

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2023.09.011

· 综述 ·

## NKG2D/NKG2DL 轴与肿瘤免疫治疗

### NKG2D/NKG2DL axis and tumor immunotherapy

吴莉沙<sup>1,2,3</sup> 综述;王进<sup>2</sup>,解伟<sup>2,3,4</sup> 审阅(1. 上海理工大学 健康科学与工程学院,上海 200093; 2. 上海健康医学院 药学院,上海 201318; 3. 上海健康医学院附属嘉定中心医院 上海市分子影像学重点实验室,上海 201318; 4. 上海理工大学 研究生院,上海 200093)

**[摘要]** 自然杀伤(NK)细胞是固有免疫系统中发挥细胞毒性作用的淋巴细胞,而NKG2D是NK细胞最重要的活化性受体之一,它通过识别靶细胞表面的配体NKG2DL来传递活化信号并激活免疫细胞对靶细胞发挥杀伤作用,在肿瘤免疫治疗中发挥重要作用。肿瘤微环境(TME)内存在多种机制调节NKG2D和NKG2DL的表达,从而影响免疫系统对肿瘤细胞的清除并导致肿瘤逃逸。NKG2D的强激活作用及其配体NKG2DL在肿瘤细胞上的选择性表达,使NKG2D/NKG2DL轴成为肿瘤免疫治疗的潜在靶点。本文围绕NKG2D/NKG2DL轴介导的免疫监视与逃逸的双重作用,揭示重塑TME对肿瘤免疫的重要性;并就干预NKG2D/NKG2DL轴在肿瘤免疫治疗中的研究进展进行综述,为基于NKG2D/NKG2DL开发免疫治疗药物提供可靠依据和新思路。

**[关键词]** 肿瘤免疫治疗;NKG2D/NKG2DL轴;肿瘤微环境;免疫监视;免疫逃逸

**[中图分类号]** R392.12;R730.51 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2023)09-0817-07

肿瘤免疫治疗是要克服肿瘤免疫逃逸的机制,重新激活免疫细胞来杀伤和清除肿瘤细胞的生物学治疗方法。相较于传统的放疗和化疗,肿瘤免疫治疗的毒副作用更小,且疗效更具持久性。目前,免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitor, ICI)的研究和使用已相当广泛,其中以靶向抗程序性死亡受体-1(PD-1)及其配体PD-L1为代表的ICI表现出良好的肿瘤免疫治疗效果,但仍存在患者响应率低和耐药性问题<sup>[1]</sup>。因此,寻找新的靶分子和治疗方式是一个重要方向。近年来,基于自然杀伤(natural killer, NK)细胞开发免疫治疗方法成为肿瘤领域研究的热点。NK细胞是抗肿瘤免疫的第一道防线,NK细胞的激活由其表面活化性受体和抑制性受体间的平衡所调节<sup>[2]</sup>,其中活化性受体包括Fc片段受体(FcγRIIIa)和NKG2D。MATA-MOLANES等<sup>[3]</sup>研究发现,FcγRIIIa基因的多态性导致其与Fc片段亲和力的不同或下降,从而导致抗体类药物在临床上使用具有局限性。肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)中NKG2D的强激活作用及其配体NKG2DL在肿瘤细胞上的选择性表达,使NKG2D/NKG2DL轴成为肿瘤免疫治疗的潜在靶点<sup>[4]</sup>。本文将重点介绍干预NKG2D/NKG2DL轴在肿瘤免疫治疗中的研究进展,拟为肿瘤免疫治疗新方法的开发提供新的思路。

#### 1 NKG2D/NKG2DL轴的作用机制

##### 1.1 NKG2D/NKG2DL轴与免疫监视

NKG2D受体在NK细胞以及CD8<sup>+</sup>T细胞中表达。NKG2D/NKG2DL轴介导的激活信号强于抑制

受体诱导的信号,从而使NKG2D成为激活NK细胞的“主开关”<sup>[5]</sup>。NKG2D受体与肿瘤细胞上NKG2DL结合促进细胞毒性反应,无需抗原提呈就可以导致免疫效应因子的激活或协同刺激,该免疫监测途径在抑制肿瘤生长和转移方面发挥着至关重要的作用。有研究<sup>[6]</sup>发现,胰腺癌、胃癌和结直肠癌等肿瘤患者NKG2D阳性NK细胞的百分比降低且与肿瘤的不良预后相关,NK细胞表面NKG2D表达下调是NK细胞功能障碍的重要机制之一。LAZAROVA等<sup>[4]</sup>发现,在多种人类恶性肿瘤中可溶性NKG2DL(soluble NKG2DL, sNKG2DL)的血清水平升高;进一步研究的结果表明,肿瘤细胞常通过ADAM家族的金属蛋白酶或某些基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)介导的蛋白水解,使NKG2DL从肿瘤细胞表面脱落成为sNKG2DL,或通过外泌体介导sNKG2DL分泌,导致sNKG2DL水平升高,抑制NK细胞活性,从而逃脱肿瘤免疫监视。

##### 1.2 NKG2D/NKG2DL轴与TME

TME已被证明在肿瘤进展、侵袭和转移过程中发挥关键作用,肿瘤免疫治疗的疗效在很大程度上

**[基金项目]** 上海市自然科学基金面上项目(No. 23ZR1427400);上海市卫生健康委员会科研项目(No. 20214Y0516);上海市教育委员会和上海市教育发展基金会“晨光计划”项目(No. 18-CG72);上海市分子影像学重点实验室建设项目(No. 18DZ2260400)

**[作者简介]** 吴莉沙(1998—),女,硕士生,主要从事基因工程抗体与肿瘤免疫治疗的研究,E-mail:wulisha0216@163.com

**[通信作者]** 解伟,E-mail:xiewei22400@126.com;王进,E-mail:jjierawang@126.com

取决于TME。TME中含有肿瘤细胞和免疫细胞分泌的多种细胞因子,对NKG2D/NKG2DL的表达具有调控作用(图1)。据报道<sup>[6-7]</sup>,IL-2、IL-12和IL-15等可显著上调NKG2D的表达,激活和增强NK细胞杀伤活性,在肿瘤免疫治疗中发挥重要作用。

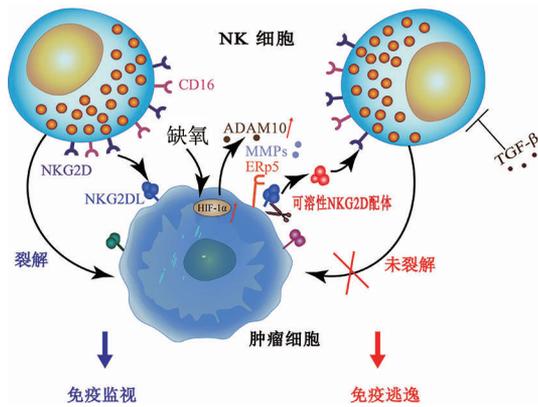


图1 TME对NKG2D/NKG2DL轴调控作用的机制

转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β)是肿瘤免疫和NK细胞效应器功能的主要负调节因子。在LNT-229胶质瘤细胞中,NKG2D/

NKG2DL轴介导的肿瘤免疫逃逸的可能机制就是自分泌TGF-β回路导致肿瘤细胞表面MICA和ULBP2的脱落<sup>[8]</sup>。

缺氧也是TME的一个重要特征。ZHENG等研究<sup>[9]</sup>发现,缺氧条件会诱导缺氧诱导因子1-α(hypoxia-inducible factor 1-alpha, HIF-1α)表达上调并增加人解整合素金属蛋白酶10(A disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 10, ADAM10)的表达,使MICA从肿瘤细胞表面脱落,从而抑制免疫细胞对肿瘤细胞的杀伤。

## 2 干预NKG2D/NKG2DL轴在肿瘤免疫治疗中的作用

NKG2D及其配体在肿瘤生长和免疫识别中具有重要意义<sup>[5,8,10]</sup>。目前,通过调控NKG2D/NKG2DL增强肿瘤免疫监视是肿瘤免疫治疗的研究热点(图2),如重塑TME、使用小分子抑制剂/抗体/融合蛋白调控肿瘤细胞表面NKG2DL的表达及血清可溶性NKG2DL的水平;基于NKG2D/NKG2DL轴的CAR-T/NK细胞过继疗法等均可有效激活抗肿瘤免疫应答,避免肿瘤免疫逃逸。

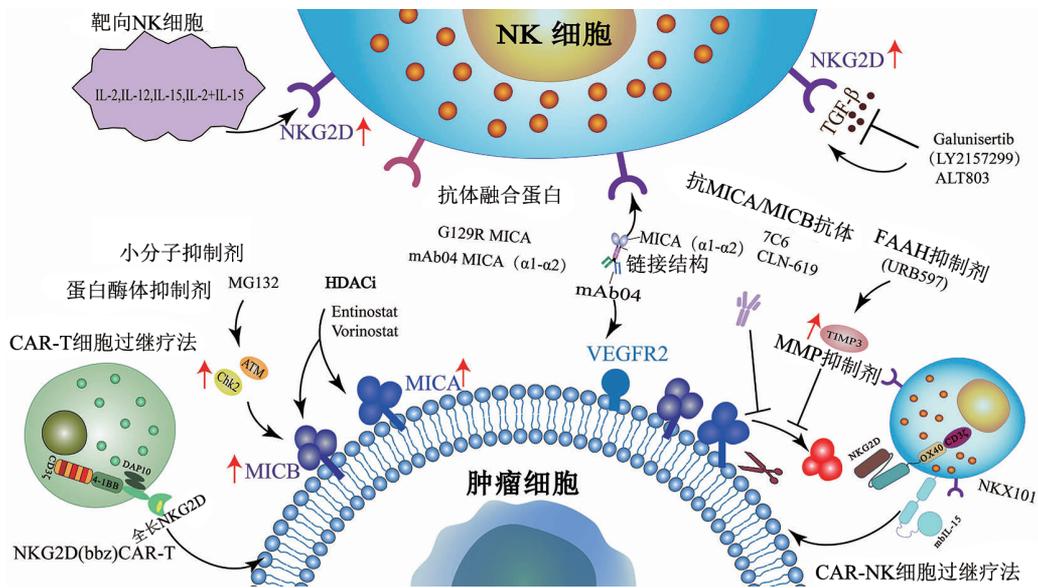


图2 靶向NKG2D/NKG2DL轴在肿瘤免疫治疗中的作用机制

### 2.1 调节TME增强NK的免疫监视作用

IL-2是美国FDA批准用于治疗转移性肾细胞癌和转移性黑色素瘤的细胞因子之一。在一部分转移性黑色素瘤和肾细胞癌患者中,使用高剂量IL-2治疗会有良好的临床疗效,患者可出现持续多年的完全缓解;但高剂量的IL-2疗法会增加不良反应的发生率并干扰TME中内皮细胞和效应T细胞的活性<sup>[11]</sup>。降低IL-2剂量可减少不良反应,但也会使疗效降低。

LI等<sup>[12]</sup>研究发现,与单独使用IL-2相比,联合IL-15可有效上调NKG2D在患者自体NK细胞上的表达,同时激活MAPK信号通路增强NK细胞对肾母细胞瘤细胞的细胞毒性。

高水平的TGF-β通常与患者不良预后相关。研究<sup>[13]</sup>发现,IL-15SA/IL-15RA复合物(ALT803)可以作为抑制剂在乳腺癌、肺癌和前列腺癌中逆转TGF-β对NKG2D的下调作用,并增强抗体依赖细胞介导的细胞毒作用(ADCC)。Galunisertib(LY2157299)是美国

礼来制药开发的 TGF- $\beta$ 1 型受体抑制剂, LEE 等<sup>[14]</sup>对比 TGF- $\beta$  和 Galunisertib 处理后肺癌细胞中 NKG2DL 的表达, 发现抑制 TGF- $\beta$  会逆转免疫细胞的免疫抑制状态, 并通过上调肿瘤细胞中的 NKG2DL 来恢复 NK 细胞介导的抗肿瘤免疫反应。

## 2.2 小分子抑制剂/抗体/融合蛋白调控肿瘤细胞表面 NKG2DL 的表达及血清 sNKG2DL 的水平

### 2.2.1 小分子抑制剂调控肿瘤细胞表面 NKG2DL 的表达

NKG2DL 从肿瘤细胞表面脱落是肿瘤免疫逃逸的一种关键机制。ADAM 和 MMP 相关抑制剂能有效阻碍 NKG2DL 的脱落, 并且逆转了 NKG2DL 的免疫逃逸特性<sup>[5]</sup>。在口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)中, MICA 的脱落降低了肿瘤免疫原性。TIMP3 已被证明可抑制 MICA 的脱落, 从而影响 OSCC 细胞增殖、血管生成、迁移和侵袭<sup>[15]</sup>。TIMP3 是一种与细胞外基质(ECM)结合并抑制金属蛋白酶活性的分泌蛋白, 对抑制 ADAM10 具有高亲和力。另一项研究<sup>[16]</sup>通过筛选蛋白酶抑制剂库发现, 脂肪酰胺水解酶(fatty acid amide hydrolase, FAAH)抑制剂 URB597 可抑制 MICA/B 的脱落。进一步研究表明, 敲低 TIMP3 可逆转 URB597 的作用, 说明 URB597 是通过增加 TIMP3 的表达间接抑制 MICA/B 的脱落。

NKG2DL 在肿瘤细胞表面的表达是由细胞或基因组应激引起的转录上调诱导的, 蛋白酶体抑制剂、组蛋白脱乙酰酶抑制剂(histone deacetylase inhibitor, HDACI)或 DNA 损伤剂可以作为肿瘤免疫治疗的药物。LUO 等<sup>[17]</sup>研究发现, 蛋白酶抑制剂 MG132 可有效调控 NKG2DL 的表达, MG132 诱导的 DNA 损伤激活共济失调毛细血管扩张突变激酶(ataxia telangiectasia mutated protein, ATM)和检查点激酶 2(checkpoint kinase 2, Chk2)以及参与其他 DNA 损伤途径的分子, 使 MG132 选择性上调 A549 细胞中 MICB 的表达, 并增加 NKG2D 介导的 NK 细胞的细胞毒性。

HDACI 能够恢复蛋白质的功能, 从而以相对较小的毒性逆转多种肿瘤的生长和进展<sup>[18]</sup>。JOHN 等<sup>[19]</sup>发现, 选择性 HDACI 恩替诺特(entinostat)不仅可以增强人肿瘤细胞中 MICA 和 MICB 的表达, 还可以同时增加人 NK 细胞中激活受体 NKG2D 的表达。伏立诺他(vorinostat)是 FDA 批准的第一个用于皮肤 T 细胞淋巴瘤(cutaneous T cell lymphoma, CTCL)治疗的 HDACI。然而, 临床 I 期和 II 期试验尚未证实其对实体瘤的治疗效果。一项研究<sup>[20]</sup>通过体外和裸鼠异

种移植体内实验证明, vorinostat 能增强宫颈癌细胞对 NK 细胞介导的细胞溶解的敏感性, 可通过抑制 PI3K-AKT 信号通路调节 MICA 的表达, 从而抑制宫颈癌细胞的增殖和侵袭, 促进其凋亡。此外, 相当于临床治疗剂量的 vorinostat 浓度对人宫颈肿瘤异种移植的荷瘤小鼠具有治疗效果。

### 2.2.2 抗 MICA/MICB 抗体增强肿瘤细胞表面 NKG2DL 的表达

MICA/MICB 是肿瘤细胞中广泛表达的 NKG2DL, 靶向 MICA/B 抗体可促进 NK 细胞介导的 ADCC 效应和巨噬细胞介导的抗体依赖性细胞吞噬作用(antibody-dependent cellular phagocytosis, ADCP), 增强肿瘤免疫监视。此外, 靶向 MICA/B 抗体可与脱落的可溶性 MICA(sMICA)形成免疫复合物, 后者又会被巨噬细胞清除, 从而有效规避由 sMICA 介导的肿瘤免疫逃逸<sup>[21]</sup>。

7C6 mAb 是一种靶向 MICA/B 的抗体。FERRARI 等<sup>[22]</sup>研究发现, 在肺癌和黑色素瘤小鼠中, 7C6 mAb 不仅上调了癌细胞表面 MICA/B 的表达水平, 同时还增加了肿瘤内 NK 细胞的浸润数量。在患黑色素瘤并伴有肺转移的小鼠中, 7C6 mAb 治疗有效降低了肿瘤负荷。同时, 研究还证实, 该肿瘤免疫主要是通过 NK 细胞表面激活型 NKG2D 和 CD16 Fc 受体介导的。FERRARI 等<sup>[23]</sup>进一步研究发现, HDAC I 帕比司他(panobinostat)和 7C6 mAb 协同作用, 增强了肿瘤细胞上 MICA/B 表面的表达, 并减少了用人 NK 细胞重建的 NOD/SCID $\gamma$  小鼠中细胞毒性 T 细胞抗性人黑色素瘤细胞的肺转移数量。此外, ALVES 等<sup>[24]</sup>发现, 7C6 mAb 与 HDAC I 罗米地辛(romidepsin)联合使用时, romidepsin 通过诱导急性髓系白血病(AML)细胞上调 MICA/B 表达, 与抗体介导的 MICA/B 脱落抑制协同作用。这种药物组合能够在人源化 AML 模型中抑制白血病。因此, AML 的免疫治疗可以通过增加 AML 细胞中 MICA/B 应激标志物的抗体来实现, 这些标志物随后会被巨噬细胞捕获和破坏。

CLN-619<sup>[25]</sup>是一种人源化 IgG1 单克隆抗体, 可以阻止 MICA/MICB 的蛋白水解释放, 从而通过 NKG2D 介导和 ADCC 暴露肿瘤细胞进行免疫破坏。在人肺癌异种移植的小鼠中, CLN-619 治疗在低剂量下产生了强大的抗肿瘤活性, 能显著抑制肿瘤生长和降低 sMICA 血清水平。CLN-619 目前正在进行一项全球 I 期剂量递增临床试验, 研究 CLN-619 单独和联合帕博利珠单抗(pembrolizumab)治疗晚期实体瘤患者的安全性、有效性、药代动力学和药效学活性。

### 2.2.3 抗体融合蛋白调控肿瘤细胞表面NKG2DL的表达

抗体融合蛋白是指利用基因工程技术将抗体片段与其他生物活性蛋白融合所得的产物。由于融合蛋白不同,抗体融合蛋白亦具有多种生物学功能,并且表达的重组蛋白既不影响抗体的抗原结合能力,也不影响与之融合的蛋白的生物学特性。

MICA在正常细胞上呈低表达,但在受损、转化或感染的细胞表面广泛表达,是肿瘤免疫治疗的潜在靶点。DING等<sup>[26]</sup>设计了一种融合抗体——G129R MICA。该融合抗体由MICA和催乳素的拮抗变体G129R组成。研究证实G129R MICA不仅能与PRLR阳性乳腺癌细胞和NK细胞结合,还能促进NK细胞释放颗粒酶B和IFN- $\gamma$ ,增强NK细胞对PRLR阴性细胞的特异性杀伤作用。

抗血管生成治疗在胃癌和非小细胞肺癌(NSCLC)中显示出显著的临床疗效。然而,它们的有效性受到免疫抑制肿瘤微环境的限制。PAN等<sup>[27]</sup>设计了一种靶向VEGFR2的抗体与MICA  $\alpha 1$ - $\alpha 2$ 融合的新型融合蛋白mAb04-MICA。mAb04-MICA通过特异性结合VEGFR2抑制胃癌和NSCLC细胞的增殖,与雷莫芦单抗(ramucirumab)单独用药相比,在胃癌和NSCLC小鼠模型中均具有更优越的抗肿瘤效果。进一步研究发现,mAb04-MICA在体外和体内均能促进NKG2D<sup>+</sup> NK细胞活化,诱导肿瘤相关巨噬细胞由M2型向M1型极化。

## 2.3 基于NKG2D/NKG2DL轴的细胞过继疗法

### 2.3.1 基于NKG2D/NKG2DL的CAR-T细胞过继疗法

先前的研究报道了基于特异性识别NKG2DL的CAR-T/NK细胞对抗多种肿瘤(表1),一些研究已经取得了实质性的临床疗效。CYAD-01是Celyad公司研发的第一个自体CAR-T细胞候选药物,基于NKG2D受体与CD3 $\zeta$ 胞内信号激活域并且通过内源性DAP10确保共刺激,表达的CAR中不含有识别肿瘤表面抗原的抗体片段,而是包含着完整的人类NKG2D受体,从而靶向肿瘤细胞表面的NKG2DL。SALLMAN等<sup>[28]</sup>公布了CYAD-01的I期临床试验THINK血液瘤组的数据,THINK研究是一项开放标签的I期剂量递增试验,针对至少接受过一线治疗的复发/难治性AML、骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome, MDS)和MM患者开展。与大多数在研CAR-T细胞疗法的研究不同,该研究在没有任何预处理化疗的情况下,对多次单独输注CYAD-01的治疗方案进行了评估。结果显示,CYAD-01的安全性良好,12例可评估的AML/MDS患者中有3例达成客观缓解。值得一提的是,该试验患者的中位年龄较大,总体状况较差,CYAD-01作为

一种不需要桥接或化疗预处理的独立治疗药物,对这部分患者来说具有重要意义。

缺乏有效的靶点,严重限制了CAR-T细胞在实体瘤上的运用。原因在于实体瘤中肿瘤特异性抗原(TSA)很少,不像血液瘤的靶点大多单一且具有特异性<sup>[29-30]</sup>。而今,许多研究人员正在为治疗实体瘤方面的突破而努力。WEI等<sup>[31]</sup>构建了一个包含全长NKG2D、4-1BB和CD3 $\zeta$ 的NKG2D(bbz)CAR结构,其可通过NKG2D与T细胞的DAP10相互作用,从而募集p85蛋白,作为类似于CD28的共刺激分子。因此,NKG2D(bbz)CAR-T细胞可以同时激活4-1BB和DAP10共刺激信号传导。NKG2D(bbz)的CAR-T细胞在体外表现出低分化和较少耗竭,构建携带A549细胞的小鼠模型后发现NKG2D(bbz)CAR-T细胞处理的小鼠在第14天和第22天两次输注后表现出持久的抗肿瘤作用。

MEISTER等<sup>[32]</sup>制备了基于小鼠和人mRNA的多功能T细胞,共表达一种基于NKG2D和促炎细胞因子IL-12和IFN $\alpha 2$ 的多靶向CAR结构。进一步在体外和体内评估了它们的抗胶质瘤活性,与单独表达CAR或细胞因子的T细胞相比,在三种原位免疫能力小鼠胶质瘤模型中,多功能CAR-T细胞在体外和体内表现出更高的抗胶质瘤活性,且无毒性迹象。

KD-025是凯地生物公司研发的靶向NKG2DL的NKG2D CAR-T细胞,由人类NKG2D的胞外结构域、4-1BB和CD3 $\zeta$ 信号结构域组成。SUN等<sup>[33]</sup>在体外和体内异种移植小鼠模型中使用肝细胞癌(HCC)细胞系评估了KD-025的抗肿瘤活性。在体外该细胞对HCC细胞系显示出强的细胞毒性,在体内能够完全清除肿瘤并维持动物长期无肿瘤负荷生存状态。这些结果表明,KD-025能够以NKG2DL依赖的方式特异性地根除HCC细胞,为NKG2DL阳性患者的临床试验提供了科学依据。

ZHANG等<sup>[34]</sup>研究发现,将KD-025与DKK1抑制剂WAY-262611联合用药,在胃癌异种移植动物模型中,联合治疗表现出明显优于单一药物的抗肿瘤治疗效果。抑制DKK1可以显著重塑胃癌中的免疫抑制性微环境,上调胃癌肿瘤组织和细胞系中NKG2DL的表达,增强了NKG2D CAR-T细胞的肿瘤靶向性,为胃癌的免疫治疗带来新的见解。与已有靶向实体瘤的CAR-T细胞相比,NKG2D CAR-T细胞可识别多个肿瘤相关靶点以避免肿瘤异质性导致的免疫逃逸,并可通过抑制肿瘤内过表达NKG2DL的新生血管、招募髓系细胞和活化巨噬细胞重塑肿瘤免疫微环境等提高免疫效果。

### 2.3.2 基于NKG2D/NKG2DL的CAR-NK细胞过继疗法

CAR-T细胞是最常用的效应细胞类型;然而, CAR-T细胞的治疗可能与危及生命的毒性作用有关,如细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS)和神经毒性<sup>[35-36]</sup>。研究<sup>[37-38]</sup>表明, CAR-NK细胞可能会克服CAR-T细胞的上述缺陷,并显示出较强的抗肿瘤作用。NKX101<sup>[39]</sup>是Nkarta公司的首发管线,一种病毒转染工程化的靶向NKG2DL的异体CAR-NK细胞产品,表达嵌合的NKG2D受体融合共刺激(OX40)和信号(CD3 $\zeta$ )结构域,还表达一种膜结合的白介素-15(mbIL-15)作为自分泌生长因子,从而增加持久性。临床前表征表明,与非工程化NK细胞相比,NKX101在AML异种移植模型中具有4~8倍的细胞毒性,内在寿命较长且抗肿瘤活性较高。目前,NKX101的临床评估正在R/R AML或高风险MDS患者的I期研究中进行。

CAR-NK细胞在肿瘤免疫治疗中展现出广阔前景,在实体瘤中进行的相关研究数量是血液恶性肿瘤的2倍以上,而在研究靶标方面,NKG2D是一种治疗实体瘤潜在有效的靶点。XIAO等<sup>[40]</sup>根据NKG2D的胞外结构域(ED)、CD8 $\alpha$ 铰链和穿膜区以及细胞内

信号域CD3 $\zeta$ 或DAP12构建了两个NKG2D mRNA CAR结构,分别是NKG2D-CD3 $\zeta$  CAR(NKG2Dz CAR)和NKG2D-DAP12 CAR(NKG2Dp CAR),然后将来自同一供体并在相同培养条件下扩增的NK细胞分别使用等量的NKG2Dz和NKG2Dp mRNA CAR进行电穿孔修饰,比较NKG2Dz和NKG2Dp CAR-NK细胞的体外肿瘤杀伤活性。该研究数据显示,与NKG2Dz CAR NK细胞相比,NKG2Dp CAR NK细胞具有更强的细胞毒性杀伤能力。基于以上结果,DONG等<sup>[38]</sup>选择用NKG2Dp CAR-NK细胞进行下一步研究。NKG2Dp CAR-NK细胞在结直肠癌小鼠动物模型实验中亦表现出显著的抑瘤疗效并能有效延长荷瘤小鼠的中位生存期。随后,团队开展了一项单臂、开放、剂量递增的临床研究(NCT03415100),用于评估过继输注NKG2D mRNA CAR电穿孔修饰的NK细胞用于治疗转移性结直肠癌患者的安全性和可行性。NKG2D CAR-NK细胞局部给药治疗结直肠癌患者,能有效降低肿瘤负荷,给药部位出现肿瘤组织坏死和完全代谢缓解反应,初步显示NKG2Dp CAR-NK细胞治疗结直肠癌患者具有潜在的临床应用价值。

表1 基于NKG2D/NKG2DL的CAR-T/NK细胞过继疗法

疗法	研究阶段	适应症	药物类型
CYAD-01 <sup>[28]</sup>	临床I期	AML、MDS、多发性骨髓瘤	CAR-T细胞
NKG2D(bbz)CAR-T <sup>[30]</sup>	临床前期	肺癌	CAR-T细胞
共表达IL-12和IFN $\alpha$ 2的基于mRNA的多功能NKG2D CAR-T <sup>[31]</sup>	临床前期	胶质瘤	CAR-T细胞
KD-025 <sup>[32-33]</sup>	临床I期	肝癌、胃癌	CAR-T细胞
NKX101 <sup>[37]</sup>	临床I期	MDS、AML	CAR-NK细胞
NKG2Dp CAR-NK <sup>[38]</sup>	临床I期	结直肠癌	CAR-NK细胞

### 3 结语

免疫治疗已成为肿瘤治疗不可或缺的一部分。靶向NKG2D/NKG2DL轴,尤其是其中的MICA/B,是非常有吸引力的靶点,利用NKG2D依赖性NK细胞介导的抗肿瘤作用促进肿瘤免疫。本文围绕NKG2D/NKG2DL轴介导的免疫监测和免疫逃逸,分析了影响肿瘤免疫治疗的TME因素,对以NKG2D/NKG2DL为靶点的肿瘤免疫治疗策略进行了综述。其中,基于CAR-NK细胞的免疫疗法应用于实体瘤的相关临床试验已经开展并取得了一些成果,针对部分肿瘤已经被证实具有抗肿瘤活性,且有很高的安全性和有效性。与CAR-T细胞相比,CAR-NK细胞有几个明显优势,例如,CAR-NK细胞的寿命很短,

几乎不会产生靶外效应;活化的NK细胞通常产生IFN- $\gamma$ 和粒-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF),不会产生CAR-T细胞通常诱导的细胞因子风暴。然而,CAR-NK细胞在实体瘤中的疗效远不及血液瘤,因此,NK细胞面对实体瘤浸润率低的难题,并且要克服免疫抑制性TME,以避免耗竭和功能失调。相信解决好这些问题,基于NK细胞独特的抗肿瘤机制,极有可能在CAR的修饰下为肿瘤免疫治疗带来新的突破,也能惠及更广泛的肿瘤患者。

### [参考文献]

- [1] PU Y, JI Q. Tumor-associated macrophages regulate PD-1/PD-L1 Immunosuppression[J/OL]. Front Immunol, 2022, 13: 874589 [2023-04-20]. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu>.

- 2022.874589/full.DOI:10.3389/fimmu.2022.874589.
- [2] KUCUKSEZER U C, AKTAS CETIN E, ESEN F, *et al.* The role of natural killer cells in autoimmune diseases[J/OL]. *Front Immunol*, 2021, 12: 622306[2023-05-20]. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2021.622306/full>. DOI:10.3389/fimmu.2021.622306.
- [3] MATA-MOLANES J J, REBOLLO-LICEAGA J, MARTÍNEZ-NAVARRO E M, *et al.* Relevance of Fc Gamma receptor polymorphisms in cancer therapy with monoclonal antibodies[J/OL]. *Front Oncol*, 2022, 12: 926289[2023-05-20]. <https://www.frontiersin.org/journals/oncology/articles/10.3389/fonc.2022.926289/full>. DOI: 10.3389/fonc.2022.926289.
- [4] LAZAROVA M, STEINLE A. The NKG2D axis: an emerging target in cancer immunotherapy[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2019, 23(4): 281-294. DOI: 10.1080/14728222.2019.1580693.
- [5] LIU H F, WANG S J, XIN J, *et al.* Role of NKG2D and its ligands in cancer immunotherapy[J/OL]. *Am J Cancer Res*, 2019, 9(10): 2064-2078[2023-05-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mc/articles/PMC6834480/>.
- [6] DUAN S, GUO W, XU Z, *et al.* Natural killer group 2D receptor and its ligands in cancer immune escape[J/OL]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 29 [2023-05-20]. <https://molecular-cancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12943-019-0956-8>. DOI:10.1186/s12943-019-0956-8.
- [7] BRIUKHOVETSKA D, DÖRR J, ENDRES S, *et al.* Interleukins in cancer: from biology to therapy[J]. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21(8): 481-499. DOI: 10.1038/s41568-021-00363-z.
- [8] FUERTES M B, DOMAICA C I, ZWIRNER N W. Leveraging NKG2D ligands in immuno-oncology[J/OL]. *Front Immunol*, 2021, 12: 713158 [2023-05-20]. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2021.713158/full>. DOI: 10.3389/fimmu.2021.713158.
- [9] COYLE K M, HAWKE L G, ORMISTON M L. Addressing natural killer cell dysfunction and plasticity in cell-based cancer therapeutics[J/OL]. *Cancers (Basel)*, 2023, 15(6): 1743[2023-05-20]. <https://www.mdpi.com/2072-6694/15/6/1743>. DOI: 10.3390/cancers15061743.
- [10] SMYTH M J, SWANN J, CRETNEY E, *et al.* NKG2D function protects the host from tumor initiation[J]. *J Exp Med*, 2005, 202(5): 583-588. DOI: 10.1084/jem.20050994.
- [11] MAJIDPOOR J, MORTEZAEI K. Interleukin-2 therapy of cancer-clinical perspectives[J/OL]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 98: 107836[2023-05-20]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1567576921004720?via%3Dihub>. DOI: 10.1016/j.intimp.2021.107836.
- [12] LI Y, LI Y, XIANG B, *et al.* IL-2 combined with IL-15 enhanced the expression of NKG2D receptor on patient autologous NK cells to inhibit wilms' tumor *via* MAPK signaling pathway[J/OL]. *J Oncol*, 2022, 2022: 4544773[2023-05-20]. <https://www.hindawi.com/journals/JO/2022/4544773/>. DOI:10.1155/2022/4544773.
- [13] LI F, LIU S. Focusing on NK cells and ADCC: a promising immunotherapy approach in targeted therapy for HER2-positive breast cancer[J/OL]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1083462[2023-05-20]. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2022.1083462/full>. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1083462.
- [14] LEE Y S, CHOI H, CHO H R, *et al.* Downregulation of NKG2DLs by TGF- $\beta$  in human lung cancer cells[J/OL]. *BMC Immunol*, 2021, 22(1): 44[2023-05-20]. <https://bmcmimmunol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12865-021-00434-8>. DOI: 10.1186/s12865-021-00434-8.
- [15] SU C W, CHANG Y C, CHIEN M H, *et al.* Loss of TIMP3 by promoter methylation of Sp1 binding site promotes oral cancer metastasis[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2019, 10: 793[2023-05-20]. <https://www.nature.com/articles/s41419-019-2016-0>. DOI:10.1038/s41419-019-2016-0.
- [16] SEKIBA K, OTSUKA M, SEIMIYA T, *et al.* The fatty-acid amide hydrolase inhibitor URB597 inhibits MICA/B shedding[J/OL]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 15556[2023-05-20]. <https://www.nature.com/articles/s41598-020-72688-y>. DOI:10.1038/s41598-020-72688-y.
- [17] LUO D, DONG X W, YAN B, *et al.* MG132 selectively upregulates MICB through the DNA damage response pathway in A549 cells[J]. *Mol Med Report*, 2018: 213-220. DOI: 10.3892/mmr.2018.9676.
- [18] GROELLY F J, FAWKES M, DAGG R A, *et al.* Targeting DNA damage response pathways in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2023, 23(2): 78-94. DOI: 10.1038/s41568-022-00535-5.
- [19] IDSO J M, LAO S H, SCHLOEMER N J, *et al.* Entinostat augments NK cell functions *via* epigenetic upregulation of IFIT1-STING-STAT4 pathway[J/OL]. *Oncotarget*, 2020, 11(20): 1799-1815[2023-05-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7244011/>. DOI: 10.18632/oncotarget.27546.
- [20] XIA C, HE Z, CAI Y, *et al.* Vorinostat upregulates MICA *via* the PI3K/Akt pathway to enhance the ability of natural killer cells to kill tumor cells[J/OL]. *Eur J Pharmacol*, 2020, 875: 173057[2023-05-20]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0014299920301497?via%3Dihub>. DOI: 10.1016/j.ejphar.2020.173057.
- [21] SECCHIARI F, NUÑEZ S Y, SIERRA J M, *et al.* The MICA-NKG2D axis in clear cell renal cell carcinoma bolsters MICA as target in immuno-oncology[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2022, 11: 2104991[2023-05-20]. <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/2162402X.2022.2104991>. DOI:10.1080/2162402X.2022.2104991.
- [22] 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.
- [23] FERRARI DE ANDRADE L, KUMAR S, LUOMA A M, *et al.* Inhibition of MICA and MICB shedding elicits NK-cell-mediated immunity against tumors resistant to cytotoxic T cells[J/OL]. *Cancer Immunol Res*, 2020, 8(6): 769-780[2023-05-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7269842/>. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-19-0483.
- [24] ALVES DA SILVA P H, XING S, KOTINI A G, *et al.* MICA/B antibody induces macrophage-mediated immunity against acute myeloid leukemia[J]. *Blood*, 2022, 139(2): 205-216. DOI: 10.1182/blood.2021011619.
- [25] POWDERLY J D, GUTIERREZ M, WANG J S, *et al.* A phase 1 dose-escalation study to investigate the safety, efficacy, pharmacokinetics, and pharmacodynamic activity of CLN-619 (anti-MICA/MICB antibody) alone and in combination with pembrolizumab in patients with advanced solid tumors[J/OL]. *J Clin Oncol*, 2022, TPS2688-TPS2688[2023-05-20]. [https://ascopubs.org/doi/abs/10.1200/JCO.2022.40.16\\_suppl.TPS2688](https://ascopubs.org/doi/abs/10.1200/JCO.2022.40.16_suppl.TPS2688). DOI: 10.1200/JCO.2022.40.16\_suppl.TPS2688.
- [26] DING H, BUZZARD G W, HUANG S, *et al.* MICA-G129R: a

- bifunctional fusion protein increases PRLR-positive breast cancer cell death in co-culture with natural killer cells[J/OL]. *PLoS One*, 2021, 16(6): e0252662[2023-05-23]. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0252662>. DOI: 10.1371/journal.pone.0252662.
- [27] PAN M Z, WANG F, NAN L D, *et al.*  $\alpha$ VEGFR2-MICA fusion antibodies enhance immunotherapy effect and synergize with PD-1 blockade[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2023, 72(4): 969-984. DOI: 10.1007/s00262-022-03306-1.
- [28] SALLMAN D A, KERRE T, HAVELANGE V, *et al.* CYAD-01, an autologous NKG2D-based CAR T-cell therapy, in relapsed or refractory acute myeloid leukaemia and myelodysplastic syndromes or multiple myeloma (THINK): haematological cohorts of the dose escalation segment of a phase 1 trial[J]. *Lancet Haematol*, 2023, 10(3): e191-e202 [2023-05-23]. DOI: 10.1016/S2352-3026(22)00378-7.
- [29] MAALEJ K M, MERHI M, INCHAKALODY V P, *et al.* CAR-cell therapy in the era of solid tumor treatment: current challenges and emerging therapeutic advances[J/OL]. *Mol Cancer*, 2023, 22(1):20 [2023-05-20]. <https://molecular-cancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12943-023-01723-z>. DOI:10.1186/s12943-023-01723-z.
- [30] 李青, 丁振宇, 魏于全, 等. 个体化新抗原特异性 T 细胞过继免疫: 任重道远, 砥砺前行[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2022, 29(6): 509-518. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2022.06.001.
- [31] WEI C, XIA K, XIE Y, *et al.* Combination of 4-1BB and DAP10 promotes proliferation and persistence of NKG2D(bbz) CAR-T cells [J/OL]. *Front Oncol*, 2022, 12: 893124[2023-05-20]. <https://www.frontiersin.org/journals/oncology/articles/10.3389/fonc.2022.893124/full>. DOI:10.3389/fonc.2022.893124.
- [32] MEISTER H, LOOK T, ROTH P, *et al.* Multifunctional mRNA-based CAR T cells display promising antitumor activity against glioblastoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2022, 28(21): 4747-4756. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-21-4384.
- [33] SUN B, YANG D, DAI H J, *et al.* Eradication of hepatocellular carcinoma by NKG2D-based CAR-T cells[J]. *Cancer Immunol Res*, 2019, 7(11): 1813-1823. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-19-0026.
- [34] ZHANG Y P, LIANG K J, ZHOU X Y, *et al.* Combination therapy of DKK1 inhibition and NKG2D chimeric antigen receptor T cells for the treatment of gastric cancer[J]. *Cancer Sci*, 2023, 114(7): 2798-2809. DOI: 10.1111/cas.15828.
- [35] LEIVAS A, VALERI A, CORDOBA L, *et al.* NKG2D-CAR-transduced natural killer cells efficiently target multiple myeloma[J/OL]. *Blood Cancer J*, 2021, 11(8): 146 [2023-05-20]. <https://www.nature.com/articles/s41408-021-00537-w>. DOI:10.1038/s41408-021-00537-w.
- [36] 许苗, 代兴斌, 朱学军, 等. CAR-T 免疫疗法所致细胞因子释放和神经毒性综合征的诊疗研究进展[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2021, 28(6): 629-635. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2021.06.012.
- [37] FRANKS S E, WOLFSON B, HODGE J W. Natural born killers: NK cells in cancer therapy[J/OL]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(8): 2131[2023-05-20]. <https://www.mdpi.com/2072-6694/12/8/2131>. DOI:10.3390/cancers12082131.
- [38] GONG Y, KLEIN WOLTERINK R G J, WANG J, *et al.* Chimeric antigen receptor natural killer (CAR-NK) cell design and engineering for cancer therapy[J]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1):73 [2023-05-20]. <https://jhoonline.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13045-021-01083-5>. DOI:10.1186/s13045-021-01083-5.
- [39] BACHIER C, BORTHAKUR G, HOSING C, *et al.* A phase 1 study of NKX101, an allogeneic CAR natural killer (NK) cell therapy, in subjects with relapsed/refractory (R/R) acute myeloid leukemia (AML) or higher-risk myelodysplastic syndrome (MDS)[J]. *Blood*, 2020, 136: 42-43. DOI: 10.1182/blood-2020-134625.
- [40] XIAO L, CEN D Z, GAN H N, *et al.* Adoptive transfer of NKG2D CAR mRNA-engineered natural killer cells in colorectal cancer patients[J]. *Mol Ther*, 2019, 27(6): 1114-1125. DOI: 10.1016/j.ymthe.2019.03.011.

[收稿日期] 2023-05-25

[修回日期] 2023-09-05

[本文编辑] 郁晓路, 黄静怡