

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.03.023

· 转化医学 ·

## NK 细胞抗肿瘤临床转化研究进展

### Research progress of the clinical transplation in NK cells against tumor

王志华(哈尔滨医科大学 肿瘤防治研究所,黑龙江 哈尔滨 150040; 合肥凤凰肿瘤医院 生物免疫治疗中心,安徽 合肥 230000)

[摘要] NK 细胞是过继免疫治疗(adoptive immunotherapy, AIT)肿瘤中的一种独特免疫效应细胞,具有短期内大量增殖、调节机体免疫力、抗肿瘤、抗菌、抗病毒、抗衰老等特点,受到普遍关注,临床应用也显示出巨大潜力和广阔前景。本文仅就国际上有关 NK 细胞抗肿瘤生物学机制、培养和扩增方法、免疫调节作用,以及 NK 细胞和其他临床肿瘤治疗方法的联合应用,特别是近几年抗肿瘤临床转化的研究现状和进展作一简要综述,并对目前国际上 NK 细胞治疗中存在的问题和对策进行了有益的探讨。

[关键词] 肿瘤;免疫治疗;自然杀伤细胞;临床应用;转化医学

[中图分类号] R730.51

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-385X(2016)03-0419-08

NK 细胞是独立于 T、B 细胞的第三类淋巴细胞亚群,是机体重要的免疫细胞,不仅与抗肿瘤、抗病毒感染和免疫调节有关,而且在某些情况下参与超敏反应和自身免疫性疾病的发生。NK 细胞杀伤的靶细胞主要是肿瘤细胞、病毒感染细胞、较大的病原体(如真菌和寄生虫)、同种异体移植的器官与组织等。近年来发现,NK 细胞也与其他多种人类疾病关系密切,具有潜在的应用价值。本文仅就国内外最新报道的 NK 细胞在临床使用中的采集、活化、扩增及抗肿瘤临床转化的应用进展进行简要综述。

### 1 NK 细胞的杀瘤机制及安全性

#### 1.1 NK 细胞的杀瘤机制

“肿瘤免疫监视理论”认为,免疫系统能识别和消除自发产生的肿瘤细胞,从而保护宿主免受癌细胞侵袭。NK 细胞包括两个独立的大颗粒淋巴细胞群,其中的 CD56<sup>bright</sup> 亚群占循环 NK 细胞的 10%,更具增生性和产生更多的细胞因子,如 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\beta$ 、GM-CSF、IL-10 和 IL-13;绝大多数人类 NKCD56<sup>dim</sup> 细胞(90%)通过抗体依赖细胞介导的细胞毒作用(ADCC)和产生微量的细胞因子。静止的 CD56<sup>dim</sup> 细胞比 CD56<sup>bright</sup> NK 细胞细胞毒性更强;CD56<sup>bright</sup> 亚群识别靶细胞之后可产生重要的趋化因子和细胞因子。NK 细胞一旦被活化,其增殖能力明显提高,并可增强细胞因子分泌、黏附分子表达以及细胞毒活性<sup>[1-2]</sup>,NK 细胞亦能清除体内受损的细胞、肿瘤细胞和被病毒感染的细胞。NK 细胞的细胞毒性大部分是由释放的穿孔素(perforin)和颗粒

酶(granzyme)直接产生。穿孔素可诱发凋亡颗粒进入细胞,并激活半胱天冬酶系统的内在途径。杀伤靶细胞的另一个机制是通过 NK 细胞表达的相应配体和靶细胞表达的死亡受体之间的相互作用。Fas-Fas 配体和 TNF 相关凋亡诱导配体(TNF-related apoptosis-inducin ligand, TRAIL)通过激活半胱天冬酶 8 和半胱天冬酶 9 的途径诱导肿瘤细胞凋亡<sup>[3-4]</sup>。此外,NK 细胞可以通过 CD16(FcR $\gamma$  III)调解 ADCC。目前认为,许多成功的治疗性抗体通过 Fc 受体多态性确定结合信号的强度可以预测 ADCC 及 NK 细胞对特异性靶细胞的反应性,NK 细胞激活和抑制受体的平衡决定了细胞溶解作用能否发生<sup>[5-7]</sup>。抑制性受体,包括 CD94 / NKG2A 成员的高度多态杀伤细胞 Ig 类似受体成员(members of the highly polymorphic killer cell-Ig-like receptor, KIR)和 ILT2/LIR-1/CD85<sup>[8-10]</sup>。

#### 1.2 NK 细胞临床治疗的安全性

Geller 等<sup>[11]</sup>治疗了 20 例乳腺癌和卵巢癌患者,回输 NK 细胞后个别患者出现缺氧、呼吸困难、发热、血压升高、疲乏、恶心和一过性淋巴细胞综合征。

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 39270765);黑龙江省自然科学基金资助项目(No. D201171)。Project Supported by the National Natural Science Foundation of China(No. 39270765), and the Natural Science Foundation of Heilongjiang Province(No. D201171)

[作者简介] 王志华(1951-),男,黑龙江省哈尔滨市人,研究员、教授、主任医师,主要从事肿瘤生物治疗基础及临床应用研究,E-mail: hljwzh000@163.com

Miller 等<sup>[12]</sup>报道 19 例急性髓细胞性白血病(acute myelocytic leukemia, AML)患者回输 NK 细胞后,个别患者出现恶心、失眠、呕吐和中风症状。除以上少数报道外,大部分报道则认为 NK 细胞治疗较为安全。

瑞典卡罗林斯卡大学医学院开发了一个临床级 NK 和 T 细胞扩增的培养系统<sup>[13]</sup>,将培养的异体细胞单独或与 IL-2 合并回输并进行了癌症患者的临床治疗的安全评价。5 例观察对象中,1 例肝癌患者血清甲胎蛋白水平显著下降,没有观察到急性移植抗宿主病(graft versus host disease, GVHD)发生。Jeffrey 等<sup>[14]</sup>用杀伤细胞免疫球蛋白样受体-人类白细胞抗原(KIR-HLA)相合 NK 细胞和大剂量 IL-2 (100 万 U/m<sup>2</sup>)联合环磷酰胺与氟达拉滨化疗进行小儿 AML 临床治疗研究,探讨其安全性和可行性。结果证明,该疗法非血液学毒性有限,无 GVHD 发生。在患儿住院及随访时间(569 ~ 1 162 d),所有患者均为缓解期,2 年无症状生存率为 100% (95% CI, 63.1% ~ 100%)。意大利学者的研究<sup>[15]</sup>也证明了 AML 患者 NK 细胞输注的安全性和可行性。研究<sup>[16]</sup>发现,热激蛋白 70 (HSP70)经常在肿瘤细胞中过度表达, NK 细胞能杀死膜阳性(mHSP70)肿瘤细胞。一项针对膜阳性肿瘤患者以铂类为基础的化疗与 IL-2 活化的自体 NK 细胞输注的 I-II 临床研究项目已经启动。该研究的重点是观察 NK 细胞治疗 mHSP70 阳性肿瘤患者的疾病无进展生存期、总生存期、生活质量和生物毒性。笔者<sup>[17]</sup>用 NK 细胞治疗实体瘤 80 余例,回输的 NK 细胞数为(1.5 ~ 2.0) × 10<sup>9</sup>/例, IL-2 30 万 ~ 50 万 IU/例 × 5 次,除个别患者出现一过性头痛、发热、关节痛等类感冒症状外,并未观察到严重的毒副作用,而上述症状的出现亦不能排除和 IL-2 有直接的关系。

## 2 NK 细胞培养方法及影响因素

### 2.1 用于临床治疗的 NK 细胞的培养和扩增技术

目前国内外几种常见的 NK 细胞扩增方法包括用免疫磁珠分选、加入不同细胞因子进行扩增的技术,用病毒转化的淋巴母细胞、异体外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMC)或基因修饰(如 4-1BBL、IL-15 等)的 K562 作为饲养细胞(feeder cells)刺激 NK 细胞的扩增技术等,而用于扩增 NK 的初始细胞可以是 PBMC、脐带血或干细胞等。

近几年,几种 NK 细胞已经通过 cGMP 技术(Current Good Manufacture Practices, 即现行药品生

产管理规范)从临床前研究转入临床研究,它需要客观的评价标准,以保证 NK 细胞从所用的培养材料、技术和操作上都能够满足临床治疗的要求。大多数 NK 细胞采用 PBMC 经 cGMP 技术及血液成分分离程序来获得,要求在一个封闭系统内无菌收集细胞,以减少产物污染的可能性,由于操作过程会导致 NK 细胞的部分丢失,通常采用以下几种方法来保证获得足够数量的 NK 细胞<sup>[18-19]</sup>。

2.1.1 饲养细胞 研究<sup>[20-23]</sup>表明, PBMC 作为饲养源细胞可通过体液信号和细胞间接触提供刺激信号,此外自体细胞,如 Epstein-Barr (EB)病毒转化的淋巴母细胞株和一个白血病细胞株可以通过膜结合形式融合到 T 细胞 CD8a 和 41BB 配体并表达 IL-15。同种异体或异基因的饲养细胞需经放射处理,而自体 NK 细胞因在前期 PBMC 提取过程中已经去除了 T 细胞则无需进行放射处理。

2.1.2 脐带血(umbilical cord blood, UCB) 近来有研究<sup>[24-25]</sup>表明, cGMP 级别的同种异体脐带血无需饲养细胞刺激也能扩增达到临床要求的数量,如此获得的 NK 细胞产品无论在活性、细胞表型、纯度、无菌等方面均能达到标准。由于它的基因型和同种异体急性髓细胞白血病骨髓移植基因型相符,所以是临床 NK 细胞免疫治疗比较合适的选择。

2.1.3 NK 细胞株 人的 NK-92 来自霍奇金淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma)患者,是人工建立的细胞株,它具有 IL-2 依赖性,但缺乏 KIRs,对各种血液病细胞和实体瘤细胞具有强力细胞毒性,可作为同种异体 NK 细胞来源,成为 cGMP 级别的细胞治疗产品。事实证明,应用 NK-92 细胞建立主细胞库来制造细胞治疗的产品是一个诱人的选项,因为细胞来源和细胞质量完全标准化。Arai 等<sup>[26]</sup>发表了第一阶段试验成果,表明 NK-92 细胞在培养 15 ~ 17 d 时平均扩增 200 倍, NK 细胞的存活率 ≥ 80%, 治疗后 2 个患者肿瘤体积缩小。Cheng 等<sup>[27]</sup>建立了一个新的人类 NK 细胞系,称为 NKG,来源于一中国男性非霍奇金淋巴瘤患者。NKG 表达较高的细胞黏附分子(CD2、CD58、CD11a、CD54、CD11b、CD11c),一组激活受体(NKp30、NKp44、NKp46、NKG2C、NKG2D)和细胞溶解相关受体分子(FasL granzyme B、穿孔素、IFN-γ)。该细胞可显著抑制肿瘤的生长,降低死亡率,延长生存时间,是一种很有前景的过继免疫治疗的候选细胞。

2.1.4 细胞因子对 NK 细胞的诱导作用 目前, IL-2 被广泛用于 cGMP 级别的 NK 细胞治疗方法中, IL-15 则在不同的方法中被选择性应用。研究<sup>[28-29]</sup>

表明,IL-2 和 IL-15 共同培养 NK 细胞比 IL-2 单独培养提高了 1.9 倍,提示在培养体系中加入 IL-15 可以起到提高 NK 细胞数量及产品优化的作用。除了 NK 细胞的来源外,细胞密度、细胞因子、培养的容器等对 NK 细胞产品的数量和疗效也有重要影响。NK 细胞培养过程比较昂贵和费力、费时,需要一个标准的实验室与 GMP 设备一起来完成细胞的处理与操作<sup>[30-32]</sup>。2011 年美国及新西兰学者<sup>[33]</sup>提出了应用生物反应器获得临床治疗的 NK 细胞质控标准,该方法加入 SCF,应用细胞因子 IL-2、IL-7、IL-12 共同诱导,每次培养细胞可扩增 2 100 倍(1 435 ~ 2 657 倍),CD56<sup>+</sup> CD3<sup>-</sup> NK 纯度达到(92 ± 2)% ,收获的 NK 细胞总数为(1.6 ~ 3.7) × 10<sup>9</sup> 个,且细胞表面显示高表达的活化受体如 CD314 (NKG2D) 和 NCRs (CD337、CD336 和 CD335)。

**2.1.5 其他因素** 无论是 PBMC 还是 UCB,在生产的前期过程中都需要进行细胞分选,临床等级的 NK 细胞产品要求去除 T 细胞,因为 T 细胞能够像 NK 细胞一样对类似的刺激分子发生反应,导致严重的毒副作用。应用免疫磁珠技术是最常用的去除 T 细胞的技术,在密闭的状态下,将抗 CD3 结合到磁性的纳米颗粒和起始细胞产品,然后暴露到强烈的磁场回收 CD3 阳性细胞,再从 T 细胞中分离 NK 细胞产品。免疫磁珠技术也用来去除 CD19 阳性 B 细胞、CD33 阳性骨髓细胞和 CD4 阳性 T 细胞。另外,B 细胞对 NK 细胞扩增、生存或细胞活性并无益处,一旦输入污染 B 细胞的 NK 细胞甚至还会引起严重的淋巴细胞综合征,因此作为安全的细胞产品,去除 B 细胞也显得尤为重要。有趣的是,纯粹的 NK 细胞对治疗来说可能并不是最有效的,这或许与 NK 细胞生理学变化或细胞因子影响以及其他细胞(如单个核细胞)相互反应有关。

培养过程中会有大量的可变因素影响到 NK 细胞质量,在进行 NK 细胞临床试验的过程中应积极探索这些因素对细胞纯度、活性和安全性的影响,以便获得可再生产的良好的 NK 细胞产品。

### 3 NK 细胞治疗肿瘤的临床转化现状

#### 3.1 临床试验进展

应用 NK 细胞治疗实体肿瘤的临床试验起步较早,目前已经有了很多临床病例,而造血干细胞移植的治疗结果有所改善,但疾病复发已成为治疗失败的最重要原因。细胞治疗不仅在造血干细胞移植治疗后起到预防疾病复发、缓解病情的作用,还可合并治疗恶性血液病高危患者。Scotta 等<sup>[34]</sup>将国际上近

年发表的用 NK 细胞治疗白血病和实体肿瘤的方法和临床疗效共 11 组资料加以回顾、归纳和总结,主要内容摘录如下,以期通过此线索使国内同行更好的了解国际上本领域的研究脉络、动向及进展。

Curti 等<sup>[35]</sup>治疗了 13 例 AML 患者,其中 1 例缓解,6 例完全缓解,3 例无病生存。Miller 等<sup>[36]</sup>治疗了 19 例 AML 成人患者(PBMNC 中去除了 CD3<sup>+</sup> T 细胞,回输细胞数为 1 × 10<sup>6</sup> ~ 2 × 10<sup>7</sup>),5 名患者完全缓解,但有 1 例患者发生了 EB 病毒引起的难治性淋巴组织增生症。Rubnitz 等<sup>[37]</sup>治疗了 10 例缓解期的 AML 患者(9 名成人、1 名儿童,回输细胞数 5.2 × 10<sup>6</sup> ~ 80.9 × 10<sup>6</sup>/kg),未发生任何并发症,全部患者缓解期达到 2 年以上。有学者<sup>[26]</sup>用 NK-92 细胞治疗了 11 例肾细胞癌患者和 1 例黑色素瘤患者,回输的细胞数为 3 × 10<sup>9</sup>/m<sup>2</sup>,其中 2 例患者获得疗效。Brehm 等<sup>[38]</sup>用 NK 细胞(6 × 10<sup>6</sup> ~ 45.1 × 10<sup>6</sup>/kg)治疗 4 例神经母细胞瘤、1 例急性淋巴细胞性白血病,2 例重度神经母细胞瘤患者生存期达到 2 年。Barkholt 等<sup>[39]</sup>应用同种异体的 NK 细胞,用 IL-2 和 OKT3 刺激活化,回输的细胞数为 1 × 10<sup>6</sup> ~ 10 × 10<sup>6</sup>/kg 治疗肝细胞癌、结肠癌、肾细胞癌和慢性淋巴细胞性白血病,结果肝细胞癌患者病情稳定,其他患者未见到明显疗效。以上 6 组资料证明 NK 细胞疗效肯定,其他 5 组资料未观察到明显治疗效果。

加拿大、德国和美国最近发现溶瘤病毒(oncolytic virus,OV)可选择性地感染肿瘤细胞导致肿瘤细胞炎症反应,促进 NK 细胞活化,启动先天性和过继性免疫反应。减毒的病毒疫苗能够刺激 NK 细胞并减少在围手术期间的肿瘤转移<sup>[15]</sup>。另据报道,由美国国立卫生研究院临床中心(CC)和国家癌症研究所(NCI)开展的临床试验:NK 细胞协同同种异体外周血干细胞移植治疗小儿实体肿瘤和白血病患者的研究课题(No. NCT01287104)已于 2014 年 4 月如期启动。

国内应用 NK 细胞抗肿瘤的基础研究较多见,效果获得肯定,但临床试验鲜有报道。杨孟寅等<sup>[40]</sup>报道由术后 11 个月复发的脑胶质瘤患者 PBMC 诱导产生 NK 细胞,经过 5 次静脉回输治疗后,MRI 影像学上显示颅内复发脑胶质瘤消失,并较好地改善了患者的生活质量。

#### 3.2 NK 细胞和其他临床治疗方法的联合应用

**3.2.1 NK 细胞与细胞因子联合** 有几种常见细胞因子如 IL-2、IL-15、IL-21、IL-12 等能够较好地活化 NK 细胞。IL-2 增加 NK 细胞的体外细胞毒性,可抑制肿瘤细胞生长,已在转移性黑色素瘤患者或肾细

胞癌获得证实;IL-12 和 IL-18 结合可以强力的触发 IFN- $\gamma$  表达,而 IL-15 已被证明可以最有效地刺激 NK 细胞免疫应答<sup>[41-44]</sup>。笔者课题组研究<sup>[45]</sup>提示,IL-12 可协同 IL-2 发挥作用,提高 NK 细胞的扩增及杀伤水平。对非人类灵长类动物测试证明,IL-15 和 IL-2 有类似作用,间歇性投给 IL-15 的研究已经在临床开展。单克隆抗体可通过免疫球蛋白 Fc 受体刺激 NK 细胞分泌 IFN- $\gamma$ ,实验证明 CD20 表达可促进 NK 细胞活性,而阻断 CD16 单克隆抗体则 IFN- $\gamma$  的产生会受到抑制<sup>[46-47]</sup>。IL-18 对 NK 细胞的作用是通过 IgG 或 CD16 增强 IFN- $\gamma$  产生<sup>[48]</sup>。IL-32 $\alpha$  通过上调 Fas 和 UL16 结合蛋白(ULBP2)表达,增加慢性粒细胞性白血病细胞对 NK 细胞的敏感性,从而提高 NK 细胞免疫疗法的治疗作用<sup>[49]</sup>。

3.2.2 NK 细胞与抑制性受体联合 研究<sup>[50-53]</sup>证实,除了增加刺激 NK 细胞活性的方法外,抑制 NK 细胞受体可能是抗肿瘤治疗的另一个举措。黑色素瘤患者的临床 I 期试验阶段,约半数患者可观察到 NKG2D 依赖的 NK 细胞反应性升高。一些化疗药物可以抑制可溶性 NKG2D 配体,还有学者提出 NK 细胞治疗可以结合放射治疗,因为辐射引起的 DNA 损伤反应可以增加 NK 活化配体(如 NKG2DL)的表达。另据报道<sup>[54-56]</sup>,针对特定的肿瘤抗原 CD20 或 ErbB2 的转基因细胞可以增加 NK 细胞毒性。阻塞 Ly49 抑制性受体增强体内外抗肿瘤活性的 I 期临床试验和应用封闭 KIR 抗体的 II 期临床试验正在进行中。

3.2.3 NK 细胞与单克隆抗体性药物联合 近年来,陆续问世的以肿瘤为靶向的单克隆抗体性药物可诱导 NK 细胞通过细胞介导细胞毒性和 NK 细胞的快速脱颗粒导致肿瘤细胞的破坏。研究<sup>[54,57-58]</sup>表明,CD20(美罗华)、HER2/neu(trastuzumab、herceptin)、靶向 EGFR(HER1)的表皮生长因子受体(西妥昔单抗)或双唾液酸神经节苷脂(阻止 GD2)单克隆抗体通过细胞介导的细胞毒性在一定程度上显示出临床疗效。此外,在 IL-12 结合曲妥单抗 I 期临床试验中也观察到抗肿瘤免疫反应增强。Diessner 等<sup>[59]</sup>假设抗体绑定 HER2 阳性乳腺癌细胞,协同应用两种不同 HER2-specific 抗体、trastuzumab、帕妥珠(pertuzumab)可能会进一步提高 ADCC;体外结果证明免疫治疗通过 trastuzumab 和 pertuzumab 的组合应用程序可获得更好的临床研究成果,显示一个更强的 ADCC 效应。接受错配的配体(KIR)并去除 T 细胞的同种移植的多发性骨髓瘤(multiple myeloma,MM)患者会减少复发的危险,提示表达此信

号的 NK 细胞对 MM 至关重要。IPH2101(1-7F9,纯化小鼠抗人 P-glycoprotein 单抗试剂)为一种抗 KIR 抑制性单克隆抗体,能通过封闭结合配体抑制性 KIR、增加 NK 细胞抗自身 MM 细胞的能力,促进免疫复合物形成和 NK 细胞特异细胞毒性。雷利度安(lenalidomide)增强 NK 细胞功能并且上调 NK 细胞受体的配体表达。临床数据<sup>[60]</sup>显示,使用 1-7F9 和 lenalidomide 治疗 MM 的 II 期临床试验也取得了预期的效果。最近,来自德国和澳大利亚的一个前瞻性的试验(RELAZA1 研究)<sup>[61]</sup>提示,用地西他滨(5-aza-2 deoxycytidine,DCA)预先治疗微小残留病(minimal residual disease,MRD),能够有效防止或者至少延迟血液病复发患者的骨髓增生异常综合征或急性髓系白血病后的同种异体造血干细胞移植(HSCT)。上皮生长因子受体的抑制剂——艾瑞莎(cyclosporine)或生物靶向治疗药物地尼白介素(denileukin diftitox,ONTAK)对免疫细胞也会产生影响。另有研究结果表明,Azacitidine 不影响免疫细胞 TNF- $\alpha$ 、IL-6 和 IL-12 细胞因子的分泌,但相比之下,IL-27 的分泌明显下降,会逆向导致 Th17 细胞活化受损,从而对 NK 细胞活性造成损伤,需在此类治疗中引起注意。截至目前,美国 FDA 批准的肿瘤靶向药物已达 26 项,作为辅助治疗手段新的抗体型药物在更多的进展期疾病中带来了令人振奋的结果,这些药物选择性地作用于肿瘤细胞或免疫细胞的某个靶点可直接或间接的提高抗肿瘤疗效。人们有理由推论,NK 细胞与靶向药物的联合将是未来肿瘤临床治疗的一个新的亮点。另外,DC 肿瘤疫苗接种也具有重要的作用,因为 DC 疫苗接种者 NK 细胞反应水平与临床反应密切相关,NK 细胞与抗原提呈细胞可协同增强免疫反应<sup>[39]</sup>。

## 4 展望

当前 NK 细胞治疗临床转化存在的问题或挑战如下:(1)癌症患者的自体 NK 细胞可能不正常、可能无法识别恶性的靶细胞及抑制 self-HLA 表达;(2)目前的 NK 细胞扩增数量比起其他免疫细胞(如 CIK)仍不甚理想;(3)涉及受体方面的基础理论学说错综复杂,应大力开发激活性受体和限制抑制性受体;(4)拓展临床治疗,引进新的治疗元素等。针对上述问题以及近年的研究动向,采用下述相应的对策或许有助于拓展新的视野,提升研究层次和提高治疗水平:(1)继续改进或寻找新的 NK 细胞扩增方法、提高临床输注 NK 细胞的质量,如通过 IL-15、IL-12、IL-18 等可促进 NK 细胞强力扩增,由

此改变单纯应用 IL-2 的传统方法。(2)过继免疫细胞治疗时, NK 细胞的增殖可能受到某些宿主因素的限制,例如来自骨髓及 Treg 细胞的抑制等,应进一步研究抑制 Treg 和 T 效应细胞方法。(3)进一步研究某些试剂或药物,如蛋白酶抑制剂,通过增加肿瘤细胞的死亡受体以提高 NK 细胞的细胞毒性。近几年的研究表明, NK 细胞受体众多,分工明确,各自分别传递活化性或抑制性信号,两者间的动态平衡是决定 NK 细胞功能状态的关键因素,这为优化 NK 细胞过继免疫治疗提供了新的学说及应用思路。(4)1-7F9 可以稳定地封闭 KIR,在体内外提高 NK 细胞介导的对 HLA 配型 AML 母细胞的杀伤。(5)新的数据提示,具有 KIR B/x 单体型供者比 KIR A/A 单体型供者能更好地防止 AML 复发,因此应进一步研究这些供者的个体因素,确定在实体瘤患者中是否有此因素的存在。(6)同种异体 NK 细胞有可能成为一个较好的 NK 细胞免疫治疗产品,可以借鉴类似 NK-92 细胞株的成功经验,研发新的细胞产品。(7)NK 细胞治疗和其他肿瘤经典疗法的结合,特别是和近些年飞速发展的分子靶向治疗的结合也应成为一个新的研究方向<sup>[61-69]</sup>。(8)Oyer 等<sup>[70]</sup>开发了一个基于粒子的方法,采用从 K562-mb21-41bbl 细胞膜制备的颗粒,表达 41bbl 和膜结合白介素-21(Pm21 颗粒),可以简单、有效地扩增 PBMC 来源的 NK 细胞。(9)利用基因转染的方法提高 NK 细胞高效率扩增的潜力及肿瘤靶向性,从而开发更有效的 NK 细胞过继性治疗<sup>[71]</sup>。

近来有关 CAR-NK 细胞的报道受到极大关注,这是一种经过基因改造的效应细胞,它可以根据肿瘤的类型直接扩增相关靶点的 CAR-NK 细胞,快速投入治疗,能够大大缩减治疗周期和治疗成本改变传统免疫治疗繁杂的模式,极有可能为肿瘤的治疗带来新的突破<sup>[72-73]</sup>。最近几年,国内外研究结果凸显了癌症免疫疗法的成功,继细胞免疫疗法获得 2011 年诺贝尔医学奖之后,著名的《Science》杂志评出了 2013 年最重大的十项科学突破,生物免疫治疗列该十项突破的首位<sup>[74]</sup>。目前,美国、日本、欧洲等国家和地区 NK 细胞治疗开展得较多,国内 NK 细胞治疗还远没有 DC-CIK 治疗应用的那么普遍<sup>[75]</sup>,本课题组开展并申报的 NK 细胞免疫治疗已被黑龙江省财政厅及卫生厅批准为正式疗法应用临床,预计会产生较大的社会和经济效益。

综上所述, NK 治疗与其他免疫细胞治疗经过近 20 年的曲折发展及临床实践,技术逐渐成熟,疗效也受到肯定,正发展为一种新的治疗方式、一门亚学科,

成为医学研究的重要课题和未来人类疾病治疗的新型手段。

## [参考文献]

- [1] FAURIAT C, LONG E O, LJUNGGREN H G, et al. Regulation of human NK-cell cytokine and chemokine production by target cell recognition [J]. *Blood*, 2010, 115(11): 2167-2176. DOI: 10.1182/blood-2009-08-238469.
- [2] NIELSEN N, ØDUM N, URSØ B, et al. Cytotoxicity of CD56<sup>bright</sup> NK cells towards autologous activated CD4<sup>+</sup> T cells is mediated through NKG2D, LFA-1 and TRAIL and dampened via CD94/NKG2A [J/OL]. *PLoS ONE*, 2012, 7(2): e31959 [2015-10-20]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0031959>. DOI: 10.1371/journal.pone.0031959.
- [3] HUNTINGTON N D, LEGRAND N, ALYES N L, et al. IL-15 trans-presentation promotes human NK cell development and differentiation in vivo [J]. *J Exp Med*, 2009, 206(1): 25-34. DOI: 10.1084/jem.20082013.
- [4] 王志华, 王贺元, 张彦, 等. A-NK 细胞培养及活化方法的改进 [J]. *中国免疫学杂志*, 2005, 21(6): 431-433.
- [5] LIU H, YANG B, SUN T, et al. Specific growth inhibition of ErbB2 expressing human breast cancer cells by genetically modified NK92 cells [J]. *Oncol Rep*, 2015, 33(1): 95-102. DOI: 10.3892/or.2014.3548.
- [6] LUDWIG H, DURIE B G, MCCARTHY P, et al. IMWG consensus on maintenance therapy in multiple myeloma [J]. *Blood*, 2012, 119(13): 3003-3015. DOI: 10.1182/blood-2011-11-374249.
- [7] BERGER C, BERGER M, HACKMAN R C, et al. Safety and immunologic effects of IL-15 administration in nonhuman primates [J]. *Blood*, 2009, 114(12): 2417-2426. DOI: 10.1182/blood-2008-12-189266.
- [8] SHI J, TRICOT G, SZMANIA S, et al. Infusion of haplo-identical killer immunoglobulin-like receptor ligand mismatched NK cells for relapsed myeloma in the setting of autologous stem cell transplantation [J]. *Br J Haematol*, 2008, 143(5): 641-653. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2008.07340.x.
- [9] RUGGERI L, MANCUSI A, CAPANNI M, et al. Donor natural killer cell allorecognition of missing self in haplo-identical hematopoietic transplantation for acute myeloid leukemia: challenging its predictive value [J]. *Blood*, 2007, 110(1): 433-440. DOI: 10.1182/blood-2006-07-038687.
- [10] SHORTT J, HSU A K, JOHNSTONE R W. Thalidomide-analogue biology: immunological, molecular and epigenetic targets in cancer therapy [J]. *Oncogene*, 2013, 32(36): 4191-4202. DOI: 10.1038/onc.2012.599.
- [11] GELLER M A, COOLEY S, JUDSON P L, et al. A phase II study of allogeneic natural killer cell therapy to treat patients with recurrent ovarian and breast cancer [J]. *Cytotherapy*, 2011, 13(1): 98-107. DOI: 10.3109/14653249.2010.515582.
- [12] MILLER J S, SOIGNIER Y, PANOSKALTSIS-MORTARI A, et al. Successful adoptive transfer and in vivo expansion of human

- haploidentical NK cells in patients with cancer [ J ]. *Blood*, 2005, 105( 8 ): 3051-3057. DOI:10.1182/blood-2004-07-2974.
- [ 13 ] PEGRAM H J, JACKSON J T, SMYTH M J, et al. Adoptive transfer of gene-modified primary NK cells can specifically inhibit tumor progression in vivo [ J ]. *J Immunol*, 2008, 181( 5 ): 3449-3455. DOI:10.4049/jimmunol.181.5.3449.
- [ 14 ] BARKHOLT L, ALICI E, CONRAD R, et al. Safety analysis of ex vivo-expanded NK and NK-like T cells administered to cancer patients: a phase I clinical study [ J ]. *Immunotherapy*, 2009, 1( 5 ): 753-764. DOI:10.2217/imt.09.47.
- [ 15 ] RUGGERI L, PARISI S, URBANI E, et al. Alloreactive natural killer cells for the treatment of acute myeloid leukemia: from stem cell transplantation to adoptive immunotherapy [ J/OL ]. *Front Immunol*, 2015, 6: 479 [ 2015-10-20 ]. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2015.00479>. DOI:10.3389/fimmu.2015.00479.
- [ 16 ] SPECHT H M, AHRENS N, BLANKENSTEIN C, et al. Heat shock protein 70 ( Hsp70 ) peptide activated natural killer ( NK ) cells for the treatment of patients with non-small cell lung cancer ( NSCLC ) after radiochemotherapy ( RCTx )-from preclinical studies to a clinical phase II trial [ J/OL ]. *Front Immunol*, 2015, 6: 162 [ 2015-10-20 ]. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2015.00162>. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00162.
- [ 17 ] 王志华,张春燕,王波,等. 粘附的自然杀伤细胞和白细胞介素 2 治疗癌症的临床护理 [ J ]. *护理研究杂志*, 2006, 4( 174 ): 904-905. DOI:10.3969/j.issn.1009-6493.2006.10.027.
- [ 18 ] KLINGEMANN H G, MARTINSON J. Ex vivo expansion of natural killer cells for clinical applications [ J ]. *Cytotherapy*, 2004, 6 ( 1 ): 15-22. DOI:10.1080/14653240310004548.
- [ 19 ] PARKHURST M R, RILEY J P, DUDLEY M E, et al. Adoptive transfer of autologous natural killer cells leads to high levels of circulating natural killer cells but does not mediate tumor regression [ J ]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17( 19 ): 6287-6297. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-1347.
- [ 20 ] SIEGLER U, MEYER-MONARD S, JORGER S, et al. Good manufacturing practice-compliant cell sorting and large-scale expansion of single KIR-positive alloreactive human natural killer cells for multiple infusions to leukemia patients [ J ]. *Cytotherapy*, 2010, 12( 6 ):750-763. DOI: 10.3109/14653241003786155.
- [ 21 ] MEYER-MONARD S, PASSWEG J, SIEGLER U, et al. Clinical-grade purification of natural killer cells in haploidentical hematopoietic stem cell transplantation [ J ]. *Transfusion*, 2009, 49( 2 ): 362-371. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2008.01969.x.
- [ 22 ] FUJISAKI H, KAKUDA H, SHIMASAKI N, et al. Expansion of highly cytotoxic human natural killer cells for cancer cell therapy [ J ]. *Cancer Res*, 2009, 69( 9 ): 4010-4017. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-3712.
- [ 23 ] BERG M, LUNDQVIST A, MCCOY P J, et al. Clinical-grade ex vivo-expanded human natural killer cells up-regulate activating receptors and death receptor ligands and have enhanced cytolytic activity against tumor cells [ J ]. *Cytotherapy*, 2009, 11( 3 ): 341-355. DOI:10.1080/14653240902807034.
- [ 24 ] SPANHOLTZ J, PREIJERS F, TORDOIR M, et al. Clinical-grade generation of active NK cells from cord blood hematopoietic progenitor cells for immunotherapy using a closed-system culture process [ J ]. *PLoS ONE*, 2011, 6( 6 ): e20740. DOI: 10.1371/journal.pone.0020740.
- [ 25 ] COOLEY S, WEISDORF D J, GUETHLEIN L A, et al. Donor selection for natural killer cell receptor genes leads to superior survival after unrelated transplantation for acute myelogenous leukemia [ J ]. *Blood*, 2010, 116( 14 ): 2411-2419. DOI: 10.1182/blood-2010-05-283051.
- [ 26 ] ARAI S, MEAGHER R, SWEARINGEN M, et al. Infusion of the allogeneic cell line NK-92 in patients with advanced renal cell cancer or melanoma: a phase I trial [ J ]. *Cytotherapy*, 2008, 10 ( 6 ): 625-632. DOI: 10.1080/14653240802301872.
- [ 27 ] CHENG M, MA J, CHEN Y, et al. Establishment, characterization, and successful adaptive therapy against human tumors of NKG cell, a new human NK cell line [ J ]. *Cell Transplant*, 2011, 20 ( 11/12 ):1731-1746. DOI:10.3727/096368911X580536.
- [ 28 ] SUTLU T, ALICI E. Natural killer cell-based immunotherapy in cancer: current insights and future prospects [ J ]. *J Intern Med*, 2009, 266( 2 ): 154-181. DOI: 10.1111/j.1365-2796.2009.02121.x.
- [ 29 ] KOEPEL S A, KADIDLO D M, FAUTSCH S. Successful "in-flight" activation of natural killer cells during long-distance shipping [ J ]. *Transfusion*, 2013, 53( 2 ): 398-403. DOI:10.1111/j.1537-2995.2012.03695.x.
- [ 30 ] GELLER M A, COOLEY S, JUDSON P L, et al. A phase II study of allogeneic natural killer cell therapy to treat patients with recurrent ovarian and breast cancer [ J ]. *Cytotherapy*, 2011, 13 ( 1 ): 98-107. DOI: 10.3109/14653249.2010.515582.
- [ 31 ] KOEHL U, BREHM C, HUENECKE S, et al. Clinical grade purification and expansion of NK cell products for an optimized manufacturing protocol [ J/OL ]. *Front Oncol*, 2013, 3: 118 [ 2015-10-20 ]. <http://dx.doi.org/10.3389/fonc.2013.00118>. DOI:10.3389/fonc.2013.00118. DOI:10.3389/fonc.2013.00118.
- [ 32 ] CHOUAIB S, PITTARI G, NANBAKHSH A, et al. Improving the outcome of leukemia by natural killer cell-based immunotherapeutic strategies [ J/OL ]. *Front Immunol*, 2014, 5: 95 [ 2015-10-20 ]. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2014.00095>. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00095.
- [ 33 ] SPANHOLTZ J, PREIJERS F, TORDOIR M, et al. Clinical-grade generation of active NK cells from cord blood hematopoietic progenitor cells for immunotherapy using a closed-system culture process [ J/OL ]. *PLoS ONE*, 2011, 6( 6 ): e20740 [ 2015-10-20 ]. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0020740>. DOI: 10.1371/journal.pone.0020740.
- [ 34 ] YANG H, TANG R H, LI J, et al. A new ex vivo method for effective expansion and activation of human natural killer cells for anti-tumor immunotherapy [ J ]. *Cell Biochem Biophys*, 2015, 73 ( 3 ): 723-729. DOI:10.1007/s12013-015-0688-3.
- [ 35 ] CURTI A, RUGGERI L, D'ADDIO A, et al. Successful transfer of alloreactive haploidentical KIR ligand-mismatched natural killer cells after infusion in elderly high risk acute myeloid leukemia patients [ J ]. *Blood*, 2011, 118( 12 ): 3273-3279. DOI: 10.1182/blood-2011-01-329508.

- [ 36 ] MILLER J S, SOIGNIER Y, PANOSKALTSIS-MORTARI A, et al. Successful adoptive transfer and in vivo expansion of human haploidentical NK cells in patients with cancer [ J ]. *Blood*, 2005, 105( 8 ): 3051-3057. DOI: 10.1182/blood-2004-07-2974.
- [ 37 ] RUBNITZ J E, INABA H, RIBEIRO R C, et al. NKAML: a pilot study to determine the safety and feasibility of haploidentical natural killer cell transplantation in childhood acute myeloid leukemia [ J ]. *J Clin Oncol*, 2010, 28( 6 ): 955-959. DOI: 10.1200/JCO.2009.24.4590.
- [ 38 ] BREHM C, HUENECKE S, QUAISER A, et al. IL-2 stimulated but not unstimulated NK cells induce selective disappearance of peripheral blood cells: concomitant results to a phase I / II study [ J/OL ]. *PLoS ONE*, 2011, 6( 11 ): e2735 [ 2015-10-20 ]. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0027351>. DOI: 10.1371/journal.pone.0027351.
- [ 39 ] BARKHOLT L, ALICI E, CONRAD R, et al. Safety analysis of ex vivo expanded NK and NK-like T cells administered to cancer patients: a phase I clinical study [ J ]. *Immunotherapy*, 2009, 1( 5 ): 753-764. DOI: 10.2217/imt.09.47.
- [ 40 ] 杨孟寅, 亓云龙, 曾振武, 等. NK 细胞转输治疗恶性复发性脑胶质细胞瘤分析 [ J ]. *国际免疫学杂志*, 2010, 33( 1 ): 76-79. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4394.2010.01.021
- [ 41 ] BRYCESON Y T, MARCH M E, LJUNGGREN H G, et al. Synergy among receptors on resting NK cells for the activation of natural cytotoxicity and cytokine secretion [ J ]. *Blood*, 2006, 107( 1 ): 159-166. DOI: 10.1182/blood-2005-04-1351.
- [ 42 ] BECKNELL B, CALIGIURI M A. Interleukin-2, interleukin-15, and their roles in human natural killer cells [ J/OL ]. *Adv Immunol*, 2005, 86: 209-239 [ 2015-10-20 ]. <http://www.sciencedirect.com/science/bookseries/00652776>. DOI: 10.1016/S0065-2776( 04 )86006-1. DOI: 10.1016/S0065-2776( 04 )86006-1.
- [ 43 ] CARSON W E, GIRI J G, LINDEMANN M J, et al. Interleukin ( IL ) 15 is a novel cytokine that activates human natural killer cells via components of the IL-2 receptor [ J ]. *J Exp Med*, 1994, 180( 4 ): 1395-1403. DOI: 10.1084/jem.180.4.1395.
- [ 44 ] HUNTINGTON N D, LEGRAND N, ALVES N L, et al. IL-15 trans-presentation promotes human NK cell development and differentiation in vivo [ J ]. *J Exp Med*, 2009, 206( 1 ): 25-34. DOI: 10.1084/jem.20082013.
- [ 45 ] 王志华, 赵东陆, 张春燕, 等. 白细胞介素 12 活化的 A-NK 细胞对人肝癌 HepG-2 细胞株的作用 [ J ]. *中华肿瘤杂志*, 2007, 29( 6 ): 423-424.
- [ 46 ] ATKINS M B, LOTZE M T, DUTCHER J P, et al. High-dose recombinant interleukin 2 therapy for patients with metastatic melanoma: analysis of 270 patients treated between 1985 and 1993 [ J ]. *J Clin Oncol*, 1999, 17( 7 ): 2105-2116.
- [ 47 ] SOSMAN J A, HANK J A, MOORE K H, et al. Prolonged interleukin-2 ( IL-2 ) treatment can augment immune activation without enhancing antitumor activity in renal cell carcinoma [ J ]. *Cancer Invest*, 1991, 9( 1 ): 35-48.
- [ 48 ] SRIVASTAVA S, PELLOSO D, FENG H, et al. Effects of interleukin-18 on natural killer cells: costimulation of activation through Fc receptors for immunoglobulin [ J ]. *Cancer Immunol Immunother*, 2013, 62( 6 ): 1073-1082. DOI: 10.1007/s00262-013-1403-0.
- [ 49 ] CHEON S, LEE J H, PARK S, et al. Overexpression of IL-32alpha increases natural killer cell-mediated killing through up-regulation of Fas and UL16-binding protein 2 ( ULBP2 ) expression in human chronic myeloid leukemia cells [ J ]. *J Biol Chem*, 2011, 286( 14 ): 12049-12055. DOI: 10.1074/jbc.M110.159756.
- [ 50 ] LAUWERYS B R, GAROT N, RENAULD J C, et al. Cytokine production and killer activity of NK/T-NK cells derived with IL-2, IL-15, or the combination of IL-12 and IL-18 [ J ]. *J Immunol*, 2000, 165( 4 ): 1847-1853. DOI: 10.4049/jimmunol.165.4.1847.
- [ 51 ] SONDEL P M, HANK J A. Antibody-directed, effector cell-mediated tumor destruction [ J/OL ]. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2001, 15( 4 ): 703-721 [ 2015-10-20 ]. <http://www.sciencedirect.com/science/journal/08898588>.
- [ 52 ] GARNOCK-JONES K P, KEATING G M, SCOTT L J. Trastuzumab: a review of its use as adjuvant treatment in human epidermal growth factor receptor 2 ( HER2 )-positive early breast cancer [ J/OL ]. *Drugs*, 2010, 70( 2 ): 215-239 [ 2015-10-20 ]. <http://www.sciencedirect.com/science/journal/08898588>. DOI: 10.2165/11203700-000000000-00000.
- [ 53 ] GARCIA-FONCILLAS J, DIAZ-RUBIO E. Progress in metastatic colorectal cancer: growing role of cetuximab to optimize clinical outcome [ J ]. *Clin Transl Oncol*, 2010, 12( 8 ): 533-542. DOI: 10.1007/s12094-010-0551-3.
- [ 54 ] NAVID F, SANTANA V M, BARFIELD R C. Anti-GD2 antibody therapy for GD2-expressing tumors [ J ]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2010, 10( 2 ): 200-209. DOI: 10.2174/156800910791054167.
- [ 55 ] ALICI E. IPH-2101, a fully human anti-NK-cell inhibitory receptor mAb for the potential treatment of hematological cancers [ J ]. *Curr Opin Mol Ther*, 2010, 12( 6 ): 724-733.
- [ 56 ] PEGRAM H J, RITCHIE D S, SMYTH M J, et al. Alloreactive natural killer cells in hematopoietic stem cell transplantation [ J ]. *Leuk Res*, 2011, 35( 1 ): 14-21. DOI: 10.1016/j.leukres.2010.07.030.
- [ 57 ] GARCIA-FONCILLAS J, DIAZ-RUBIO E. Progress in metastatic colorectal cancer: growing role of cetuximab to optimize clinical outcome [ J ]. *Clin Transl Oncol*, 2010, 12( 8 ): 533-542. DOI: 10.1007/s12094-010-0551-3.
- [ 58 ] BEKAI-SAAB T S, RODA J M, GUENTERBERG K D, et al. A phase I trial of paclitaxel and trastuzumab in combination with interleukin-12 in patients with HER2/neu-expressing malignancies [ J ]. *Mol Cancer Ther*, 2009, 8( 11 ): 2983-2991. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-09-0820.
- [ 59 ] DIESSNER J, BRUTTEL V, BECKER K, et al. Targeting breast cancer stem cells with HER2-specific antibodies and natural killer cells [ J/OL ]. *Am J Cancer Res*, 2013, 3( 2 ): 211-220 [ 2015-10-20 ]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3623839/>.
- [ 60 ] BENSON D M J, BAKAN C E, ZHANG S H, et al. IPH2101, a novel anti-inhibitory KIR antibody, and lenalidomide combine to enhance the natural killer cell versus multiple myeloma effect [ J ].

- Blood, 2011, 118(24): 6387-6391. DOI: 10.1182/blood-2011-06-360255.
- [ 61 ] SCHÖNEFELDT C, SOCKEL K, WEHNER R, et al. Azacytidine impairs NK cell activity in AML and MDS patients undergoing MRD-based pre-emptive treatment after allogeneic stem cell transplantation [ J/OL ]. Blood Cancer J, 2013, 3: e136 [ 2015-10-20 ]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3763388/>. DOI: 10.1038/cej.2013.35.
- [ 62 ] MENTLIK J, COHEN A D, CAMPBELL K S. Combination immune therapies to enhance anti-tumor responses by NK cells [ J/OL ]. Front Immunol, 2013, 4: 481 [ 2015-10-20 ]. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2013.00481>. DOI: 10.3389/fimmu.2013.00481.
- [ 63 ] MELERO I, GRIMALDI A M, PEREZ-GRACIA J L, et al. Clinical development of immunostimulatory monoclonal antibodies and opportunities for combination [ J ]. Clin Cancer Res, 2013, 19(5): 997-1008. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-2214.
- [ 64 ] GARDINER D, LA LEZARI J, LAWITZ E, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled assessment of BMS-936558, a fully human monoclonal antibody to programmed death-1 (PD-1), in patients with chronic hepatitis C virus infection [ J/OL ]. PLoS ONE, 2013, 8(5): e63818 [ 2015-10-20 ]. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0063818>. DOI: 10.1371/journal.pone.0063818.
- [ 65 ] LIPSON E J, SHARFMAN W H, DRAKE C G, et al. Durable cancer regression off-treatment and effective reinduction therapy with an anti-PD-1 antibody [ J ]. Clin Cancer Res, 2013, 19(2): 462-428. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-2625.
- [ 66 ] AMES E, MURPHY W J. Advantages and clinical applications of natural killer cells in cancer immunotherapy [ J ]. Cancer Immunol Immunother, 2014, 63(1): 21-28. DOI: 10.1007/s00262-013-1469-8.
- [ 67 ] KOEHL U, BREHM C, HUENECKE S, et al. Clinical grade purification and expansion of NK cell products for an optimized manufacturing protocol [ J/OL ]. Front Oncol, 2013, 3: 118 [ 2015-10-20 ]. <http://dx.doi.org/10.3389/fonc.2013.00118>. DOI: 10.3389/fonc.2013.00118.
- [ 68 ] CHOUAIB S, PITTARI G, NANBAKSH A, et al. Improving the outcome of leukemia by natural killer cell-based immunotherapeutic strategies [ J/OL ]. Front Immunol, 2014, 5: 95-102 [ 2015-10-20 ]. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2014.00095>. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00095.
- [ 69 ] AMES E, WILLIAM W J. Advantages and clinical applications of natural killer cells in cancer immunotherapy [ J ]. Cancer Immunol Immunother, 2014, 63(1): 21-28. DOI: 10.1007/s00262-013-1469-8.
- [ 70 ] OYER J L, PANDEY V, IGARASHI R Y, et al. Natural killer cells stimulated with PM21 particles expand and biodistribute in vivo: clinical implications for cancer treatment [ J ]. Cytotherapy, 2016, 18(5): 653-663. DOI: 10.1016/j.jcyt.2016.02.006.
- [ 71 ] CARLSTEN M, LEVY E, KARAMBELKAR A, et al. Efficient mRNA-based genetic engineering of human NK cells with high-affinity CD16 and CCR7 augments rituximab-induced ADCC against lymphoma and targets NK cell migration toward the lymph node-associated chemokine CCL19 [ J/OL ]. Front Immunol, 2016, 7: 105 [ 2015-10-20 ]. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2016.00105>. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00105.
- [ 72 ] PEGRAM, SMITH E L, RAFIQ S, et al. CAR therapy for hematological cancers: can success seen in the treatment of B-cell acute lymphoblastic leukemia be applied to other hematological malignancies? [ J ]. Immunotherapy, 2015, 7(5): 545-561. DOI: 10.2217/imt.15.6.
- [ 73 ] 殷书磊, 于益芝, 曹雪涛. CAR-NK 抗肿瘤研究的现状与发展趋势 [ J ]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2016, 23(1): 1-10. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2016.01.001.
- [ 74 ] COUZIN-FRANKEL J. Breakthrough of the year 2013. Cancer immunotherapy [ J ]. Science, 2013, 342(6165): 1432-1433. DOI: 10.1126/science.342.6165.1432.
- [ 75 ] 王志华. CIK 细胞治疗癌症: 国际临床试验的现状与展望 [ J ]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2013, 20(2): 129-137. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2013.02.001.
- [ 收稿日期 ] 2016-01-15 [ 修回日期 ] 2016-04-26  
[ 本文编辑 ] 党瑞山

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 文稿中数字用法的要求

本刊严格执行国家标准《出版物上数字用法的规定》,文稿中凡是可以使用阿拉伯数字且很得体的地方,均应使用阿拉伯数字。(1)公历世纪、年代、年、月、日和时、时刻必须使用阿拉伯数字,如20世纪90年代、2006-02-15、5 h、30 min、30 s、14:36:08等;年份不能用简称,“1998年”不能写作“98年”。(2)物理量量值必须使用阿拉伯数字。(3)非物理量量词前面数字一般也应使用阿拉伯数字,如3支、5根等。(4)数值范围的表达要求:5万至10万应写成5万~10万,不能写成5~10万; $3 \times 10^9$ 至 $5 \times 10^9$ 应写成 $3 \times 10^9 \sim 5 \times 10^9$ ,或 $(3 \sim 5) \times 10^9$ ,不能写成 $3 \sim 5 \times 10^9$ ;60%至70%不能写成60~70%,应写成60%~70%; $25.5 \pm 0.5$  mg应写成 $(25.5 \pm 0.5)$  mg。(5)带单位的量值相乘时,每个数值后单位不能省略,如4 mm × 2 mm × 3 mm,不能写成 $4 \times 2 \times 3$  mm或 $4 \times 2 \times 3$  mm<sup>3</sup>。

(本刊编辑部)