

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.06.003

舒尼替尼促进 HepG2 细胞 NKG2DLs 表达从而增强 NK 细胞杀伤活性

黄宇贤¹, 陈心彤², 林遐³, 翁关祥¹, 李玉华¹, 吴秉毅¹, 宋朝阳¹, 郭坤元¹ (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; 3. 广州市第十二人民医院血液科, 广东广州 510620)

[摘要] **目的:** 探讨舒尼替尼促进肝癌细胞自然杀伤细胞 2 族成员 D 配体 (natural killer group 2 member D ligands, NKG2DLs) 表达及提高 NK 细胞杀伤肿瘤细胞的作用。 **方法:** 常规体外培养 HepG2 细胞, 免疫磁珠法从健康志愿者外周静脉血中分选 NK 细胞, 流式细胞技术检测 NK 细胞纯度及 1 $\mu\text{mol/L}$ 舒尼替尼孵育 24 h 前后肝癌细胞 NKG2DLs 表达率; LDH 释放测定法检测 NK 细胞对药物处理前后靶细胞的杀伤活性, 实时荧光定量 PCR 检测药物处理前后 HepG2 细胞 NKG2DLs mRNA 的表达情况。 **结果:** 分选后 NK 细胞 (CD3⁻CD16⁺CD56⁺ 细胞) 的纯度达 78% 以上; 经舒尼替尼处理后靶细胞 MHC-I 类链相关分子 A 或 B (MHC class I-related chain molecules A/B, MICA/MICB)、人巨细胞病毒糖蛋白 UL16 结合蛋白 (UL16-binding proteins, ULBPs) 的表达率均有升高, 以 MICA、MICB 和 ULBP2 升高最明显 ($F = 17.73, P = 0.000$)。当效靶比为 10:1、20:1 时, NK 细胞对舒尼替尼处理前后 HepG2 细胞的杀伤活性分别从 (9.47 \pm 1.11)%、(20.45 \pm 1.94)% 上升到 (28.88 \pm 1.23)%、(44.93 \pm 1.57)% , 舒尼替尼处理前后 NK 细胞对靶细胞杀伤活性的差异有明显统计学意义 ($P < 0.05$)。舒尼替尼处理 HepG2 细胞后, MICA、MICB 和 ULBP2 mRNA 表达水平明显升高 ($F = 62.628, P = 0.000$)。 **结论:** 舒尼替尼能选择性诱导肿瘤细胞高表达 NKG2DLs (MICA/B 和 ULBP2), 并增强 NK 细胞杀伤活性。

[关键词] 舒尼替尼; 肝癌细胞; 自然杀伤细胞; 自然杀伤细胞 2 族成员 D; 杀伤活性

[中图分类号] R735.7; R730.54

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-385X(2015)06-0690-06

Sunitinib increases the expressions of NKG2DLs on human hepatocellular carcinoma HepG2 cells and enhances the cytotoxic action of NK cells

Huang Yuxian¹, Chen Xintong², Lin Xia³, Weng Guanyang¹, Li Yuhua¹, Wu Bingyi¹, Song Chaoyang¹, Guo Kunyuan¹ (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; 3. Department of Hematology, Twelfth People's Hospital of Guangzhou Municipal, Guangzhou 510620, Guangdong, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of sunitinib on natural killer group 2 member D ligands (NKG2DLs) expression and NK-mediated cytotoxicity in human hepatocellular carcinoma cells. **Methods:** HepG2 cells were cultivated by routine method. Human NK cells were isolated by magnetic activated cell sorting (MACS). Flow cytometry was used to evaluate the purity of the isolated NK cells and the expression levels of NKG2DLs on HepG2 cells. The cytotoxic effect of NK cells against HepG2 was assessed with LDH releasing assay. The expressions of NKG2DL mRNAs in HepG2 cells was quantitated by RT-qPCR. **Results:** More than 78% of the isolated cells were CD3⁻CD16⁺CD56⁺, indicative of NK cells. After sunitinib treatment, the expressions of multiple NKG2DLs on HepG2 cells were increased, especially that of MICA, MICB and ULBP2. At the E:T ratio of 10:1 and 20:1, the cytotoxic effects of NK cells against HepG2 cells were

[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. 201207008)。Project supported by the National Natural Science Foundation for Young Scientists of China (No. 81302372, 81300431), and the Excellent Middle and Young Aged Experts Project of Zhujiang Hospital Southern Medical University (No. 2012007008)

[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 Kunyuan, corresponding author), E-mail: wodeyoujian@foxmail.com

[优先发表] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20151216.1239.006.html>

increased from $(9.47 \pm 1.11)\%$ and $(20.45 \pm 1.94)\%$ in the untreated groups to $(28.88 \pm 1.23)\%$ and $(44.93 \pm 1.57)\%$ in the sunitinib treatment groups ($P < 0.05$). The expression of *MICA*, *MICB* and *ULBP2* mRNA in HepG2 cells was also significantly elevated after treated with sunitinib. **Conclusion:** Sunitinib regulates the expressions of NKG2DLs (*MICA/B* and *ULBP2*) on HepG2 cells, which activates NK cells and is responsible for their enhanced cytotoxic action.

[**Key words**] sunitinib; hepatocellular carcinoma; natural killer (NK) cell; natural killer group 2 member D (NKG2D); killing activity

[Chin J Cancer Biother, 2015, 22(6): 689-694]

肝细胞癌对放化疗不敏感,特别是晚期肝癌,对化疗的反应率只有 10% ~ 20%^[1]。许多临床试验结果证实,由于化疗药物的不良反应或者较低的药物敏感性,大部分晚期肝癌患者都不能从化疗中获益,迫使学者们寻找新的治疗方法。自 2005 年以来,第一个治疗肝细胞癌分子靶向药物索拉非尼的出现,使得无法接受化疗的晚期肝癌患者总生存期和中位疾病进展时间分别达到 10.2 个月和 4.2 个月,提高了晚期肝癌患者的生存期,开辟了肝细胞癌分子靶向治疗的新时代^[2-3]。但是,同样与索拉非尼作用相似的舒尼替尼的治疗效果却难以令人满意,并且不良反应较大。虽然多靶点酪氨酸激酶抑制剂能够延长晚期肝癌患者的总生存期,但与安慰剂相比仅延长 3 个月左右时间,效果仍不能满足治疗的需要^[4]。迫于肝细胞癌治疗的现状,学者们提倡分子靶向药物联合化疗、放疗和介入治疗(肝动脉化疗栓塞术、射频消融术等),联合治疗疗效好于单用化疗和分子靶向药物治疗^[5]。随着人们对肿瘤免疫机制深入研究和细胞治疗项目的开发,分子靶向药物联合 NK 细胞治疗晚期肝癌成为学者们研究的热点。一方面,舒尼替尼可以抑制酪氨酸激酶受体,阻断肿瘤增殖和血管生成,抑制肿瘤生长;另一方面,可与 NK 细胞协同杀伤肿瘤细胞^[6]。但是,舒尼替尼如何实现与 NK 细胞协同杀伤作用,其分子机制仍未清楚。本研究以肝癌 HepG2 细胞为靶细胞,以舒尼替尼为作用药物,检测药物作用前后 NK 细胞杀伤活性变化及自然杀伤细胞 2 族成员 D 配体(natural killer group 2 member D ligands, NKG2DLs)表达的变化情况,旨在初步探讨舒尼替尼联合 NK 细胞协同杀伤肿瘤细胞的免疫机制。

1 材料与方法

1.1 细胞株与主要试剂

人肝癌 HepG2 及白血病 K562 细胞株由本实验

室保存,用含有双抗(青霉素+链霉素)及胎牛血清的 RPMI 1640 培养基培养。苹果酸舒尼替尼购自美国辉瑞公司。人外周血 NK 细胞来源于健康志愿者静脉血。抗 CD56 免疫磁珠、抗 PE 免疫磁珠购自德国美天妮公司, anti-MICA/B 单抗、anti-ULBP1-3 单抗均购自美国 BD 公司, PE 标记羊抗鼠 IgG₁ 购自上海远慕生物公司, 乳酸脱氢酶(LDH)杀伤活性检测试剂盒购自北京普利莱生物公司, Gibco 胎牛血清购自上海玉博生物科技有限公司, RPMI 1640 购自上海生博生物医药科技有限公司, cDNA 合成和 PCR 试剂购自立陶宛 Fermentas(MBI)公司, 引物由上海英骏生物公司合成, 流式细胞仪购自美国 Beckman Coulter 公司, Biophotometer 生物分光光度计购自美国 Eppendorf 公司, PE9700 PCR 仪购自美国 PE 公司, 水平核酸电泳仪购自美国 One Lambda 公司, 免疫磁珠细胞分选仪购自德国美天妮公司, 倒置荧光显微镜购自日本 Olympus 公司。

1.2 NK 细胞分离与纯度检测

无菌抽取健康志愿者外周静脉血,沿管壁加到含有等体积 Ficoll-Hypaque 淋巴细胞分离液的离心管中, $2\ 683.2 \times g$ 离心 20 min, 吸取白膜层细胞, 获得外周血单个核细胞; 计数单个核细胞, 每 1×10^7 个细胞加入 80 μ l PBS 缓冲液和 20 μ l 抗 CD56 免疫磁珠, 4 $^{\circ}$ C 孵育 15 min; 每 1×10^7 个细胞加入 1 ml 的缓冲液, $965.95 \times g$ 离心 10 min, 去上清; 每 1×10^8 个细胞加入 500 μ l 缓冲液, 充分混匀后加入 MiniMACS 磁场中分离, 无菌试管收集流出的阴性细胞, 加入 500 μ l 缓冲液冲洗, 共 3 次; 取下柱子, 加入 1 ml 培养基, 推注器将分选的阳性细胞推入无菌试管, 光镜观察 NK 细胞状态并拍照, 流式细胞仪检测 CD3⁻CD16⁺CD56⁺ 细胞即 NK 细胞纯度。

1.3 流式细胞术检测经舒尼替尼处理对 HepG2 细胞表达 NKG2DLs 表达的影响

分别收集经 1 μ mol/L 舒尼替尼处理 24 h 前后的 HepG2 细胞(分为未处理组:未经舒尼替尼预处理的 HepG2 细胞;舒尼替尼组:经舒尼替尼

1 μmol/L 共孵育 24 h 的 HepG2 细胞), 洗涤及计数细胞, 后每管内各加入 2 μg 鼠抗人 NKG2DLs (MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3) 的 IgG 单抗, 室温下避光孵育 30 min, PBS 洗涤 3 次, 加入 PE 标记羊抗鼠 IgG 单抗, 同型 IgG₁ 作为阴性对照抗体, 室温下避光孵育 10 min, PBS 洗涤 3 次, 用四色荧光微球校准流式细胞仪后, 分析样本中 1 × 10⁴ 个细胞中阳性细胞数, 用 Cell Quest 软件分析数据。

1.4 LDH 释放测定法检测 NK 细胞对舒尼替尼处理前后 HepG2 细胞的杀伤活性

HepG2 细胞分为 3 组: 未处理组, 未经舒尼替尼预处理的 HepG2 细胞; 舒尼替尼组, 经 1 μmol/L 舒尼替尼共孵育 24 h 的 HepG2 细胞; 阳性对照组, 未作处理的白血病 K562 细胞(不表达 NK 细胞抑制性配体, 对 NK 细胞杀伤敏感)。将上述 3 组靶细胞用培养液调整细胞密度至 1 × 10⁵/ml, 在 96 孔培养板中每孔加 50 μl 细胞悬液, 每组设 3 个复孔。以新鲜分离 NK 细胞为效应细胞, 按不同效靶比(10:1、20:1)分别加入不同量的 NK 细胞各 50 μl。置于常规培养条件下共孵育 4 h 后, 吸取上清 50 μl, 加入 96 孔平底酶标板中, 按试剂盒说明书加入 LDH 底物反应液和终止液。用全自动生化分析仪检测 LDH 值, 根据 LDH 检测试剂盒说明书中公式计算各组 NK 细胞的杀伤活性。

1.5 实时荧光定量 PCR 检测舒尼替尼对 HepG2 细胞 NKG2DLs mRNA 表达的影响

收集 1 μmol/L 舒尼替尼孵育 24 h 前后的 HepG2 细胞, 分为 2 组: HepG2 细胞未处理组、HepG2 细胞药物处理组, 用 RNA 试剂盒提取细胞总 RNA, 电泳鉴定 RNA 纯度, 反转录合成 cDNA。实时荧光定量 PCR 反应: SYBR 反应体系总体积为 100 μl, 反应条件, 94 °C、5 min, 94 °C、45 s, 60 °C、1 min, 30 个循环, 同时设空白对照。PCR 反应前 3 ~ 15 个循环的荧光信号作为荧光本底信号, 调节基线至适宜处, 各荧光曲线与基线交叉点的循环数即为 Ct 值。根据公式 $\Delta Ct = Ct_{目的基因} - Ct_{\beta-actin}$ 和 $\Delta \Delta Ct = 2^{-\Delta Ct}$, 计算检测基因的 mRNA 相对表达量, 每组重复 3 次并取平均值。所检测的 HepG2 细胞 NKG2DLs PCR 引物序列见表 1。

1.6 统计学处理

采用 SPSS15.0 软件进行统计学处理。各组细胞中 NKG2DLs 表达率、NK 细胞杀伤活性和 NKG2DLs mRNA 表达量均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用配对 t 检验和单因素方差分析, P < 0.05 表示差

异具有统计学意义。

表 1 NKG2DLs mRNA 引物序列
Tab.1 Primers of NKG2DLs genes

Gene	Primer	Sequence	Size (bp)
MICA	Sense	5'-GTGCCCCAGTCTCCAGAGCTCAG-3'	635
	Antisense	5'-GTGGCATCCCTGTGGTCACTCGTC-3'	
MICB	Sense	5'-GGCGTCAGGATGGGCTATCTTTGA-3'	690
	Antisense	5'-GGCAGGAGCAGTCTGAGTTTGCC-3'	
ULBP1	Sense	5'-CTGAGGCCAGGATGTCTTGTGAG-3'	319
	Antisense	5'-TGAGGGTGGTGGCCATGGCCTTGG-3'	
ULBP2	Sense	5'-ATGACAAGGTGTGGCCATG-3'	349
	Antisense	5'-CTGGAGGCCACTGGACATAC-3'	
ULBP3	Sense	5'-CTGAGGTCAGGATGTCTTGTGAG-3'	321
	Antisense	5'-TGAGGGTGGTGGCTATGGCTTTGG-3'	

2 结果

2.1 成功分离高纯度的 NK 细胞

利用免疫磁珠分选后, 镜下观察 NK 细胞(图 1), 细胞较小, 呈圆形, 细胞形态良好。流式细胞仪检测结果(图 2)显示, 分选前 CD3⁻CD16⁺CD56⁺ NK 细胞表达率为(2.24 ± 0.37)%, 磁珠分选后为(78.30 ± 4.26)%, 证明分选后细胞纯度较高, 符合实验要求。



图 1 分选后 NK 细胞形态(×400)
Fig. 1 Morphology of NK cells after grading(×400)

2.2 舒尼替尼处理提高 NK 细胞对 HepG2 细胞的杀伤活性

LDH 释放测定法结果(图 3)显示: NK 细胞对 K562 细胞的杀伤活性随着效靶比升高而增强, 效靶比 10:1 时杀伤率为(36.41 ± 4.01)%, 效靶比 20:1

时则升至(52.33 ± 5.50)%, 说明分选得 NK 细胞具有正常杀伤能力。靶细胞经舒尼替尼处理后, 在效靶比为 10:1、20:1 时, NK 细胞对 HepG2 细胞的杀伤活性由处理前的(9.47 ± 1.11)%、(20.45 ± 1.94)% 上升到(28.88 ± 1.23)%、(44.93 ± 1.57)%; 同一效靶比时, 不同处理组间的杀伤率有显著性差异(ANOVA for factorial analysis, $F = 13.65, P = 0.000$)。

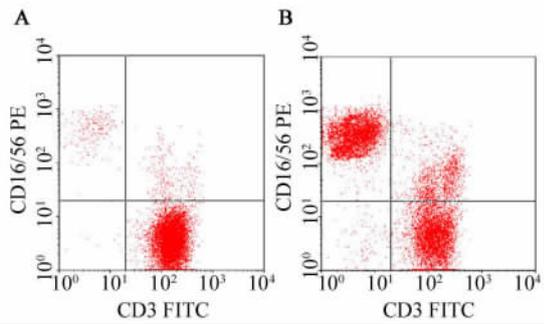


图 2 分选前(A)后(B)NK 细胞的纯度检测
Fig. 2 Detection of the purity of NK cells before(A) and after(B)grading

2.3 舒尼替尼处理提高 HepG2 细胞 NKG2DLs 的表达率

流式细胞术分析结果(图 4)显示, 未经舒尼替尼处理的 HepG2 细胞 NKG2DLs 的 MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3 表达率分别为(4.94 ±

0.92)%、(3.10 ± 1.22)%、(4.16 ± 0.39)%、(33.62 ± 2.83)%、(3.92 ± 0.69)%; 经舒尼替尼处理后表达率明显升高, 分别为(27.65 ± 5.06)%、(28.62 ± 2.97)%、(12.06 ± 1.80)%、(89.32 ± 7.58)%、(12.77 ± 1.29)%, 以 MICA、MICB、ULBP2 升高最明显。处理前后差异有明显统计学意义(ANOVA for factorial analysis, $F = 17.73, P = 0.000$)。

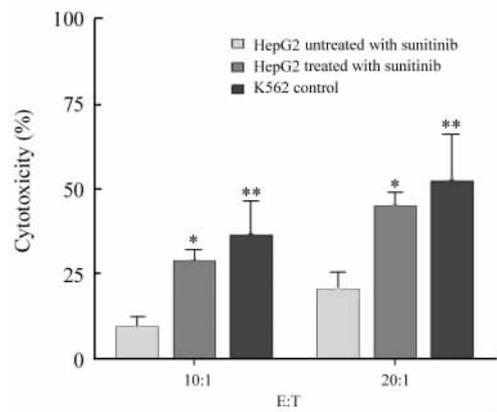


图 3 舒尼替尼处理前后不同效靶比 NK 细胞对 HepG2 及 K562 细胞的杀伤活性
Fig. 3 Cytotoxicity of NK cells against HepG2 and K562 cells before and after treatment with sunitinib at different ratios of E:T

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs HepG2 untreated group

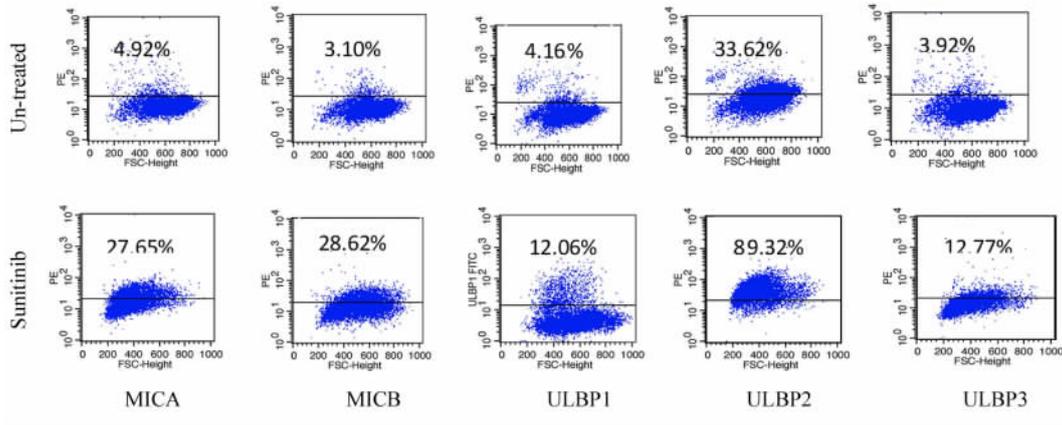


图 4 舒尼替尼升高 HepG2 细胞 NKG2DLs 表达率(%)

Fig. 4 Expression rates of NKG2DLs on HepG2 cells increased by sunitinib(%)

2.4 舒尼替尼处理促进肿瘤细胞 NKG2DLs mRNA 的表达

实时荧光定量 PCR 检测结果(表 2)显示, 在 NKG2DLs mRNA 组中, 未经舒尼替尼处理的 HepG2

细胞的 MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3 mRNA 表达水平分别为(1.00 ± 0.06)、(1.00 ± 0.08)、(1.00 ± 0.09)、(1.03 ± 0.07)、(1.00 ± 0.13), 而经舒尼替尼处理后, 主要是 MICA、MICB、ULBP2 等三

种 *NKG2DLs* mRNA 表达水平明显升高, 表达水平分别为(1. 63 ± 0. 09)、(1. 44 ± 0. 16)和(1. 84 ± 0. 20), 处理前后 *NKG2DLs* 表达差异有统计学意义

(ANOVA for factorial analysis, $F = 62. 628, P = 0. 000$)。

表 2 舒尼替尼处理前后靶细胞 *NKG2DLs* mRNA 表达水平($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Expressions of *NKG2DLs* mRNA on targets cells before and after incubation with sunitinib ($\bar{x} \pm s$)

Group	<i>MICA</i>	<i>MICB</i>	<i>ULBP1</i>	<i>ULBP2</i>	<i>ULBP3</i>
Untreated	1. 00 ± 0. 06	1. 00 ± 0. 08	1. 00 ± 0. 09	1. 03 ± 0. 07	1. 00 ± 0. 13
sunitinib	1. 63 ± 0. 09*	1. 44 ± 0. 16*	0. 84 ± 0. 02	1. 84 ± 0. 20*	0. 99 ± 0. 21

* $P < 0. 05$ vs untreated group

3 讨论

晚期肝癌患者身体机能状态差, 惧怕放化疗, 不能承受放化疗及介入治疗带来的并发症, 因此, 需要寻找不良反应少并且不同于放化疗杀瘤机制的治疗方法。舒尼替尼作为小分子多靶点酪氨酸激酶抑制剂, 通过抑制肿瘤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, 如 C-Kit)、胶质细胞源性神经营养因子受体 RET 和人 FMS 样酪氨酸激酶 3 (human FMS-like tyrosine kinase 3, FLT3) 等酪氨酸激酶而阻断 Ras/Raf/MEK/ERK、PI3K-AKT-mTOR 信号通路, 从而抑制肿瘤细胞的生长、增殖和转移^[7]。但是由于疗效差于索拉非尼及不良反应大, 被迫停止 III 期临床试验。研究者再将舒尼替尼用量从标准的 50 mg/d 降低到 37. 5 mg/d, 其目的是减少治疗相关并发症, 并再与索拉非尼作对照研究, 两者的总生存期(overall survival, OS)分别为 7. 9 个月和 10. 2 个月, 无进展生存期(progression-free survival, PFS)分别为 3. 6 个月和 3. 0 个月, 疾病进展时间 (time to progression, TTP) 分别为 4. 1 个月 vs 3. 8 个月, 虽并发症减少, 但疗效仍劣于索拉非尼^[8-10]。因此, 减量后的舒尼替尼治疗晚期肝细胞癌疗效不佳, 但与 NK 细胞联合是一种新的治疗选择。

NK 细胞作为机体天然免疫的主要承担者, 是机体防御肿瘤的重要效应细胞。NK 细胞可以通过“内识别”的方式直接识别恶性转化的肿瘤细胞并被激活^[11]。所谓“内识别”就是 NK 细胞自身的活化性受体(*NKG2D*、*NCR*、*CD16*、*CD94*、*CD2 family*、 $\beta 1/\beta 2$ integrins *DNAM-1* 等) 与肿瘤细胞的活化性配体 (*MICA/B*、*ULBP_{1,6}*、*HLA-C/E*、*CD48*、*NTBA*、

ICAM-1/2、*CD112*、*CD115*、*CD70* 等) 结合, 不受 MHC 类分子限制, 直接激活 NK 细胞, 通过分泌 *INF- γ* 、颗粒酶及穿孔素直接杀伤肿瘤细胞^[12-14]。在 NK 细胞表面受体配体当中, *NKG2D* (natural killer group 2 member D, *NKG2D*) 受体及其配体 (*MICA/B*、*ULBP1-6*) 在活化 NK 细胞过程中占非常重要地位^[15]。体外多种因素, 如化疗药物、细胞因子、分子靶向药物、电离辐射等能调节 NK 细胞与靶细胞活化性配受体的表达, 从而提高 NK 细胞杀伤活性^[16-17]。

研究^[18-19]发现, 硼替佐米、脱氧氮杂胞苷等药物可诱导肝癌细胞株 HepG2 表达 *MICA/MICB*, 增强肿瘤细胞对 NK 细胞的杀伤敏感性, 其分子机制可能与药物导致肿瘤细胞 DNA 损伤, 引起 DNA 损伤修复反应, 激活 *NF- κ B* 信号转录因子, 从而诱导肿瘤细胞表达 *NKG2DLs* 有关, 但舒尼替尼在肝细胞癌细胞株中是否有类似作用仍未见报道。本研究中, 舒尼替尼处理肝癌 HepG2 细胞前后, 其 *NKG2DLs* 表达有明显差异, 主要表现在肿瘤细胞被药物处理后 *MICA*、*MICB* 和 *ULBP2* 升高, 导致 NK 细胞对 HepG2 细胞的杀伤活性增强, 后续的实时荧光定量 PCR 试验佐证了舒尼替尼处理肝癌 HepG2 细胞后 *MICA*、*MICB* 和 *ULBP2* 基因 mRNA 表达水平明显升高。

综上所述, 舒尼替尼作为小分子多靶点酪氨酸激酶抑制剂, 可以阻断 HepG2 细胞增殖信号通路, 诱导细胞凋亡, 起到抑制肿瘤作用; 另外一方面, 舒尼替尼可以诱导 HepG2 细胞表达 NK 细胞活化性配体 (*MICA*、*MICB* 和 *ULBP2*), 与 NK 细胞表面 *NKG2D* 受体结合, 激活 NK 细胞的杀伤活性。因此, 舒尼替尼联合 NK 细胞能够协同杀伤肝癌细胞, 但舒尼替尼通过哪些信号通路及关键分子诱导肿瘤细胞 *NKG2DLs* 表达, 有待下一步实验研究。

[参考文献]

- [1] Ashtari S, Pourhoseingholi MA, Sharifian A, et al. Hepatocellular carcinoma in Asia: prevention strategy and planning [J]. *World J Hepatol*, 2015, 7(12): 1708-1717.
- [2] Tejada-Maldonado J, García-Juárez I, Aguirre-Valadez J, et al. Diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma: an update [J]. *World J Hepatol*, 2015, 7(3): 362-376.
- [3] Chen J, Gao J. Advances in the study of molecularly targeted agents to treat hepatocellular carcinoma [J]. *Drug Discov Ther*, 2014, 8(4): 154-164.
- [4] 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.
- [5] Bertino G, Di Carlo I, Ardiri A, et al. Systemic therapies in hepatocellular carcinoma: present and future [J]. *Future Oncol*, 2013, 9(10): 1533-1548.
- [6] Huang Y, Wang Y, Li Y, et al. Role of sorafenib and sunitinib in the induction of expressions of NKG2D ligands in nasopharyngeal carcinoma with high expression of ABCG2 [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2011, 137(5): 829-837.
- [7] Lee CH, Motzer RJ. sunitinib as a paradigm for tyrosine kinase inhibitor development for renal cell carcinoma [J]. *Urol Oncol*, 2015, 33(6): 275-279.
- [8] Ahn HK, Lee S, Sun JM, et al. Sequential therapy with sunitinib and sorafenib in metastatic hepatocellular carcinoma [J]. *Invest New Drugs*, 2012, 30(4): 1768-1772.
- [9] Santoni M, Conti A, De Giorgi U, et al. Risk of gastrointestinal events with sorafenib, sunitinib and pazopanib in patients with solid tumors: a systematic review and meta-analysis of clinical trials [J]. *Int J Cancer*, 2015, 135(4): 763-773.
- [10] Faloppi L, Scartozzi M, Maccaroni E, et al. Evolving strategies for the treatment of hepatocellular carcinoma: from clinical-guided to molecularly-tailored therapeutic options [J]. *Cancer Treat Rev*, 2011, 37(3): 169-177.
- [11] 田志刚. 基于 NK 细胞的肿瘤免疫治疗研究进展 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2009, 16(1): 2-5.
- [12] Sungur CM, Murphy WJ. Positive and negative regulation by NK cells in cancer [J]. *Crit Rev Oncog*, 2014, 19(1/2): 57-66.
- [13] Li Y, Mariuzza RA. Structural basis for recognition of cellular and viral ligands by NK cell receptors [J]. *Front Immunol*, 2014, 26(5): 123-140.
- [14] 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.
- [15] Carboni 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.
- [16] 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.
- [17] Gras Navarro A, Björklund AT, Chekenya M. Therapeutic potential and challenges of natural killer cells in treatment of solid tumors [J]. *Front Immunol*, 2015, 29(6): 1-8.
- [18] Armeanu S, Krusch M, Baltz KM, et al. Direct and natural killer cell-mediated antitumor effects of low-dose bortezomib in hepatocellular carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(11): 3520-3528.
- [19] 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.

[收稿日期] 2015-09-06

[修回日期] 2015-11-04

[本文编辑] 黄静怡

· 读者 · 作者 · 编者 ·

热烈庆贺本刊连续三次被评为“中文核心期刊”

提高期刊的综合质量和学术影响力,建设一流水平的名牌期刊是期刊建设永恒的主题,也是所有办刊人孜孜以求的奋斗目标。前不久期待已久的我国第七批“中文核心期刊”名单正式揭晓,据 2014 年版《中文核心期刊要目总览》公布的评价结果显示,我国正式出版全部期刊为 9 878 种,评出核心期刊 1 983 种(占 20.07%)。其中人文社科类核心期刊 740 种(占 37.32%),科学技术类核心期刊 1243 种(占 62.68%)。在科技类核心期刊中,医药卫生类核心期刊共 250 种,占总数的 20.11%,其中临床医学分类中的肿瘤学核心期刊共 9 种,它们是《中华肿瘤杂志》、《肿瘤》、《中国肿瘤生物治疗杂志》、《中华放射肿瘤学杂志》、《中国肿瘤临床》、《中国癌症杂志》、《肿瘤防治研究》、《中国肺癌杂志》、《中华肿瘤防治杂志》。

《中国肿瘤生物治疗杂志》从 2008 年开始,连续三次被评为中文核心期刊,而且其核心期刊表中的排序名次从 2008 年版和 2011 年版的第六和第五名上升到了 2014 年版的第三名。本刊所以能取得这样的成绩,离不开肿瘤防治领域的广大专家教授、读者、作者的支持和帮助!成绩和荣誉是鞭策编辑部人员再接再厉、开拓进取的动力,我们定会发奋努力,不断创造新的业绩,以回报广大肿瘤防治工作者的厚爱和支持!

(本刊编辑部)