

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.05.003

· 基础研究 ·

## IL-27 通过促进活化性受体表达和 STATs 磷酸化增强 NK92 细胞的抗肿瘤作用

孙雨飞<sup>1</sup>, 蒋亚楠<sup>1</sup>, 于淮海<sup>1</sup>, 王玉芳<sup>2</sup>, 付强<sup>1,3</sup> (1. 滨州医学院 免疫学教研室, 山东 烟台 264003; 2. 烟台市福山区人民医院 检验科, 山东 烟台 265500; 3. 北卡罗莱纳大学 Lineberger 肿瘤中心, 美国 教堂山 27514)

**[摘要]** **目的:** 探讨 IL-27 影响 NK92 细胞抗肿瘤作用的分子和信号通路的机制。**方法:** 将 NK92 细胞分别置于不同质量浓度的 IL-27 (10、20、30 及 60 ng/ml) 下培养 24 h, LDH 法检测 NK92 细胞对多种血液肿瘤和实体瘤细胞的杀伤作用, 流式细胞术检测 NK92 细胞表面受体 NKG2D、NKp30 和 NKp46 的表达水平以及穿孔素和颗粒酶 B 的分泌水平, WB 检测 STATs 蛋白的表达和磷酸化水平。建立重度免疫缺陷型小鼠的前列腺癌 (DU145 细胞) 模型, 使用 IL-27 和 NK92 细胞联合局部治疗, 评估其抗肿瘤活性。**结果:** 10、20 及 30 ng/ml 浓度的 IL-27 均可显著促进 NK92 细胞对靶细胞的杀伤能力, 且 30 ng/ml 的 IL-27 对其细胞毒的促进作用最强 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。30 ng/ml IL-27 能显著促进 NK92 细胞表面受体 NKG2D、NKp30 和 NKp46 的表达 (均  $P < 0.05$ )、明显促进 NK92 分泌穿孔素 ( $P < 0.05$ ), 但不影响颗粒酶 B 的分泌 ( $P > 0.05$ ); 上调 STAT1、STAT3 及 STAT5 蛋白的磷酸化水平 (均  $P < 0.01$ )。IL-27 和 NK92 细胞局部联合治疗可明显延长前列腺癌荷瘤小鼠生存期 ( $P < 0.05$ )。**结论:** IL-27 可增强 NK92 细胞对实体肿瘤细胞和血液肿瘤细胞的杀伤作用, 两者联合治疗可明显延长荷瘤小鼠生长期, 该作用与 IL-27 上调 NK92 细胞中 JAK-STAT 通路 STAT1、STAT3、STAT5 磷酸化水平和促进细胞中多种活化性受体相关。

**[关键词]** IL-27; NK92; JAK-STATs; 抗肿瘤

**[中图分类号]** R730.3; R392.12 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)05-0500-06

## IL-27 promotes anti-tumor effect of NK92 cells by up-regulating expression of activated receptors and STATs phosphorylation

SUN Yufei<sup>1</sup>, JIANG Yanan<sup>1</sup>, YU Huaihai<sup>1</sup>, WANG Yufang<sup>2</sup>, FU Qiang<sup>1,3</sup> (1. Department of Immunology, Binzhou Medical University, Yantai 264003, Shandong, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Fushan People's Hospital, Yantai 265500, Shandong, China; 3. University of North Carolina Lineberger Cancer Center, Chapel Hill 27514, USA)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the molecular and signal pathway mechanism of Interleukin-27 affecting the anti-tumor effect of NK92 cells. **Methods:** NK92 cells were cultured with different concentrations of IL-27 (10, 20, 30 and 60 ng/ml) for 24 hours. The cytotoxicity of NK92 cells to target cells was detected by LDH assay. The expressions of NKG2D, NKp30 and NKp46 on the surface of NK92 cells and the secretion of perforin and granzyme B were detected by Flow cytometry. The expression and phosphorylation level of STATs protein was detected by WB. The DU145 cell transplanted tumor model of prostatic carcinoma in NOD-Prkdc<sup>scid</sup>Il2rg<sup>em1</sup>/Smoc mice was established and treated with the combination of NK92 cells and IL-27 to evaluate their anti-tumor efficacy. **Results:** IL-27 at concentrations of 10, 20 and 30 ng/ml could significantly increase the cytotoxicity of NK92 cells to target cells, and 30 ng/ml exerted the best effect ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). 30 ng/ml IL-27 could significantly promote the expressions of NKG2D, NKp30 and NKp46 on surface of NK92 cells, as well as elevate the secretion of perforin (all  $P < 0.05$ ), but didn't affect the secretion of granzyme B ( $P > 0.05$ ); moreover, it also up-regulated the phosphorylation of STAT1, STAT3 and STAT5 protein (all  $P < 0.01$ ). The combined treatment of IL-27 and NK92 cells obviously extended the survival time of tumor-bearing mice ( $P < 0.05$ ). **Conclusions:** IL-27 can promote the cytotoxicity of NK92 cells against solid tumor cells and blood tumor cells by promoting expressions of NKG2D, NKp30 and NKp46 on the surface

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目 (No.81370730, No.81571512), 山东省自然科学基金重点项目资助 (No.ZR2015JL027)。Project supported by the National Natural Science Foundation (No.81370730, No.81571512), and the Natural Science Foundation of Shandong Province (No. ZR2015JL027)

**[作者简介]** 孙雨飞 (1992-), 女, 硕士生, 主要从事 NK 细胞免疫的基础研究, E-mail: m18353936201@163.com

**[通信作者]** 付强 (FU Qiang, corresponding author), 博士, 副教授, 主要从事 NK 细胞免疫的基础研究, E-mail: qiangfu11@fudan.edu.cn

of NK92 cells and the secretion of perforin, which might be related with the phosphorylation of STAT1, STAT3 and STAT5 in JAK-STAT pathway.

[Key words] IL-27; NK92; JAK-STATs; anti-tumor

[Chin J Cancer Biother, 2019, 26(5): 500-505. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.05.003]

NK细胞是固有免疫系统重要的组成细胞,在抗感染以及抗肿瘤方面起到非常重要的作用。NK细胞不仅可以直接杀伤靶细胞,而且可以通过产生大量的细胞因子来调动整个免疫系统<sup>[1]</sup>。NK92细胞系来源于大颗粒淋巴细胞(large granular lymphocyte, LGL)非霍奇金淋巴瘤患者的外周血,并且其是IL-2依赖性的<sup>[2]</sup>。NK92细胞表面表达的抑制性受体较少,但表达多种激活性受体,包括NKp30、NKp46、NKG2D、和CD28等<sup>[3-4]</sup>,现在已经被广泛应用于实体肿瘤细胞的过继性免疫治疗中。研究<sup>[5]</sup>表明,经CAR改构的NK92细胞已经应用于肿瘤的体外实验及动物模型中;如以GD2作为靶标治疗成神经细胞瘤,以NKG2D作为靶标治疗骨肉瘤<sup>[6]</sup>。IL-27是由p28和EBI3亚基组成的异质二聚体,属于IL-12家族,IL-27在抗感染以及抗肿瘤方面起着显著的调节作用<sup>[7-10]</sup>。IL-27可在各种细胞中激活不同的JAK/STAT信号通路而引发相应的生物学效应来发挥作用<sup>[11]</sup>。IL-27在CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>T细胞中激活JAK1、JAK2、TYK2、STAT1~5<sup>[12]</sup>,IL-27还可在B细胞中激活STAT1,在单核细胞中激活STAT1和STAT3,在肥大细胞中激活STAT3,在不同组织来源的癌细胞中诱导STAT因子磷酸化<sup>[13]</sup>。IL-27对外周NK细胞的激活、增殖和细胞毒性进行调节,并且可独立或者与其他细胞因子协同促进外周NK细胞的杀伤作用<sup>[14]</sup>。那么,IL-27对NK92细胞是否有调节作用、其作用是否与JAK-STAT通路有关?目前尚无相关报道。

本课题以NK92为研究对象,体外及体内条件下研究IL-27对NK92细胞杀伤作用的影响,探讨相关的分子和信号通路的机制,为NK92在临床肿瘤治疗中的应用提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞株、实验动物及主要试剂

NK92细胞购自美国ATCC公司,人Burkitts淋巴瘤Raji细胞购自中科院保藏细胞库,人慢性粒细胞白血病K562细胞、人早幼粒急性白血病HL60细胞、人卵巢癌A2780细胞、人前列腺癌DU145细胞和人乳腺癌MCF-7细胞均由滨州医学院免疫学教研室提供。6~8周龄、雄性、体质量18~22 g的重度免疫缺陷型小鼠购自北京华阜康生物科技股份有限公司(实验动物合格证号:SCXK2016-0006)。L500培养基购自北京达科为生物技术有限公司,胎牛血清购自美

国Gibico公司,CytoTox 96®非放射性细胞毒性检测试剂盒购自美国Promega公司,流式抗体NKp30和NKG2D购自美国BD公司,NKp46抗体购自美国Biolegend公司,穿孔素和颗粒酶B单抗购自美国eBioscience公司,STAT1和STAT3抗体购自武汉三鹰生物技术有限公司;STAT5购自美国SAB公司;p-STAT1、p-STAT3和p-STAT5抗体购自美国Abcam公司。流式细胞仪购自美国Beckman公司。

### 1.2 细胞培养

K562细胞、HL-60细胞、A2780以及Raji细胞培养于含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液中,DU145细胞及MCF-7细胞培养于含10%胎牛血清的DMEM培养液中,NK92细胞培养于含20%胎牛血清的L500培养液中,置于37℃、5%CO<sub>2</sub>的细胞培养箱中培养。

### 1.3 LDH法检测IL-27对NK92细胞毒性的影响

以K562、HL-60、Raji、DU145、MCF-7及A2780为靶细胞,调整细胞数密度至 $2 \times 10^5$ 个/ml,接种于96孔板,每孔50 μl。分别加入10、20、30及60 ng/ml的IL-27培养24 h后的NK92细胞移入铺有靶细胞的96孔板中,使效应细胞与靶细胞按照3:1比例混合培养,总体积100 μl。将各分组中培养体系在37℃、5%CO<sub>2</sub>条件下培养4 h,进行LDH法检测。离心取50 μl上清加入新的96孔板,每孔加入50 μl底物,室温避光孵育30 min,每孔加入50 μl终止液,在1 h之内使用酶标仪在490 nm的波长下测定每孔的光密度(D)值。

### 1.4 流式细胞术检测IL-27对NK92细胞中NKG2D、NKp30、NKp46、穿孔素以及颗粒酶B表达的影响

收集IL-27(30 ng/ml)处理24 h之后的NK92细胞,用PBS洗涤2次后,采用直接标记法分别用针对NKG2D、NKp30、NKp46、穿孔素和颗粒酶B的单克隆抗体标记细胞,置于4℃、避光条件下孵育30 min后,用PBS洗涤2次以除去过量的未结合的抗体,离心后每反应管加入400 μl PBS,轻轻摇匀。用流式细胞仪检测并分析结果。

### 1.5 WB检测IL-27对NK92细胞STATs蛋白及其磷酸化水平的影响

收集30 ng/ml IL-27处理0、10、20、30、60及120 min的NK92细胞提取蛋白行SDS-PAGE,电泳后将蛋白转移至PVDF膜上,用5%的脱脂奶粉封闭加兔

抗人 STAT1、STAT3、STAT5、p-STAT1、p-STAT3、p-STAT5 以及  $\beta$ -actin 抗体过夜, 加 HRP-山羊抗兔二抗孵育, 用  $\beta$ -actin 为内参比较。用 Image J 分析曝光所得数据, 计算目的蛋白相对表达量。

### 1.6 构建膀胱癌肿瘤动物模型并进行 IL-27 联合 NK92 细胞局部治疗实验

6~8 周龄的免疫缺陷型小鼠按照 SPF 级别的条件下饲养 1 周后, 接种膀胱癌 DU145 细胞于右侧腋下, 接种细胞数量为  $3 \times 10^6$  个/只。将接种肿瘤后的小鼠随机分为 PBS 对照组、NK92 组以及 IL-27+NK92 组。接种 40 d 后(移植瘤生长至约  $150 \text{ mm}^3$ ), 肿瘤局部注射 NK92 细胞悬液( $1 \times 10^7$  个/只)或 NK92 细胞加 IL-27 (30 ng/只)悬液, 每 4 d 注射 1 次, 共进行 6 次治疗。期间称量并记录小鼠体重, 测量并记录小鼠体温、瘤温, 用游标卡尺测量肿瘤直径并计算体积。

### 1.7 统计学处理

所有数据均采用 SPSS 17.0 统计软件分析, 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。两个独立样本之间的比较采用独立样本 *t* 检验, 多个独立样本之间的比较采用单因素方差分析。以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 IL-27 促进 NK92 的细胞毒活性

10、20 及 30 ng/ml 的 IL-27 均可显著促进 NK92 细胞对血液肿瘤细胞(K562 细胞、Raji 细胞和 HL60 细胞)和实体肿瘤细胞(A2780 细胞、DU145 细胞和 MCF-7 细胞)的杀伤能力(均  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 且 30 ng/ml 的 IL-27 对其细胞毒作用促进作用最强 ( $P < 0.05$ )(图 1)。但 60 ng/ml IL-27 反而会抑制 NK92 细胞的杀伤作用( $P < 0.05$ , 图 1)。

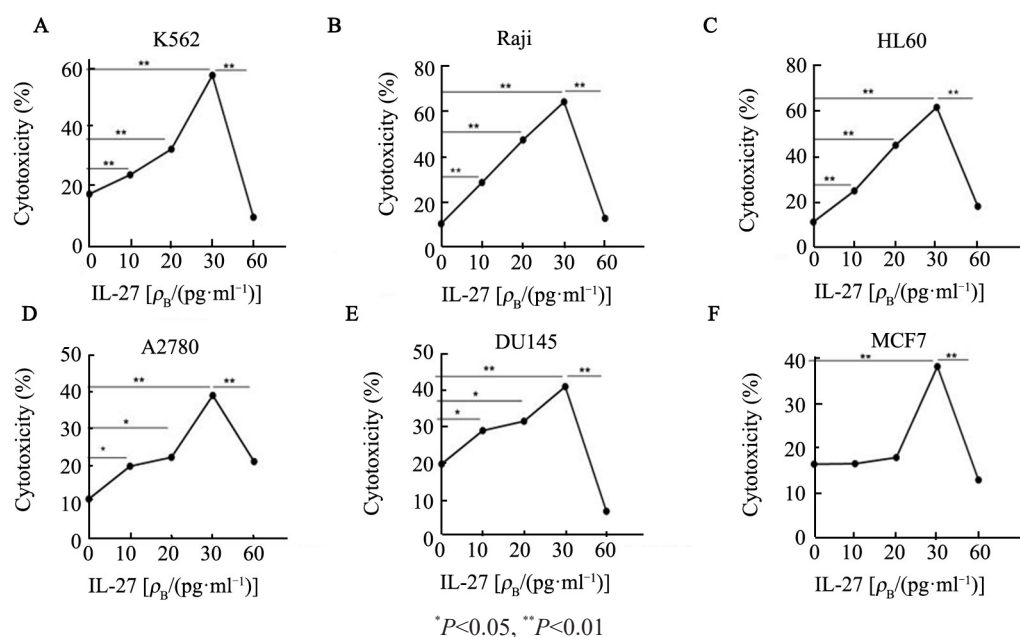


图 1 IL-27 提高 NK-92 细胞对肿瘤细胞的杀伤能力

Fig. 1 IL-27 enhances the killing ability of NK-92 cells to tumor cells

### 2.2 IL-27 促进 NK92 细胞 NKG2D、NKp30、NKp46 以及穿孔素的表达

流式细胞术检测结果(图 2)显示, 与没有用 IL-27 预先处理的对照组相比, IL-27 能明显促进 NK92 细胞表面受体 NKG2D、NKp30 和 NKp46 的表达(均  $P < 0.05$ ), 且能提高 NK92 细胞内穿孔素的表达( $P < 0.05$ ), 但不影响对颗粒酶 B 的表达( $P > 0.05$ )。

### 2.3 IL-27 上调 NK92 细胞中 STAT1、STAT3 和 STAT 5 磷酸化水平

WB 检测结果(图 3)显示, 30 ng/ml IL-27 处理 NK92 细胞 20 min 后, 细胞内 STAT1、STAT3 及 STAT5 蛋白的磷酸化水平均显著上调(均  $P < 0.01$ , 图 3A、

B), 同时 STAT1、STAT3 以及 STAT5 的蛋白水平相应下调(均  $P < 0.01$ , 图 3A)。用不同浓度的 IL-27(0、10、20、30 和 60 ng/ml)刺激 NK92 细胞 20 min 后, NK92 细胞 STAT1、STAT3 和 STAT5 的磷酸化水平随着 IL-27 浓度的增加而增强, 但当 IL-27 浓度增加到 60 ng/ml 时, 其对应的磷酸化水平会下降(均  $P < 0.01$ , 图 3C、D)。

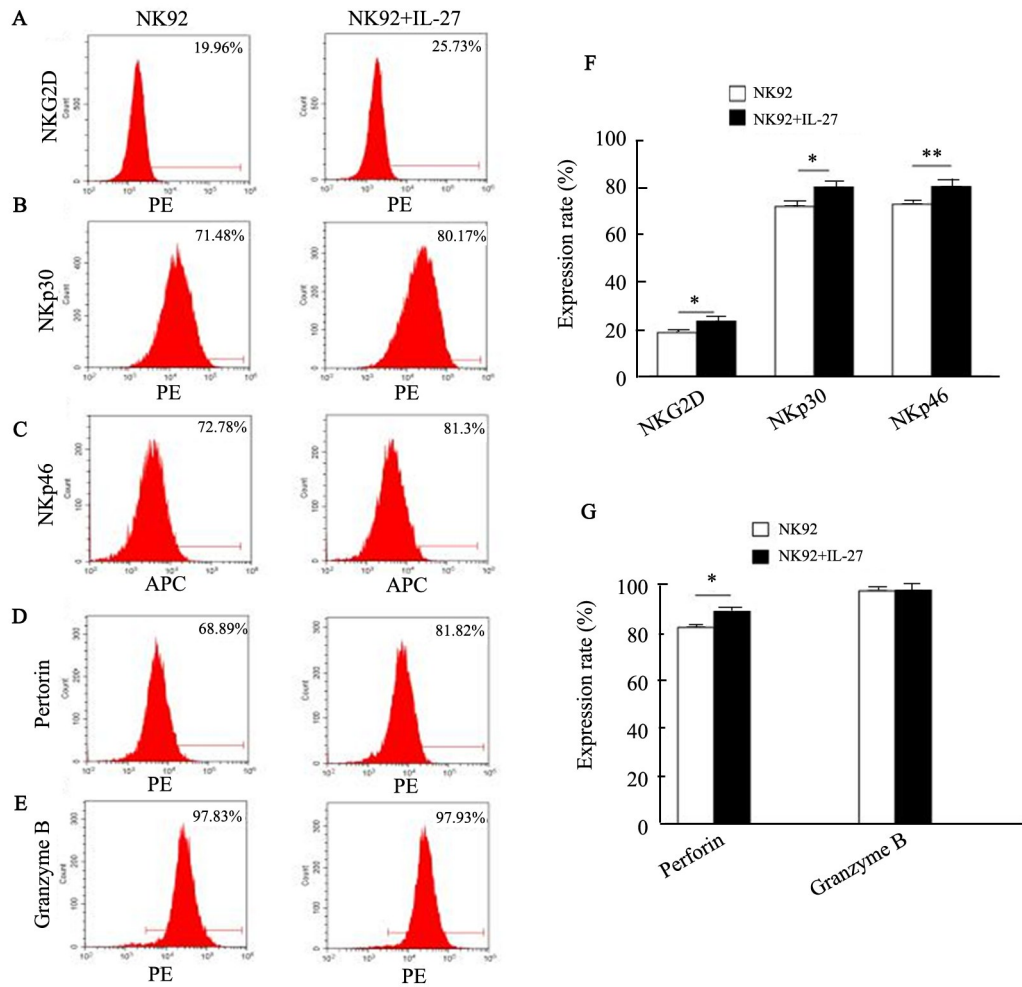
### 2.4 IL-27 和 NK92 细胞局部联合治疗可明显延长前列腺癌荷瘤小鼠生存期

移植瘤治疗实验结果(图 4)显示, 与 PBS 组相比, NK92 组和 NK92+IL-27 组荷瘤小鼠生存期明显延长( $P < 0.05$ ), 并且 NK92+IL-27 组小鼠生存期延长

更加明显( $P<0.05$ )。但其移植瘤体积随着时间的延长而增加, NK92组和NK92+IL-27组的小鼠移植瘤体积生长速度较PBS组小鼠缓慢( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ), 而NK92+IL-27组的荷瘤小鼠肿瘤体积生长速度较NK92组小鼠缓慢( $P<0.05$ )。荷瘤小鼠的体温、瘤温及体重随着肿瘤的生长逐渐下降, 各组之间没有明显差异( $P>0.05$ , 图4C-E)。

### 3 讨论

NK细胞识别和杀伤靶细胞不需要预先致敏, 无MHC限制性, 显示其在免疫治疗中有着重要的作用。在肿瘤微环境中, 许多肿瘤细胞通过低表达MHC I类分子、分泌免疫抑制因子等方式获得免疫逃逸的能力, 而NK92细胞表达较多的活化性受体和较少的抑制性受体<sup>[2]</sup>, 因此, NK92细胞在肿瘤免疫治疗中受到广泛关注。但NK92细胞杀伤肿瘤细胞的机制还需进一步探讨。



\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$

A-C: Histogram of NKG2D, NKp30 and NKp46 on the surface of NK92 cells from a representative experiment; D, E: Histogram of Perforin 和 Granzyme B on the secretion of NK92 cells from a representative experiment; F: The percent of the expression of NKG2D, NKp30 and NKp46 on the surface of NK92 cells; G: The percent of the expression of Perforin and Granzyme B secreted by NK92 cells

图2 IL-27促进NK92细胞中NKG2D、NKp30、NKp46以及穿孔素的表达

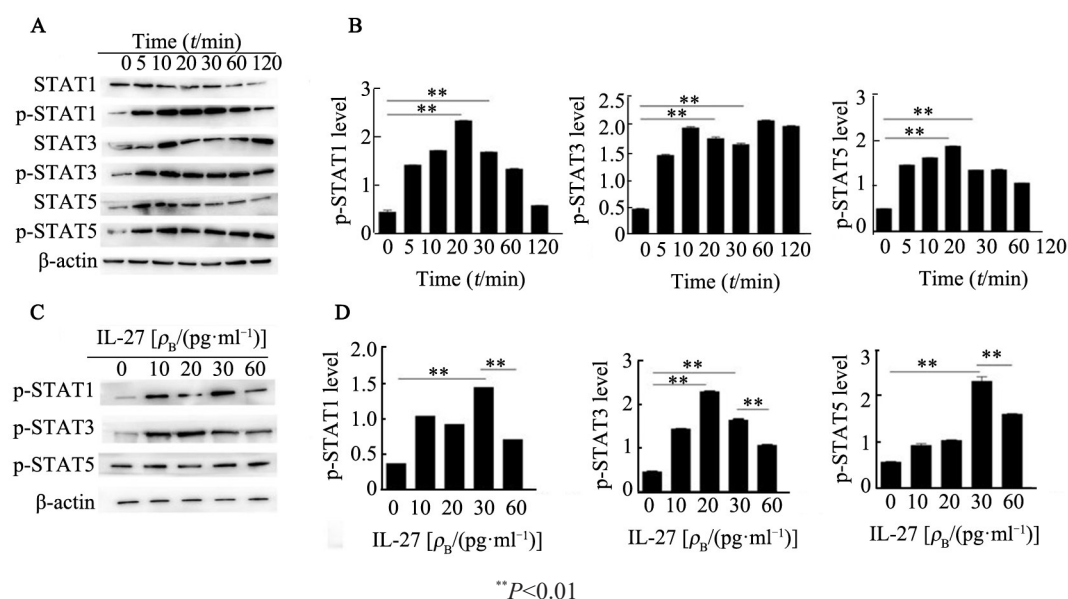
Fig.2 IL-27 promoted the expressions of NKG2D, NKp30 and NKp46 on NK92 cell surface as well as the secretion of perforin

细胞因子是NK细胞最有效的激活剂<sup>[15]</sup>。人源化单克隆抗体对肿瘤的治疗效果部分依赖于NK细胞介导的细胞毒性, IL-27可增强NK细胞对利妥昔单抗(RTX)锚定Raji细胞和西妥昔单抗(CTX)锚定的HCT116细胞的杀伤作用<sup>[16]</sup>。研究<sup>[16]</sup>表明, 成熟的DC分泌的IL-27可通过TRAIL途径促进NKp46的表达, 从而促进外周NK细胞对靶细胞的杀伤作用, 本

研究结果与之相似。LARONI等<sup>[17]</sup>发现IL-27可使CD56<sup>Bright</sup>和CD56<sup>Dim</sup>NK细胞的IL-10和IFN- $\gamma$ 表达增加, 活性增强, 增殖能力降低。本研究发现, 无论是对实体肿瘤细胞(A2780细胞、DU145细胞和MCF-7细胞)还是对血液肿瘤细胞(K562细胞、Raji细胞和HL60细胞), 30 ng/ml IL-27均可通过促进NK92细胞表面受体NKG2D、NKp30、NKp46的表达以及NK92

细胞中穿孔素的分泌来增强其对肿瘤细胞的杀伤作用。此外,研究<sup>[18]</sup>发现,子宫内膜癌细胞分泌的IL-27在体外和体内均能激活外周NK细胞的杀伤活性,这种作用可能与上调CD16、NKG2D、NKp46、穿孔素和

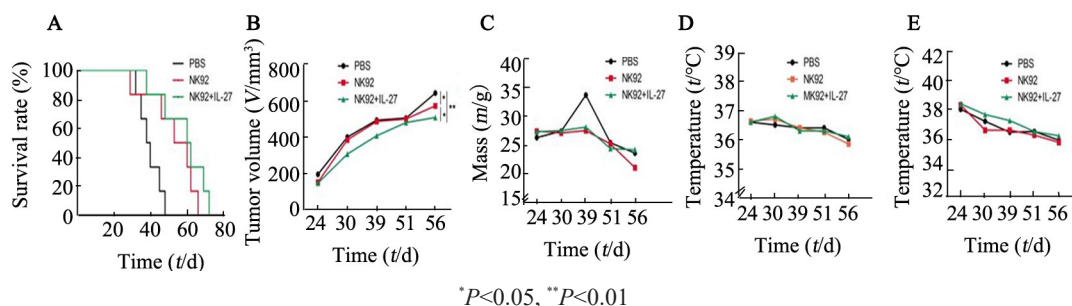
颗粒酶B以及下调KIR3DL1和KIR2DL1有关,这在本研究中也得到验证。本实验进一步证明IL-27可通过上调NK92细胞表面受体NKp30、NKp46和NKG2D来调控NK92细胞的杀伤功能。



A: The phosphorylation levels of STAT1, STAT3 and STAT5 in NK92 cells with IL-27 time-dependent; B: Histogram of phosphorylation levels of STAT1, STAT3 and STAT5 in NK92 cells with IL-27 time-dependent; C: The phosphorylation levels of STAT1, STAT3 and STAT5 in NK92 cells with IL-27 does-dependent; D: Histogram of phosphorylation levels of STAT1, STAT3 and STAT5 in NK92 cells with IL-27 does-dependent

图3 IL-27上调NK92细胞JAK-STATs通路中STAT1、STAT3和STAT5的磷酸化水平

Fig.3 IL-27 up-regulated the phosphorylation of STAT1, STAT3 and STAT 5 in JAK-STATs pathway in NK92 cells



A: Survival curve; B: Tumor volume change curve; C: Weight change curve; D: Body temperature change curve; E: Tumor temperature change curve

图4 IL-27和NK92细胞局部联合治疗可明显延长小鼠生存期

Fig.4 Local combination therapy of IL-27 and NK92 cells could significantly prolong the survival time of mice

本研究细胞实验表明,IL-27可通过上调NK92细胞表面受体NKp30、NKp46、NKG2D,以及促进其分泌穿孔素来杀伤实体瘤细胞和血液瘤细胞,并在前列腺癌DU145细胞小鼠移植瘤模型中进行了验证。IL-27和NK92细胞局部联合治疗可明显减缓肿瘤生长,延长小鼠生存期。

IL-27与NK细胞表面受体(IL-27R和gp130)结合形成异二聚体受体,这些受体的信号会激活下游

的JAK1/2/TYK2和依赖于该受体的STAT1/3/4家族成员来发挥调节作用<sup>[19]</sup>。ZIBLAT等<sup>[17]</sup>发现,IL-27可以通过激活STAT1直接触发NK细胞IFN- $\gamma$ 的分泌,促进NK细胞的活化(CD25和CD69的上调)。同时有研究<sup>[20]</sup>显示,IL-27还可通过上调STAT1磷酸化增加肿瘤细胞TAP2和MHC I类蛋白的表达,从而促进NK细胞对肿瘤的清除,这表明IL-27可以通过JAK-STAT通路中的STAT1和STAT3影响了NK细胞的生

物学功能。本研究发现IL-27可增强NK92细胞内STAT1、STAT3及STAT5蛋白的磷酸化水平,并且其磷酸化水平随着IL-27浓度的增加而增强;但当IL-27浓度增加到60 ng/ml时,STAT1、STAT3和STAT5的磷酸化水平明显降低,NK92细胞的细胞毒活性明显抑制。

综上所述,本研究细胞实验表明,IL-27可通过上调NK92细胞表面受体NKp30、NKp46、NKG2D和促进其穿孔素分泌以及促进JAK-STAT通路信号分子磷酸化来加强其对实体瘤细胞和血液瘤细胞的杀伤作用;IL-27和NK92细胞局部联合治疗可明显减缓肿瘤生长,延长小鼠生存期。根据Clinical Trails官网数据显示,全球有近百例NK细胞治疗肿瘤的相关临床实验,其中NK92细胞也参与了白血病、非小细胞性肺癌等肿瘤的临床试验。本实验结果为NK92细胞的临床肿瘤免疫治疗提供了实验依据。

#### [参考文献]

- [1] CHONG W P, VAN PANHUYS N, CHEN J, et al. NK-DC crosstalk controls the autopathogenic Th17 response through an innate IFN- $\gamma$ -IL-27 axis[J/OL]. *J Exp Med*, 2015, 212(10): 1739-1752[2019-03-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4577839/>. DOI:10.1084/jem.20141678.
- [2] GONG J H, MAKI G, KLINGEMANN H G. Characterization of a human cell line (NK-92) with phenotypical and functional characteristics of activated natural killer cells[J]. *Leukemia*, 1994, 8(4): 652-658.
- [3] DREXLER H G, MACLEOD R A. Malignant hematopoietic cell lines: in vitro models for the study of plasmacytoid dendritic cell leukemia[J]. *Leuk Res*, 2009, 33(9): 1166-1169. DOI:10.1016/j.leukres.2009.04.002.
- [4] MAKI G, KLINGEMANN H G, MARTINSON J A, et al. Factors regulating the cytotoxic activity of the human natural killer cell line, NK-92[J]. *J Hematother Stem Cell Res*, 2001, 10(3): 369-383. DOI:10.1089/152581601750288975.
- [5] SEIDEL D, SHIBINA A, SIEBERT N, et al. Disialoganglioside-specific human natural killer cells are effective against drug-resistant neuroblastoma[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2015, 64(5): 621-634. DOI:10.1007/s00262-015-1669-5.
- [6] HU Y, TIAN Z G, ZHANG C. Chimeric antigen receptor (CAR)-transduced natural killer cells in tumor immunotherapy[J/OL]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39(2): 167-176[2019-03-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5800464/>. DOI: 10.1038/aps.2017.125.
- [7] PETES C, ODOARDI N, PLATER S M, et al. IL-27 amplifies cytokine responses to Gram-negative bacterial products and Salmonella typhimurium infection[J/OL]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 13704[2019-03-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6135775/>. DOI:10.1038/s41598-018-32007-y.
- [8] PETES C, MARIANI M K, YANG Y W, et al. Interleukin (IL)-6 inhibits IL-27- and IL-30-mediated inflammatory responses in human monocytes[J/OL]. *Front Immunol*, 2018, 9: 256[2019-03-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5818456/>. DOI:10.3389/fimmu.2018.00256.
- [9] HE J B, ZHANG Q F, ZHANG W Y, et al. The interleukin-27 -964A >G polymorphism enhances sepsis-induced inflammatory responses and confers susceptibility to the development of sepsis[J/OL]. *Crit Care*, 2018, 22(1): 248[2019-03-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6164187/>. DOI:10.1186/s13054-018-2180-0.
- [10] JONES S A, JENKINS B J. Recent insights into targeting the IL-6 cytokine family in inflammatory diseases and cancer[J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18(12): 773-789. DOI:10.1038/s41577-018-0066-7.
- [11] PFLANZ S, TIMANS J C, CHEUNG J, et al. IL-27, a heterodimeric cytokine composed of EBI3 and p28 protein, induces proliferation of naive CD4<sup>+</sup> T cells[J]. *Immunity*, 2002, 16(6): 779-790.
- [12] GOTTHARDT D, SEXL V. STATs in NK-cells: the good, the bad, and the ugly[J/OL]. *Front Immunol*, 2016, 7: 694[2019-03-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5241313/>. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00694.
- [13] FABBI M, CARBOTTI G, FERRINI S. Dual roles of IL-27 in cancer biology and immunotherapy[J/OL]. *Mediators Inflamm*, 2017, 2017: 3958069[2019-03-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5309407/>. DOI:10.1155/2017/3958069.
- [14] VIGNALI D A, KUCHROO V K. IL-12 family cytokines: immunological playmakers[J/OL]. *Nat Immunol*, 2012, 13(8): 722-728 [2019-03-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4158817/>. DOI:10.1038/ni.2366.
- [15] KONJEVIĆ G M, VULETIĆ A M, MIRJAČIĆ MARTINOVIĆ K M, et al. The role of cytokines in the regulation of NK cells in the tumor environment[J]. *Cytokine*, 2019, 117(5): 30-40. DOI:10.1016/j.cyto.2019.02.001.
- [16] ZIBLAT A, DOMAICA C I, SPALLANZANI R G, et al. IL-27 stimulates human NK-cell effector functions and primes NK cells for IL-18 responsiveness[J]. *Eur J Immunol*, 2015, 45(1): 192-202. DOI: 10.1002/eji.201444699.
- [17] LARONI A, GANDHI R, BEYNON V, et al. IL-27 imparts immunoregulatory function to human NK cell subsets[J/OL]. *PLoS One*, 2011, 6(10): e26173[2019-03-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3198386/>. DOI:10.1371/journal.pone.0026173.
- [18] ZHOU W J, CHANG K K, WU K, et al. Rapamycin synergizes with cisplatin in antiendometrial cancer activation by improving IL-27-stimulated cytotoxicity of NK cells[J/OL]. *Neoplasia*, 2018, 20(1): 69-79[2019-03-18]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5724748/>. DOI:10.1016/j.neo.2017.11.003.
- [19] BEHZADI P, BEHZADI E, RANJBAR R. IL-12 family cytokines: general characteristics, pathogenic microorganisms, receptors, and signalling pathways[J]. *Acta Microbiol Immunol Hung*, 2016, 63(1): 1-25. DOI:10.1556/030.63.2016.1.1.
- [20] ROLVERING C, ZIMMER A D, GINOLHAC A, et al. The PD-L1- and IL6-mediated dampening of the IL27/STAT1 anticancer responses are prevented by  $\alpha$ -PD-L1 or  $\alpha$ -IL6 antibodies[J]. *J Leukoc Biol*, 2018, 104(5): 969-985. DOI:10.1002/jlb.ma1217-495r.

[收稿日期] 2019-03-21

[修回日期] 2019-04-21

[本文编辑] 黄静怡