

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.06.001

· 专家论坛 ·

## 多靶点酪氨酸激酶抑制剂联合 NK 细胞的抗肝癌作用及其分子机制

黄宇贤<sup>1</sup>, 陈心彤<sup>2</sup>, 郭坤元<sup>1</sup> (1. 南方医科大学珠江医院血液科, 广东广州 510282; 2. 纽约州立大学西奈山医学院伊坎基因组学与高维生物学研究所, 美国纽约 10029)



**黄宇贤** 博士, 副主任医师; 就读于南方医科大学, 获肿瘤学硕士、血液病学博士学位, 2009 年获得广东省南粤优秀博士生称号。2009 年在南方医科大学附属南方医院肿瘤中心学习生物治疗技术 3 个月, 2015 年在中国医学科学院血液病研究所进修半年。南方医科大学珠江医院优秀中青年人才, 从事血液病学临床及科研工作 9 年, 主要擅长白血病及淋巴瘤的化疗、造血干细胞移植和分子靶向治疗, 致力于 NK 细胞免疫调控、造血干细胞移植免疫重建等研究。主持国家自然科学基金 1 项、珠江医院优秀中青年基金 1 项, 参与国家及省级自然科学基金 4 项。以第一作者身份在国内外期刊发表论文 23 篇, 其中 SCI 收录文章 2 篇, 参与编写专著 2 部。任广东省健康管理协会血液病学委员会委员、广州抗癌协会肿瘤生物治疗委员会委员、广州医学会器官移植学会委员。E-mail: hyx6610@163.com



**郭坤元** 南方医科大学附属珠江医院主任医师、教授、博士生导师。专业: 血液-肿瘤学; 专长: 免疫细胞治疗、造血干细胞移植。任中国医药生物技术协会临床应用专业委员会常委, 中国医院协会医疗技术应用委员会委员, 中国抗癌协会生物治疗专业委员会常委, 中国免疫学会生物治疗委员会常委, 中华医学会血液学会干细胞移植分会委员; 美国血液学会会员, 国际细胞治疗学术委员会会员; 《中国肿瘤生物治疗杂志》、《中国实验血液学杂志》、《中国输血学》、《国际免疫学杂志》、《南方医科大学学报》等杂志编委。国家卫生部、广东省卫生厅新技术准入评审专家, 中央首长保健会诊专家、广东省保健会诊专家。主要创新研究成果有恶性血液肿瘤的过继性免疫化疗、遗传学 HLA 半相合造血干细胞移植治疗恶性血液肿瘤的新方案等, 目前主要从事以肿瘤干细胞为靶点的肿瘤免疫治疗研究。先后主持国家、军队、省部级科研基金资助 18 项, 获军队、省部级科技成果奖 8 项。E-mail: wodeyoujian@foxmail.com

**[摘要]** 目前, 针对晚期肝癌无标准和令人满意的治疗方法。多靶点酪氨酸激酶抑制剂( multi-target tyrosine kinase inhibitor, MTKI)联合 NK 细胞对肝癌细胞具有协同杀伤作用: 一方面, MTKI 能阻断肿瘤细胞增殖和血管生成信号通路促进细胞凋亡; 另一方面, MTKI 诱导肿瘤细胞表达 NK 细胞活化性配体( natural killer group 2 member D ligand, NKG2DL), 促进肿瘤细胞对 NK 细胞杀伤的敏感性。MTKI 诱导肿瘤细胞表达 NKG2DL, 主要通过 DNA 损伤修复反应分子和细胞凋亡通路及转录因子 NF- $\kappa$ B( nuclear factor- $\kappa$ B)之间相互作用, 活化由 NF- $\kappa$ B2 和 RelB 组成的旁途径调节 NKG2DL 的转录和表达。MTKI 通过 NF- $\kappa$ B 旁途径诱导肿瘤表达 NKG2DL 的分子机制为 MTKI 联合 NK 细胞治疗肝细胞癌提供了理论依据。

**[关键词]** 肝细胞癌; 多靶点酪氨酸激酶抑制剂; DNA 损伤修复分子; NF- $\kappa$ B 家族成员; 自然杀伤细胞 2 族成员 D 配体

**[中图分类号]** R735.7; R730.51

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2015)06-0675-09

## Molecular mechanism of multi-target tyrosine kinase inhibitors-combined with

**[基金项目]** 国家自然科学基金青年基金资助项目( No. 81302372, 81300431 ); 南方医科大学珠江医院优秀中青年人才项目资助( No. 201206012 ); Project supported by the National Natural Science Foundation for Young Scientists of China ( No. 81302372, 81300431 ), and the Excellent Middle and Yong Aged Experts Project of Zhujiang Hospital of Southern Medical University( No. 201206012 )

**[作者简介]** 黄宇贤( 1980 - ), 男, 广东省揭阳市人, 博士, 副主任医师, 主要从事肿瘤生物治疗相关研究, E-mail: hyx6610@163.com

**[通信作者]** 郭坤元( Guo Kundyuan, corresponding author ), E-mail: wodeyoujian@foxmail.com

**[优先发表]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20151216.1233.002.html>

## NK cells against human hepatocellular carcinoma

Huang Yuxian<sup>1</sup>, Chen Xintong<sup>2</sup>, Guo Kunyuan<sup>1</sup> (1. Department of Hematology, Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510282, Guangdong, China; 2. Icahn Institute for Genomics and Multiscale Biology, Mount Sinai School of Medicine Levy Place New York, NY 10029, USA)

[ **Abstract** ] There are no standard effective systemic therapies for patients with hepatocellular carcinoma diagnosed at advanced stage, who have poor prognosis. It has been shown that Multi-target tyrosine kinase inhibitors ( MTKIs ) and adoptive NK cell immunotherapy have synergistic effect on hepatocellular carcinoma cells. In addition to blocking cell proliferation and angiogenesis signal pathway in tumor tissue to promote apoptosis, MTKIs also induce the expression of natural killer group 2 member D ligands ( NKG2DLs ) on tumor cells, which interact with NKG2D on NK cells to activate their antitumor activity. It is evident that MTKIs act on signaling molecules involved in DNA damage response, leading to activation of the alternative NF- $\kappa$ B complex that consists of NF- $\kappa$ B2 and RelB, which in turn increases the transcription of NKG2DLs. These results provided a mechanistic rationale for therapy using MTKIs together with adoptive NK cell transfer in the treatment of advanced hepatocellular carcinoma.

[ **Key words** ] hepatocellular carcinoma; multi-target tyrosine kinase inhibitor ( MTKI ); DNA damage repair signal molecule; NF- $\kappa$ B family member; natural killer ( NK ) cell; natural killer group 2 member D ligand( NKG2DL )

[ Chin J Cancer Biother, 2015, 22( 6 ): 675-683 ]

原发性肝癌每年约有 80 万新发病例, 占全球癌症新发病例总数的 5.6%; 每年约有 75 万死亡病例, 占全球癌症死亡病例总数的 9.1%; 80% 新发病例来自亚洲和非洲, 原发性肝癌病理类型中 90% 是肝细胞癌( hepatocellular carcinoma, HCC ), 我国是原发性肝癌高发地区<sup>[1]</sup>。早期肝癌患者可以通过手术、射频消融等治疗方法获得较好治疗效果, 但对于晚期、复发肝癌患者, 无标准和令人满意治疗方法, 5 年总生存期少于 10%; 并且这部分患者体质差、惧怕放化疗, 因此, 探索一种不良反应小、能够延长患者“带瘤生存”时间的治疗方法是一件有实用意义的研究工作<sup>[2]</sup>。在 5 年以来的基础研究和临床实践过程中, 笔者所在课题组利用多靶点酪氨酸酶抑制剂( multi-target tyrosine kinase inhibitor, MTKI )联合自然杀伤( natural killer, NK )细胞治疗这部分特殊类型患者, 使他们能够延长“带瘤生存”时间, 从而也提出了一种新的治疗方法, 称之为“分子靶向-过继性免疫细胞治疗”, 该治疗模式的初步理论依据是: 分子靶向药物( 舒尼替尼 )在其中扮演双重角色, 除了药物本身对肿瘤细胞的毒性作用外, 还作为“刺激诱导”源, 诱导肿瘤细胞表达免疫激活物 NKG2DL( natural killer group 2 member D ligand ), 被上调的肿瘤细胞 NKG2DL 与 NK 细胞表面 NKG2D( natural killer group 2 member D )受体结合, 激活 NK 细胞的杀伤活性, 从而起到协同杀伤肿瘤作用<sup>[3]</sup>。那么, 多靶点酪氨酸酶抑制剂如何调控 HCC 表达 NKG2DL、通过哪些关键信号通路

和关键基因、其分子机制是什么, 这些悬而未决的问题将是本文的探讨重点。

### 1 HCC 治疗现状

目前, 原发性肝癌的有效治疗方式众多, 需根据患者自身状况、肿瘤分期、肝功能分级、合并的肝脏基础疾病等多因素综合考虑和合理选择。以手术治疗为核心的综合治疗仍然是原发性肝癌患者获得长期生存的唯一希望, 其他非手术治疗包括肝动脉化疗栓塞( transcatheter arterial chemoembolization, TACE )、经皮射频消融( radiofrequency ablation, RFA )、经导管动脉化疗灌注术( TAI )、放射性粒子植入术、无水乙醇注射、放射治疗、分子靶向治疗、过继性细胞免疫治疗、全身化疗和中医药治疗等。肝癌根治性切除术和肝移植是治愈性手段, 但如何选择合适病例目前尚无统一标准。对于不伴肝硬化的早期肝癌, 肝癌根治性切除术仍是首选治疗方式。其前提条件是无远处转移、无脉管侵犯、肝功能 Child A 或 B 级, 或肿瘤数目为 2~3 个且最大直径  $\leq 5$  cm。符合肝癌切除术要求的病例 5 年生存率达 50% 以上, 但是这部分手术切除患者 10 年的复发率为 76%<sup>[5]</sup>。对于伴有肝硬化的早期肝癌患者, 肝移植是最彻底的治疗方法, Milan 标准( 即单个肿瘤直径  $\leq 5$  cm, 多发肿瘤个数  $\leq 3$  个且肿瘤最大直径均  $\leq 3$  cm, 无大血管浸润、淋巴结侵犯及肝外转移 )是目前国际公认的肝硬化后肝癌肝移植的金标准, 肝移植疗效优于肝切除术, 5 年生存率  $\geq$

75%,复发率<10%;但由于受到供肝和移植术后并发症的影响,临床开展受到很大程度的限制,适合行肝脏移植的病例仅占到5%,很多患者在等待肝源期间失去了根治机会<sup>[6]</sup>。

在非手术治疗中,RFA和TACE是最常用和最有效的治疗手段。RFA适用于单发肿瘤最大直径≤5cm,多发肿瘤数目≤3个、直径≤3cm的肿瘤患者,也是一种可以达到根治效果的治疗方法,其总体生存率与肝癌切除术相似,5年OS大概在33%~70%,但由于RFA消融范围有限,对于病灶直径>3cm、多病灶的进展期肝癌治疗效果还有待改善,需要联合其它治疗方法协同提高治疗效果<sup>[7]</sup>。肝癌组织大部分(95%~99%)血液供应来自于肝动脉,TACE通过栓塞剂联合化疗药物方法注入到肝癌供养血管,一方面栓塞了肝癌组织的供养血管,另一方面化疗药物缓慢释放到肿瘤组织,起到协同杀伤肿瘤细胞的目的。目前常用的栓塞剂主要包括碘化油、明胶海绵、无水酒精、聚乙烯醇、90Y-微球、Embosphere 栓塞微球、药物洗脱微球(drug-eluting beads, DEB)等。DEB是一种可加载化疗药物的新型栓塞微球,肝脏毒性低及耐受性良好,将来可能取代经典的碘化油栓塞剂<sup>[8]</sup>。TACE适合于不能手术切除和经皮穿刺术治疗的中晚期肝癌患者,与常规手段相比,接受TACE治疗患者的2年的生存率为31% vs 11%<sup>[9]</sup>。因肝脏是双血管供血,TACE不能完全阻塞肝癌组织的血养供应而达到完全清除肿瘤的目的,需要多次治疗及联合其它治疗手段,例如联合手术切除、RFA、化疗、分子靶向治疗及过继性细胞免疫治疗等,达到提高远期疗效和生存率的目的。

尽管目前肝癌治疗手段繁多,但是HCC发病隐匿,早期无典型临床症状,多数患者诊断时已是中晚期(Ⅲ~Ⅳ期),失去手术切除机会,并且对放化疗不敏感,而非手术治疗仅能延缓病情进展,预后不良,中位生存期少于1年,仅有15%病例可能获得治愈性治疗<sup>[10]</sup>。即使行手术根治术的病例,2年复发率超过50%<sup>[11]</sup>。另外,大部分晚期、肿瘤复发或老年肿瘤患者因前期接受过多次治疗造成机体脏器功能不同程度损伤,体质虚弱,难以承受高剂量放化疗,同时,部分患者对放化疗产生抵触心理。因此,对于这部分特殊类型患者必须寻找不同于放化疗杀伤的机制并且副作用小的治疗方法才能延长患者带瘤生存期。多靶点酪氨酸酶抑制剂联合NK细胞治疗这种治疗方法可能比较适合这部分特殊类型的HCC患者。

## 2 MTKI治疗HCC的现状

分子靶向药物治疗由于具有副作用小、能与常

规治疗手段联合的特点,成为耐药或不能耐受常规放化疗的晚期肝癌患者的一种治疗手段。在晚期肝癌分子靶向药物治疗过程中,MTKI成为治疗发展趋势,主要以索拉非尼(sorafenib)和舒尼替尼(sunitinib)等药物为代表<sup>[12]</sup>。这些酪氨酸激酶抑制剂作用于肿瘤细胞特异性靶点,如舒尼替尼(sunitinib)抑制血管内皮生长因子受体1-3(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR1-3)、血小板源生长因子受体(platelet-derived growth factor receptor, PDGFR)、干细胞生长因子受体(stem cell factor receptor, SCFR)和胶质细胞源性神经营养因子受体(glial cell-line derived neurotrophic factor receptor, GDNFR)等酪氨酸激酶而阻断Ras/Raf/MEK/ERK、PI3K-AKT-mTOR信号通路,抑制肿瘤细胞的生长、增殖和转移<sup>[13]</sup>。

肝癌的发生、发展与20多种癌基因的突变有关,最常见的癌基因突变有以下5种:TP53、ARID1A(AT rich interaction domain 1A)、CTNBN1(catenin beta-1)、CDKN2A(cyclin-dependent kinase inhibitor)、ARID2(AT rich interactive domain 2)基因,这些基因突变可以激活以VEGF介导的血管生成途径、以EGF介导肿瘤增殖途径,通过Wnt/β-catenin、Ras/Raf/MEK/ERK、PI3K-AKT-mTOR和HGF/c-MET信号通路促进肿瘤的生长和转移<sup>[2]</sup>。上述信号通路可以被肿瘤细胞上的VEGF、PDGFR、FLT3-ITD、c-Kit和RET蛋白激活,在肝癌组织和血清中高表达PDGFR、VEGF、c-Kit和RET,这些酪氨酸激酶受体的表达与肝癌细胞增殖、浸润及预后密切相关<sup>[14]</sup>。索拉非尼是美国FDA批准的唯一一个用于进展期肝癌患者的MTKI,它可抑制以Raf-1、VEGF、PDGFR、FLT3、c-Kit和p38为靶点的多激酶抑制剂<sup>[15]</sup>。针对索拉非尼治疗进展期肝癌的三大临床研究(上市前的SHARP研究和ORIENTAL研究、上市后的GIDEON研究)均证实索拉非尼能一定程度地延长晚期肝癌患者的OS和进展时间(time to progression, TTP),且耐受性和安全性良好,之后的许多药物的临床试验结果几乎均未超越索拉非尼的疗效,奠定了索拉非尼成为晚期肝癌分子靶向治疗的标竿<sup>[16]</sup>。SHARP研究和ORIENTAL研究结果显示索拉非尼与安慰剂对比,分别延长患者OS达2.8和2.3个月,TTP分别延长2.7和1.4个月,疾病控制率(disease control rate, DCR)分别为43%和39.5%,SHARP研究和ORIENTAL研究<sup>[17]</sup>结果,基本一致。GIDEON研究是迄今为止关于索拉非尼治疗晚期肝癌最大型的前瞻性随机对照临床试验,注

重于 Child-Pugh 评分, 认为 Child-Pugh 评分是不可手术切除肝癌患者 OS 的独立预后因素, Child-Pugh 评分 A、B 和 C 级的中位 OS 分别为 13.6、5.2 和 2.6 个月; 中位 TTP 分别为 4.7、4.4 和 3.6 个月, 提示治疗越早, 获益越多<sup>[17]</sup>。

之后, 许多针对肝癌的分子靶向药物陆续进入临床试验, 包括 VEGF/VEGFR、PDGFR 抑制剂: 舒尼替尼 (sunitinib)、布立尼布 (brivanib)、仑伐替尼 (lenvatinib)、瑞戈非尼 (regorafenib)、利法尼布 (linifanib)、西地尼布 (cediranib)、阿帕替尼 (apatinib)、雷莫芦单抗 (ramucirumab)、贝伐单抗 (bevacizumab); c-MET 抑制剂: 卡博替尼 (cabozantinib)、ARQ-197 (tivantinib)、foretinib; mTOR 信号通路抑制剂: 依维莫司、西罗莫司等; 胰岛素样生长因子 1 受体 (IGF-1R) 抑制剂: 西妥木单抗 (cixutumumab); MEK 抑制剂: refametinib、selumetinib 等, 这些药物 I/II 期临床试验的结果显示, 对不可手术切除肝癌患者的 OS 为 8~10 个月, 无进展生存期 (progress free survival, PFS) 为 2.5~5.0 个月, 客观缓解率 (objective response, ORR) 为 10%~12%。这些药物中多数未能超过索拉非尼的三大经典临床试验研究的结果, 仅有个别药物的 OS 和 ORR 有一定程度的优势, 但其疗效和不良反应仍需要进一步临床试验的验证<sup>[18]</sup>。

舒尼替尼抑制的靶点与索拉非尼也相似, 目前有 4 项关于舒尼替尼单药治疗 HCC II 期临床试验发表, 其疗效差于索拉非尼, 而且并发症比索拉非尼严重, 因此, 未能获得 FDA 批准<sup>[19-20]</sup>。近年来, 尽管有多项治疗肝癌的临床试验在进行, 但从目前结果分析, 疗效不尽人意, 这可能与 HCC 受遗传表型、特异性靶点、肿瘤病理类型、微环境等多种因素影响有关。单一分子靶向药物面临完全缓解 (complete remission, CR) 与部分缓解 (partial remission, PR) 率低、耐药性和敏感性差等问题, 未能达到人们期待的临床效果, 需要与其他治疗方法, 例如 NK 细胞治疗联合使用, 那么, NK 细胞治疗进展期肝癌效果如何呢?

### 3 NK 细胞在 HCC 发展过程的作用

在过继性细胞免疫治疗的细胞类型当中, NK 细胞治疗具有细胞成份单一、杀伤效应不受主要组织相容性抗原 (MHC) 限制、杀伤机制明确等优点, 成为过继性细胞免疫治疗常规治疗项目。NK 细胞占肝脏淋巴细胞总数的 25%~50%, 在肝脏免疫中扮演重要角色。我国 HCC 发生过程一般遵循慢性乙型肝炎-肝硬化-肝癌的三步, 这癌变的三步骤与 NK 细胞免疫

功能密切相关。在健康人中, NK 细胞约占外周血淋巴细胞的 10%, 乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV)、丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus, HCV) 感染患者和慢性肝炎患者的外周血 NK 细胞数量明显较低, 正常人与 HBV 感染患者外周血中 NK 细胞总数分别为 14.5% 和 7.9%, 而在 HCV 组中, 分别为 13.3% 和 8.6%<sup>[21]</sup>。在正常情况下, NK 细胞分两种亚型, 其中 CD56<sup>bright</sup> 占外周血 NK 细胞比例的 10%, 它受趋化因子 CCR7、CCR5、CXCR3、CD62L 的迁徙调控, 主要富集在次级淋巴器官; 另外一种亚型为 CD56<sup>dim</sup>, 占外周血 NK 细胞比例的 90%, 他受趋化因子 CX3CR1、CXCR2 和 CX3CR1 的迁徙调控, 主要富集在炎症组织。CD56<sup>bright</sup> NK 细胞功能主要是分泌细胞因子, 而 CD56<sup>dim</sup> NK 细胞主要作用是细胞毒性杀伤。在肝脏疾病中 NK 细胞的亚型也发生变化, 在 HCV 感染患者中, CD56<sup>bright</sup> NK 细胞比例升高, 而 CD56<sup>dim</sup> NK 细胞比例是降低的, 提示 NK 细胞在持续肝炎病毒感染过程中 NK 细胞杀伤功能减弱<sup>[21-22]</sup>。另外, 慢性病毒性肝炎患者中, NK 细胞的活化性受体 (NKp46、NKp30) 表达下降, 而抑制性受体 (NKG2A) 表达增加, 这也是肝炎持续进展原因之一。NK 细胞对肝脏纤维化具有保护作用, 主要通过诱导肝脏星状细胞 (hepatic stellate cell) 凋亡和产生抗纤维化调节物来实现, 在肝硬化的患者中, NK 细胞的数量和功能下降, 导致肝脏纤维化的加剧。

同理, 在 HCC 患者中, NK 细胞的数量也是减少的、功能亚型也是倒置的, 并且 NK 细胞的功能缺陷与肝癌的进展密切相关。Cai 等<sup>[23]</sup>报道, HCC 患者中, NK 细胞总数与正常人对比为 (23.41 ± 1.59)% vs (14.29 ± 0.96)%。同样, CD56<sup>bright</sup> CD16<sup>neg</sup> NK 细胞明显增加, CD56<sup>dim</sup> CD16<sup>pos</sup> NK 细胞明显降低, CD56<sup>bright</sup>/CD56<sup>dim</sup> 比值明显增高; 而在 HCC 肿瘤浸润淋巴细胞 (tumor infiltrating lymphocyte, TIL) 与非肿瘤浸润淋巴细胞 (non-tumor infiltrating lymphocyte, TIL) 中, NK 细胞的数量分别为 5.34% 和 19.7%, 并且肿瘤浸润性 NK 细胞多数位于癌旁组织的间质中, 不能接触到癌巢中心的恶变细胞<sup>[23-24]</sup>。在 HCC 组织的微环境中通过分泌 TGF-β、2,3 加双氧酶 (IDO)、IL-4、前列腺素 E2 (PGE2) 抑制 NK 细胞分泌 IFN-γ 和 TNF-α; 来自 HCC 组织的 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T 调节细胞抑制 NK 细胞活性和髓系源性抑制细胞 (myeloid-derived suppressor cell, MDSC)、单核细胞、巨嗜细胞、纤维细胞通过 NKp30 受体、CD48/2B4、PGE2、IDO 等触发 NK 细胞功能失调, 从而导致 HCC 免疫逃逸<sup>[25]</sup>。

正是基于NK细胞在肝脏免疫中的特点和HCC发生发展过程中的作用,许多学者尝试利用NK联合其他治疗手段去逆转NK细胞在肝脏免疫中的功能失调,以达到治疗HCC的目的。这些治疗方法包括分子靶向-NK细胞治疗(如索拉菲尼、硼替佐米、组蛋白脱乙酰基酶抑制剂等联合NK细胞)、基因修饰的NK细胞过继性输注(如NKL-IFN- $\alpha$ 、NKL-IL-15、AdcmvIL-12、AdcmvCD40L)、细胞因子联合NK细胞治疗(IL-2/IL-12/IL-15/IL-21联合NK细胞)、抑制性受体单抗联合NK细胞治疗[CTLA-4抑制剂(tremelimumab)PD-1抑制剂(nivolumab)]等<sup>[21]</sup>。这些联合治疗方法的理论依据在于促进NK细胞分泌细胞因子、诱导HCC细胞表达NK细胞活化性配体,从而促进NK细胞杀伤活性。

至今,仍未有单独利用NK细胞治疗肝癌的大样本多中心临床试验报道,多为是小样本单中心报道。目前已经完成的I期临床试验仅有1项(NCT01147380),由迈阿密大学的Nishida等发起,主要研究目的是评价尸肝供者移植液提取的NK细胞治疗肝癌后肝移植患者的可行性和安全性,结果认为是安全可行的<sup>[22]</sup>。正在进行的I期临床试验有2项(NCT02399735、NCT00909558),其中1项(NCT00909558)已经终止;II期临床试验有1项(NCT02008929),这3项临床试验主要是评价NK细胞治疗肝癌的安全性问题<sup>[22]</sup>。

NK细胞因单独治疗瘤负荷清除能力弱等因素,需要与其他治疗方法联合应用。例如,硼替佐米、西妥昔单抗、舒尼替尼、索拉非尼等分子靶向药物联合NK细胞治疗,能延长肝癌、多发性骨髓瘤、鼻咽癌、肾癌及黑素瘤患者的DCR、PFS,获得比单一应用分子靶向药物更好的临床效果<sup>[26]</sup>。这表明MTKI联合NK细胞治疗晚期肝癌能够实现协同抗肿瘤作用,这种协同抗肿瘤作用的机制之一是通过MTKI诱导肿瘤细胞表达NK细胞活化性配体NKG2DL来实现的。

但是,在肿瘤细胞发生、发展过程当中,肿瘤细胞可与机体免疫系统发生免疫编辑,抑制肿瘤细胞产生NKG2DL;另外,部分肿瘤细胞坏死、溶解后形成可溶性NKG2DL,竞争结合NK细胞膜上的NKG2D受体,导致NK细胞未能被激活,从而造成肿瘤逃逸<sup>[27]</sup>。那么,如何才能避免肿瘤细胞的免疫逃逸,增强免疫效应细胞对肿瘤细胞杀伤活性呢?也许上调肿瘤细胞膜表面免疫细胞活化性配体表达,从而增强免疫效应细胞对肿瘤细胞的识别和杀伤功能是一种可选择的途径,也是MTKI联合NK

细胞治疗肿瘤的理论依据之一。

#### 4 MIKI联合NK细胞治疗HCC的理论依据

NK细胞发挥杀伤功能是在建立在HLA(human leukocyte antigen HLA)-KIR(killer cell immunoglobulin-like receptor, KIR)错配的基础上,同时,抑制性和活化性受、配体的平衡决定了NK细胞功能的强弱。NKG2D-NKG2DL是NK细胞重要的活化性信号通路,对激活NK细胞的杀伤活性至关重要<sup>[3]</sup>。NKG2D是NK细胞的活化性受体,反映了NK细胞的功能状态,正常情况下,NK细胞高表达NKG2D受体<sup>[3]</sup>。可与NKG2D相结合的膜蛋白分子配体,即NKG2DL,此类配体主要包括MHC-I链相关分子A或B(MHC class I-related chain molecules A/B, MICA/B)和人巨细胞病毒糖蛋白UL16结合蛋白(UL16-binding protein, ULBP),它们分别位于人类6号染色体p21.31和p24.2~25.3<sup>[28]</sup>。NKG2DL是一组活化性配体,正常组织极少表达,多数表达于恶性转化细胞、病原体感染细胞,NKG2DLs高表达能够活化NK细胞,促进其产生效应分子,如分泌IFN- $\gamma$ 、颗粒酶和穿孔素等,增强NK细胞对肿瘤细胞的杀伤活性。因此,肿瘤细胞的NKG2DLs表达水平直接关系到NK细胞的抗肿瘤活性而对正常组织细胞无杀伤作用<sup>[29]</sup>。

NKG2D受、配体在肝炎病毒清除、延缓肝硬化和肝癌的发生发展的过程当中同样扮演重要角色。NKG2D受体可介导CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞和NK细胞对肝癌细胞的杀伤作用,这些效应细胞的启动需要与肝癌细胞表面的NKG2DLs(MICA/B、ULBP1~6)结合,正常组织中极少表达NKG2DLs,大部分恶性肿瘤可不同程度的表达NKG2DLs,但是肿瘤细胞在凋亡或被杀伤过程中,这些NKG2DLs可以脱落,变成血清中可溶性NKG2DLs,这些可溶性配体分子可以竞争性CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞和NK细胞结合,导致免疫细胞功能失调,使肿瘤细胞发生免疫逃逸<sup>[30]</sup>。可溶性NKG2DLs水平的高低与肝癌的分期和预后密切相关,晚期肝癌血清中可溶性NKG2DLs的水平高于早期肝癌,早期肝癌高于慢性肝病患者。肝癌细胞可溶性NKG2DLs的释放与解聚素和金属蛋白酶(ADAM-10)活性有关,组蛋白脱乙酰基酶抑制剂丙戊酸钠(VPA)能够抑制金属蛋白酶活性,减少可溶性NKG2DLs的释放。索拉菲尼、吉西他滨、表柔比星、维甲酸及锌的超家族成员也能够抑制高表达解聚素和金属蛋白酶的肝癌细胞的活性,减少可溶性NKG2DLs的释放和增加肿瘤细胞膜表面NKG2DLs

的表达,增加肝癌细胞对 NK 细胞杀伤敏感性<sup>[31]</sup>。

那么,分子靶向药物是如何与 NK 细胞发生联系的呢? 分子靶向药物作用于肿瘤细胞之后,一方面抑制了肿瘤细胞增殖信号通路(如 Ras/Raf/MEK/ERK、PI3K /Akt/mTOR),诱导肿瘤细胞凋亡;另一方面,多靶点分子靶向药物可诱导肿瘤细胞表达 NK 细胞活化性配体,从而激活表达相应受体的 NK 细胞,增强 NK 细胞对肿瘤细胞的杀伤活性,并通过分泌 IFN- $\gamma$ 、穿孔素、颗粒酶杀伤肿瘤细胞<sup>[3]</sup>,见图 1。

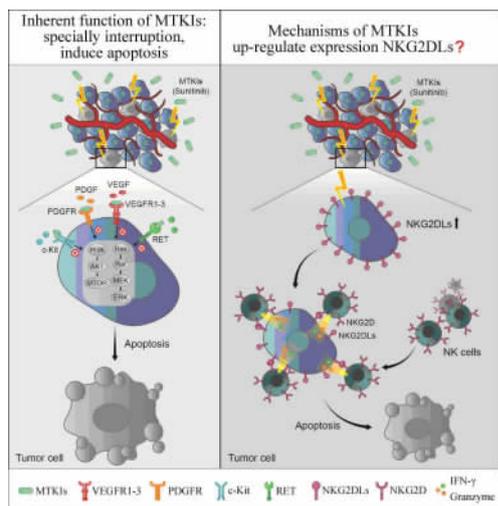


图 1 MTKI 联合 NK 细胞获得协同抗肝癌作用  
Fig. 1 Synergistic anti-hepatoma effect reached by MTKIs combined with NK cells

MTKIs combining with NK cells reach the synergistic antitumor effect, after the tumor cells treated by MTKIs, on one side, the pathway of tumor cells proliferation ( Ras/Raf/MEK/ERK-PI3K/Akt/mTOR ) is inhibited, on the other side, the multi-molecular target agents would induce the tumor cells to express NK cells activating ligands, which would then activate the NK cells to express the corresponding activating receptors, result in secretion of IFN- $\gamma$ /granzyme/perforin by NK cells to enhance the immune eradication and kill the tumor cells

上述机制仅从免疫学角度解释 MTKI 联合 NK 细胞协同抗肿瘤作用的分子机制,但是,两种治疗方法的联合必须有可靠的理论依据,仅从免疫学角度解释 MTKI 联合 NK 细胞实现协同杀瘤作用的分子机制远远不够,仍有多处疑问存在,例如: MTKI 是如何选择性激活靶细胞 NKG2DLs 上调表达的、通过哪些信号通路、激活哪些信号分子、出现哪些细胞效应仍是未知数。文献[ 32-33 ]同样提示,MTKI 诱导靶细胞表达 NKG2DLs 的机制未明,但可能与肿瘤细

胞 DNA 损伤修复反应蛋白( ATM、ATR、CHK1、CHK2、AP-1 )、细胞凋亡及信号转录分子 NF- $\kappa$ B( nuclear factor- $\kappa$ B )之间相互作用有关。另外,笔者在研究舒尼替尼诱导靶细胞表达 NKG2DLs 的前期工作中发现,NF- $\kappa$ B 可能与 MTKI 诱导肿瘤细胞表达 NKG2DLs 的分子机制有关,但仍未有充分实验结果完整阐述整个调控过程,仍需实验进一步证明。

### 5 MTKI 调控肝癌细胞 NKG2DLs 表达分子机制研究进展

NK 细胞的活化性配体主要有六大类, NKG2DLs 是其中一组重要配体,在不同环境和不同遗传背景作用下,细胞表达的受、配体分子类型不同,其目的在于调控细胞内环境稳定和免疫清除作用。许多因素可以影响 NKG2DLs 的转录与表达,这些影响因素包括细胞的转化和恶变、药物刺激、放射损伤、离子辐射、细菌和病毒感染、细胞因子、生物毒素、植物单体( 苦参碱、冬凌草甲素、姜黄素)和 DNA 损伤等<sup>[3]</sup>,但对于细胞调控 NKG2DLs 表达的分子机制仍存在多种假说和争议。

依据现有的文献报道,诱导肝癌细胞 NKG2DLs 表达的机制分为三类,第一类为 DNA 损伤修复反应( DNA damage repair response, DDR )诱导机制,这其中包括 Stephan 等<sup>[34]</sup>研究发现的 DNA 损伤修复反应( DNA damage repair response DDR )可能诱导肿瘤细胞表达 NKG2DLs,在低或高剂量化学药物的刺激下,细胞的 DNA 损伤反应可激活信号转导分子,如运动失调性毛细血管扩张症基因突变体( ataxia telangiectasia mutated, ATM )或运动失调性毛细血管扩张症基因突变体和 Rad3 相关基因( ATM- and Rad3-related gene, ATR ),这 2 种激酶进一步活化下游的检查点激酶( checkpoint kinases, CHK1 )1、2 和 NF- $\kappa$ B 等信号转录相关分子,从而诱导 NKG2DLs 的表达。Lam 等<sup>[35]</sup>报道,维甲酸早期转录因子通过 DDR 依赖的 STING( stimulator of interferon gene )传感途径诱导 NKG2DLs 的上调表达,并且 DNA 传感通路效应分子 TBK1( TANK-binding kinase-1 )和 IRF3( interferon regulatory factor-3 )参与了 NKG2DLs mRNA 的转录过程。Weizman 等<sup>[36]</sup>报道,激活蛋白 1( active protein-1, AP-1 )能联合 DNA 损伤反应,上调 NKG2DLs 的表达。Tang 等<sup>[37]</sup>报道,脱氧氮杂胞苷可诱导肝癌细胞株 HepG2 表达 MICA/MICB,主要与激活 DNA 损伤修复分子 ATM 和 ATR 有关。Cerboni 等<sup>[33]</sup>认为,肿瘤细胞 DNA 损伤修复通路是上调 NKG2DLs 和 DNAM-1 的共同通路,这其中包括

HCC 细胞。

第二类为 NF- $\kappa$ B 转录调控表达机制。Eagle 等<sup>[38]</sup>认为, *NKG2DLs* 的启动子基因序列中有 NF- $\kappa$ B 的结合位点, 这些结合位点对诱导 *NKG2DLs* 的表达发挥重要的作用。 *NKG2DLs* 基因中的启动子具有多态性, 这些启动子的活化对 *NKG2DLs* 的表达至关重要。 *NKG2DLs* 启动子中含有活化转录因子 6 (activation transcription factor 6, ATF6)、热激转录因子 1 (heat shock transcription factor 1, HSF1)、髓样锌指因子 1 (myeloid zinc finger 1, MZF1)、碱性核蛋白 (basoonclin, BNC), 这些结合位点在不同条件下可与 NF- $\kappa$ B 家族的不同成员结合, 调节 *NKG2DLs* 的表达<sup>[39]</sup>。Molinero 等<sup>[40]</sup>认为 DNA 损伤修复反应可以通过激活下游的 NF- $\kappa$ B 信号系统, 调节 *NKG2DLs* 的表达。

第三类机制未能明确归类。Molfetta 等<sup>[41]</sup>报道, *NKG2DLs* 的表达与泛素化途径有关, 抑制泛素连接酶 c-Cbl 能够减少 *NKG2DLs* 的细胞内化作用和增加 MICA 的表达。Fionda 等<sup>[42]</sup>认为, *NKG2DLs* 的表达与细胞信号转导通路的集合点有关, 抑制糖原合成激酶 3 (glycogen synthase kinase 3, GSK3) 能够激活 Tyr705 磷酸化和 MICA 的信号转导蛋白与转录启动子, 抑制 MICA 的上调表达。

多种因素能够影响 *NKG2DLs* 的表达, 这包括病理因素和非病理因素。在病理因素中, 肿瘤细胞的生成、增殖和衰老均与 *NKG2DLs* 表达调控有关, 其最终的目的是通过免疫因素促进肿瘤生长或者肿瘤消亡。肿瘤的生成主要受促癌基因 (*K-ras c-myc* 或者 *Akt + c-myc*) 调控, 肿瘤的增殖主要受细胞增殖信号 (*Raf-MAPK/MEK/PI3K* 或者 *HER2/HER3/PI3K/AKT*) 调控, 肿瘤的衰老主要受 *P53* 或者 *P19Arf* 基因调控, 这些基因或信号通路主要还是通过 DNA 损伤修复系统调控肿瘤细胞 *NKG2DLs* 的表达, 但其调控表达的具体过程未见报道<sup>[43]</sup>。总之, 现有文献均未能完整地阐述调控 *NKG2DLs* 表达的分子机制及 NF- $\kappa$ B 在其中的调控作用。那么, 深入探讨 NF- $\kappa$ B 与 *NKG2DLs* 表达调控的关系, 需要进一步了解 NF- $\kappa$ B 转录调控的特性。

NF- $\kappa$ B 转录调控的多样性符合 *NKG2DLs* 表达调控的特点: NF- $\kappa$ B 是一个大家族, 包括 5 个成员: RelA (p65)、RelB、c-Rel、p105-p50 (NF- $\kappa$ B1) 和 p100-p52 (NF- $\kappa$ B2), 它们之间以两两形成同源或者异源二聚体的形式发挥作用<sup>[44]</sup>。NF- $\kappa$ B 抑制蛋白为 I $\kappa$ B (包括 I $\kappa$ B $\alpha$ 、I $\kappa$ B $\beta$  和 I $\kappa$ B $\epsilon$ ), 激活蛋白为 IKK 蛋白激酶复合体, 由 IKK $\alpha$ 、IKK $\beta$  和 IKK $\gamma$  组成, 抑

制蛋白和激活蛋白被刺激因素诱导磷酸化之后激活, 发挥活化或抑制等转录功能<sup>[45]</sup>。NF- $\kappa$ B 可由经典途径和非经典途径激活, 细胞因子、肿瘤坏死因子 (TNF)、脂多糖 (LPS) 等刺激因素可通过经典途径激活 NF- $\kappa$ B, 药物、细胞因子、紫外线照射可通过非经典途径激活 NF- $\kappa$ B<sup>[46]</sup>。目前, MTKI 通过哪条途径激活 NF- $\kappa$ B 仍未明确。

NF- $\kappa$ B 是一种多向调节功能的转录因子, 广泛参与了许多基因的转录调控, 它的活性及其相关信号通路的激活, 对 NK 细胞、T 细胞个体发育、分化及功能维护起着决定性作用。Pascal 等<sup>[47]</sup>证实, NF- $\kappa$ B p50/p65 在启动小鼠 NK 细胞活化型受体 *L $\gamma$ 49* 基因的转录中起着重要作用; 相反, Guillard 等<sup>[48]</sup>认为 NF- $\kappa$ B 可以调控 NK 细胞抑制性配体 HLA-G 的表达而介导移植免疫耐受。因此, NF- $\kappa$ B 活化后启动的是活化型受体还是抑制性配体主要决定于刺激因素和细胞内环境。在介导凋亡反应方面, NF- $\kappa$ B 活化后起到抗凋亡作用与上调抗凋亡基因有关 (如 *Bcl-xL*、*X-IAP*、*IAP1*、*IAP2*、*IEX-1L*、*Bfl-1* 等), 而促凋亡作用主要与上调促凋亡基因有关 (如 *P53*、*Bax*、*Bak* 等)<sup>[49]</sup>。在 NF- $\kappa$ B 接受药物作用方面, Miller 等<sup>[46]</sup>观察到在常用的抗肿瘤药物当中, 有 18 种药物是通过抑制 NF- $\kappa$ B 的活性而发挥作用, 而 19 种药物是通过激活 NF- $\kappa$ B 的活性而发挥作用, 这些药物包括化疗药和 MTKI。

显然, NF- $\kappa$ B 是发挥正向调控作用或负向调控作用主要决定于不同刺激因素和不同环境, 因为 NF- $\kappa$ B 等转录因子需要结合其他调控因子才能实现转录活性, 转录因子发挥促进还是抑制作用与其结合的调控因子有关, 而究竟哪些调控因子与 NF- $\kappa$ B 基因的不同位点结合, 则与刺激因素有关<sup>[50]</sup>。当 NF- $\kappa$ B 被 MTKI 活化后, 诱导靶细胞表达哪种类型受配体同样与结合的调控因子有关, 这就是 NF- $\kappa$ B 转录调控的多面性。

NF- $\kappa$ B 可能是调控肿瘤细胞 *NKG2DLs* 上调表达的关键基因: 不同靶点 MTKI 诱导肿瘤细胞表达 *NKG2DLs* 的类型和水平不同, *NKG2DLs* 表达的多样性决定了调控机制的多样性, NF- $\kappa$ B 转录调控的多样性符合 *NKG2DLs* 表达调控的特点。笔者根据上述文献观点, 选取 DNA 损伤修复反应分子 (ATM、ATR、CHK1、CHK2)、凋亡分子 (*P53*、*Bax*、*PUMA*、*NOXA*)、NF- $\kappa$ B 基因家族作为研究调控 *NKG2DLs* 表达分子机制的切入点。笔者前期研究也发现<sup>[3]</sup>, 当两种耐药肿瘤细胞未经任何处理, RT-PCR 不能扩增出 NF- $\kappa$ B 的 mRNA 片断, 并且 ATR、CHK1 和

CHK2 三种 DNA 损伤修复反应分子的 mRNA 表达量较低, 而经舒尼替尼处理之后能扩增出 *NF- $\kappa$ B* 的 mRNA, DNA 损伤修复反应分子 (*ATM/ATR*) mRNA 表达升高, 且两种靶细胞的 5 种 *NKG2DLs* (*MICA*、*MICB*、*ULBP1*、*ULBP2*、*ULBP3*) 的表达率都明显升高。由此推测, 舒尼替尼处理肿瘤细胞之后, 使 DNA 损伤修复反应的分子 (*ATM/ATR*) 表达增强, 可能活化肿瘤细胞 *NF- $\kappa$ B* 基因, *NF- $\kappa$ B* 基因家族成员通过与上述目的基因的启动子结合, 通过核转位作用, 促进 *NKG2DLs* mRNA 合成并翻译成蛋白, 诱导肿瘤细胞 *NKG2DLs* 上调表达。

综上所述, 无论是刺激因素首先激活 DNA 损伤修复反应, 还是其他信号分子, 均可能通过 *NF- $\kappa$ B* 这个关键基因激活下游的信号通路, 但 *NF- $\kappa$ B* 基因激活通过哪个下游信号通路和关键分子诱导 *NKG2DLs* mRNA 的转录和蛋白表达仍未清楚。结合研究基础及现有文献数据, 笔者提出 *NF- $\kappa$ B* 调控肿瘤细胞表达 *NKG2DLs* 可能机制如下: MTKI 作用于肿瘤细胞, 阻断了肿瘤细胞的特异性靶点 (*VEGFR*、*PDGFR*、*c-Kit*、*RET*) 和细胞增殖信号通路 [*Ras/Raf-MAPK*、*PI3K-AKT-mTOR* (已证实)]; (1) 活化凋亡分子 (*P53*、*Bax*、*PUMA*、*NOXA*); (2) 激活 DNA 损伤修复反应和应激反应分子 (*ATM/ATR* 和 *AP-1*); (3) 活化半胱天冬酶使 *IKK* 蛋白激酶复合体磷酸化, 从而激活 *NF- $\kappa$ B* 基因家族成员结合 *NKG2DLs* DNA 转录位点发挥 DNA 结合活性作用和转录作用; (4) 调控 *NKG2DLs* mRNA 转录和蛋白表达。但这仅是作者的理论假说, 无充分实验数据证明; 接下来的 4 篇论著将步步深入论证上述推测。

## 6 结 语

近几年来, 调控肝癌细胞表达 *NKG2DLs* 的分子机制是 NK 细胞研究领域的热点问题, 学者们试图通过寻找其中一种机制能够清楚解释 *NKG2DLs* 表达的特点。也许, *NF- $\kappa$ B* 基因家族转录调控的灵活性、多样性可能符合 *NKG2DLs* 表达调控的特点。“*NF- $\kappa$ B* 可能是调控肝癌细胞 *NKG2DLs* 上调表达的关键基因”的这一假说有可能是正确的。笔者开展的系列研究以 MTKI 舒尼替尼诱导肝细胞癌表达 *NKG2DLs* 为基础, 进而探讨 DNA 损伤修复反应分子 (*ATM*、*ATR*、*CHK1*、*CHK2*、*AP-1* 和 *GSK3 $\beta$* ) 与凋亡基因 (*P53*、*Bax*、*NOXA*、*PUMA*) 和 *NF- $\kappa$ B* 基因家族成员 (*NF- $\kappa$ B1*、*NF- $\kappa$ B2*、*RelA*、*RelB*、*C-Rel*) 三者之间的相互作用关系, 首次提出了 MTKI 能通过 *NF- $\kappa$ B* 旁路途径调控肝细胞癌表达 *NKG2DLs* 的分

子机制, 而肝癌细胞高表达的 *NKG2DLs* 增强了 NK 细胞的杀伤敏感性。该研究结果为 MTKI 联合 NK 细胞治疗肝细胞肝癌提供了实验依据, 从而佐证了“分子靶向-过继性免疫细胞治疗”模式的理论可行性, 而该模式从实验室到临床应用仍任重道远, 需要学者们进一步验证和共同努力。

## [参 考 文 献]

- [1] Deng GL, Zeng S, Shen H. Chemotherapy and target therapy for hepatocellular carcinoma: new advances and challenges [J]. *World J Hepatol*, 2015, 7(5): 787-798.
- [2] Bupathi M, Kaseb A, Meric-Bernstam F, et al. Hepatocellular carcinoma: where there is unmet need [J]. *Mol Oncol*, 2015, 7891(15): 1-9.
- [3] 黄宇贤, 郭坤元. 肿瘤生物治疗的新模式——靶向-过继性细胞免疫治疗 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2010, 17(3): 243-249.
- [4] Abdel-Rahman O. Systemic therapy for hepatocellular carcinoma (HCC): from bench to bedside [J]. *J Egypt Can Inst*, 2013, 25(4): 165-171.
- [5] Lim KC, Chow PK, Allen JC, et al. Systematic review of outcomes of liver resection for early hepatocellular carcinoma within the Milan criteria [J]. *Br J Surg*, 2012, 99(12): 1622-1629.
- [6] Attwa MH, El-Etreby SA. Guide for diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma [J]. *World J Hepatol*, 2015, 7(12): 1632-1651.
- [7] Ng KK, Poon RT. Current treatment strategy for hepatocellular carcinoma [J]. *Saudi Med J*, 2007, 28(9): 1330-1338.
- [8] Miura JT, Gamblin TC. Transarterial chemoembolization for primary liver malignancies and colorectal liver metastasis [J]. *Surg Oncol Clin N Am*, 2015, 24(1): 149-166.
- [9] Wáng YX, De Baere T, Idée JM, et al. Transcatheter embolization therapy in liver cancer: an update of clinical evidences [J]. *Clin J Cancer Res*, 2015, 27(2): 96-121.
- [10] Finn RS. Development of molecularly targeted therapies in hepatocellular carcinoma: Where do we go now? [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(2): 390-397.
- [11] Lacaze L, Scotté M. Surgical treatment of intra hepatic recurrence of hepatocellular carcinoma [J]. *World J Hepatol*, 2015, 7(13): 1755-1760.
- [12] Santoni M, Conti A, Massari F, et al. Treatment-related fatigue with sorafenib, sunitinib and pazopanib in patients with advanced solid tumors: an up-to-date review and meta-analysis of clinical trials [J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(1): 1-10.
- [13] Sulkes A. Novel multitargeted anticancer oral therapies: sunitinib and sorafenib as a paradigm [J]. *Isr Med Assoc*, 2010, 12(10): 628-632.
- [14] Huynh H. Molecularly targeted therapy in hepatocellular carcinoma [J]. *Biochem Pharmacol*, 2010, 80(5): 550-560.
- [15] Huynh H. Tyrosine kinase inhibitors to treat liver cancer [J]. *Expert Opin Emerg Drugs*, 2010, 15(1): 13-26.
- [16] Aedo V, Cristina V, Ravmond E, et al. Advanced hepatocellular carcinoma importance of clinical trials [J]. *Rev Med Suisse*, 2015, 11(475): 1149-1151.
- [17] Di Marco V, De Vita F, Koskinas J, et al. Sorafenib: from litera-

- ture to clinical practice [ J ]. *Ann Oncol*, 2013, 24( 2 ): 1130-1137.
- [ 18 ] Choi KJ, Baik IH, Ye SK, et al. Molecular targeted therapy for hepatocellular carcinoma: present status and future directions [ J ]. *Biol Pharm Bull*, 2015, 38( 7 ): 986-910.
- [ 19 ] Zhu AX, Sahani DV, Duda DG, et al. Efficacy, safety, and potential biomarkers of sunitinib monotherapy in advanced hepatocellular carcinoma: a phase II study [ J ]. *J Clin Oncol*, 2009, 27( 18 ): 3027-3035.
- [ 20 ] Barone C, Basso M, Biolato M, et al. A phase II study of sunitinib in advanced hepatocellular carcinoma [ J ]. *Dig Liver Dis*, 2013, 45( 8 ): 692-698.
- [ 21 ] Sun C, Sun HY, Xiao WH, et al. Natural killer cell dysfunction in hepatocellular carcinoma and NK cell based immunotherapy [ J ]. *Acta Pharmacol Sin*, 2015, 36( 10 ): 1191-1199.
- [ 22 ] Lim O, Jung MY, Hwang YK, et al. Present and future of allogeneic natural killer cell therapy [ J ]. *Front Immunol*, 2015, 6( 286 ): 1-8.
- [ 23 ] Cai L, Zhang Z, Zhou L, et al. Functional impairment in circulating and intrahepatic NK cells and relative mechanism in hepatocellular carcinoma patients [ J ]. *Clin Immunol*, 2008, 29( 3 ): 428-437.
- [ 24 ] Sconocchia G, Eppenberger S, Spagnoli GC, et al. NK cells and T cells cooperate during the clinical course of colorectal cancer [ J ]. *Oncoimmunology*, 2014, 3( 8 ): 428-437.
- [ 25 ] Pietra G, Vitale C, Pende D, et al. Human natural killer cells: news in the therapy of solid tumors and high-risk leukemias [ J ]. *Cancer Immunol Immunother*, 2015 [ Epub ahead of print ].
- [ 26 ] Domogala A, Madrigal JA, Saudemont A. Natural killer cell immunotherapy: from bench to bedside [ J ]. *Front Immunol*, 2015, 6( 264 ): 1-9.
- [ 27 ] Nakamura K, Nakayama M, Kawano M, et al. Fratricide of natural killer cells dressed with tumor-derived NKG2D ligand [ J ]. *Proc Natl Acad Sci*, 2013, 110( 23 ): 9421-9426.
- [ 28 ] Zhang J, Basher F, Wu JD. NKG2D ligands in tumor immunity: two sides of a coin [ J ]. *Front Immunol*, 2015, 6( 97 ): 1-7.
- [ 29 ] Sentman CL, Meehan KR. NKG2D CARs as cell therapy for cancer [ J ]. *Cancer J*, 2014, 20( 2 ): 156-159.
- [ 30 ] Kumar V, Yi Lo PH, Sawai H, et al. Soluble MICA and a MICA variation as possible prognostic biomarkers for HBV-induced hepatocellular carcinoma [ J ]. *PLoS ONE*, 2012, 7( 9 ): 1-6.
- [ 31 ] Morissaki T, Onishi H, Katano M. Cancer immunotherapy using NKG2D and DNAM-1 systems [ J ]. *Anticancer Res*, 2012, 32( 6 ): 2241-2247.
- [ 32 ] Sabatel H, Pirlot C, Piette J, et al. Importance of PIKKs in NF- $\kappa$ B activation by genotoxic stress [ J ]. *Biochem Pharmacol*, 2011, 82( 10 ): 1371-1383.
- [ 33 ] Cerboni C, Fionda C, Soriani A, et al. The DNA damage response: a common pathway in the regulation of NKG2D and DNAM-1 ligand expression in normal, infected, and cancer cells [ J ]. *Front Immunol*, 2014, 7( 508 ): 1-7.
- [ 34 ] Gasser S, Raulat DH. The DNA damage response arouses the immune system [ J ]. *Cancer Res*, 2006, 66( 8 ): 3959-3962.
- [ 35 ] Lam AR, Le Bert N, Ho SS, et al. RAE1 ligands for the NKG2D receptor are regulated by STING-dependent DNA sensor pathways in lymphoma [ J ]. *Cancer Res*, 2014, 74( 8 ): 2193-2203.
- [ 36 ] Weizman N, Shiloh Y, Barzilai A. Contribution of the Atm protein to maintaining cellular homeostasis evidenced by continuous activation of the AP-1 pathway in Atm-deficient brains [ J ]. *J Biol Chem*, 2003, 278( 9 ): 6741-6747.
- [ 37 ] Tang KF, He CX, Zeng GL, et al. Induction of MHC class I-related chain B ( MICB ) by 5-aza-2'-deoxycytidine [ J ]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 370( 4 ): 578-583.
- [ 38 ] Eagle RA, Traherne JA, Ashiru O, et al. Regulation of NKG2D ligand gene expression [ J ]. *Hum Immunol*, 2006, 67( 3 ): 159-169.
- [ 39 ] Burgess SJ, Maasho K, Masilamani M, et al. The NKG2D receptor: immunobiology and clinical implications [ J ]. *Immunol Res*, 2008, 40( 1 ): 18-34.
- [ 40 ] Molinero LL, Fuertes MB, Girart MV, et al. NF-kappa B regulates expression of the MHC class I-related chain A gene in activated T lymphocytes [ J ]. *J Immunol*, 2004, 173( 9 ): 5583-5590.
- [ 41 ] Molfetta R, Quatrini L, Capuano C, et al. c-Cbl regulates MICA but not ULBP2-induced NKG2D down-modulation in human NK cells [ J ]. *Eur J Immunol*, 2014, 44( 9 ): 2761-2770.
- [ 42 ] Fionda C, Malgarini G, Soriani A, et al. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 increases NKG2D ligand MICA expression and sensitivity to NK cell-mediated cytotoxicity in multiple myeloma cells: role of STAT3 [ J ]. *J Immunol*, 2013, 190( 12 ): 6662-6672.
- [ 43 ] Huergo-Zapico L, Acebes-Huerta A, López-Soto A, et al. Molecular bases for the regulation of NKG2D ligands in cancer [ J ]. *Front Immunol*, 2014, 5( 106 ): 1-7.
- [ 44 ] Baldwin AS. Regulation of cell death and autophagy by IKK and NF- $\kappa$ B: critical mechanisms in immune function and cancer [ J ]. *Immunol Rev*, 2012, 246( 1 ): 327-345.
- [ 45 ] Hayden MS, Ghosh S. Regulation of NF- $\kappa$ B by TNF family cytokines [ J ]. *Semin Immunol*, 2014, 26( 3 ): 253-266.
- [ 46 ] Miller SC, Huang R, Sakamuru S, et al. Identification of known drugs that act as inhibitors of NF-kappaB signaling and their mechanism of action [ J ]. *Biochem Pharmacol*, 2010, 79( 9 ): 1272-1280.
- [ 47 ] Pascal V, Nathan NR, Claudio E, et al. NF-kappa B p50/p65 affects the frequency of Ly49 gene expression by NK cells [ J ]. *J Immunol*, 2007, 179( 3 ): 1751-1759.
- [ 48 ] Guillard C, Zidi I, Marcou C, et al. Role of HLA-G in innate immunity through direct activation of NF- $\kappa$ B in natural killer cells [ J ]. *Mol Immunol*, 2008, 45( 2 ): 419-427.
- [ 49 ] Campbell KJ, Rocha S, Perkins ND. Active repression of anti-apoptotic gene expression by RelA ( p65 ) NF-kappa B [ J ]. *Mol Cell*, 2004, 13( 6 ): 853-865.
- [ 50 ] Lan W, Petznick A, Heryati S, et al. Nuclear Factor- $\kappa$ B: central regulator in ocular surface inflammation and diseases [ J ]. *Ocul Surf*, 2012, 10( 3 ): 137-148.

[ 收稿日期 ] 2015 - 08 - 06 [ 修回日期 ] 2015 - 11 - 06

[ 本文编辑 ] 黄静怡