表达。**结论:** NK 细胞对乳腺癌细胞的杀伤并非由 KIR 的不相合机制介导; 乳腺癌细胞表面表达的 MICA 分子可上调 NK 细胞表面 NKG2D 的表达, 激发 NK 细胞对乳腺癌细胞的细胞毒效应。

**[ 关键词 ]** 自然杀伤细胞; 乳腺癌; 杀伤细胞免疫球蛋白样受体; 激活性受体; 主要组织相容性复合物 I 类相关抗原 A

**[ 中图分类号 ]** R737.9 **[ 文献标志码 ]** A

## Effects of natural killer cells with killer immunoglobulin-like receptors incompatibility on breast cancer cells

YE Yun-bin<sup>1,2</sup>, ZHOU Zhi-feng<sup>1</sup>, ZHENG Rui-rui<sup>1</sup>, CHEN Qiang<sup>1</sup>, LIN Jian-yin<sup>2</sup>, LI Jie-yu<sup>1</sup>( 1. Department of Immuno-Oncology, Fujian Provincial Tumor Hospital, Fuzhou 350014, China; 2. Research Center of Molecular Medicine, Fujian Medical University, Fuzhou 350004 )

**[ Abstract ] Objective:** To study the effects of natural killer cells with KIR(killer immunoglobulin-like receptor)/HLA-Cw incompatibility on breast cancer cell lines *in vitro*, and to analyze the relationship between NKG2D ( on NK cells ) and MICA ( on tumor cells ) expression with NK cells alloreactivity against breast cancer. **Methods:** Monocytes were derived from 10 ml peripheral blood of healthy donors and patients of breast cancer by Ficoll-Hypaque. NK cells were purified by MASC separation system with NK Cell Isolation Kit. The polymerase chain reaction-based sequence-specific primer ( PCR-SSP ) was used for KIR typing of NK cells and HLA-Cw typing of tumor cells. NK cell cytotoxicity was assessed by MTT assays. Flow cytometry was used to investigate the expression level of NKG2D in NK cells and RT-PCR was used to investigate the expression MICA in tumor cells. **Results:** The purity of enriched NK cells was more than 90% as determined by flow cytometry. The cytotoxicity of NK cells in KIR/HLA-Cw compatible group was greatly higher than that of incompatible group. The cytotoxicity rates of NK cells of  $G_1$  and  $G_2$  group against MDA-MB-435s(  $G_1$  group ) were  $(84.6 \pm 16.7)\%$  and  $(25.4 \pm 8.9)\%$ , respectively; against SK-Br3(  $G_1$  group ) were  $(70.2 \pm 11.8)\%$  and  $(29.5 \pm 6.8)\%$ , respectively; against MCF-7(  $G_2$  group ) were  $(33.1 \pm 5.7)\%$  and  $(81.4 \pm 10.3)\%$ ; respectively. MICA expression was noticed in MCF-7, MDA-MB-435s, and SK-Br3 breast cancer cell lines. The expression of NKG2D on the NK cells was increased when co-cultured with MCF-7 cells. **Conclusion:** The cytotoxicity of NK cells against breast cancer cells is not mediated

**[ 基金项目 ]** 福建省科技重点项目( No. 2006Y0011 ); 福建省自然科学基金( No. C0310035 ); 福建省卫生厅创新课题项目( No. 2003-CX-16 )

**[ 作者简介 ]** 叶韵斌( 1964- ), 女, 汉族, 福建省福州市人, 博士, 主任医师, 副教授, 主要从事肿瘤免疫学、造血干细胞移植的研究

**[ 通讯作者 ]** 陈 强, E-mail: cqiang8@pub5.fz.fj.cn

by KIR/HLA-Cw incompatibility. MICA might increase the sensitivity of the breast cancer to NK cells by activating NKG2D on the NK cells.

[ **Key words** ] natural killer cells; breast cancer; killer immunoglobulin-like receptor; activation receptor; major histocompatibility complex class I chain-related antigen A

[ Chin J Cancer Biother, 2007, 14(1): 26-30 ]

自然杀伤(natural killer, NK)细胞是机体抵抗病原体 and 肿瘤的第一道防线,通过其表面的抑制性受体和激活性受体起作用<sup>[1]</sup>。杀伤细胞免疫球蛋白样受体(killer immunoglobulin-like receptors, KIRs)是NK细胞表面重要的抑制性受体,通过识别并结合自体细胞表面的MHC-I分子,传导杀伤抑制性信号至胞内,阻止NK细胞激活,从而阻止对正常表达MHC-I分子的细胞的杀伤,而不能正常表达MHC-I分子的病态细胞则成为被NK细胞攻击的对象,表现为KIR不相合的杀伤抑制<sup>[2]</sup>。在白血病异基因造血干细胞移植中,供者NK细胞的KIR受体与受者的HLA-Cw位点不相合者,能有效介导移植抗白血病效应(graft versus leukemia, GVL)<sup>[3]</sup>。近年来,非清髓性异基因造血干细胞移植逐渐成为实体瘤免疫治疗的一种手段,KIR不相合的NK细胞在难治性肾癌的治疗中起了重要作用<sup>[4]</sup>。一些体外实验也证实,KIR不相合的NK细胞可有效地杀伤原代的肿瘤细胞,如胃癌、肠癌、肾癌、卵巢癌等<sup>[5]</sup>。但另外的研究却发现在慢性粒细胞白血病(chronic myelogenous leukemia, CML)的造血干细胞移植中,KIR相合的NK细胞也同样具有GVL效应,而且与KIR不相合的NK细胞的GVL效应无差异,其机制是NK细胞活化性受体NKG2D识别CML的CD34<sup>+</sup>细胞上的MICA分子<sup>[6]</sup>,提示了NK作用的多样性和复杂性。本研究利用纯化的NK细胞,对乳腺癌细胞进行体外杀伤实验,通过检测乳腺癌细胞HLA-Cw位点、NK细胞KIR表型,分析HLA-Cw位点与KIR相合与不相合组的NK细胞对乳腺癌细胞的杀伤率差异,同时检测NK细胞活化性受体NKG2D在其杀伤中的作用,初步探讨NK细胞对乳腺癌的杀伤机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂和细胞株

人乳腺癌细胞株MCF-7、MDA-MB-435s、SK-Br3(购自中科院上海细胞库)。MEM、DMEM培养液(Gibco公司,美国),NK细胞免疫磁珠分选试剂(Melny,德国),荧光标记抗体CD56-PE/CD3-FITC(Melny,德国),CD3-FITC、CD56-PE、NKG2D-

APC(美国BD公司),DNA提取试剂盒(Promega公司),KIR分型试剂盒(PEL-FREEZ公司),HLA-Cw分型试剂盒(One Lambda公司,美国)。

### 1.2 NK细胞的分选、纯化及鉴定

10例正常人自愿者,年龄(32±12)岁,其中6例男性,4例女性;5例女性乳腺癌患者,年龄(56±17.5)岁,临床TNM分期属IV期,即有远处转移灶。用Ficoll法分离外周血单个核细胞,使用VarioMACS系统,细胞免疫磁珠分选试剂盒负向分选纯化NK细胞,流式细胞术检测CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>细胞分选前后的含量。

### 1.3 肿瘤细胞株的Cw位点检测

使用DNA提取试剂盒抽提肿瘤细胞株(MCF-7、SK-Br3、MDA-MB-435s)DNA,应用HLA-Cw分型试剂盒,PCR-SSP方法检测Cw位点。循环条件:预变性96℃130s,变性96℃10s,退火59℃50s,延伸72℃30s,共33个循环。将α重链含第77位氨基酸为天冬酰胺和第80位氨基酸为赖氨酸的HLA-Cw 02、04、05、06、17、18分子归入C-G<sub>2</sub>组(C-Group 2),α重链含第77位氨基酸为丝氨酸和第80位氨基酸为天冬酰胺的HLA-Cw 01、03、07、08、13、14分子归入C-G<sub>1</sub>组(C-Group 1)<sup>[7]</sup>。

### 1.4 NK细胞表面KIR位点及NKG2D的检测

碱裂解法抽提NK细胞供者的外周血DNA,根据KIR分型试剂盒说明,用PCR-SSP方法检测NK细胞的KIR基因分型。循环条件:预变性95℃60s,变性94℃20s,退火63℃20s,延伸72℃90s,共30个循环。根据检测结果,可将NK细胞分为G<sub>1</sub>组和G<sub>2</sub>组;基因型为2DL1/2DS1的KIR分子特异性识别HLA-Cw 02、04、05、06、17、18分子,被命名为C-G<sub>2</sub>组(C-Group 2);基因型为2DL2/2DL3、2DS2/2DS3的KIR分子特异性识别Cw 01、03、07、08、13、14分子,被命名为C-G<sub>1</sub>组(C-Group 1)<sup>[7]</sup>。

用3种荧光抗体CD3-FITC、CD56-PE、NKG2D-APC标记NK细胞,流式细胞术检测正常人和乳腺癌患者NK细胞上活化性受体NKG2D表达,检测时排除CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>NK(NKT)的影响。

### 1.5 MTT法检测NK细胞杀伤功能

设定效靶比为20:1。空白组为培养液,靶对照

组为各种瘤细胞 + 培养液,效应细胞组为 NK 细胞悬液 + 培养液,实验组为 NK 细胞悬液 + 各种瘤细胞悬液。每组设 3 个复孔,检测各孔的光密度值  $D_{570}$ 。杀瘤活性 =  $[1 - (\text{实验组 } D - \text{效应对照组 } D) / (\text{靶对照组 } D - \text{空白组 } D)] \times 100\%$

### 1.6 RT-PCR 检测肿瘤细胞 MICA 的表达

Trizol 法提取乳腺癌细胞株 (MCF-7、SK-BR3、MDA-MB-435s) RNA,常规 RT-PCR 法扩增目的基因,PCR 产物经 1.2% 琼脂糖凝胶电泳鉴定。

引物序列: MICA (500 bp) 上游引物 5'-AGGAATTCATGCACAGTCTTCGTTAT-3',下游引物 5'-AGGGATCCTTATGTTCTCCTCAGGACTAC-3';  $\beta$ -actin (500 bp) 上游引物 5'-GTGGGGCGCCCCAGGCACCA-3',下游引物 5'-CTCCTTAATGTACAGCACGATTTTC-3'。

### 1.7 NK 细胞与乳腺癌细胞共培养对 NKG2D 表达的影响

人乳腺癌细胞 MCF-7,用 MEM (含 10% FBS) 液培养,  $5 \times 10^5$  个/孔接种于 24 孔板中,  $37^\circ\text{C}$  5%  $\text{CO}_2$  培养过夜。抽取乳腺癌患者外周血行 NK 分选,  $2 \times 10^5$  个 NK 细胞直接加于上述肿瘤细胞株中。于第 0、1、23、25 h 收集 NK 细胞流式细胞术检测 NKG2D 表达变化。

### 1.8 统计学处理

实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,使用 SPSS10.0 软件对结果进行单因素方差分析。

## 2 结果

### 2.1 NK 细胞的分离纯化

将分离的人外周血单个核细胞用 NK 分选试剂盒分离纯化后,流式细胞术检测其  $\text{CD}3^-\text{CD}56^+$  细胞比例,结果如图 1 所示,分选前,  $\text{CD}3^-\text{CD}56^+$  细胞的含量为  $(12.7 \pm 2.8)\%$ ;分选后,  $\text{CD}3^-\text{CD}56^+$  细胞含量为  $(97.1 \pm 7.4)\%$  (图 1)。

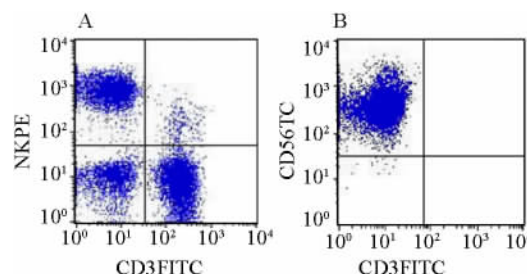


图 1 NK 细胞分选前后免疫标志

Fig. 1 Immuno-types of NK cells before and after isolation

A: Before isolation; B: After isolation

### 2.2 乳腺癌细胞株 HLA-Cw 位点的判定

应用 PCR-SSP 法检测 HLA-Cw 分子,根据试剂盒提供的判定标准,确定 3 株乳腺癌细胞的 HLA-Cw 位点。结果如图 2 所示,MDA-MB-435S 的 1B、1C、3C 出现阳性条带,将位点判定为 Cw-9;SK-Br3 的 1C、1D、2C、3E 出现阳性条带,位点判定为 Cw-3,8;MCF-7 的 2G、3E 出现阳性条带,位点判定为 Cw-5。MDA-MB-435S 和 SK-Br3 同属  $G_1$  组,MCF-7 属  $G_2$  组。

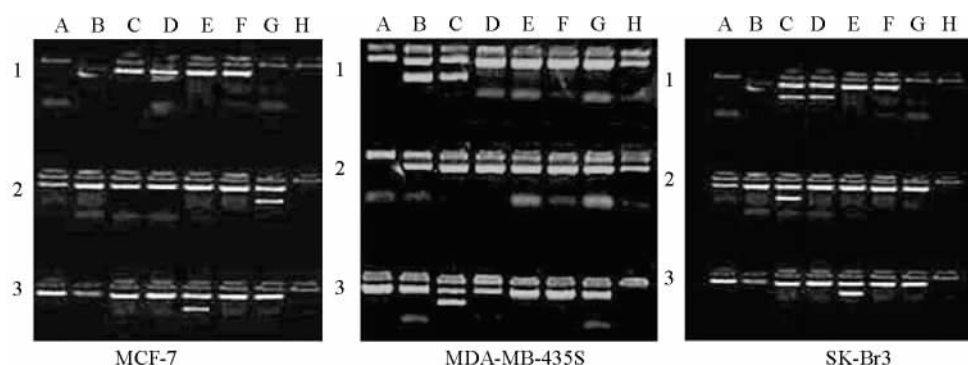


图 2 乳腺癌细胞的 HLA-Cw 位点电泳

Fig. 2 Electrophoresis of HLA-Cw site of breast cancer cells

### 2.3 健康志愿者 NK 细胞的 KIR 位点

收集 10 份健康人外周血单个核细胞,提取 DNA 作 KIR 分型 (图 3),并根据分型结果归组,结果 6 份 NK 细胞属  $G_1$  组,4 份 NK 细胞为  $G_2$  组。

### 2.4 KIR 相合和不相合 NK 细胞对乳腺癌细胞的杀伤

采用 MTT 法,分别检测不同分组的 NK 细胞对 3

株乳腺癌细胞的杀伤活性,比较 KIR 相合和 KIR 不相合的 NK 细胞对乳腺癌杀伤能力的差别,结果见表 1。NK 细胞的 KIR 位点与乳腺癌细胞的 HLA-Cw 位点相合时,NK 细胞对乳腺癌细胞的杀伤率明显高于不相合组,提示 NK 细胞对乳腺癌的杀伤并不遵循 KIR 不相合的杀伤机制。

2.5 乳腺癌细胞 MICA 的表达

经 RT-PCR 方法检测, 乳腺癌细胞株 MCF-7、MDA-MB-435s、SK-Br3 表面均有 MICA 分子的表达(图 4)。

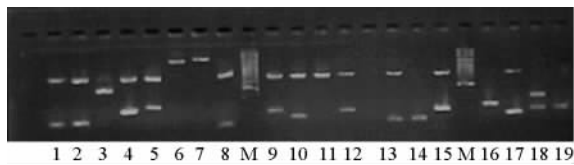


图 3 健康人员 NK 细胞 KIR 分型电泳

Fig. 3 Electrophoresis of NK KIR typing of healthy donors

1: 2DL1; 2:2DL2; 3: 2DL3; 4: 2DL4; 5:2DL5a;  
6: 2DL5b; 7: 2DS1; 8: 2DS2; 9: Marker; 10: 2DS3;  
11:2DS4; 12:2DS4; 13: 2DS5; 14: 3DL1; 15: Marker;  
16: 3DL2; 17: 3DL3; 18: 3DS1; 19:2DP1

表 1 KIR/HLA-Cw 位点的匹配对 NK 细胞杀伤乳腺癌细胞的影响(%)

Tab. 1 Cytotoxicity of NK cells with KIR/HLA-Cw compatibility against breast cancer cells(%)

KIR	n	HLA-Cw of breast cancer cells		
		G <sub>1</sub>		G <sub>2</sub>
		MDA-MB-435S	SK-Br3	MCF-7
G <sub>1</sub>	6	73.2 ± 14.5	67.3 ± 12.5	36.7 ± 8.5
G <sub>2</sub>	4	34.2 ± 7.6*	36.5 ± 7.7*	76.5 ± 11.7*

\* P < 0.05 vs G<sub>1</sub> in KIR

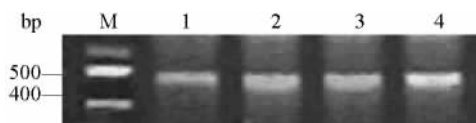


图 4 3 株乳腺癌细胞 MICA 的表达

Fig. 4 Expression of MICA in breast cancer cell lines

M: Marker; 1:MCF-7; 2:MDA-MB-435s; 3:SK-Br3; 4:β-actin

2.6 NK 细胞与乳腺癌细胞 MCF-7 共培养对其表面 NKG2D 表达的影响

应用流式细胞术对 NK 细胞表面 NKG2D 检测, 正常人 NKG2D 表达为(91 ± 8.0)%, 而乳腺癌患者为(72 ± 19)%, 其差别有统计学意义(P < 0.01)。

将 5 例纯化的乳腺癌患者 NK 细胞(方法同纯化正常人 NK 细胞)与 MICA 高表达(表达率为 60%)的乳腺癌细胞 MCF-7 共孵育, 分别在 0、1、23、25 h, 收集悬浮的 NK 细胞, 测定其 NKG2D 的表达。结果如图 5 所示, NK 细胞与 MCF-7 乳腺癌细胞共孵育后, NK 细胞表面的激活性受体 NKG2D 的表达逐渐升高, 到 23 h 时达到最高(由 0 h 的 54.48% 上升至 82.10%), 而后

开始下降, 至 25h 时 NKG2D 表达降为 67.27%, 提示肿瘤细胞表面的 MICA 分子在一定时间内可提高 NKG2D 的表达, 刺激 NK 细胞的活化。

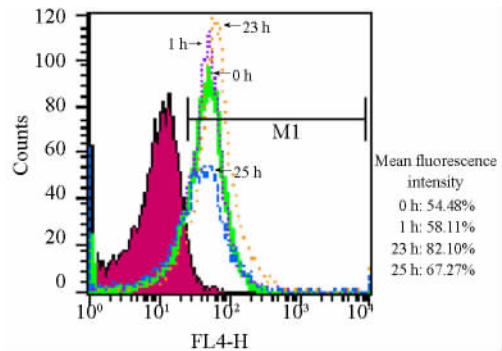


图 5 NK 细胞与 MICA 高表达的乳腺癌细胞 MCF-7 共培养后 NKG2D 的表达

Fig. 5 Expression of NKG2D in NK cells after treated with MCF-7 cells

3 讨论

近年来研究表明, HLA-Cw 与 KIR 构成的 NK 细胞抑制性信号传导系统在移植免疫中的作用引起广泛关注<sup>[8]</sup>。在白血病异基因造血干细胞移植中, 供受者间 KIR 的差异将显著影响移植后受者免疫功能的重建和免疫应答水平, 从而显著地改变移植的临床转归。供者 NK 细胞的 KIR 受体与受者的 HLA-Cw 位点不相合者, 供者 NK 细胞能有力地介导针对 AML 的移植物抗白血病效应(graft versus leukemia, GVL)<sup>[3]</sup>。研究发现异基因造血干细胞移植后, 给受者输注经照射的供者淋巴细胞(DLIs)有助于肿瘤消退, 而 GVHD 发生强度较低, 尤其在慢性粒细胞性白血病(CML)的治疗中最为有效<sup>[9]</sup>, 其中 NK 细胞起着重要作用。因此经照射的异基因淋巴细胞有一定的抗白血病效应。对于实体瘤, Strair 等<sup>[5]</sup>报告在部分相合的外周血单个核细胞照射后治疗复发及难治性肾癌(15 例)的临床研究中, 3 例有效病例中的 2 例均为 KIR 不相容性。由此推测, 在 HLA-A、B、DR 相合而 KIR 不相合的实体瘤过继免疫治疗中, NK 细胞可能起到了关键性作用。在其他关于 NK 细胞对肾细胞癌和恶性黑色素瘤等实体瘤细胞株杀伤作用的体外研究中发现, KIR 不相合组的 NK 细胞对肾细胞癌和恶性黑色素瘤等细胞株的杀伤率明显高于 KIR 相合组<sup>[10]</sup>。

Bishop 等<sup>[11]</sup>应用异基因造血干细胞移植及移植后异基因淋巴细胞输注治疗转移性乳腺癌, 通过诱发移植物抗肿瘤效应(graft versus tumor, GVT)而达到清除肿瘤的目的, 但在移植物抗乳腺癌细胞中, 是否也有 NK 细胞的 KIR 不相合杀伤机制, 尚没有明确的结论。本研究使用原代 NK 细胞杀伤乳腺癌细胞株 MCF-7、

MDA-MB-435s、SK-BR3 实验,发现 NK 细胞对乳腺癌的杀伤并非由 KIR 的不相合机制介导,KIR 相合的 NK 细胞对乳腺癌的杀伤效应大于 KIR 不相合的杀伤效应。其确切的机制还有待于进一步研究。Stein 等<sup>[12]</sup>也发现 NK 细胞对乳腺癌细胞株的杀伤并不完全遵循 KIR 不相合的机制,并且指出针对 HER2 的抗体——曲妥珠单抗( trastuzumab )可增强 NK 细胞对高表达 HER2 的乳腺癌细胞株 SKB-r3 的杀伤,即 NK 细胞介导了对乳腺癌细胞的抗体依赖的细胞毒作用( antibody dependent cell cytotoxicity, ADCC )。这些研究给我们提出了一个新的线索: NK 细胞在识别和杀伤乳腺癌过程中存在着不同于“missing-self”假说的机制。

近年研究<sup>[13]</sup>表明, NKG2D 在 NK 细胞活化中起重要作用,而其配体,膜型 MICA 分子可上调 NKG2D 的表达,增强 NK 细胞杀伤活性。人类 MICA 不表达于正常组织细胞或仅低表达于肠上皮细胞,然而它在肿瘤细胞株和上皮来源的原发性肿瘤如肺癌、乳腺癌、肝癌、前列腺癌等细胞中高表达<sup>[14]</sup>,是 NKG2D 重要的配体。在 NKG2D 受体与 MICA 结合后,可通过结合转接蛋白传递活化信号,该信号可绕过抑制性受体的抑制信号途径、或超过抑制信号的抑制作用,攻击靶细胞<sup>[15]</sup>。在某些情况下, NKG2D 的单独活化甚至足以刺激 NK 细胞的活化,并能克服抑制性受体的强势信号<sup>[16]</sup>。本研究使用流式细胞术,分析了新鲜分选的乳腺癌患者 NK 细胞在与表达 MICA 分子的 MCF-7 乳腺癌细胞共孵育前后 NKG2D 表达水平的改变,结果显示, NKG2D 的表达水平在共培养的 24 h 内逐渐升高, 25 h 时已经有所下降,证实乳腺癌细胞的膜型 MICA 可上调 NK 细胞的 NKG2D 水平。NKG2D 受体通过这种“自我诱导”的免疫监视模式,使得 NK 细胞识别靶细胞表面的 NKG2D 配体,但如何解释 KIR 相合的 NK 细胞增强对乳腺癌细胞的杀伤,还有待于进一步研究。

#### [ 参 考 文 献 ]

[ 1 ] Lanier LL. NK cell recognition[ J ]. *Annu Rev Immunol*, 2005, 23: 225-274.  
 [ 2 ] Watzl C. The NKG2D receptor and its ligands-recognition beyond the “missing self” [ J ]? *Microbes Infect*, 2003, 5( 1 ): 31-37.  
 [ 3 ] Ruggieri L, Capanni M, Urbani E, *et al*. Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants [ J ]. *Science*, 2002, 295( 5562 ): 2029-2031.  
 [ 4 ] Strair RK, Schaar D, Medina D, *et al*. Antineoplastic effects of partially HLA-Matched irradiated blood mononuclear cells in patients with renal cell carcinoma[ J ]. *J Clin Oncol*, 2003, 21( 20 ): 3785-3791.

[ 5 ] Re F, Staudacher C, Zamai L, *et al*. Killer cell Ig-like receptors ligand-mismatched, alloreactive natural killer cells lyse primary solid tumors[ J ]. *Cancer*, 2006, 107( 3 ): 640-648.  
 [ 6 ] Sconocchia G, Lau M, Provenzano M, *et al*. The antileukemia effect of HLA-matched NK and NK-T cells in chronic myelogenous leukemia involves NKG2D target-cell interactions[ J ]. *Blood*, 2005, 106( 10 ): 3666-3672.  
 [ 7 ] Middleton D, Curran M, Maxwell L. Natural killer cells and their receptors[ J ]. *Transplant Immunol*, 2002, 10( 2-3 ): 147-164.  
 [ 8 ] Davies SM, Ruggieri L, Defor T, *et al*. Evaluation of KIR ligand incompatibility in mismatch unrelated donor hematopoietic transplants. Killer immunoglobulin-like receptor[ J ]. *Blood*, 2002, 100( 10 ): 3825-3827.  
 [ 9 ] Dupont B, Hsu KC. Inhibitory killer Ig-like receptor genes and human leukocyte antigen class I ligands in haematopoietic stem cell transplantation [ J ]. *Curr Opin Immunol*, 2004, 16( 5 ): 634-643.  
 [ 10 ] Igarashi T, Wynberg J, Srinivasan R, *et al*. Enhanced cytotoxicity of allogeneic NK cells with killer immunoglobulin-like receptor ligand incompatibility against melanoma and renal cell carcinoma cells [ J ]. *Blood*, 2004, 104( 1 ): 170-177. .  
 [ 11 ] Bishop MR, Fowler DH, Marchigiani D, *et al*. Allogeneic lymphocytes induces tumor regression of advanced metastatic breast cancer [ J ]. *J Clin Oncol*, 2004, 22( 19 ): 3886-3892.  
 [ 12 ] Stein MN, Shin J, Gudzowaty O, *et al*. Antibody-dependent cell cytotoxicity to breast cancer targets despite inhibitory KIR signaling [ J ]. *Anticancer Res*, 2006, 26( 3A ): 1759-1764.  
 [ 13 ] 张 彩, 冯进波, 王郡甫, 等. 膜型/分泌型 MICA 对 NK 细胞受体 NKG2D 的相反调节效应及其对 NK 细胞受体谱的影响 [ J ]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2004, 24( 2 ): 107-111.  
 [ 14 ] Bauer S, Groh V, Wu J, *et al*. Activation of NK cells and T cells by NKG2D, a receptor for stress inducible MICA[ J ]. *Science*, 1999, 285( 5428 ): 727-729.  
 [ 15 ] Menier C, Riteau B, Carosella ED, *et al*. MICA triggering signal for NK cell tumor lysis is counteracted by HLA-G1-mediated inhibitory signal[ J ]. *Int J Cancer*, 2002, 100( 1 ): 63-70.  
 [ 16 ] Skov S, Pedersen MT, Andresen L, *et al*. Cancer cells become susceptible to killing after exposure to histone deacetylase inhibitors due to glycogen synthase kinase-3-dependent expression of and B [ J ]. *Cancer Res*, 2005, 65( 23 ): 11136-11145.

[ 收稿日期 ] 2006 - 08 - 18

[ 修回日期 ] 2006 - 12 - 19

[ 本文编辑 ] 郁晓路