

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.09.005

· 基础研究 ·

IL-12 逆转顺铂对人 NK 细胞免疫功能的抑制及其机制

沈娟, 吴琼丽, 杨滨燕, 吴长有(中山大学 中山医学院 免疫学研究所 广东省器官移植重点实验室, 广东 广州 510080)

[摘要] **目的:** 探讨 IL-12 逆转化疗药物对 NK 细胞免疫功能的抑制及其机制。**方法:** 纯化的 NK 细胞在 PMA 和 Ionomycin 刺激条件下、加或不加化疗药物顺铂(cisplatin, DDP)和 IL-12, 用 ELISA 法检测培养上清中 IFN- γ 和 TNF- α 的分泌水平, 流式细胞术检测 IFN- γ 和 TNF- α 、肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体(TNF-related apoptosis inducing ligand, TRAIL)和转录因子(T-bet 和 p-STAT-4)的表达百分率; 纯化 NK 细胞加或不加化疗药物和 IL-12 预处理 48 h, 流式细胞术检测其对白血病 Jurkat 细胞株的杀伤效应。**结果:** 化疗药物明显抑制 NK 细胞分泌 IFN- γ 、TNF- α 以及 TRAIL 的表达, IL-12 可以明显逆转 DDP 对 NK 细胞分泌 IFN- γ 、TNF- α 和 TRAIL 的抑制($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。DDP 抑制 IFN- γ 和 TNF- α 的转录因子 p-STAT-4 的表达, 而 IL-12 通过上调磷酸化 STAT-4 恢复了 NK 细胞的 IFN- γ 和 TNF- α 的分泌功能($P < 0.01$)。杀伤实验显示, DDP 抑制 NK 细胞对白血病细胞 Jurkat 的杀伤, 而 IL-12 通过上调 TRAIL 恢复 NK 细胞的杀伤功能($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。**结论:** 化疗药物 DDP 抑制 NK 细胞的杀伤功能以及细胞因子(IFN- γ 和 TNF- α)的分泌, IL-12 通过上调 TRAIL 和转录因子 STAT-4 的磷酸化恢复 NK 细胞的免疫功能, 为临床应用 IL-12 重建肿瘤化疗患者的免疫功能提供实验依据。

[关键词] NK 细胞; 顺铂; IL-12; 免疫抑制; Jurkat 细胞株

[中图分类号] R392.12; R73-36² **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)09-0872-06

IL-12 reverses inhibitory effect of cisplatin on immune function of human NK cells and its mechanism

SHEN Juan, WU Qiongli, YANG Binyan, WU Changyou (Institute of Immunology, Key Laboratory of Organ Donation and Transplant Immunology of Guangdong Provincial, Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, Guangdong, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the reverse effect and mechanism of IL-12 on chemotherapeutic medicine suppressing the immune function of NK cells. **Methods:** Purified NK cells were stimulated with PMA plus Ionomycin in the presence or absent of Cisplatin (DDP) and IL-12. The levels of IFN- γ and TNF- α in culture supernatants were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA); The content of IFN- γ and TNF- α , TRAIL (TNF-related apoptosis inducing ligand) and transcription factors including T-bet and p-STAT-4 in NK cells were analyzed by Flow cytometry. The cytotoxicity of purified NK cells (pretreated with/without chemotherapeutics and IL-12 for 48 h) to Jurkat cells was measured by Flow cytometry. **Results:** Chemotherapeutics significantly inhibited the production of IFN- γ , TNF- α and the expression of TRAIL in NK cells, which were significantly reversed by IL-12 ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Further study revealed that chemotherapeutics down-regulated while IL-12 reversed the expression of p-STAT4 to restore cytokine production. In addition, DDP also inhibited but IL-12 recovered the cytotoxicity of NK cells against tumor cells by inducing the expression of TRAIL ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion:** Chemotherapeutics inhibited the cytotoxicity of NK cells and its secretion of cytokines (IFN- γ and TNF- α), which were reversed by IL-12 via up-regulating TRAIL and p-STAT-4; this might provide experimental evidence for the clinical application of IL-12 for rebuild the immune function of tumor patients receiving chemotherapy.

[Key words] NK cell; DDP; IL-12; immune suppression; Jurkat cell line

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(9): 872-877. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.09.005]

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No.31470888)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No.31470888)

[作者简介] 沈娟(1992-), 女, 博士生, 主要从事 T、B 淋巴细胞功能的研究, E-mail: shenjuan_lenny@163.com

[通信作者] 吴长有(WU Changyou, corresponding author), 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事免疫效应和免疫记忆的研究, E-mail: changyou_wu@yahoo.com

NK细胞分布于外周各淋巴器官及血液循环系统,占外周血淋巴细胞的10%~15%^[1-2]。NK细胞无需抗原的预先刺激与活化即可直接杀伤被病毒感染的自身细胞或者肿瘤细胞,此外其还能分泌细胞因子及趋化因子,在机体抗感染、抗肿瘤及免疫调节等方面发挥重要作用,是机体非特异性免疫系统的主要细胞成分之一^[3]。IL-12是由GATELY和KOBAYASHI等^[4-5]发现的一种细胞因子,是由DC和单核巨噬细胞产生、由p35、p40两个亚基共同组成的异源二聚体。IL-12通过与其受体结合激活JAK激酶或酪氨酸激酶信号通路,刺激NK细胞和T细胞的活性,因此其又称为细胞毒性细胞成熟因子或NK细胞刺激因子^[6]。由多种动物肿瘤模型^[6-9]证实,体内应用IL-12可以抑制原发肿瘤的生长以及转移灶的发生,证明IL-12具有很好的抗肿瘤作用。本课题组前期研究^[10-11]证实,在体内外IL-12能够完全恢复化疗药物导致的T细胞抑制功能。本研究旨在探讨化疗药物对NK细胞的免疫抑制作用,以及IL-12在化疗药物所致免疫抑制中的修复作用及机制,为将来临床应用IL-12重建肿瘤化疗患者的免疫功能提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

Jurkat细胞株由上海歌凡生物科技有限公司提供。顺铂(cisplatin, DDP)、离子霉素(Ionomycin)、佛波酯(PMA)以及布雷菲德菌素A(Brefeldin-A, BFA)均为Sigma公司产品,重组人IL-12购自Pepro Tech公司,PE-CF594标记的抗人CD3抗体(PE-CF594-CD3)、PE-TNF- α 、T-bet、PI、TRAIL、PE-cy7-CD56、FITC-IFN- γ 、pSTAT-4以及相匹配的对照抗体、人IFN- γ 和TNF- α ELISA试剂盒均购于BD/Pharmingen公司,羧基荧光素琥珀酰亚胺酯(carboxyfluorescein succinimidyl ester, CFSE)细胞增殖检测试剂盒购自Invitrogen公司,纯化NK细胞试剂盒购自Miltenyi Biotec GmbH公司,RPMI 1640培养液、谷氨酰胺、青霉素、链霉素、二巯基乙醇均购自Gibco公司,淋巴细胞分离液购自天津灏洋生物科技公司,胎牛血清购自杭州四季青公司。流式细胞仪(FACS Calibur、Aria II)购自美国BD公司,Flowjo流式分析软件购自Tree Star公司。

1.2 NK细胞的分离纯化和培养

按照本实验室建立的操作方法^[12]。抽取健康成人静脉血20 ml,加入同等体积Hank's液稀释。利用Ficoll密度梯度离心法(20 °C, 400×g离心20 min)获取PBMC。利用免疫磁珠法,按NK细胞纯化试剂盒说明书操作获得纯化NK细胞,流式细胞仪检测其纯

度。细胞充分洗涤后,完全RPMI 1640培养液重悬并计数。将准备好的NK细胞按不同刺激条件培养在96孔圆底培养板中,5%CO₂、37 °C培养箱培养48 h。收集培养液上清,做进一步检测。

1.3 ELISA法检测IFN- γ 和TNF- α 水平

纯化NK细胞经PMA和Ionomycin刺激,加或不加DDP(50 μ mol/ml)和IL-12(1 ng/ml),培养48 h后收集不同条件下的培养上清液。参照试剂盒的说明书检测。人IFN- γ 和TNF- α 水平,该试剂盒检测的灵敏度分别为4.7 ng/L和7.8 ng/L。实验重复3次。

1.4 流式细胞检测术检测TRAIL、相关细胞因子和转录因子的表达水平

按照本实验室操作方法^[12-13]。纯化NK细胞加或不加顺铂(50 μ mol/ml)和IL-12(1 ng/ml)培养48 h后,再加入PMA和Ionomycin以及细胞因子阻断剂BFA继续刺激5 h,收集培养后的细胞,以PBS洗涤细胞2次,去上清后每管100 μ l重悬细胞。细胞表面染色时,加入荧光素标记的抗TRAIL mAbs,4 °C避光反应30 min。孵育结束后,PBS洗2次。检测相关细胞因子时,去上清后,每管加入500 μ l 4%的多聚甲醛室温固定8 min,PBS洗2次,去上清用破膜缓冲液(含0.05% BSA、0.05% NaN₃、0.05% Saponin的PBS)重悬4 °C避光过夜,分别加入不同荧光素标记的抗IFN- γ 和TNF- α mAbs,4 °C避光反应30 min。检测相关转录因子时,去上清后,每管加入500 μ l 37 °C预热的Fixation Buffer固定细胞8 min,PBS洗2次,用1×Perm/Wash Buffer I重悬室温破膜破核30 min,PBS洗2次,分别加入不同荧光素标记的抗T-bet和p-STAT-4 mAbs,室温避光反应50 min。孵育结束后,PBS洗2次,去上清用200 μ l PBS重悬。应用流式细胞仪检测,FlowJo软件分析结果。实验重复3次。

1.5 流式细胞术检测NK细胞对Jurkat细胞的杀伤能力

按照实验室建立的方法^[12]。纯化NK细胞加或不加DDP和IL-12培养48 h,调整细胞密度为1×10⁶/ml作为效应细胞,CFSE标记Jurkat肿瘤细胞并调整细胞密度为1×10⁶/ml作为靶细胞。将效应细胞与标记好的靶细胞按效靶比1:1加入无菌的5 ml流式管中,1 000×g离心3 min;并以只加靶细胞或效应细胞的培养条件作为对照,5% CO₂、37 °C培养箱培养4 h。收集流式管中的细胞,洗涤,加入浓度为50 μ g/ml的PI,混匀,室温避光孵育15 min,流式细胞术检测CFSE⁺ PI⁺ Jurkat细胞(死亡的靶细胞)的百分率。实验重复3次。

1.6 统计学处理

采用SPSS 22.0统计学软件和GraphPad Prism

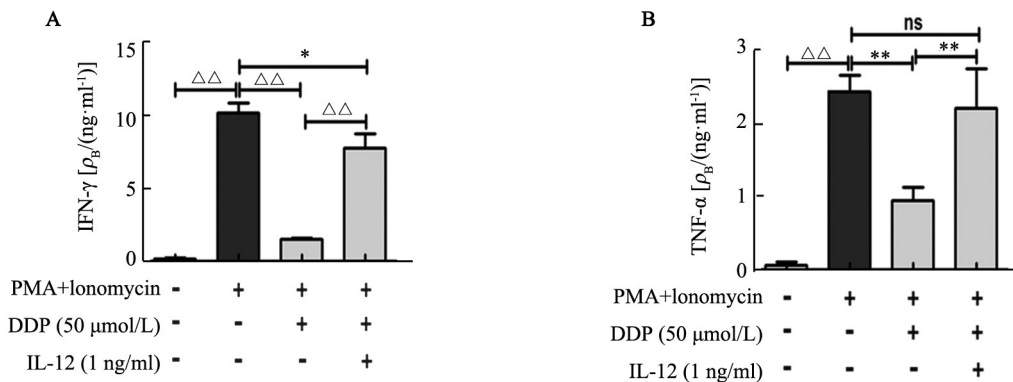
5.0 作图软件, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IL-12 可显著恢复 NK 细胞分泌 IFN- γ 和 TNF- α 的功能

ELISA 法检测结果 (图 1) 显示, 未刺激组几乎不

分泌 IFN- γ 和 TNF- α , 经 PMA+Ionomycin 刺激后, 分泌大量的 IFN- γ [(9.82 \pm 2.08) ng/ml] 和 TNF- α [(2.49 \pm 0.72) ng/ml]; 加入化疗药物后, IFN- γ 和 TNF- α 的分泌量分别为 (1.52 \pm 0.42) ng/ml 和 TNF- α (0.947 \pm 0.12) ng/ml, 抑制率分别为 78.5% 和 57.8%; 加入 IL-12 培养后, 与 DDP 组相比, 可显著恢复 IFN- γ 和 TNF- α 的分泌, 且 TNF- α 的含量与 PMA+Ionomycin 组无明显差异 ($P > 0.05$)。



* $P < 0.05$ vs IL-12 group, ** $P < 0.01$ vs DDP group, $\Delta\Delta P < 0.01$ vs Control group

A: IFN- γ ; B: TNF- α

图 1 IL-12 对 NK 细胞分泌 IFN- γ 和 TNF- α 的影响

Fig.1 Effect of IL-12 on the secretion of IFN- γ and TNF- α in NK cells

2.2 IL-12 可恢复细胞因子 IFN- γ 和 TNF- α 表达的百分率

流式细胞术检测结果 (图 2) 显示, 未刺激组几乎不表达 IFN- γ 和 TNF- α ; PMA+Ionomycin 多克隆刺激诱导大量 NK 细胞表达 IFN- γ [(28.3 \pm 2.14)%] 和 TNF- α [(19.6 \pm 1.82)%], 当加入 DDP 后 IFN- γ 和 TNF- α 表达的百分率下降为 (11.6 \pm 1.03)% 和 (9.18 \pm 1.59)%, 分别抑制了 59.1% 和 53.2% ($P < 0.01$)。加入 IL-12 后, IFN- γ 和 TNF- α 表达的百分率完全逆转甚至超过阳性对照组。

2.3 IL-12 通过上调 STAT-4 磷酸化水平逆转 DDP 对 NK 细胞的免疫抑制

流式细胞术检测 NK 细胞中转录因子 T-bet 和 p-STAT-4 表达的百分率。结果 (图 3) 显示, 与未刺激组相比, 经 PMA+Ionomycin 刺激后, 表达 p-STAT-4 为 (10.6 \pm 1.02)%; 当加入 DDP 后 p-STAT-4 明显被抑制, 表达率为 (2.04 \pm 0.26)% ($P < 0.01$)。当加入 IL-12 后 p-STAT-4 的百分率接近恢复至 PMA+Ionomycin 组水平 [(8.99 \pm 0.45)%]。但是 NK 细胞 T-bet $^+$ 的百分率在加入 DDP 或 IL-12 后无明显差异 ($P > 0.05$)。

2.4 IL-12 逆转 DDP 对 NK 细胞杀伤功能的抑制作用

流式细胞术检测结果 (图 4) 显示, 对照组 CFSE $^+$

PI $^+$ Jurkat 细胞 (死亡的靶细胞) 的百分率为 (21.50 \pm 3.27)%; 加入 DDP 后, 靶细胞的死亡率下降至 (10.60 \pm 1.16)% ($P < 0.05$), 表明 NK 细胞的杀伤功能明显降低; 加入 IL-12 后, 靶细胞的死亡率为 (34.10 \pm 3.98)% ($P < 0.01$), 表明 NK 细胞的杀伤功能显著升高; 而单独 IL-12 处理组靶细胞的死亡率高达 (60.90 \pm 5.27)%。

2.5 IL-12 通过增强 TRAIL 的表达逆转 DDP 对 NK 细胞杀伤功能的抑制

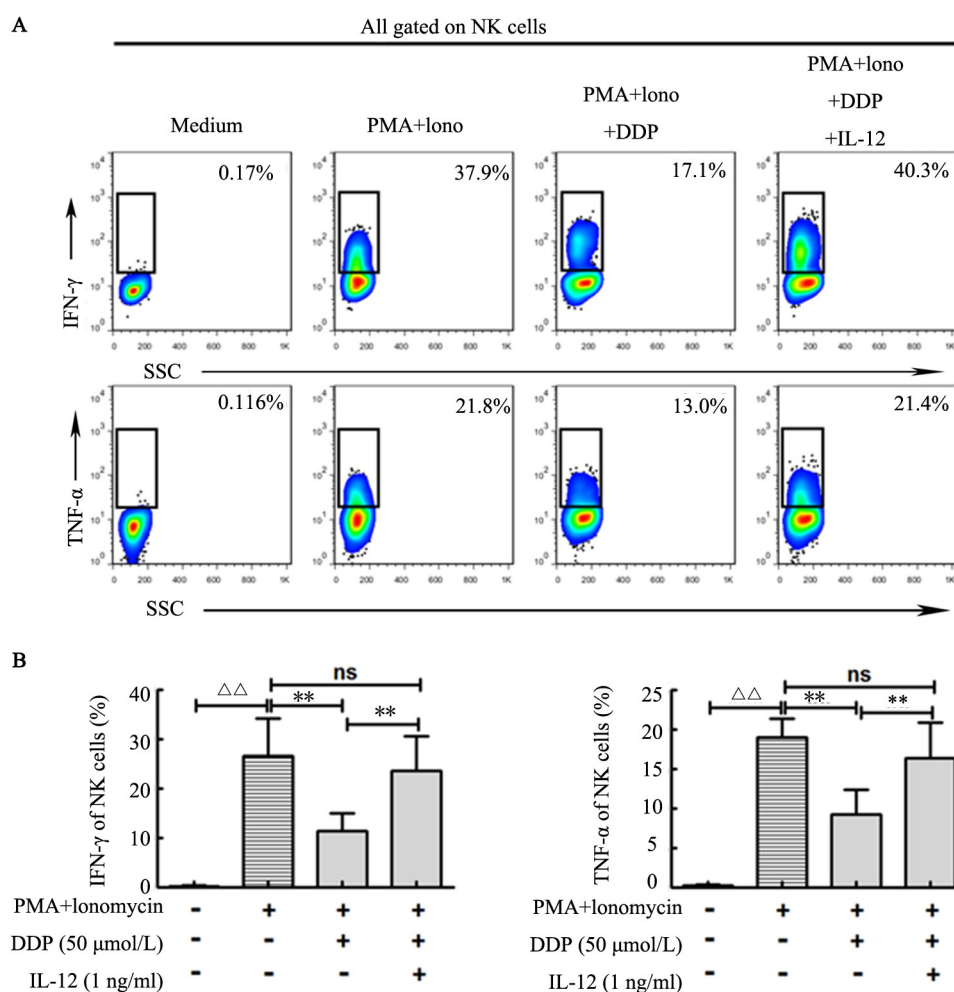
流式细胞术检测结果 (图 5) 显示, 未刺激组 NK 细胞表面杀伤分子 TRAIL 表达为 (18.9 \pm 2.18)%, 加入 DDP 后, TRAIL 的表达显著下降为 (9.72 \pm 1.22)% ($P < 0.01$), 当加入 IL-12 后 TRAIL 的表达基本逆转至未刺激组水平, 且单独 IL-12 组 TRAIL 的表达水平最高。

3 讨论

化疗是临床治疗恶性肿瘤的有效措施之一, 但疗程相对较长以及化疗药物的非特异性, 在杀灭恶性肿瘤细胞的同时, 也会不同程度地损伤正常细胞, 进而抑制机体正常的免疫功能^[14-15], 其中最重要的一方面就是阶段性地清除淋巴细胞。NK 细胞是机体抗肿瘤免疫中重要的一类固有免疫效应细胞^[3,16]。正常情况下, NK 细胞能通过肿瘤缺失的 MHC-I 类分子

激活相关配体,继而大量扩增且分泌免疫效应分子和细胞因子,发挥杀伤和免疫调控功能^[16-17]。因此,本实验通过刺激培养纯化NK细胞,探讨化疗药物对

NK细胞的杀伤作用以及IL-12是否能够逆转化疗药物对NK细胞免疫功能的抑制。

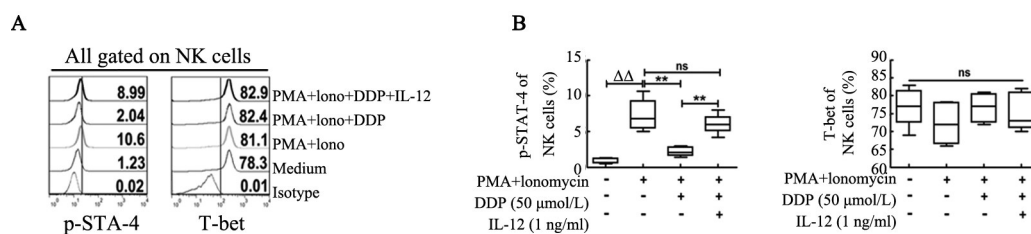


** $P < 0.01$ vs DDP group, $\Delta\Delta P < 0.01$ vs Medium control group

A: IFN- γ ; B: TNF- α

图2 IL-12对NK细胞IFN- γ 和TNF- α 表达的影响

Fig.2 Effect of IL-12 on the content of IFN- γ and TNF- α in NK cells



** $P < 0.01$ vs DDP group, $\Delta\Delta P < 0.01$ vs Medium control group

图3 IL-12通过上调STAT4磷酸化水平逆转DPP对NK细胞的免疫抑制

Fig.3 IL-12 reverses the immunosuppressive effect of DPP on NK cells by up-regulating p-STAT4

研究^[16-19]显示,NK细胞主要通过以下机制来实现其杀伤功能:(1)NK细胞释放杀伤介质穿孔素和颗粒酶使靶细胞凋亡,产生直接杀伤效应;(2)通过

表达膜TNF家族分子发挥间接杀伤效应;(3)借助抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用(ADCC)发挥杀伤效应。本研究结果显示,化疗药物组NK细胞的肿瘤

杀伤功能明显降低,较对照组下降50%左右;而当加入IL-12后,NK细胞的杀伤功能显著提升,超越对照组,提示IL-12可以快速恢复NK细胞增强其对靶细胞的杀伤功能,从而逆转DDP对NK细胞的抑制作用。付笑迎等^[12]通过基因芯片筛查差异基因发现,TRAIL信号途径与IL-12增强NK细胞的杀伤功能具有显著相关性。为明确TRAIL在IL-12逆转DDP对

NK细胞杀伤功能的抑制中的作用,在加或不加化疗药物和IL-12条件下,分析了NK细胞TRAIL的表达情况。实验结果表明,化疗药物组NK细胞表达TRAIL的表达率显著低于对照组,提示DDP抑制NK细胞TRAIL的表达;加入IL-12后,显著提高TRAIL表达率,提示IL-12可通过增强杀伤分子TRAIL的表达逆转DDP对NK细胞杀伤功能的抑制。

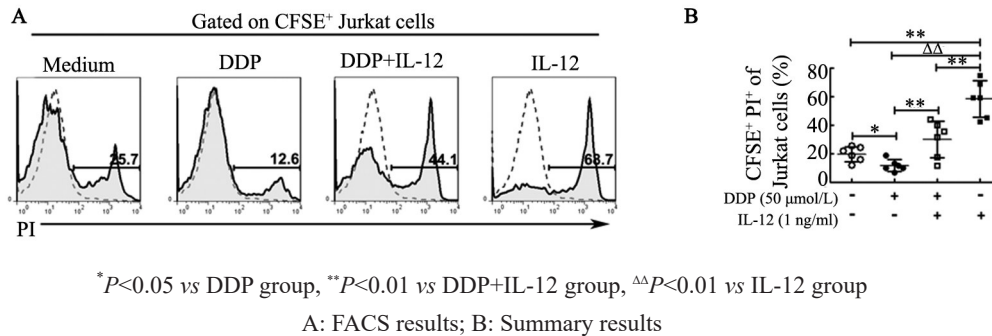


图4 IL-12逆转DDP对NK细胞杀伤功能的抑制作用

Fig.4 IL-12 reverses the inhibitory effect of chemotherapeutic drugs on cytotoxicity of NK cells

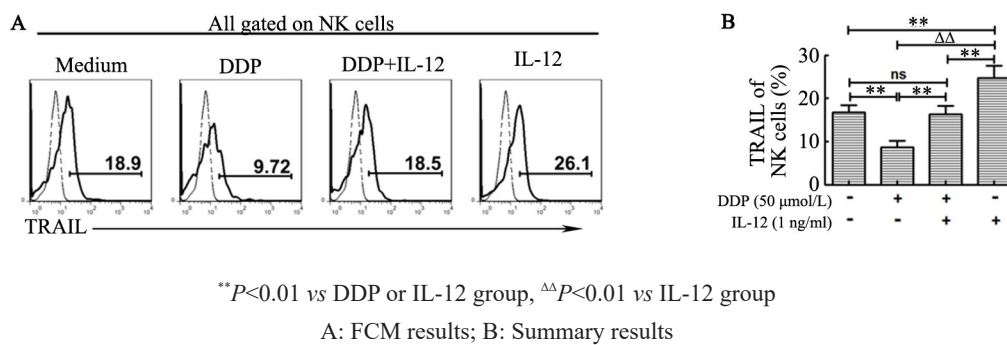


图5 IL-12通过增强TRAIL的表达逆转DDP对NK细胞杀伤功能的抑制

Fig.5 IL-12 reverses the inhibitory effect of DDP on the cytotoxicity of NK cells by enhancing the expression of TRAIL

NK细胞除具有杀伤功能外,还能通过分泌细胞因子实现免疫调节功能。大量实验^[16-19]证实,NK细胞可以通过分泌IFN- γ 和TNF- α 正向调控CTL、Th1和 $\gamma\delta$ T细胞,在抗肿瘤、抗病毒和抗结核的免疫应答中发挥重要作用。本实验研究发现化疗药物组NK细胞IFN- γ 和TNF- α 的表达明显低于对照组,提示DDP显著抑制NK细胞表达IFN- γ 和TNF- α ,当加入IL-12后,可逆转DDP对NK细胞的抑制,IFN- γ 和TNF- α 的产生与对照组水平相当。FACS结果进一步揭示IL-12在单个细胞水平恢复NK细胞IFN- γ 和TNF- α 的表达。众所周知,转录因子T-bet和STAT-4调控细胞因子(IFN- γ 和TNF- α)的表达^[8-9]。本实验结果证实,与对照组相比较,DDP显著抑制STAT-4的磷酸化;加入IL-12后,STAT-4的磷酸化水平显著提升,几乎与刺激组持平,而T-bet的表达在加入化疗药物或IL-12前后无明显变化。提示IL-12通过增强NK

细胞STAT-4磷酸化水平逆转DDP对NK细胞IFN- γ 和TNF- α 的分泌的抑制。

综上所述,DDP可抑制NK细胞的功能,IL-12可逆转DDP对NK细胞的抑制,提示IL-12可以用于化疗或放疗后的免疫重建,防止感染和肿瘤的复发,可作为肿瘤的辅助治疗手段。

[参考文献]

[1] 范艳莹, 吴长有. 人NK细胞亚群与生物学功能关系的研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2008, 4(2): 184-187.

[2] 吴长有, 刘杰, 杨滨燕, 等. 人外周血CD56⁺NK细胞亚群表型和生物学特征[J]. 中华肿瘤杂志, 2006, 28(3): 169-172. DOI: 10.3760/j.issn:0253-3766.2006.03.003.

[3] 刘倩, 孙爱民, 王玮. 固有免疫细胞抗肿瘤免疫治疗的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2018, 12(8): 1292-1296. DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2018.08.037.

[4] GATELY M K, DESAI B B, WOLITZKY A G, et al. Regulation of

- human lymphocyte proliferation by a heterodimeric cytokine, IL-12 (cytotoxic lymphocyte maturation factor)[J]. *J Immunol*, 1991, 147(3): 874-882.
- [5] KOBAYASHI M, FITZ L, RYAN M, et al. Identification and purification of natural killer cell stimulatory factor (NKSF), a cytokine with multiple biologic effects on human lymphocytes[J]. *J Exp Med*, 1989, 170(3): 827-845.
- [6] 张晓妮,胜利. IL-12 抗肿瘤作用机制的研究进展[J]. *医学综述*, 2018, 13(2): 301-305. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2018.02.017.
- [7] KAMENSEK U, TESIC N, SERSA G, et al. Clinically usable interleukin 12 plasmid without an antibiotic resistance gene: functionality and toxicity study in murine melanoma model[J]. *Cancers (Basel)*. 2018, 10(3): 60-73. DOI: 10.3390/cancers10030060.
- [8] TUGUES S, BURKHARD S H, OHS I, et al. New insights into IL-12-mediated tumor suppression[J]. *Cell Death Differ*, 2015, 22(2): 237-246. DOI: 10.1038/cdd.2014.134.
- [9] YUE T, ZHENG X, DOU Y, et al. Interleukin 12 shows a better curative effect on lung cancer than paclitaxel and cisplatin doublet chemotherapy[J]. *BMC Cancer*, 2016, 16(1): 665-669. DOI: 10.1186/s12885-016-2701-7.
- [10] 谢淑华,沈娟,张燕楠,等. IL-12 恢复化疗药物对人细胞免疫功能的抑制作用[J]. *免疫学杂志*, 2018, 34(6): 80-88. DOI: 10.13431/j.cnki.immunol.j.20180071.
- [11] 沈娟,池沛东,张飞,等. IL-12 在体内外恢复化疗药物对肿瘤病人和小鼠细胞免疫功能的抑制作用[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2018, 34(4): 289-295. DOI: 10.13431/j.cnki.immunol.j.20180071.
- [11] 付笑迎,杨滨燕,黄俊琪,等. IL-12 依赖于 TRAIL 途径增强NK细胞对 Jurkat 细胞的杀伤功能[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2012, 28(9): 926-929. DOI: 10.13423/j.cnki.cjcmi.006544.
- [12] 余思菲,杨滨燕,张燕楠,等. 洋地黄毒苷通过调控转录因子 ROR γ t 的表达抑制 Th17 细胞产生 IL-17A[J]. *免疫学杂志*, 2014, 33(6): 519-524. DOI:10.13431/j.cnki.immunol.j.20140.113.
- [13] OSTWALI V, SWAMI R, PATKAR S, et al. Gemcitabine-cisplatin (GC) as adjuvant chemotherapy in resected stage II and stage III gallbladder cancers (GBC): a potential way forward[J]. *Med Oncol*, 2018, 35(4): 57-62. DOI: 10.1007/s12032-018-1115-6.
- [14] URSIC K, KOS S, KAMENSEK U, et al. Comparable effectiveness and immunomodulatory actions of oxaliplatin and cisplatin in electrochemotherapy of murine melanoma[J]. *Bioelectrochemistry*, 2018, 119(2): 161-171. DOI: 10.1016/j.bioelechem.2017.09.009.
- [15] SUN JC, LANIER LL. NK cell development, homeostasis and function: parallels with CD8⁺ T cells[J]. *Nat Rev Immunol*, 2011, 11(10): 645-657. DOI:10.1038/nri3044.
- [16] BOUDREAU J E, HSU K C. Natural killer cell education in human health and disease[J]. *Curr Opin Immunol*, 2018, 50(2): 102-111. DOI:10.1016/j.coi.2017.11.003.
- [17] LOWRY L E, ZEHRING W A. Potentiation of natural killer cells for cancer immunotherapy: a review of literature[J/OL]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1061[2018-05-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4413815/>. DOI:10.3389/fimmu.2017.01061.
- [18] BOUDREAU J E, HSU K C. Natural killer cell education and the response to infection and cancer therapy: stay tuned[J]. *Trends Immunol*, 2018, 39(3): 222-239. DOI:10.1016/j.it.2017.12.001.
- [收稿日期] 2018-05-28 [修回日期] 2018-07-23
[本文编辑] 王映红