

多种血液肿瘤中 NK 细胞受体表达差异的临床意义^{*}

李依^{1,2} 刘晓倩² 郭佳丽¹ 刘鑫梅¹ 张颖琪¹ 阮珺³ 常伟^{1,2*}

¹ 武汉科技大学医学院, 湖北武汉 430065

² 武汉科技大学附属普仁医院血液科, 湖北武汉 430080

³ 武汉科技大学附属华润武钢总医院血液科, 湖北武汉 430080

摘要 目的:检测几种血液肿瘤患者中自然杀伤(NK)细胞受体变化,以探究NK细胞功能状态。方法:收集多发性骨髓瘤(MM)患者38例,其中IgG-k型18例、IgG-λ型10例、IgA-k型4例、IgA-λ型6例;非霍奇金淋巴瘤(NHL)患者27例,其中弥漫性大B细胞淋巴瘤18例、边缘区淋巴瘤3例、滤泡性淋巴瘤1例、套细胞淋巴瘤2例、免疫母性T细胞淋巴瘤1例、外周T细胞淋巴瘤2例;慢性髓系细胞白血病(CML)患者10例;30例健康志愿者为正常对照组。通过流式细胞术测定外周血中NK细胞占有核细胞比例,用实时荧光定量聚合酶链反应(RT-qPCR)方法检测NK细胞表面抑制性受体(PD-1)及活化性受体(CD69、NKG2D)的基因表达水平。结果:与正常对照组比较,MM、NHL患者外周血NK细胞占有核细胞比例比较,差异无统计学意义(P 均 >0.05);而CML患者NK细胞占有核细胞数显著减少($P<0.05$);MM、NHL及CML患者的NK细胞表面活化性受体(CD69、NKG2D)水平较正常对照组明显降低,NK细胞表面抑制性受体(PD-1)表达显著高于正常对照组(P 均 <0.05);MM、NHL及CML患者间受体(PD-1、CD69、NKG2D)表达比较,差异无统计学意义(P 均 >0.05)。结论:MM、NHL及CML患者外周血NK细胞表面活化性受体(CD69、NKG2D)水平明显降低,抑制性受体(如PD-1)表达明显增高,提示NK细胞功能耗竭。

关键词 自然杀伤细胞; 血液肿瘤; 抑制性受体(PD-1); 活化性受体(CD69、NKG2D)

中图分类号 R733 **文献标识码** A **DOI** 10.11768/nkjwzzzz20220311

Clinical significance of differences in NK cell receptor expression in various hematological malignancies LI Yi^{1,2}, LIU Xiao-qian², GUO Jia-li¹, LIU Xin-mei¹, ZHANG Ying-qi¹, RUAN Jun³, CHANG Wei^{1,2*}. ¹School of Medicine, Wuhan University of Science and Technology, Hubei Wuhan 430065; ²Department of Hematology, Puren Hospital affiliated to Wuhan University of Science and Technology, Hubei Wuhan 430080; ³Department of Hematology, CR&WISCO General Hospital affiliated to Wuhan University of Science and Technology, Hubei Wuhan 430080, China
Corresponding author: CHANG Wei, E-mail: cwei200408@163.com

Abstract Objective: Natural killer (NK) cell receptor changes in patients with several hematological malignancies were examined to explore the functional status of NK cells. Methods: The peripheral blood samples of 38 patients with multiple myeloma (MM) were collected. There were 18 cases of IgG/(k), 10 cases of IgG/(lambda), 4 cases of IgA/(k), and 6 cases of IgA/(lambda). There were 27 cases of non-Hodgkin's lymphoma (NHL), including 18 cases of diffuse large B cell lymphoma, 3 cases of marginal zone lymphoma, one case of follicular lymphoma, 2 cases of mantle cell lymphoma, one case of angio-immunoblastic T cell lymphoma, 2 cases of peripheral T-cell lymphoma and 10 cases of chronic myeloid cell leukemia (CML). A total of 30 healthy volunteers served as the control group. The proportion of NK cells in the peripheral blood was determined using flow cytometry, and the proportion of surface inhibitory receptor (PD-1) and activated receptors (CD69, NKG2D) in NK cells were analyzed by RT-qPCR. Results: There was no significant difference in the proportion of NK cells in peripheral blood to nuclear cells between study group (MM patients and NHL patients) and normal controls ($P>0.05$), but the proportion of NK cells to nuclear cells decreased in CML patients ($P<0.05$). The levels of NK cell surface activation receptor (CD69 and NKG2D) were significantly reduced in MM, NHL, and CML patients as compared with normal controls ($P<0.05$). The NK cell surface inhibitory receptor (PD-1) expression was significantly higher in MM, NHL and CML patients than in normal controls ($P<0.05$). No significant difference was seen in the expression of receptors (CD69, NKG2D and PD-1) among MM, NHL and CML ($P>0.05$). Conclusion: The surface activated receptors (CD69 and NKG2D) in peripheral blood NK cells of MM, NHL and CML patients were significantly decreased, and the high expression of inhibitory receptor (PD-1) in MM, NHL and CML patients suggests the functional depletion.

Key words Natural killer cells; Hematological malignancy; Inhibitory receptor (PD-1); Activated receptors (CD69 and NKG2D)

^{*} 基金项目:武汉市卫生计生委医学科研项目(No:WX21C23、WX20C38)

^{*} 通信作者:常伟, E-mail: cwei200408@163.com, 湖北省武汉市青山区本溪街1号

血液系统肿瘤多原发于骨髓、淋巴组织等,如多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)、急性白血病、慢性髓系细胞白血病(chronic myelocytic leukemia, CML)、恶性淋巴瘤等^[1~3]。自然杀伤细胞(natural killer cells, NK cells)是机体重要的固有免疫细胞^[4],参与细胞免疫监测和消除癌症。不同的 NK 细胞亚群在肿瘤免疫和癌症免疫治疗中发挥着不同的作用^[5]。NK 细胞表达诸多受体,通过不同的受体调节 NK 细胞的激活从而让 NK 细胞区分正常与非正常细胞。Giuliani 等^[6]报道 NK 细胞在血液肿瘤中起到至关重要的作用,激活性和抑制性受体也分别释放着不同的信号调节 NK 细胞的状态。激活性受体(NKG2D)通过与其相应的配体结合发挥“正向信号”,抑制性受体可以识别主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC) I 类分子,结合后产生“负向信号”,当 NK 细胞的“正向信号”占优势时, NK 细胞将会对机体作出反应,反之,如果有较强的“负向信号”时,一些细胞将不会受到 NK 细胞的攻击。肿瘤患者的 NK 细胞表面激活和抑制性受体发生改变使 NK 细胞的抗肿瘤功能受损^[7]。本文比较多种血液系统肿瘤患者 NK 细胞表面抑制性受体 PD-1 及活化性受体 CD69、NKG2D 的表达情况,探讨血液肿瘤患者 NK 细胞功能状态。

资料与方法

一般资料 收集 2019 年 9 月-2021 年 8 月在武汉科技大学附属普仁医院确诊的 3 种血液肿瘤疾病患者,其中 MM 患者 38 例(男 21,女 17),中位年龄 65 岁(其中 IgG-k 型 18 例、IgG- λ 型 10 例、IgA-k 型 4 例)。NHL 患者 27 例(男 14,女 13),中位年龄 48 岁[其中弥漫性大 B 细胞淋巴瘤 18 例、边缘区淋巴瘤 3 例、滤泡性淋巴瘤 1 例、套细胞淋巴瘤 2 例、免疫母性 T 细胞淋巴瘤 1 例、外周 T 细胞淋巴瘤 2 例、慢性髓系细胞白血病(CML)患者 10 例]。CML 患者 10 例(男 5,女 5),中位年龄 58 岁。纳入标准:①患者诊断均符合国内血液肿瘤疾病诊治指南的标准^[8~10];②初诊未治疗的患者。排除标准:①患者合并其他恶性肿瘤或自身免疫性疾病;②某种紧急、濒危的病症需要尽早医学处理的患者。选取同期健康体检者 30 例(男 17,女 13)为正常对照组,中位年龄 56 岁。记录入选者年龄及性别等一般资料,通过流式细胞技术检测外周血 NK 细胞的数量及功能,再采用聚合酶链反应(quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)测定入选者外周血

NK 细胞表面抑制性受体 PD-1 及活化性受体 CD69、NKG2D 的表达水平。本研究经医院伦理委员会的批准,患者或家属均知情并签署同意书。

主要试剂与仪器 磷酸盐缓冲液(PBS)(HyClone 公司),人外周血淋巴细胞分离液(Invitrogen 公司),血细胞分析用稀释液(迈瑞公司),血细胞分析用溶血剂(迈瑞公司),溶血素(BD 公司),引物序列(北京擎科科技有限公司),磁珠分离人 NK 细胞试剂套装(Invitrogen 公司),肝素钠采血管(BD 公司),流式细胞仪(Beckman Coulter 公司),常温采血管离心机(长沙湘智),血液细胞分析仪(迈瑞公司),移液器(Eppendorf 公司),医用冷藏箱(海尔公司),RT-qPCR 仪(BIO-RAD 公司),常温低速离心机(上海力康仪器有限公司)。

方法

1. 标本收集及处理

采集患者及健康志愿者空腹时右肱静脉血 10 mL,放置于肝素钠抗凝管中(避免使用影响 NK 细胞激活与增殖的 EDTA 抗凝管)。

①人外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMCs)的制备。将上述方法抽取的静脉血液利用人外周血淋巴细胞分离液密度梯度离心法分离外周血单个核细胞。具体操作如下:抽取外周血于肝素钠抗凝管中,以 1 500 转/min,离心 10 min 后弃去上清,尽量动作轻缓的与等体积 PBS 混合稀释,加入到倾斜的装有淋巴细胞分离液的离心管中,轻轻竖起避免破坏界面,以 1 800 转/min,离心 20 min,离心结束后试管中从顶部到底部可分为 3 层,用吸管吸取中间的白膜层,用 4~5 mL PBS 洗涤除去淋巴细胞分离液及细胞碎片等;得到单个核细胞后,进行末次离心后,弃上清,以 PBS 重悬细胞,全程在室温下进行。

②免疫磁珠分选法分选 NK 细胞(负选)。通过使用偶联生物素的抗体和 NK 细胞微珠混合物进行标记,非 NK 细胞,即 T 细胞、B 细胞、干细胞、树突细胞、单核细胞、粒细胞和红细胞等非目的细胞可被标记去除。取 40 μ L 分选缓冲液(buffer)重悬 10^7 细胞,不同量细胞可按同比例调整体积。按照 10^7 细胞中加入 10 μ L NK 细胞分离试剂盒内 NK 细胞生物素抗体充分混匀,4~8℃孵育 5 min 后用分选缓冲液洗涤 1 次;按如上同样数量细胞加入 30 μ L 分选缓冲液的同比例重悬沉淀,再加入 20 μ L NK 细胞分离试剂盒内 NK 细胞微珠混合物,充分混匀后于 4~8℃孵育 10 min;离心弃上清,收集细胞。准备分

选:根据标记细胞量将分选柱固定在分选架上,安装好柱子后放置试管架,加入 500μL 分选缓冲液润洗分离柱;细胞过尼龙网后上柱,注意不要带入气泡,收集含未标记细胞过滤液;用 500μL 分选缓冲液冲洗分离柱,重复 3~4 次,收集流出液并与上一步所得滤过液合并,所收集细胞即为 NK 细胞。

③NK 细胞纯度检测。以 CD3-FITC/ CD16 + 56)-PE 荧光标记抗体标记 NK 细胞,用流式细胞术检测其分选后纯度。

2. 流式细胞术检测样本 NK 细胞占有核细胞比例

为本编号,核对本类型,在室温下加入 PBS 至液体总体积为样本管容量的 80%,充分颠倒混匀,1 525 转/min,离心 10 min,用棉签刮除最上层油脂杂质后弃除上清,待余下液体混匀后吸至吸管内,清洗试管后用 300 目滤布过滤吸管内样本至清洁试管中,用血细胞分析仪进行计数。(若 WBC < 10 × 10⁹/L 时需再次离心)待测的样本加入相应抗体,按照每 2 × 10⁶ 个细胞依次加入流式管中充分混匀进行抗体避光孵育 15 min;再加入 2 mL 溶血素混匀避光孵育 15 min 后加入 PBS 离心 5 min,洗涤 2 次后再次用 300 目滤布过滤样本上机,根据流式检测得出外周血中 NK 细胞占有核细胞的比例。

3. RT-qPCR 分析

① 取分选后细胞,加入 PBS 后离心 5 min,吸上清液转移至新的试管后加入 1 mL 总 RNA 抽提试剂 Trizol,震荡混匀后 4℃ 放置 10 min,以 12 000 转/min,离心 5 min。②加入 250 μL 氯仿,上下颠倒 15 次,混匀后室温放置 10 min,提前将高速冷冻离心机调至 4℃,以 12 000 转/min,离心 15 min,按照顺序及小离心管方向摆放。③配制 75% 无水乙醇,离心后吸取上清至另一 1.5 mL 无酶管中,加入与组织等量异丙醇,上下颠倒 15 次,在冰盒内放置 10 min,再次高速冷冻离心 15 min,弃上清。④加入 1 mL 焦碳酸二乙酯(diethyl pyrocarbonate, DEPC)水配制的 75% 乙醇,上下颠倒 10 次,高速冷冻离心 10 min,弃上清。⑤再次加入 500μL 75% 无水乙醇。上下颠倒 10 次,高速冷冻离心 10 min,取出后弃上清再次高速冷冻离心 1 min,用 20μL DEPC 水溶解沉淀,吹打。⑥测浓度,取部分调整后浓度反转录为 cDNA。引物如下所示:

NKDG2D-qpcr-F:TCCCTCTCTGAGCAGGAATC
NKDG2D-qpcr-R:CCACGAATCCACCCCATCAA
CD69-qpcr-F:CTGCTCTGTGGTCCGAAGTC

CD69-qpcr-R:GGGCTCTCACTGTTGGTAGT
PD-1-qpcr-F:CTTCACCTGCAGCTTCTCCA
PD-1-qpcr-R:TCCTCCTTCAGGGGCTGG

用 900 ng 的 RNA 反转录后,取 cDNA 用 Q-PCR 定量 NK 细胞表面 NKG2D、CD69 及 PD-1 的表达。实验设 3 个复孔。

统计学分析 采用 Graphpad 9.1 统计学软件,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,均经正态性和方差齐性检验。符合正态分布时,2 组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用 ANOVA 检验(方差不齐时需 Welch's 矫正);不符合正态分布时,比较采用非参数检验。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

各组外周血 NK 细胞占有核细胞的比例 流式检测结果显示,与正常对照组比较,MM、NHL 组 NK 细胞占有核细胞数差异无统计学意义(*P* 均 > 0.05),而 CML 患者 NK 细胞占有核细胞数显著减少(*P* < 0.05),见表 1。

表 1 各组外周血中 NK 细胞占有核细胞的比例($\bar{x} \pm s$)			
组别	例	NK 细胞占有核细胞数	<i>P</i> 值
正常对照组	30	1.80 ± 0.57	—
MM 组	38	1.73 ± 0.79	0.70
NHL 组	27	1.52 ± 0.81	0.13
CML 组	10	0.58 ± 0.46*	0.00

注:与正常对照组比较,**P* < 0.05

经过流式检测,随机选取对照组中 1 例健康志愿者外周血 NK 细胞流式图及外周血 NK 细胞占有核细胞比例图,见图 1。NK 细胞流式图显示,根据细胞的大小和颗粒度将细胞分群后,进一步分析该群体中分为 3 群。散点图中紫色代表 NK 细胞,绿色代表淋巴细胞,深蓝色代表 T 淋巴细胞,见图 1a。外周血 NK 细胞占有核细胞的比例图,见图 1b。外周血 NK 细胞占有核细胞比例为紫色#Events/P1#Events × 100%,本例为 1.3%。其他健康志愿者采取同种计算方式得出比例。

MM 患者外周血中 NK 细胞占有核细胞的比例 经过流式检测,根据细胞的大小和颗粒度将细胞分群后,进一步分析该群体中分为 3 群,见图 2。

NHL 患者外周血中 NK 细胞占有核细胞的比例 经过流式检测,从图中可以看出,根据细胞的大小和颗粒度将细胞分群后,进一步分析该群体中分为 4 群,其余同上,红色代表异常细胞,见图 3。

CML 患者外周血中 NK 细胞占有核细胞的比例

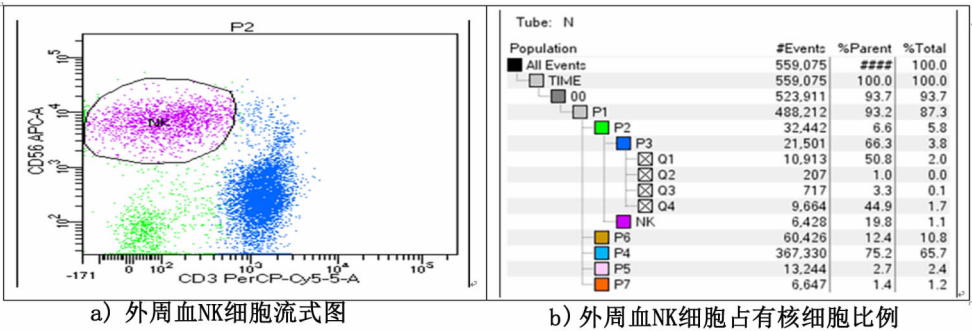


图1 健康志愿者外周血NK细胞流式图及外周血NK细胞占有核细胞比例图

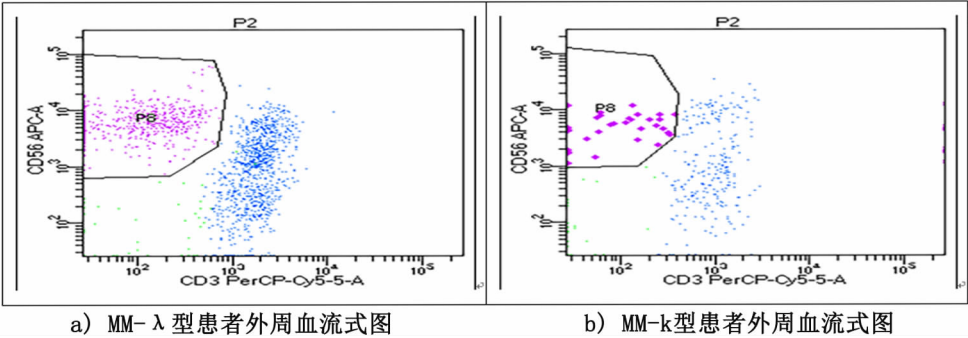


图2 MM患者外周血NK细胞流式图及外周血NK细胞占有核细胞比例图

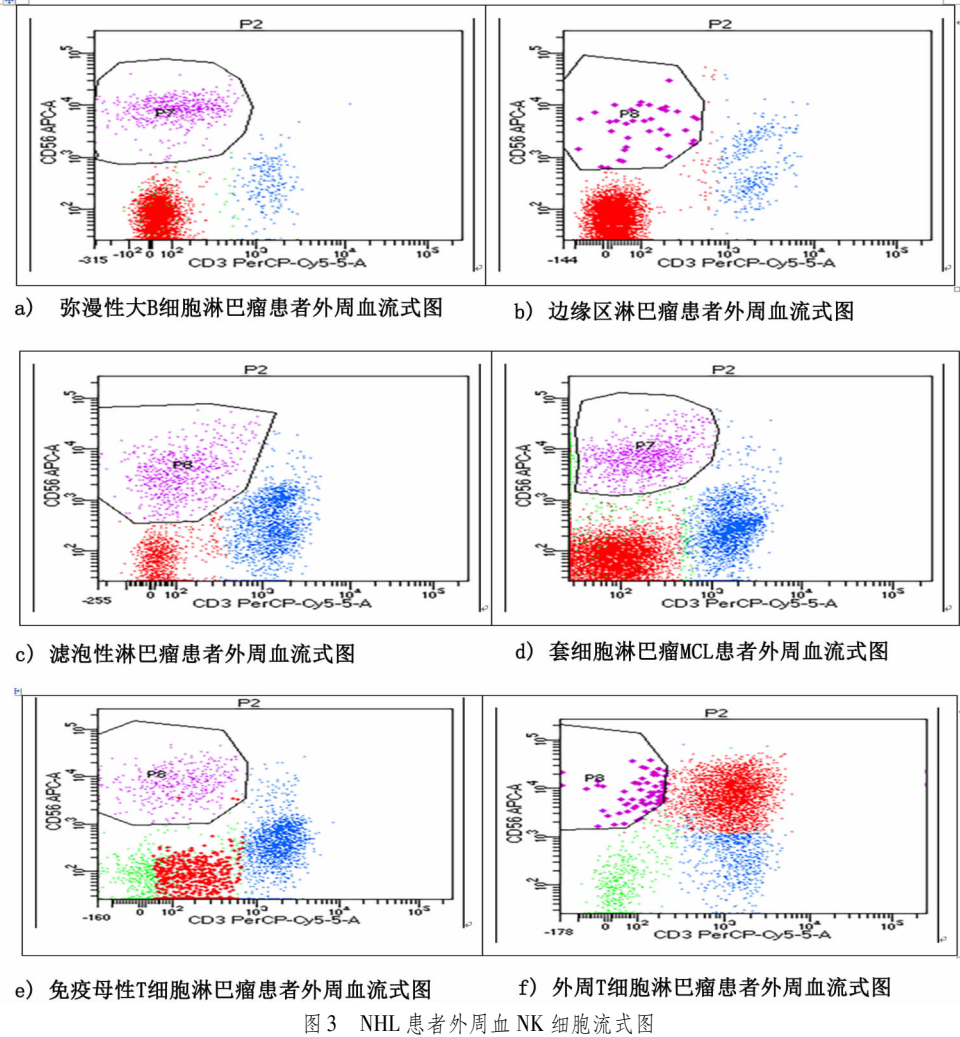


图3 NHL患者外周血NK细胞流式图

经过流式检测,从图中可以看出,根据细胞的大小和颗粒度将细胞分群后,进一步分析该群体中分为 3

群,本例 CML 者外周血 NK 细胞占有核细胞的比例计算方式同上,为 0.15%,见图 4。

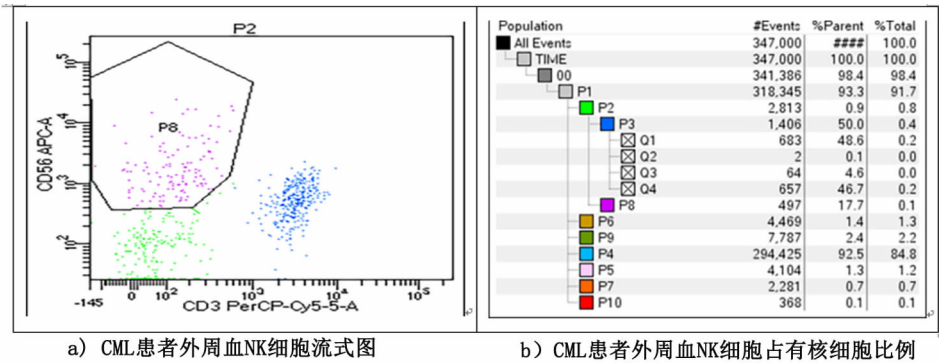


图 4 CML 患者外周血 NK 细胞流式图及外周血 NK 细胞占有核细胞比例图

正常对照组与 MM、NHL 及 CML 患者 NK 细胞表面受体变化 经过 RT-qPCR 检测,MM、NHL、CML 患者 NK 细胞表面抑制受体 PD-1 表达水平显著高于正常对照组, NK 细胞表面活化性受体 (NKG2D、CD69) 表达水平低于正常对照组 (P 均 < 0.05), MM、NHL 与 CML 患者间受体 (PD-1、CD69、NKG2D) 表达相互比较,差异无统计学意义 (P 均 > 0.05),见表 2。

表 2 MM、NHL 及 CML 组患者 NK 细胞表面受体水平 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例	PD-1	NKG2D	CD69
正常对照组	30	30.93 $\pm$ 1.43	16.50 $\pm$ 1.21	19.76 $\pm$ 1.17
MM 组	38	57.40 $\pm$ 2.29*	9.83 $\pm$ 1.20*	11.42 $\pm$ 1.02*
NHL 组	27	53.84 $\pm$ 3.01*	8.96 $\pm$ 1.11*	11.86 $\pm$ 1.33*
CML 组	10	65.82 $\pm$ 2.60*	9.65 $\pm$ 0.89*	10.89 $\pm$ 1.12*
P 值	-	0.00	0.00	0.00

注:与正常对照组比较,* $P < 0.05$

讨 论

血液肿瘤患者体内存在 NK 细胞功能的失调,且失调程度与疾病进展保持一致^[11~14]。NK 细胞是一种重要的天然细胞毒性淋巴细胞,它们能够快速、有效地靶向恶性细胞,杀死肿瘤细胞,因此被认为是消除肿瘤的最活跃的固有淋巴细胞 (ILC) 亚群^[15]。几乎所有的血液恶性肿瘤均与 NK 细胞细胞毒性降低有关,将研究重点放在恢复正常 NK 细胞的功能可以为免疫治疗提供更多方向^[16~20]。因此,NK 细胞与血液肿瘤患者体内的免疫抑制性因素可能存在复杂而多维的相互作用,相对于数目而言,功能状态可能是较为关键的一环。NK 细胞可表达激活和抑制受体,将这些作为病原体和治疗靶点进行研究可能会在血液肿瘤治疗中产生有希望的应用^[21,22]。

Purdy 等^[23]报道 NK 细胞表面的抑制性受体和活化性受体与其相应的配体相互作用调节着动态平衡,这些活性受体减少或者抑制性受体增多都会减弱 NK 细胞的激活信号,从而抑制 NK 细胞的活化。CD69 是 NK 细胞激活标记物,多种活化细胞和血小板表面均有表达^[24]。它有助于维持 NK 细胞的激活。NKG2D 作为 NK 细胞的激活受体参与固有免疫和适应性免疫,在肿瘤监测中发挥着关键作用^[25]。NKG2D 的缺失与肿瘤的发生进展有关,是 NK 细胞功能抑制的共同特征,因此可用作指导 NK 细胞相关治疗的标志物^[25]。血液肿瘤患者 NK 细胞表面 CD69、NKG2D 等受体表达降低可能会使 NK 细胞的抗肿瘤能力降低。

本研究中 3 种血液系统肿瘤患者表面抑制性受体 PD-1 水平上调以及活化性受体 CD69、NKG2D 水平下降,从而导致 NK 细胞的杀伤活性下降^[26]。免疫耗竭是一种功能失调的状态,其特征是效应功能下降,如果细胞表面的配体和抑制性受体结合使细胞功能抑制,细胞将呈现耗竭状态^[27]。耗竭状态的 NK 细胞会表达抑制性受体 (如 PD-1),来自恶性肿瘤的 NK 细胞通常显示激活受体的丢失,亦被认为是一种“耗竭”表型^[28,29]。利用 NK 细胞及其耗竭状态的逆转在治疗肿瘤方面开发新的治疗方法,将对现有的一些治疗措施进行补充,为目前对 T 细胞免疫治疗产生耐药性的患者带来希望。

参 考 文 献

1 Chen EB,Zhou ZJ,Xiao K,et al. The miR-561-5p/CXCL1 signaling axis regulates pulmonary metastasis in hepatocellular carcinoma involving CXCR1 natural killer cells infiltration[J]. Theranostics,2019,9 (16):4779-4794.

- 9 白一蕾,付志新. APACHE II评分对静脉溶栓治疗的重症脑梗死患者病情评估的价值[J]. 内科急危重症杂志,2021,27(2):135-137.
- 10 Ogawa K, Akimoto T, Hara M, et al. Clinical study of thirteen patients with spinal cord infarction[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2019, 28(12):104-107.
- 11 Kumral E, Afsar N, Kirbas D, et al. Spectrum of medial medullary infarction; clinical and magnetic resonance imaging findings[J]. J Neu-

- rol, 2002, 249(1):85-93.
- 12 Kwon M, Lee JH, Kim JS. Dysphagia in unilateral medullary infarction; lateral vs medial lesions[J]. Neurology, 2005, 65(5):714-718.
- 13 苏俊,李鑫海. 肢体缺血预适应联合超早期静脉溶栓减轻急性脑梗死患者神经功能缺损并改善预后[J]. 内科急危重症杂志, 2021, 27(6):493-496.

(2021-04-15 收稿 2022-01-29 修回)

(上接第 224 页)

- 2 Henze L, Buhl C, Sandherr M, et al. Management of herpesvirus reactivations in patients with solid tumours and hematologic malignancies; update of the Guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society for Hematology and Medical Oncology (DGHO) on herpes simplex virus type 1, herpes simplex virus type 2, and varicella zoster virus[J]. Ann Hematol, 2022, 101(3):491-511.
- 3 刘晓倩,李依,郭佳丽,等. 藤黄酸调控白血病 K562 细胞 GFI-1 表达及对细胞增殖和凋亡的影响[J]. 内科急危重症杂志, 2021, 27(1):54-57.
- 4 Crinier A, Narni-Mancinelli E, Ugolini S, et al. SnapShot: Natural Killer Cells[J]. Cell, 2020, 180(6):1280-1280. e1.
- 5 Vitale M, Cantoni C, Pietra G, et al. Effect of tumor cells and tumor microenvironment on NK-cell function[J]. Eur J Immunol, 2014, 44(6):1582-1592.
- 6 Giuliani M, Poggi A. Checkpoint inhibitors and engineered cells; new weapons for natural killer cell arsenal against hematological malignancies[J]. Cells, 2020, 9(7):1578.
- 7 Schleyen JS, Von Geldern M, Weiss EH, et al. Renal cell carcinoma-infiltrating natural killer cells express differential repertoires of activating and inhibitory receptors and are inhibited by specific HLA class I allotypes[J]. Int J Cancer, 2003, 106(6):905-912.
- 8 中国医师协会血液科医师分会, 中华医学会血液学分会, 中国医师协会多发性骨髓瘤专业委员会. 中国多发性骨髓瘤诊治指南(2020 年修订)[J]. 中华内科杂志, 2020, 59(5):341-346.
- 9 中国抗癌协会淋巴瘤专业委员会, 中国医师协会肿瘤医师分会, 中国医疗保健国际交流促进会肿瘤内科分会. 中国淋巴瘤治疗指南(2021 年版)[J]. 中华肿瘤杂志, 2021, 43(7):707-735.
- 10 慢性髓性白血病中国诊断与治疗指南(2020 年版)[J]. 中华血液学杂志, 2020, 41(5):353-364.
- 11 Carrega P, Morandi B, Costa R, et al. Natural killer cells infiltrating human nonsmall-cell lung cancer are enriched in CD56 bright CD16 (-) cells and display an impaired capability to kill tumor cells[J]. Cancer, 2008, 112(4):863-875.
- 12 Dong Z, Liang S, Hu J, et al. Autophagy as a target for hematological malignancy therapy[J]. Blood Rev, 2016, 30(5):369-380.
- 13 Fuji S, Nagler A, Mohty M, et al. Decision-analytic modeling as a tool for selecting optimal therapy incorporating hematopoietic stem cell transplantation in patients with hematological malignancy[J]. Bone Marrow Transplant, 2020, 55(7):1220-1228.
- 14 Lv M, Huang X. Fighting against hematological malignancy in China; from unique system to global impact[J]. Sci China Life Sci, 2015, 58(12):1183-1190.
- 15 Wang J, Matosevic S. Functional and metabolic targeting of natural killer cells to solid tumors[J]. Cell Oncol (Dordr), 2020, 43(4):577-600.

- 16 Becker PS, Suck G, Nowakowska P, et al. Selection and expansion of natural killer cells for NK cell-based immunotherapy[J]. Cancer Immunol Immunother, 2016, 65(4):477-484.
- 17 Gardiner CM. NK cell metabolism[J]. J Leukoc Biol, 2019, 105(6):1235-1242.
- 18 Hodgins JJ, Khan ST, Park MM, et al. Killers 2.0: NK cell therapies at the forefront of cancer control[J]. J Clin Invest, 2019, 129(9):3499-3510.
- 19 Shimizu K, Iyoda T, Yamasaki S, et al. NK and NKT Cell-Mediated Immune Surveillance against Hematological Malignancies[J]. Cancers (Basel), 2020, 12(4):817.
- 20 Marofi F, Abdul-Rasheed OF, Rahman HS, et al. CAR-NK cell in cancer immunotherapy; A promising frontier[J]. Cancer Sci, 2021, 112(9):3427-3436.
- 21 Tanaka J. Recent advances in chimeric antigen receptor natural killer cell therapy for overcoming intractable hematological malignancies[J]. Hematol Oncol, 2021, 39(1):11-19.
- 22 Niu C, Jin H, Li M, et al. Low-dose bortezomib increases the expression of NKG2D and DNAM-1 ligands and enhances induced NK and T cell-mediated lysis in multiple myeloma[J]. Oncotarget, 2017, 8(4):5954-5964.
- 23 Purdy AK, Campbell KS. Natural killer cells and cancer; regulation by the killer cell Ig-like receptors (KIR)[J]. Cancer Biol Ther, 2009, 8(23):2211-2220.
- 24 ElMenshawry N, Farag NA, Atia DM, et al. Prognostic Relevance of Concordant Expression CD69 and CD56 in Response to Bortezomib Combination Therapy in Multiple Myeloma Patients[J]. Cancer Invest, 2021, 39(9):777-782.
- 25 Liu H, Wang S, Xin J, et al. Role of NKG2D and its ligands in cancer immunotherapy[J]. Am J Cancer Res, 2019, 9(10):2064-2078.
- 26 Berger R, Rotem-Yehudar R, Slama G, et al. Phase I safety and pharmacokinetic study of CT-011, a humanized antibody interacting with PD-1, in patients with advanced hematologic malignancies[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(10):3044-3051.
- 27 Moskopidhis D, Lechner F, Pircher H, et al. Virus persistence in acutely infected immunocompetent mice by exhaustion of antiviral cytotoxic effector T cells[J]. Nature, 1993, 362(6422):758-761.
- 28 Merino AM, Kim H, Miller JS, et al. Unraveling exhaustion in adaptive and conventional NK cells[J]. J Leukoc Biol, 2020, 108(4):1361-1368.
- 29 Zhang Q, Bi J, Zheng X, 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.

(2022-02-05 收稿 2022-05-10 修回)