

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2022.12.001

· 专家论坛 ·

肿瘤免疫微环境中的NK细胞及免疫治疗

王旭奔^{1,2}, 魏海明^{1,2}, 郑小虎^{1,2} (1. 中国科学技术大学 生命科学与医学部基础医学院 免疫学研究所, 安徽 合肥 230026; 2. 合肥微尺度物质科学国家研究中心 分子医学部, 安徽 合肥 230026)



魏海明 中国科学技术大学生命科学与医学部讲席教授、博士生导师。中国免疫学会常务理事、肿瘤免疫与生物治疗专业委员会副主任委员、生殖免疫专业委员会副主任委员, 安徽省免疫学会理事长。主要从事固有免疫研究, 承担国家重点研发计划重点专项项目(首席)、国家自然科学基金重点项目、国家863计划、国家973计划、国家新药创制重大专项和中国科学院先导科技专项等多项科研课题。发表SCI收录论文226篇, 其中以通信作者身份在*Nat Immunol*、*Immunity*、*Cell Metab*、*Sci Transl Med*、*Nat Commun*、*PNAS*、*Blood*、*Hepatology*、*Cancer Res*、*PLoS Pathol*等国际知名学术期刊发表论文70余篇。2008年获国家自然科学基金二等奖1项, 2016年获安徽省自然科学一等奖1项, 2020年获全国抗击新冠肺炎疫情先进个人, 2021年获“吴阶平医学奖”, 2021年获评教育部“全国高校黄大年式教师团队”负责人。



郑小虎 博士、教授、博士生导师, 国家优青, 安徽省杰青。2009年本科毕业于安徽医科大学, 2015年博士毕业于中国科学技术大学免疫学研究所。现任中国科学技术大学生命科学与医学部、中国科学技术大学免疫学研究所、中科院固有免疫与慢性疾病重点实验室和合肥微尺度物质科学国家研究中心特聘教授、首席研究员和学术带头人。主要从事肿瘤免疫学研究, 尤其在NK细胞与肿瘤免疫微环境、肿瘤免疫干预靶点的寻找与药物研发方面的研究。以项目负责人主持了国家自然科学基金优青项目、专项项目、面上项目等十余项科研课题。以(共)通信作者和第一作者身份在*Nat Immunol*、*PNAS*、*Cancer Res*、*Clin Cancer Res*、*Natl Sci Rev*和*Cell Mol Immunol*等国际著名学术期刊发表学术论文十余篇。已授权国内专利3项和国际专利1项, 并实现技术转让1项。先后获得中国科学院院长优秀奖和中国免疫学会青年学者奖。

[摘要] 自然杀伤(NK)细胞是一类具有强大抗肿瘤功能的固有淋巴细胞, 能够快速识别和杀伤肿瘤细胞, 其功能受活化性受体和抑制性受体的多种信号所调控。但是, 肿瘤浸润NK细胞的杀伤功能由于免疫抑制性肿瘤微环境而失调, 甚至会促进肿瘤细胞的免疫逃逸, 导致多种免疫疗法临床治疗的效果不佳。肿瘤细胞上调表达抑制性配体、肿瘤微环境中大量抑炎因子及异常的低氧、低pH等, 都诱导肿瘤浸润NK细胞杀伤功能受损。近年来, 关于肿瘤微环境与肿瘤浸润NK细胞的研究正处于肿瘤免疫领域的前沿, 已经取得了许多临床研究成果。多项研究表明, 肿瘤浸润NK细胞通常表现为抑制性受体上调、活化性受体下调和代谢异常等特征, 基于此, 研究者开发了多种针对性治疗方案, 以恢复NK细胞的杀伤能力。本文在阐述NK细胞功能活化和抑制相关机制的基础上, 论述了肿瘤浸润NK细胞的特征及其相应的肿瘤免疫治疗方案。

[关键词] 自然杀伤细胞; 肿瘤微环境; 免疫治疗

[中图分类号] R730.51; R392.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2022)12-1057-10

NK cells within tumor immune microenvironment and immunotherapy

WANG Xuben^{1,2}, WEI Haiming^{1,2}, ZHENG Xiaohu^{1,2} (1. Institute of Immunology, School of Basic Medical Science, Division of Life Sciences and Medicine, University of Science and Technology of China, Hefei 230026, Anhui, China; 2. Division of Molecular Medicine, Hefei National Laboratory for Physical Sciences at Microscale, Hefei 230026, Anhui, China)

[Abstract] Natural killer (NK) cells, a kind of innate lymphocyte with strong anti-tumor function, can quickly recognize and kill tumor cells. Their function is regulated by a variety of signals of activating and inhibitory receptors. However, the killing function of tumor-infiltrating NK cell is dysregulated due to the immunosuppressive tumor microenvironment, which may even promote the immune escape of tumor cells, resulting in poor clinical therapeutic effects of various immunotherapies. Up-regulated expression of inhibitory

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No.82122055)

[作者简介] 王旭奔(1997—), 男, 博士生, 主要从事NK细胞与肿瘤免疫学研究, E-mail: wxb1997@mail.ustc.edu.cn

[通信作者] 魏海明, E-mail: ustcwhm@ustc.edu.cn; 郑小虎, E-mail: ustczhx@ustc.edu.cn

ligands on tumor cells, a large number of anti-inflammatory cytokines in the tumor microenvironment, abnormal hypoxia, low pH, and other indicators induced impaired killing function of tumor-infiltrating NK cells. In recent years, the research on tumor microenvironment and tumor infiltrating NK cells is at the forefront of tumor immunity, and many clinical research results have been achieved. Many studies have shown that tumor-infiltrating NK cells are usually characterized by up-regulation of inhibitory receptors, down-regulation of activating receptors, and abnormal metabolism. Based on this, researchers have developed many targeted therapies to restore the killing function of NK cells. In this paper, we summarize the characteristics of tumor-infiltrating NK cells and the related tumor immunotherapies based on the mechanisms of activation and inhibition of NK cell function.

[Key words] natural killer (NK) cell; tumor immune microenvironment; immunotherapy

[Chin J Cancer Biother, 2022, 29(12): 1057-1066. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.12.001]

人类自然杀伤(NK)细胞占有所有循环淋巴细胞的15%^[1],对于体内的免疫防御、免疫监视和免疫清除至关重要。不同于T淋巴细胞,NK细胞通过多种活化性受体可以快速识别和杀伤靶细胞,而无需预先致敏^[2]。作为免疫系统的重要组成部分,肿瘤浸润NK细胞一直是抗肿瘤免疫的研究热点。活化的NK细胞释放含有穿孔素和颗粒酶的细胞毒性颗粒直接裂解肿瘤细胞,并分泌IFN- γ 和TNF- α 激活适应性免疫^[3]。但是,肿瘤微环境中的NK细胞经常出现活化性受体表达下调、抑制性受体表达上调和代谢功能失调的特征,导致NK细胞无法正常地杀伤肿瘤细胞。NK细胞功能的抑制大多是由肿瘤微环境的抑炎细胞因子、异常代谢环境等因素所诱导。基于肿瘤浸润NK细胞的特征,研究者一般从以下两个方向开发NK细胞相关的免疫治疗方案:阻断免疫检查点以增强NK细胞的杀伤能力和优化NK细胞状态以延长肿瘤内生时间。因此,充分了解肿瘤浸润NK细胞与肿瘤微环境的关系,可能为免疫检查点的发现与免疫治疗方案的优化提供新的思路。

1 NK细胞的生物学特性

NK细胞属于固有淋巴细胞家族,存在于人外周血、骨髓和组织器官中,可以通过T细胞受体(TCR)和相关CD3分子的缺失,以及神经细胞黏附分子(也称为CD56)的表达所鉴定^[4]。NK细胞于1973年首次被发现,认为是一类可以有效杀死抗体包被细胞的非T非B淋巴细胞亚群^[5]。此后,NK细胞在抗肿瘤和抗感染反应中发挥的作用逐渐被人们所熟知^[6]。由于其强大的抗肿瘤活性和促炎功能,近年来,NK细胞在肿瘤发生发展和肿瘤免疫治疗的研究中受到越来越多的关注。

1.1 NK细胞的亚群

根据NK细胞表面的CD56和CD16分子表达差异,一般将其分为CD56低表达同时CD16阳性(CD56^{dim}CD16⁺)NK细胞和CD56高表达同时CD16阴性(CD56^{bright}CD16⁻)NK细胞两亚类^[7]。CD56^{dim}亚群被认为是一个成熟的细胞毒细胞群,占循环NK细胞的大部

分;CD56^{bright}亚群被认为主要是参与免疫调节的作用,位于次级淋巴器官^[8]。CD56^{dim}NK细胞受到激活受体的刺激后,可以直接杀死靶细胞,而无需事先致敏。相反,CD56^{bright}NK细胞的细胞毒性较小,但暴露于环境刺激时会产生更多的细胞因子,如IL-1 β 、IL-2、IL-12、IL-15和IL-18等^[9]。虽然,关于这两个亚群的发育过程尚未完全了解,但普遍地认为它们对应于NK细胞成熟的两个不同阶段^[10]。

1.2 NK细胞功能的抑制与活化

NK细胞表达多种类型的活化性受体和抑制性受体,而这些受体介导的信号之间的相互制衡决定了NK细胞的功能是被活化还是被抑制^[11-13]。根据“丧失自我(missing-self)”识别原理,NK细胞可以杀伤不表达MHC I类分子的细胞而不杀伤表达MHC I的细胞^[14]。因此,NK细胞表达能够识别MHC I类分子的抑制性受体,其最重要的抑制性受体是杀伤细胞免疫球蛋白样受体(killer cell immunoglobulin-like receptor,KIR)家族成员和CD94/NKG2A异源二聚体^[15]。每个个体都表达一组特定的KIR,因此编码KIR的基因具有高度多态性^[16]。其中,依据KIR的结构和功能,可以对KIR进行分类:(1)根据免疫球蛋白样结构域的数量分类,例如2个结构域(KIR2D-)和3个结构域(KIR3D-);(2)根据细胞质内尾部结构长短分类,例如L表示长尾部结构,S表示短尾部结构。抑制性KIR通常为L结构(KIR2DL),活化性KIR通常为S结构(KIR2DS),但是活化性受体KIR2DL4具有一个长的细胞质尾巴。抑制性KIR在细胞质内含有免疫受体酪氨酸抑制模体(immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif,ITIM),负责传递抑制信号;活化性KIR与免疫受体酪氨酸激活模体(immunoreceptor tyrosine-based activation motif,ITAM)相连,负责传递活化信号^[17-18]。

正常情况下,NK细胞表面抑制性受体与同一个体正常细胞表达的MHC I类分子结合传递抑制性信号,抑制NK细胞功能,避免了NK细胞对于正常细胞的杀伤。病理情况下(如肿瘤细胞或者被感染的细胞),它们会下调或者异常表达MHC I类分子,NK细胞的抑制性受体识别不到MHC I类分子,无法传递抑制性信号,NK细胞

的杀伤能力不再受到抑制,此时NK细胞就会因为接收到活化性信号而被激活,随后对发生病理改变的细胞进行杀伤^[19]。激活NK细胞的主要受体包括天然细胞毒性受体(natural cytotoxicity receptor, NCR)、CD16和NKG2D等^[20]。NCR家族包括3个I型穿膜受体成员,分别被称为NKp46、NKp44和NKp30,它们分别由NCR1、NCR2和NCR3基因编码,在NK细胞的活化过程中发挥重要作用^[21]。CD16由FCGR3A基因编码,是免疫球蛋白G(IgG)的Fc段受体,协助NK细胞识别被IgG结合的细胞,从而发挥抗体依赖细胞介导的细胞毒作用(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)^[22]。NKG2D由KLRK1基因编码,在NK细胞表面需要与接头蛋白DAP10结合以稳定受体复合物,并且其配体在多种肿瘤细胞上表达。当NK细胞被NKG2D相应的配体刺激、活化后,会促进NK细胞的ADCC、脱颗粒和细胞因子的产生^[23]。此外,还有其他分子(如DNAM1、2B4和NKp80等)主要通过作为共受体联合活化受体信号增强NK细胞的活性^[24]。

2 肿瘤微环境中NK细胞的特征

肿瘤发展过程中逐步形成一个复杂的多细胞微环境,除了肿瘤细胞以外,还包括基质细胞,如肿瘤相关成纤维细胞、间充质基质细胞、内皮细胞等;免疫细胞,如NK细胞、T和B淋巴细胞、肿瘤相关巨噬细胞、树突细胞(DC)等^[25]。肿瘤的发生、发展、转移与复杂的肿瘤微环境息息相关^[26]。这些细胞分泌多种生长因子、细胞因子和趋化因子,结合肿瘤组织内特殊的物理(如缺氧、高压)和化学(如低pH)条件,促进肿瘤细胞的增殖和侵袭,也抑制了免疫细胞的杀伤功能。因此,对肿瘤微环境中NK细胞特征的了解有助于研发新一代针对性强的肿瘤免疫疗法(图1)。

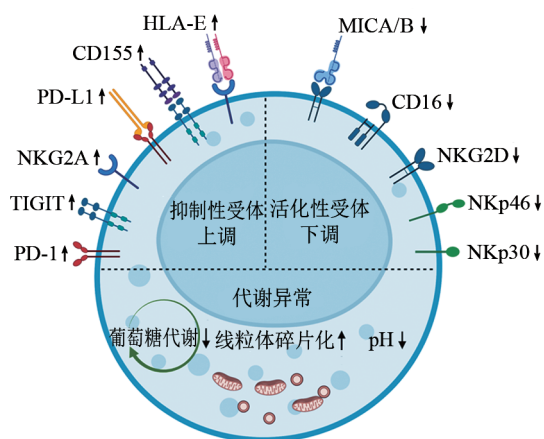


图1 肿瘤浸润NK细胞特征示意图

2.1 肿瘤浸润NK细胞的抑制性受体上调

程序性死亡蛋白-1(PD-1)被认为是T细胞耗竭的标志物,其也可以在NK细胞表达。一项关于浸润性头颈部肿瘤的研究结果^[27]显示,PD-1⁺ NK细胞呈现耗竭的表型。有研究^[28]发现,肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)细胞可以通过分泌外泌体circUHRF1诱导肿瘤浸润NK细胞高表达PD-1,从而抑制其抗肿瘤免疫功能。在消化道肿瘤中发现,PD-1在肿瘤浸润NK细胞高表达,程序性细胞死亡蛋白配体-1(PD-L1)与PD-1⁺ NK细胞结合后抑制NK细胞的活性,并且阻断PD-1与PD-L1的结合,从而可以恢复NK细胞的杀伤功能^[29]。此外,TIM3也是一种NK细胞耗竭的标志物。相比于TIM3⁻ PD-1⁻ NK细胞,多种肿瘤内的TIM3⁺ PD-1⁺ NK细胞分泌IFN- γ 和颗粒酶B的能力缺陷,细胞毒性降低^[30]。

T细胞免疫球蛋白和ITIM结构域蛋白(T-cell immunoglobulin and ITIM domain, TIGIT)也是一种表达在NK细胞上的抑制性受体,其配体为CD155,已被发现其在多种肿瘤中高表达,这与肿瘤浸润NK细胞通过TIGIT-CD155的通路发生耗竭相关。尽管在结肠癌中肿瘤浸润NK细胞PD-1和细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4(CTLA-4)表达水平较低,但TIGIT表达水平升高^[31]。CD155在正常组织中表达较低,但在许多肿瘤细胞和原发性肿瘤组织中高表达,并且与肿瘤细胞增殖和迁移相关^[32]。此外,CD155在肿瘤相关抗原提呈细胞中表达上调。CD155通过与其不同的受体,例如活化性受体CD226或CD96、抑制性受体TIGIT等相互作用来调控NK细胞的免疫反应。在肿瘤微环境中,肿瘤细胞可以通过表达免疫抑制性配体,诱导NK细胞上调抑制性受体表达,从而影响NK细胞对于肿瘤细胞的杀伤功能。

细胞因子是免疫系统最重要的效应分子和信使分子之一,肿瘤微环境中存在多种免疫抑制作用的细胞因子,促进NK细胞上调表达抑制性受体。例如,IL-10是一种重要的抗炎细胞因子,可以对免疫反应发挥负调作用^[33-34]。来自急性髓系白血病(acute myelogenous leukemia, AML)患者的NK细胞在体外杀伤K562细胞的功能受损,与健康对照相比,其抑制性受体NKG2A上调,进一步的机制探讨证明了这种抑制作用主要是由肿瘤微环境中IL-10介导的^[35]。在一项关于207例HCC患者肝组织标本的分析中发现,肿瘤内部或肿瘤周围区域的NK细胞高表达NKG2A;同时,在HCC患者的血浆中检测到高水平的IL-10,并且阻断IL-10可特异性抑制NK细胞中NKG2A的表达,这些发现证明了NKG2A表达的增加可能是由IL-10诱导的^[36]。

转化生长因子 β (TGF- β)在组织局部的炎症、纤维化和免疫调节中起核心作用,在包括HCC在内的多

种肿瘤中, TGF- β 相关信号通路失调。HCC 患者血浆中高水平的 TGF- β 1 上调 NK 细胞表达抑制性受体 CD96, 从而破坏 NK 细胞中抑制性受体 CD96 和活化性受体 CD226 与 TIGIT 之间相互作用的平衡, 使得抑制信号增强。肿瘤浸润 CD96⁺ NK 细胞功能衰竭, IFN- γ 和 TNF- α 产生受损, IL-10 和 TGF- β 1 高表达, 以及 T-bet、IL-15、穿孔素和颗粒酶 B 低表达, 而通过阻断 TGF- β 1 可以逆转 NK 细胞耗竭来恢复 NK 细胞对肿瘤的免疫力^[37]。

NK 细胞表达与 MHC I 类分子结合的抑制性受体, 也表达其他抑制性受体, 包括 PD-1、TIM3、TIGIT 和 CD96 等, 肿瘤细胞通过表达这些受体的配体, 抑制 NK 细胞介导的抗肿瘤作用^[38]。肿瘤组织中 NK 细胞的抑制性受体水平高于非肿瘤组织内 NK 细胞, 并且肿瘤内抑制性受体相关的配体高表达^[39]。肿瘤局部微环境造就了肿瘤浸润 NK 细胞的免疫特征, 使其杀伤功能更易被抑制, 最终导致了肿瘤细胞免疫逃逸。

2.2 肿瘤浸润 NK 细胞的活化性受体下调

NK 细胞表达不同的活化性受体, 包括具有基于 ITAM 和结合磷酸肌醇 3 激酶基序的分子, 它们的激活对于 NK 细胞发挥杀伤功能是必要的, 如 NK 细胞通过活化受体 NKG2D、NKp30 等识别肿瘤细胞上的相应配体, 对肿瘤细胞进行杀伤^[40]。但是当 NK 细胞在体内持续暴露于激活 NK 细胞的配体时, 也会发生 NK 细胞脱敏, 并且导致肿瘤组织浸润 NK 细胞活化性受体的表达受到抑制。

对来自非侵袭性或侵袭性乳腺癌患者的外周血 NK 细胞和乳腺癌浸润 NK 细胞进行基因表达特征分析发现, 与健康供者的外周血和正常乳腺组织中 NK 细胞相比, 肿瘤患者的 NK 细胞活化受体(如 NKp30、NKG2D 和 CD16 等)表达减少, 肿瘤浸润 NK 细胞的细胞毒功能受损更严重^[41]。研究者^[42]还发现, 肿瘤基质中的 TGF- β 1 与诱导 NK 细胞 NKG2D 表达降低有关。此外, 肿瘤细胞还可以通过脱落各种 NKG2D 配体(NKG2DL), 如 MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP5 或 ULBP6 等, 逃避依赖 NKG2D 的免疫监视。由于 NKG2DL 通常在 AML 细胞中表达, 所以其是 NK 细胞识别 AML 细胞的关键受体, 但仍有部分 AML 细胞不能被 NK 细胞有效清除, 导致患者死于肿瘤复发。通过构建来源于人 AML 的人源性组织异种移植(patient-derived xenograft, PDX) 小鼠模型, 发现 NKG2DL⁺ AML 细胞被 NK 细胞清除, 而从同一个体中分离的 NKG2DL⁻ AML 细胞逃脱了 NK 细胞的杀伤^[43]。因此, 肿瘤细胞上针对 NK 细胞活化性受体的配体缺失, 是肿瘤细胞逃避 NK 细胞杀伤的重要原因之一。头颈部鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma,

HNSCC) 是一种具有高度异质性和侵袭性肿瘤, 基于 44 例 HNSCC 患者的血液和肿瘤组织标本观察, 发现在高水平的游离 NKG2DL 存在下的 NK 细胞未能浸润 HNSCC 组织, 而去除脱落的 NKG2DL (sNKG2DL) 可以恢复 NK 细胞的功能, 故认为其机制是高水平游离 sNKG2DL 和 TGF- β 1 显著降低了 NKG2D 的表达, 从而削弱了 NK 细胞对 HNSCC 细胞的 NKG2D 依赖的细胞毒性杀伤^[44]。

TGF- β 1 除了下调 NKG2D 的表达, 还可以下调其他 NK 细胞活化性受体和细胞毒性颗粒的表达, 如 CD226、NKp30、颗粒酶和穿孔素等^[45]。TGF- β 1 与 I 型 TGF- β 受体(TGF- β R1) 结合, 使其二聚化为 II 型 TGF- β 受体(TGF- β R2)。然后, TGF- β R2 使 SMAD2 和 SMAD3 发生磷酸化, 它们与 SMAD4 形成复合物, 调节下游基因的转录, 从而抑制 NK 细胞表达活化性受体^[46]。基于此, 开发了针对 TGF- β R1 和 SMAD2/3 磷酸化的小分子抑制剂 galunisertib, 并且临床试验表明 galunisertib 能够抑制 SMAD2 磷酸化并恢复 NK 细胞中 CD226、NKp30 和 NKG2D 等活化受体的表达以及穿孔素和颗粒酶的释放^[47]。

将 AML 细胞与 NK 细胞直接接触会导致 NKp30 和 NKp46 表达的降低, 同时抑制 IL-2 对 NKp44 的诱导表达。但是在另项研究^[48]中, 研究者排除了 TGF- β 1 对此的影响。在后续的研究^[49]中发现, 这一抑制作用主要是由 IL-10 介导的。此外, 诱导肿瘤浸润 NK 细胞下调 NKp30 和 NKp44 表达的原因还可能是甲状腺癌细胞产生的前列腺素 E2、卵巢癌细胞产生的可溶性 NKp30 配体 B7-H6 等^[50-51]。因此, 肿瘤微环境中的多种可溶性效应分子均可以下调 NK 细胞活化性受体表达, 从而抑制 NK 细胞发挥其杀伤性功能。

在肿瘤组织中, 新生血管和细胞耗氧之间的平衡被破坏会导致局部氧含量下降, 从而改变免疫细胞的功能并促进肿瘤的进展^[52]。多项研究结果^[53]表明, NK 细胞通过上调缺氧诱导因子 1 α 来适应缺氧环境。肿瘤微环境的低氧会下调 NK 细胞表达 NKG2D、NKp30 和 CD16 等活化性相关受体, 从而限制了 NK 细胞的细胞因子的产生和细胞毒作用, 导致肿瘤发生转移^[54]。

NK 细胞对肿瘤细胞的杀伤活性高度依赖于其活化受体的激活情况, 因此, 大量研究都集中于 NK 细胞活化受体的表达及其与肿瘤细胞上特异性配体结合的作用。如 NKG2D 的配体通常在肿瘤细胞上调, 并刺激 NK 细胞杀死肿瘤细胞。然而, NK 细胞上的活化性受体的信号转导受到不同微环境的调控。有观点认为, 当 NKG2D 配体 MICA 和 MICB 脱落会诱导 NK 细胞表面 NKG2D 的表达下调, 抑制其活化; 但也有观点认为,

脱落的NKG2D配体MULT1会通过阻断持续活化NK细胞的配体,抑制NK细胞的脱敏,从而增强NK细胞的活化状态^[55]。肿瘤微环境中的NK细胞活化性受体的表达及信号转导效应的调控仍然是NK细胞肿瘤免疫研究的重点之一。

2.3 肿瘤浸润NK细胞的代谢异常

免疫反应涉及到NK细胞功能发生快速和广泛的变化,这需要细胞代谢发生改变来支持这些变化。不同的代谢途径可以满足NK细胞对能量和生物合成的特殊需求。越来越多的证据表明,细胞代谢异常是导致肿瘤浸润NK细胞功能失调的关键因素^[56]。肿瘤微环境是代谢受限的状态,包含非常低浓度的营养物质,如NK细胞的关键能量来源——葡萄糖含量较低。有研究结果^[57]表明,肿瘤中具有低浓度的氧、高浓度的乳酸和低pH值这些生化特征,这都会影响NK细胞的代谢状态,从而损害其抗肿瘤的能力。代谢产物不仅是细胞内生化反应的中介体,当它释放到外部环境中时,也可以影响周围的细胞^[58]。相比于传统的信号通路,代谢产物的产生和分泌都非常迅速,所以肿瘤内积累的异常代谢产物是影响NK细胞代谢的关键因素,细胞代谢的紊乱抑制了NK细胞的杀伤功能。一项研究结果^[59]表明,结直肠癌肝转移产生的乳酸会引起肿瘤浸润的肝驻留NK细胞的胞内pH值降低,从而导致其线粒体功能障碍和细胞凋亡。类固醇调节元件结合蛋白(sterol regulatory element-binding protein, SREBP)转录因子控制的葡萄糖代谢对于活化NK细胞的代谢重编程至关重要,而乳腺肿瘤微环境中积累了大量能抑制SREBP活化水平的胆固醇代谢产物27-羟基胆固醇,因此肿瘤浸润NK细胞的葡萄糖代谢受损^[60-61]。但是胆固醇相关的脂质代谢对NK细胞的影响具有异质性。最近的一项研究^[62]表明,高水平的血清胆固醇和NK细胞中胆固醇的积累通过促进小鼠肝癌浸润NK细胞脂筏的形成来增加其抗肿瘤能力。

除了肿瘤细胞产生的代谢产物外,肿瘤内的髓源性抑制细胞(myeloid-derived suppressor cell, MDSC)等免疫细胞也能够影响NK细胞的杀伤能力^[63]。单克隆抗体用于治疗实体瘤和血液系统恶性肿瘤,部分通过NK细胞上的Fc受体(FcR)发挥作用^[64]。然而,来自肿瘤患者的NK细胞受MDSC的抑制。其中,MDSC表达高水平的精氨酸酶1和诱导型一氧化氮(NO)合酶,两者都以精氨酸为底物产生NO^[65]。MDSC衍生的NO导致FcR下游信号蛋白(如细胞外调节蛋白激酶)上酪氨酸残基的硝化,从而导致FcR介导的功能显著受损^[66]。MDSC的精氨酸代谢和消耗不仅会产生NO,还会导致肿瘤微环境中精氨酸缺乏,而精氨酸是NK细胞增殖所需的营养物质。

一项研究^[67]中使用CB-1158(一种精氨酸酶小分子抑制剂)阻断了MDSC介导的抑制NK细胞增殖的能力,增加了肿瘤浸润NK细胞的数量及其炎症细胞因子和干扰素诱导基因的表达。

部分实体瘤浸润NK细胞数量减少、生存活性降低,因此效应功能被抑制,这与肿瘤组织内部低氧的特征相关。通过透射电子显微镜分析肝癌患者肿瘤浸润NK细胞、健康供者肝NK细胞和外周血NK细胞的亚细胞结构后发现,肿瘤浸润NK细胞中主要是碎片化的线粒体,而正常肝NK细胞和外周血NK细胞主要是完整的管状线粒体。低氧的肿瘤微环境促进NK细胞中mTOR-Drp1的持续激活,诱导线粒体过度分裂成碎片。这种碎片化线粒体与NK细胞浸润水平和细胞毒性的降低相关,导致了肿瘤细胞逃避NK细胞所介导的免疫监视,并且对线粒体断裂的抑制可以改善NK细胞的线粒体代谢、存活和抗肿瘤能力^[68]。

3 针对肿瘤浸润NK细胞开发的生物治疗

肿瘤免疫疗法,包括免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitor, ICI)和过继细胞疗法,改善免疫系统识别和攻击癌细胞的能力^[69]。NK细胞在抵抗肿瘤生长和转移的固有免疫中发挥重要作用,但肿瘤浸润NK细胞的效应功能往往会被其微环境抑制。针对肿瘤浸润NK细胞的不同特征,已经开发了多种方法来提升其在白血病或实体瘤患者中的抗肿瘤作用,某些疗法已经获得不错的临床效果^[70]。

3.1 针对肿瘤微环境中抑制性受体上调的免疫治疗方案

肿瘤免疫治疗的一个重大突破是使用ICI^[71]。免疫检查点分子以抑制性受体(例如PD-1、CTLA-4)为代表,在正常生理条件下,这些受体调控T、NK细胞等效应细胞的功能,或者对免疫反应进行更广泛的调控,从而达到外周免疫耐受。但是,肿瘤细胞通过表达相关抑制性配体,限制T、NK细胞的免疫监视,逃避抗肿瘤免疫。ICI疗法可以破坏抑制性受体-配体之间相互作用,解除NK细胞的免疫抑制状态并恢复其抗肿瘤的免疫反应^[72]。

包括PD-1在内的抑制性免疫检查点受体在头颈癌等多种肿瘤类型肿瘤微环境的免疫细胞中高表达。一项关于头颈癌的III/IVA临床试验证明,在使用针对表皮生长因子(EGFR)的西妥昔单抗(cetuximab)治疗后,PD-1⁺ NK细胞在肿瘤微环境中富集,并与患者良好的预后相关。随后,使用针对PD-1的纳武利尤单抗(nivolumab)阻断PD-1,能够显著增强西妥昔单抗诱导的PD-1⁺ NK细胞的功能,从而进一步控制肿瘤,尤其是PD-L1表达高的肿瘤^[73]。

在结肠癌患者中观察到TIGIT与NK细胞的耗竭有关,而不是其他的免疫检查点分子(如PD-1、CTLA-4)。在几种荷瘤小鼠模型中,阻断TIGIT可防止NK细胞耗竭并促进NK细胞的肿瘤免疫。此外,TIGIT的阻断还能够通过NK细胞依赖的方式促进肿瘤特异性的T细胞免疫,并且在二次荷瘤的模型中再使用针对PD-L1的抗体可以增强记忆免疫的持续。上述研究结果表明,单独靶向TIGIT或者与靶向其他检查点受体联合的肿瘤免疫疗法是一种有前途的抗肿瘤治疗策略^[74]。

多发性骨髓瘤细胞可以通过表达KIR的配体来抑制NK细胞的细胞毒作用。一项I期临床试验^[75]结果表明,IPH2101(一种抗抑制性KIR抗体)和来那度胺的联用可以抑制多发性骨髓瘤细胞的扩增,并激活NK细胞。利瑞鲁单抗(lirilumab)是针对KIR的第二代抗体,通过阻断抑制性KIR与MHC I类分子的相互作用增强NK细胞的效应功能。在B细胞淋巴瘤的小鼠模型中,使用抗CD20的单克隆抗体利妥昔单抗与利瑞鲁单抗联合治疗可以有效激活NK细胞抗淋巴瘤的免疫反应^[30]。

在上文中提到,肿瘤浸润NK细胞上调NKG2A表达,与肿瘤细胞表面的HLA-E结合后功能被削弱。基于此,研究人员^[76]研发了一种人源化抗NKG2A单克隆抗体——莫那利珠单抗(monalizumab),其能够显著增强NK细胞对抗体包被的肿瘤细胞的杀伤活性,还可以恢复CD8⁺T细胞的功能。使用莫那利珠单抗联合西妥昔单抗治疗HNSCC的II期试验中期结果显示,这一疗法的客观缓解率为31%。同时,莫那利珠单抗能够诱导NKG2A高表达的TGF- β 也逐渐成为免疫治疗的靶点。对于PD-1/PD-L1免疫检查点的阻断在转移性结直肠癌模型中的疗效十分有限,而抑制TGF- β 则促进了免疫细胞对肿瘤细胞产生有效且持久的细胞毒作用。TGF- β 抑制剂galunisertib的使用可以阻断TGF- β 的信号转导,并增强肿瘤对抗PD-1/PD-L1治疗的敏感性^[77]。

3.2 通过细胞因子等效应分子活化NK细胞的免疫治疗方案

细胞因子对于NK细胞的成熟、活化和存活至关重要。IL-2、IL-12、IL-15、IL-18、IL-21和I型IFN等能够独立或协同正向调控NK细胞的功能,而其他细胞因子(如IL-23和IL-27等),可能会根据上下游信号的不同,增强或抑制NK细胞的功能^[78]。因此,在过继输注NK细胞的治疗试验中,需要补充适当的细胞因子以维持NK细胞活性。早在上世纪90年代就已经批准IL-2用于治疗转移性肾细胞癌和黑色素瘤,但是基于IL-2的治疗出现剂量相关的毒性(如血

管通透性的增加导致渗漏)和诱导调节性T(Treg)细胞的活化和扩增,反而抑制NK细胞的功能^[79-80]。最近,已有针对IL-2和IL-2受体所开发的新型IL-2复合物用于临床治疗^[81]。尽管IL-15可以维持NK细胞的活性且不诱导Treg细胞扩增,但IL-15在体内半衰期短,限制了其临床应用^[82]。研究者^[83]开发了一种IL-15受体超级激动剂复合物N-803,其可以优化体内持久性和反式提呈。IL-21是一种可以促进固有和适应性免疫系统的抗肿瘤应答的细胞因子,并且IL-21所增强的抗肿瘤作用依赖于NK细胞上调表达的NKG2D^[84]。为了进一步提高NKG2D的功能,利用重组的可溶性MULT1(一种高亲和力的NKG2D配体)可以竞争性地逆转NK细胞与肿瘤细胞膜表面的NKG2D配体结合,从而诱导NK细胞活化^[85]。

3.3 改善NK细胞代谢的治疗方案

免疫细胞的活化需要消耗大量能量,它们通过消耗ATP分子和合成代谢所需的营养物质以满足它们的效应功能需求^[86]。其中,糖酵解和氧化磷酸化(oxidative phosphorylation, OXPHOS)是为细胞提供能量的两种主要代谢途径。糖酵解通过一系列代谢反应将葡萄糖转化为丙酮酸,这个过程是不依赖氧的,与OXPHOS相比它是一种相对低效的ATP生成方式。然而,糖酵解是促炎的免疫细胞中主要代谢途径,可能是因为它们可以通过糖酵解酶的诱导被迅速激活,并且可以为细胞的生物合成提供中间产物^[87]。最近的研究^[88]表明,静息状态下NK细胞的生存主要依赖OXPHOS,但当NK细胞被细胞因子(例如IL-2、IL-12和IL-15)激活时,NK细胞会上调糖酵解和OXPHOS以支持IFN- γ 等效应细胞因子的产生。因此,在过继输注NK细胞治疗肿瘤的过程中,可以考虑加入IL-2/IL-12/IL-15,以增强NK细胞的糖酵解和OXPHOS,从而提高其杀伤能力。

响应炎症反应后,NK细胞会发生代谢变化,为其产生效应性细胞因子提供所需的基础物质。代谢变化通常伴随着氨基酸转运蛋白表达的增加,导致氨基酸吸收增加。IL-18可以增强氨基酸转运蛋白CD98/LAT1的表达,诱导NK细胞发生增殖相关的代谢变化,而抑制CD98/LAT1会降低NK细胞产生效应因子的功能^[89]。基于此,研究者^[90]发现,用IL-12/IL-15/IL-18的组合预激活NK细胞可产生记忆样NK细胞,这些细胞在过继输注后能够维持持续地增殖和效应功能,已在小鼠模型上验证可以有效杀伤肿瘤。

4 结 语

NK细胞是一种重要的固有淋巴细胞,其功能受抑制性和活化性信号的共同调控。不同于T细胞,NK

细胞能够不依赖于特异性识别对肿瘤细胞产生杀伤,这使得它们被认为是肿瘤免疫治疗的重要靶点。但是,恶性肿瘤的微环境往往会导致NK细胞抑制性和活化性受体信号转导的紊乱,影响其代谢反应,从而抑制NK细胞的细胞毒性^[20]。各种针对NK细胞上关键免疫检查点受体及其配体的单克隆抗体已经被设计和生产出来,期望通过阻断抑制性受体来防止NK细胞失活,例如针对NKG2A和TIGIT的抗体已经进入临床试验。还有研发的治疗方法旨在提高NK细胞对肿瘤细胞的识别和杀伤,例如针对肿瘤抗原EGFR的抗体,可以通过增强ADCC提高NK细胞的杀伤能力。另一种治疗方案旨在阻断活化性受体NKG2D的配体MICA和MICB发生脱落,从而能够持续激活NK细胞,这一治疗方案已在人源化黑色素瘤模型中显示出了良好的结果^[91]。有研究^[92]集中于通过阻断肿瘤细胞分泌的抑炎因子来增加NK细胞在肿瘤局部的浸润和招募,例如抗TGF- β 抗体已经发展到用于各种实体瘤的临床试验,正在探索单独使用此类药物或联合抗PD-1/PD-L1药物治疗。此外,通过评估肿瘤浸润NK细胞的数量和浸润NK细胞受体的表达水平可以提高对临床治疗效果的预测。CAR-NK细胞和CAR-T细胞联合治疗的良好效果进一步说明了NK细胞可能是未来多模式联合治疗肿瘤策略的关键角色^[93]。在未来,针对NK细胞开发的肿瘤免疫治疗手段将会越来越多,通过传统的免疫治疗手段及基于肿瘤患者自身特点设计的个性化免疫治疗方案将为肿瘤患者的治疗提供更多的选择。

[参考文献]

- [1] ESMAIL S, DANTER W R. Stem-cell based, machine learning approach for optimizing natural killer cell-based personalized immunotherapy for high-grade ovarian cancer[J]. *FEBS J*, 2022, 289(4): 985-998. DOI:10.1111/febs.16214.
- [2] ALFARRA H, WEIR J, GRIEVE S, *et al.* Targeting NK cell inhibitory receptors for precision multiple myeloma immunotherapy [J/OL]. *Front Immunol*, 2020, 11: 575609[2022-07-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7693637/>. DOI: 10.3389/fimmu.2020.575609.
- [3] PRAGER I, LIESCHE C, VAN OOIJEN H, *et al.* NK cells switch from granzyme B to death receptor-mediated cytotoxicity during serial killing[J/OL]. *J Exp Med*, 2019, 216(9): 2113-2127[2022-07-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6719417/>. DOI:10.1084/jem.20181454.
- [4] ARAMINI B, MASCIARELLI V, SAMARELLI A V, *et al.* Phenotypic, functional, and metabolic heterogeneity of immune cells infiltrating non-small cell lung cancer[J/OL]. *Front Immunol*, 2022, 13: 959114[2022-07-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9399732/>. DOI:10.3389/fimmu.2022.959114.
- [5] GREENBERG A H, HUDSON L, SHEN L, *et al.* Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity due to a "null" lymphoid cell[J]. *Nat New Biol*, 1973, 242(117): 111-113. DOI:10.1038/newbio242111a0.
- [6] DELLA CHIESA M, MARCENARO E, SIVORI S, *et al.* Human NK cell response to pathogens[J]. *Semin Immunol*, 2014, 26(2): 152-160. DOI:10.1016/j.smim.2014.02.001.
- [7] MONTALDO E, DEL ZOTTO G, DELLA CHIESA M, *et al.* Human NK cell receptors/markers: a tool to analyze NK cell development, subsets and function[J]. *Cytometry A*, 2013, 83(8): 702-713. DOI:10.1002/cyto.a.22302.
- [8] FREUD A G, MUNDY-BOSSE B L, YU J H, *et al.* The broad spectrum of human natural killer cell diversity[J/OL]. *Immunity*, 2017, 47(5): 820-833[2022-07-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5728700/>. DOI:10.1016/j.immuni.2017.10.008.
- [9] JACOBS R, HINTZEN G, KEMPER A, *et al.* CD56^{bright} cells differ in their KIR repertoire and cytotoxic features from CD56^{dim} NK cells[J]. *Eur J Immunol*, 2001, 31(10): 3121-3127. DOI: 10.1002/1521-4141(200110)31:10<3121::aid-immu3121>3.0.co;2-4.
- [10] ROMAGNANI C, JUELKE K, FALCO M, *et al.* CD56^{bright} CD16-killer Ig-like receptor-NK cells display longer telomeres and acquire features of CD56^{dim} NK cells upon activation[J]. *J Immunol*, 2007, 178(8): 4947-4955. DOI:10.4049/jimmunol.178.8.4947.
- [11] CRINIER A, DUMAS P Y, ESCALIÈRE B, *et al.* Single-cell profiling reveals the trajectories of natural killer cell differentiation in bone marrow and a stress signature induced by acute myeloid leukemia[J]. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18(11): 2578-2580. DOI: 10.1038/s41423-021-00771-z.
- [12] SUN H Y, LIU L X, HUANG Q, *et al.* Accumulation of tumor-infiltrating CD49a⁺NK cells correlates with poor prognosis for human hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Immunol Res*, 2019, 7(9): 1535-1546. DOI:10.1158/2326-6066.CIR-18-0757.
- [13] ZHOU Y G, FU B Q, XU X X, *et al.* PBX1 expression in uterine natural killer cells drives fetal growth[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2020, 12(537): eaax1798[2022-07-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32238574/>. DOI:10.1126/scitranslmed.aax1798.
- [14] MORVAN M G, LANIER L L. NK cells and cancer: You can teach innate cells new tricks[J]. *Nat Rev Cancer*, 2016, 16(1): 7-19. DOI: 10.1038/nrc.2015.5.
- [15] GUILLERREY C, HUNTINGTON N D, SMYTH M J. Targeting natural killer cells in cancer immunotherapy[J]. *Nat Immunol*, 2016, 17(9): 1025-1036. DOI:10.1038/ni.3518.
- [16] CHIOSSONE L, DUMAS P Y, VIENNE M, *et al.* Natural killer cells and other innate lymphoid cells in cancer[J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18(11): 671-688. DOI:10.1038/s41577-018-0061-z.
- [17] LJUNGGREN H G, KÄRRE K. In search of the 'missing self': MHC molecules and NK cell recognition[J]. *Immunol Today*, 1990, 11(7): 237-244. DOI:10.1016/0167-5699(90)90097-s.
- [18] HAREL-BELLAN A, QUILLET A, MARCHIOL C, *et al.* Natural killer susceptibility of human cells may be regulated by genes in the HLA region on chromosome 6[J/OL]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986, 83(15): 5688-5692[2022-07-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC386354/>. DOI:10.1073/pnas.83.15.5688.
- [19] MARSH S G, PARHAM P, DUPONT B, *et al.* Killer-cell immunoglobulin-like receptor (KIR) nomenclature report, 2002[J]. *Hum Immunol*, 2003, 64(6): 648-654. DOI:10.1016/s0198-8859(03)00067-3.
- [20] LANIER L L, CORLISS B C, WU J, *et al.* Immunoreceptor DAP12

- bearing a tyrosine-based activation motif is involved in activating NK cells[J]. *Nature*, 1998, 391(6668): 703-707. DOI:10.1038/35642.
- [21] OLCESE L, CAMBIAGGI A, SEMENZATO G, *et al.* Human killer cell activatory receptors for MHC class I molecules are included in a multimeric complex expressed by natural killer cells[J]. *J Immunol*, 1997, 158(11): 5083-5086.
- [22] SIVORI S, VITALE M, BOTTINO C, *et al.* CD94 functions as a natural killer cell inhibitory receptor for different HLA class I alleles: identification of the inhibitory form of CD94 by the use of novel monoclonal antibodies[J]. *Eur J Immunol*, 1996, 26(10): 2487-2492. DOI:10.1002/eji.1830261032.
- [23] CÓZAR B, GREPPI M, CARPENTIER S, *et al.* Tumor-infiltrating natural killer cells[J]. *Cancer Discov*, 2021, 11(1): 34-44. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-20-0655.
- [24] PAZINA T, SHEMESH A, BRUSILOVSKY M, *et al.* Regulation of the functions of natural cytotoxicity receptors by interactions with diverse ligands and alterations in splice variant expression[J/OL]. *Front Immunol*, 2017, 8: 369[2022-07-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5371597/>. DOI:10.3389/fimmu.2017.00369.
- [25] SIVORI S, PENDE D, QUATRINI L, *et al.* NK cells and ILCs in tumor immunotherapy[J/OL]. *Mol Aspects Med*, 2021, 80: 100870 [2022-07-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32800530/>. DOI: 10.1016/j.mam.2020.100870.
- [26] 张俊文, 苏延军, 李西川. 基于细胞焦亡机制的肿瘤免疫治疗新策略[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2022, 29(8): 701-707. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.08.001.
- [27] LANIER L L. NKG2D receptor and its ligands in host defense [J]. *Cancer Immunol Res*, 2015, 3(6): 575-582. DOI:10.1158/2326-6066.CIR-15-0098.
- [28] QUAIL D F, JOYCE J A. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis[J]. *Nat Med*, 2013, 19(11): 1423-1437. DOI:10.1038/nm.3394.
- [29] BEJARANO L, JORDÃO M J C, JOYCE J A. Therapeutic targeting of the tumor microenvironment[J]. *Cancer Discov*, 2021, 11(4): 933-959. DOI:10.1158/2159-8290.CD-20-1808.
- [30] CONCHA-BENAVENTE F, KANSY B, MOSKOVITZ J, *et al.* PD-L1 mediates dysfunction in activated PD-1⁺ NK cells in head and neck cancer patients[J]. *Cancer Immunol Res*, 2018, 6(12): 1548-1560. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-18-0062.
- [31] ZHANG P F, GAO C, HUANG X Y, *et al.* Cancer cell-derived exosomal circUHRF1 induces natural killer cell exhaustion and may cause resistance to anti-PD1 therapy in hepatocellular carcinoma[J/OL]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 110[2022-07-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7320583/>. DOI:10.1186/s12943-020-01222-5.
- [32] LIU Y, CHENG Y, XU Y, *et al.* Increased expression of programmed cell death protein 1 on NK cells inhibits NK-cell-mediated anti-tumor function and indicates poor prognosis in digestive cancers[J]. *Oncogene*, 2017, 36(44): 6143-6153. DOI:10.1038/onc.2017.209.
- [33] SEO H, JEON I, KIM B S, *et al.* IL-21-mediated reversal of NK cell exhaustion facilitates anti-tumour immunity in MHC class I - deficient tumours[J/OL]. *Nat Commun*, 2017, 8: 15776[2022-07-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5467212/>. DOI:10.1038/ncomms15776.
- [34] SRIVASTAVA A K, JAGANATHAN S, STEPHEN L, *et al.* Effect of a smac mimetic (TL32711, birinapant) on the apoptotic program and apoptosis biomarkers examined with validated multiplex immunoassays fit for clinical use[J/OL]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(4): 1000-1010[2022-07-13]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4755826/>. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-14-3156.
- [35] LI Y C, ZHOU Q, SONG Q K, *et al.* Overexpression of an immune checkpoint (CD155) in breast cancer associated with prognostic significance and exhausted tumor-infiltrating lymphocytes: a cohort study[J]. *J Immunol Res*, 2020, 2020: 3948928. DOI:10.1155/2020/3948928.
- [36] SUN H Y, HUANG Q, HUANG M, *et al.* Human CD96 correlates to natural killer cell exhaustion and predicts the prognosis of human hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2019, 70(1): 168-183. DOI:10.1002/hep.30347.
- [37] SARAIVA M, O'GARRA A. The regulation of IL-10 production by immune cells[J]. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10(3): 170-181. DOI: 10.1038/nri2711.
- [38] NEUMANN C, SCHEFFOLD A, RUTZ S. Functions and regulation of T cell-derived interleukin-10[J]. *Semin Immunol*, 2019, 44: 101344. DOI:10.1016/j.smim.2019.101344.
- [39] STRINGARIS K, SEKINE T, KHODER A, *et al.* Leukemia-induced phenotypic and functional defects in natural killer cells predict failure to achieve remission in acute myeloid leukemia[J]. *Haematologica*, 2014, 99(5): 836-847. DOI:10.3324/haematol.2013.087536.
- [40] SUN C, XU J, HUANG Q, *et al.* High NKG2A expression contributes to NK cell exhaustion and predicts a poor prognosis of patients with liver cancer[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2017, 6(1): e1264562[2022-07-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5283631/>. DOI: 10.1080/2162402X.2016.1264562.
- [41] MAMESSIER E, SYLVAIN A, BERTUCCI F, *et al.* Human breast tumor cells induce self-tolerance mechanisms to avoid NKG2D-mediated and DNAM-mediated NK cell recognition[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(21):6621-6632. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-11-0792.
- [42] MAEDA A, KOGATA S, TOYAMA C, *et al.* The innate cellular immune response in xenotransplantation[J/OL]. *Front Immunol*, 2022, 13: 858604[2022-07-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8995651/>. DOI:10.3389/fimmu.2022.858604.
- [43] MALMBERG K J, CARLSTEN M, BJÖRKLUND A, *et al.* Natural killer cell-mediated immunosurveillance of human cancer[J]. *Semin Immunol*, 2017, 31: 20-29. DOI:10.1016/j.smim.2017.08.002.
- [44] SIVORI S, VACCA P, DEL ZOTTO G, *et al.* Human NK cells: surface receptors, inhibitory checkpoints, and translational applications[J]. *Cell Mol Immunol*, 2019, 16(5): 430-441. DOI: 10.1038/s41423-019-0206-4.
- [45] MAMESSIER E, SYLVAIN A, THIBULT M L, *et al.* Human breast cancer cells enhance self tolerance by promoting evasion from NK cell antitumor immunity[J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(9): 3609-3622. DOI:10.1172/JCI45816.
- [46] PACZULLA A M, ROTHFELDER K, RAFFEL S, *et al.* Publisher Correction: absence of NKG2D ligands defines leukaemia stem cells and mediates their immune evasion[J]. *Nature*, 2019, 572(7770): E19. DOI:10.1038/s41586-019-1475-x.
- [47] KLÖB S, CHAMBRON N, GARDŁOWSKI T, *et al.* Increased sMICA and TGFβ1 levels in HNSCC patients impair NKG2D-dependent functionality of activated NK cells[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2015, 4

- (11): e1055993[2022-07-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26451327/>. DOI:10.1080/2162402x.2015.1055993.
- [48] CHEN J, GINGOLD J A, SU X P. Immunomodulatory TGF- β signaling in hepatocellular carcinoma[J]. *Trends Mol Med*, 2019, 25(11): 1010-1023. DOI:10.1016/j.molmed.2019.06.007.
- [49] DEVIS-JAUREGUI L, ERITJA N, DAVIS M L, *et al.* Autophagy in the physiological endometrium and cancer[J]. *Autophagy*, 2021, 17(5): 1077-1095. DOI:10.1080/15548627.2020.1752548.
- [50] XIA X, ZHANG Z Z, ZHU C C, *et al.* Neutrophil extracellular traps promote metastasis in gastric cancer patients with postoperative abdominal infectious complications[J/OL]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 1017[2022-07-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8866499/>. DOI:10.1038/s41467-022-28492-5.
- [51] FAURIAT C, JUST-LANDI S, MALLETT F, *et al.* Deficient expression of NCR in NK cells from acute myeloid leukemia: evolution during leukemia treatment and impact of leukemia cells in NCRdull phenotype induction[J]. *Blood*, 2007, 109(1): 323-330. DOI:10.1182/blood-2005-08-027979.
- [52] PESCE S, TABELLINI G, CANTONI C, *et al.* B7-H6-mediated downregulation of NKp30 in NK cells contributes to ovarian carcinoma immune escape[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2015, 4(4): e1001224[2022-07-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26137398/>. DOI:10.1080/2162402X.2014.1001224.
- [53] SCHLECKER E, FIEGLER N, ARNOLD A, *et al.* Metalloprotease-mediated tumor cell shedding of B7-H6, the ligand of the natural killer cell-activating receptor NKp30[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(13): 3429-3440. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-13-3017.
- [54] KABATA H, MORO K, KOYASU S. The group 2 innate lymphoid cell (ILC2) regulatory network and its underlying mechanisms[J]. *Immunol Rev*, 2018, 286(1): 37-52. DOI:10.1111/imr.12706.
- [55] JING X M, YANG F M, SHAO C C, *et al.* Role of hypoxia in cancer therapy by regulating the tumor microenvironment[J/OL]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 157[2022-07-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31711497/>. DOI:10.1186/s12943-019-1089-9.
- [56] NI J, WANG X, STOJANOVIC A, *et al.* Single-cell RNA sequencing of tumor-infiltrating NK cells reveals that inhibition of transcription factor HIF-1 α unleashes NK cell activity[J/OL]. *Immunity*, 2020, 52(6): 1075-1087. e8[2022-07-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32445619/>. DOI:10.1016/j.immuni.2020.05.001.
- [57] SOLOCINSKI K, PADGET M R, FABIAN K P, *et al.* Overcoming hypoxia-induced functional suppression of NK cells[J/OL]. *J Immunother Cancer*, 2020, 8(1): e000246[2022-07-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7213912/>. DOI:10.1136/jitc-2019-000246.
- [58] DENG W W, GOWEN B G, ZHANG L, *et al.* Antitumor immunity. A shed NKG2D ligand that promotes natural killer cell activation and tumor rejection[J]. *Science*, 2015, 348(6230): 136-139. DOI:10.1126/science.1258867.
- [59] TERRÉN I, ORRANTIA A, VITALLÉ J, *et al.* NK cell metabolism and tumor microenvironment[J/OL]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2278[2022-07-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31616440/>. DOI:10.3389/fimmu.2019.02278.
- [60] GARDINER C M. NK cell metabolism[J]. *J Leukoc Biol*, 2019, 105(6): 1235-1242. DOI:10.1002/JLB.MR0718-260R.
- [61] ZHANG B H, VOGELZANG A, MIYAJIMA M, *et al.* B cell-derived GABA elicits IL-10⁺ macrophages to limit anti-tumour immunity[J]. *Nature*, 2021, 599(7885): 471-476. DOI:10.1038/s41586-021-04082-1.
- [62] HARMON C, ROBINSON M W, HAND F, *et al.* Lactate-mediated acidification of tumor microenvironment induces apoptosis of liver-resident NK cells in colorectal liver metastasis[J]. *Cancer Immunol Res*, 2019, 7(2): 335-346. DOI:10.1158/2326-6066.CIR-18-0481.
- [63] ASSMANN N, O'BRIEN K L, DONNELLY R P, *et al.* Srebp-controlled glucose metabolism is essential for NK cell functional responses[J]. *Nat Immunol*, 2017, 18(11): 1197-1206. DOI:10.1038/ni.3838.
- [64] LU D L, LE CORNET C, SOOKTHAI D, *et al.* Circulating 27-hydroxycholesterol and breast cancer risk: results from the EPIC-Heidelberg cohort[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2019, 111(4): 365-371. DOI:10.1093/jnci/djy115.
- [65] QIN W H, YANG Z S, LI M, *et al.* High serum levels of cholesterol increase antitumor functions of nature killer cells and reduce growth of liver tumors in mice[J]. *Gastroenterology*, 2020, 158(6): 1713-1727. DOI:10.1053/j.gastro.2020.01.028.
- [66] HONG Y G, WEN R T, WU G C, *et al.* Abnormal immune function of MDSC and NK cells from chronic phase CML patients restores with tyrosine kinase inhibitors[J/OL]. *Int Immunopharmacol*, 2022, 109: 108821[2022-07-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35526383/>. DOI:10.1016/j.intimp.2022.108821.
- [67] STIFF A, TRIKHA P, MUNDY-BOSSE B, *et al.* Nitric oxide production by myeloid-derived suppressor cells plays a role in impairing fc receptor-mediated natural killer cell function[J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(8): 1891-1904. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-17-0691.
- [68] GRZYWA T M, SOSNOWSKA A, MATRYBA P, *et al.* Myeloid cell-derived arginase in cancer immune response[J/OL]. *Front Immunol*, 2020, 11: 938[2022-07-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7242730/>. DOI:10.3389/fimmu.2020.00938.
- [69] STEGGERDA S M, BENNETT M K, CHEN J, *et al.* Inhibition of arginase by CB-1158 blocks myeloid cell-mediated immune suppression in the tumor microenvironment[J/OL]. *J Immunother Cancer*, 2017, 5(1): 101[2022-07-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5735564/>. DOI:10.1186/s40425-017-0308-4.
- [70] ZHENG X H, QIAN Y B, FU B Q, *et al.* Mitochondrial fragmentation limits NK cell-based tumor immunosurveillance[J]. *Nat Immunol*, 2019, 20(12): 1656-1667. DOI:10.1038/s41590-019-0511-1.
- [71] KENNEDY L B, SALAMA A K S. A review of cancer immunotherapy toxicity[J]. *CA Cancer J Clin*, 2020, 70(2): 86-104. DOI:10.3322/caac.21596.
- [72] MYERS J A, MILLER J S. Exploring the NK cell platform for cancer immunotherapy[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2021, 18(2): 85-100. DOI:10.1038/s41571-020-0426-7.
- [73] LIU S Z, GALAT V, GALAT Y, *et al.* NK cell-based cancer immunotherapy: from basic biology to clinical development[J/OL]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1): 7[2022-07-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33407739/>. DOI:10.1186/s13045-020-01014-w.
- [74] KHAN M, AROOJ S, WANG H. NK cell-based immune checkpoint inhibition[J/OL]. *Front Immunol*, 2020, 11: 167[2022-07-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32117298/>. DOI:10.3389/fimmu.2020.00167.
- [75] BENSON D M JR, HOFMEISTER C C, PADMANABHAN S, *et al.*

- A phase 1 trial of the anti-KIR antibody IPH2101 in patients with relapsed/refractory multiple myeloma[J]. *Blood*, 2012, 120(22):4324-4333. DOI: 10.1182/blood-2012-06-438028.
- [76] ZHANG Q, BI J C, ZHENG X D, *et al.* Blockade of the checkpoint receptor TIGIT prevents NK cell exhaustion and elicits potent anti-tumor immunity[J]. *Nat Immunol*, 2018, 19(7): 723-732. DOI: 10.1038/s41590-018-0132-0.
- [77] KOHRT H E, THIELENS A, MARABELLE A, *et al.* Anti-KIR antibody enhancement of anti-lymphoma activity of natural killer cells as monotherapy and in combination with anti-CD20 antibodies [J]. *Blood*, 2014, 123(5): 678-686. DOI: 10.1182/blood-2013-08-519199.
- [78] ANDRÉ P, DENIS C, SOULAS C, *et al.* Anti-NKG2A mAb is a checkpoint inhibitor that promotes anti-tumor immunity by unleashing both T and NK cells[J/OL]. *Cell*, 2018, 175(7): 1731-1743. e13[2022-07-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6292840/>. DOI:10.1016/j.cell.2018.10.014.
- [79] BATLLE E, MASSAGUÉ J. Transforming growth factor- β signaling in immunity and cancer[J]. *Immunity*, 2019, 50(4): 924-940. DOI: 10.1016/j.immuni.2019.03.024.
- [80] KONJEVIĆ G M, VULETIĆ A M, MIRJAČ MARTINOVIĆ K M, *et al.* The role of cytokines in the regulation of NK cells in the tumor environment[J]. *Cytokine*, 2019, 117: 30-40. DOI:10.1016/j.cyt.2019.02.001.
- [81] VACCA P, MARTINI S, GARELLI V, *et al.* NK cells from malignant pleural effusions are not anergic but produce cytokines and display strong antitumor activity on short-term IL-2 activation[J]. *Eur J Immunol*, 2013, 43(2): 550-561. DOI:10.1002/eji.201242783.
- [82] LOTZE M T, MATORY Y L, ETTINGHAUSEN S E, *et al.* *In vivo* administration of purified human interleukin 2. II. Half life, immunologic effects, and expansion of peripheral lymphoid cells *in vivo* with recombinant IL 2[J]. *J Immunol*, 1985, 135(4): 2865-2875.
- [83] HERNANDEZ R, PÖDER J, LAPORTE K M, *et al.* Engineering IL-2 for immunotherapy of autoimmunity and cancer[J]. *Nat Rev Immunol*, 2022, 22(10): 614-628. DOI:10.1038/s41577-022-00680-w.
- [84] COOLEY S, HE F, BACHANOVA V, *et al.* First-in-human trial of rhIL-15 and haploidentical natural killer cell therapy for advanced acute myeloid leukemia[J/OL]. *Blood Adv*, 2019, 3(13): 1970-1980[2022-07-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6616260/>. DOI: 10.1182/bloodadvances.2018028332.
- [85] BERRIEN-ELLIOTT M M, BECKER-HAPAK M, CASHEN A F, *et al.* Systemic IL-15 promotes allogeneic cell rejection in patients treated with natural killer cell adoptive therapy[J]. *Blood*, 2022, 139(8): 1177-1183. DOI:10.1182/blood.2021011532.
- [86] TAKAKI R, HAYAKAWA Y, NELSON A, *et al.* IL-21 enhances tumor rejection through a NKG2D-dependent mechanism[J]. *J Immunol*, 2005, 175(4): 2167-2173. DOI:10.4049/jimmunol.175.4.2167.
- [87] WANG Z X, GUAN D, WANG S, *et al.* Glycolysis and oxidative phosphorylation play critical roles in natural killer cell receptor-mediated natural killer cell functions[J/OL]. *Front Immunol*, 2020, 11: 202[2022-07-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7045049/>. DOI:10.3389/fimmu.2020.00202.
- [88] WANG Z X, GUAN D, HUO J X, *et al.* IL-10 enhances human natural killer cell effector functions *via* metabolic reprogramming regulated by mTORC1 signaling[J/OL]. *Front Immunol*, 2021, 12: 619195[2022-07-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7940510/>. DOI:10.3389/fimmu.2021.619195.
- [89] ALMUTAIRI S M, ALI A K, HE W, *et al.* Interleukin-18 up-regulates amino acid transporters and facilitates amino acid-induced mTORC1 activation in natural killer cells[J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(12): 4644-4655. DOI:10.1074/jbc.RA118.005892.
- [90] NI J, MILLER M, STOJANOVIC A, *et al.* Sustained effector function of IL-12/15/18-preactivated NK cells against established tumors[J]. *J Exp Med*, 2012, 209(13): 2351-2365. DOI: 10.1084/jem.20120944.
- [91] FERRARI DE ANDRADE L, TAY R E, PAN D, *et al.* Antibody-mediated inhibition of MICA and MICB shedding promotes NK cell-driven tumor immunity[J]. *Science*, 2018, 359(6383): 1537-1542. DOI:10.1126/science.aao0505.
- [92] DODAGATTA-MARRI E, MEYER D S, REEVES M Q, *et al.* α -PD-1 therapy elevates Treg/Th balance and increases tumor cell pSmad3 that are both targeted by α -TGF β antibody to promote durable rejection and immunity in squamous cell carcinomas[J/OL]. *J Immunother Cancer*, 2019, 7(1): 62[2022-07-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6399967/>. DOI:10.1186/s40425-018-0493-9.
- [93] DAHER M, REZVANI K. Outlook for new CAR-based therapies with a focus on CAR NK cells: what lies beyond CAR-engineered T cells in the race against cancer[J]. *Cancer Discov*, 2021, 11(1): 45-58. DOI:10.1158/2159-8290.CD-20-0556.

[收稿日期] 2022-10-13

[修回日期] 2022-12-05

[本文编辑] 党瑞山, 沈志超