

NK 细胞在肿瘤免疫治疗中的应用

陈敏华,王 玮,方 芳,肖卫华

(中国科学院天然免疫与慢性疾病重点实验室,中国科学技术大学免疫学研究所,中国科学技术大学生命科学学院及医学中心,
合肥微尺度物质科学国家研究中心,安徽省生物技术药物工程技术研究中心,安徽合肥 230027)

摘要: 自然杀伤细胞(NK 细胞)可通过 MHC I 类分子非依赖地泛特异性识别肿瘤细胞,不需致敏、杀伤快,使其在肿瘤免疫治疗中具有突出的特点和巨大的应用潜力.NK 细胞和 T 细胞为体内的两类具杀伤活性效应的细胞,但分别为天然免疫和获得性免疫细胞,在识别和杀伤肿瘤细胞上各具特点.另外,NK 细胞具有调节 T 细胞免疫应答及肿瘤微环境的作用.因此,特别是在抗肿瘤方面,两者具有优势互补和协同作用.前期研究显示,NK 细胞尤其在造血系统恶性肿瘤治疗中展现出突出的疗效及安全性.本文综述了目前 NK 细胞临床免疫治疗的疗效及应用面临的挑战.相信随着针对 NK 细胞的免疫治疗技术的突破和药物的开发应用,肿瘤免疫治疗水平必将推向新的高峰.

关键词: 自然杀伤细胞;肿瘤免疫治疗;细胞免疫治疗

中图分类号: R730.51 **文献标识码:** A doi: 10.3969/j.issn.0253-2778.2018.10.005

引用格式: 陈敏华,王玮,方芳,等. NK 细胞在肿瘤免疫治疗中的应用[J]. 中国科学技术大学学报,2018,48(10): 797-800.

CHEN Minhua, WANG Wei, FANG Fang, et al. The application of NK cells in tumor immunotherapy [J]. Journal of University of Science and Technology of China, 2018,48(10):797-800.

特
约
评
述

The application of NK cells in tumor immunotherapy

CHEN Minhua, WANG Wei, FANG Fang, XIAO Weihua

(Institute of Immunology and The CAS Key Laboratory of Innate Immunity and Chronic Disease, Innovation Center for Cell Signaling Network, School of Life Sciences and Medical Center, Hefei National Laboratory for Physical Sciences at Microscale, Engineering Technology Research Center of Biotechnology Drugs of Anhui, University of Science and Technology of China, Hefei 230027, China)

Abstract: Natural killer cells recognize malignant cells through MHC I-independent mechanism, with no requirements of pre-sensitizing and being capable of quick killing target cells, which gives them a strong potential in cancer immunotherapy. Both NK and T cells are effect cells with killing property in the human body, but they are distinct by classification as innate and adoptive immunity, using different mechanisms

收稿日期: 2018-07-31; **修回日期:** 2018-08-29

基金项目: 国家重点基础研究发展(973)计划(2016YFC1303503),中国科学院战略性先导科技专项(B类)(XDPB030303),国家自然科学基金(31571440, 81671558),安徽省科技厅重大专项(17030801024)资助.

作者简介: 陈敏华,女,1989年生,博士生.研究方向:肿瘤免疫生物学以及 NK 免疫治疗.E-mail: chenmh@mail.ustc.edu.cn

通讯作者: 肖卫华,教授,博士生导师,中国科学技术大学医药生物技术系常务副主任,生物技术药物工程技术研究中心主任,安徽省生物学会理事长.1985~1995年任长春生物制品研究所应用分子生物助理研究员,1995~1998年美国马里兰大学肿瘤研究中心博士后,1998~2004年任美国国立肿瘤研究院研究员,2004年10月任中国科学技术大学生命科学学院教授.主要研究方向为肿瘤与免疫细胞生物学、医药生物技术研究和开发.承担了包括国家新药创制专项、国家自然科学基金、973计划和863计划等10余项科研基金项目,完成抗体药物、透皮蛋白质药物、重组细胞因子和肿瘤免疫治疗技术等生物技术药物的开发或临床前研究.在 Nature Medicine,PNAS,Cancer Reserch 等国际学术期刊发表 50 余篇 SCI 论文,申请和获得国家发明专利 10 余项.E-mail: xiaow@ustc.edu.cn



to recognize the target cells. Additionally, NK cells can regulate T cell response and modulate tumor microenvironments. Therefore, the combination of NK and T cells could produce synergistic effects in cancer immunotherapy with their own properties. Previous clinical studies have shown that NK cell therapy demonstrated satisfactory efficacy and safety in hematologic disorders. This paper reviewed the anti-tumor effects and challenges of NK cells in clinical immunotherapy. It is expected that a new peak of cancer immunotherapy will arise with the continuing development on NK cell based immunotherapy.

Key words: natural killer cell; cancer immunotherapy; cell immunotherapy

0 引言

肿瘤免疫疗法近年来快速发展,成为具有临床应用前景的新型肿瘤治疗手段.虽然目前包括 PD-1 抑制剂为代表的免疫检验点抑制剂和 CAR-T 为代表的免疫细胞靶向治疗在临床应用中展现出较好的疗效,但均以 T 细胞为靶向^[1-2];而作为人体内抗恶性转化、清除损伤和感染等细胞的主力军的自然杀伤细胞在抗肿瘤的治疗应用上仍远远落后于 T 细胞的研究和应用.

自然杀伤细胞(natural killer cell, NK 细胞)是人体天然免疫系统的效应细胞^[3],是体内监视恶性病变细胞的主要功能细胞. NK 细胞依赖细胞表面固有表达的多种活化性和抑制性受体识别病变细胞,起到一线抗感染以及清除恶性转化、衰老和损伤细胞的作用,是人体抗肿瘤的主力军^[4]. NK 细胞与 T 细胞作为具有直接杀伤功能的两类细胞,各有特点. T 细胞可识别肿瘤特异性抗原,体内生存周期长,体外扩增技术成熟^[5].同时, T 细胞具有功能异质性,包含多个功能亚群,存在负调免疫应答以及分泌多种和大量细胞因子的潜在副作用风险;体内抗原特异性 T 细胞单克隆比例较低,已知肿瘤特异性抗原有限,人为制造识别肿瘤特异抗原的 T 细胞受限;受组织相容性复合物的限制,限于使用自体细胞,异体细胞风险较大; T 细胞在体内较长的生存周期也增加了副作用的风险^[6].相对于 T 细胞, NK 细胞固有泛特异性识别肿瘤细胞,杀伤谱更广,反应速度更快;体内生存周期较短,潜在副作用小;功能亚群和细胞因子分泌种类较少,潜在风险较低^[7];大量临床研究显示,异体 NK 细胞无严重副作用,使得治疗用 NK 细胞不受来源限制,来源广泛.但 NK 细胞体内数量较少,需体外扩增以达到治疗所需数量^[8-9].目前,关于 NK 细胞发育分化阶段及若干关键分子人们已有较多认识,也已创建出多种 NK 细胞体外诱导分化及扩增技术方法,可满足临床应用

的需求.

1 NK 细胞治疗药效学研究进展

NK 细胞依赖细胞表面固有表达的多种活化性和抑制性受体识别病变细胞,细胞活化后可释放胞内穿孔素和颗粒酶素,直接杀伤肿瘤细胞.研究显示,同等效靶比条件下, NK 比 CTL 具有更强的杀伤能力^[10-11].此外, NK 细胞参与调节 T 细胞功能. NK 细胞及其分泌因子干扰素 gamma(interferon-gamma, IFN- γ)等能上调肿瘤细胞对 CTL 的杀伤敏感性、促进 T 细胞免疫应答及记忆型 T 细胞的形成^[11-12];同时还能募集瘤内刺激型树突状细胞,促进瘤内 T 细胞的激活,进而提高 PD-1 抗体药物的应答率. NK 细胞的缺失导致 T 细胞呈现极度耗竭的表型,即使阻断免疫检验点 TIGIT,也无法显著恢复 T 细胞功能^[1, 13].不仅如此, NK 细胞分泌的主要细胞因子干扰素 gamma 被证实能够在肿瘤微环境中能够抑制调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg),从而逆转肿瘤微环境的免疫抑制状态^[14],提示 NK 细胞在实体瘤治疗中的潜在应用价值.

目前, NK 细胞治疗已在多种肿瘤中开展临床研究^[15].虽然 NK 细胞具有泛特异性识别肿瘤细胞的特点,但临床研究结果表明, NK 细胞对血液系统恶性肿瘤的治疗效果显著优于实体瘤^[16].由于不同制备技术所得 NK 细胞制剂的成分和特性存在差异,其临床研究疗效表现也不一^[8, 17].异体外周血来源 NK 细胞治疗的综合疗效优于细胞系来源(如 NK-92)、干细胞来源或自体来源 NK 细胞^[18].初步临床实验显示,异体外周血来源 NK 细胞治疗可显著延长已获得完全缓解的造血系统恶性肿瘤患者无病生存期至约 18 个月,两年总体生存率可达约 75%.对复发难治型造血系统恶性肿瘤, NK 细胞治疗可获得高达 40%的缓解率.对于实体肿瘤, NK 细胞治疗可获得约 20%的缓解率,疾病发展控制率约为 75%^[15, 19].

2 NK 细胞治疗的挑战

虽然已有报道显示, NK 细胞治疗尤其在造血系统恶性肿瘤中具有相对突出的疗效^[17], 但对 NK 细胞治疗的临床研究方案, 包括适应症和供体选择以及治疗方案, 都有待深入研究. NK 细胞杀伤功能的启动由细胞表面活化性受体和抑制性受体所传递信号的整合信号决定^[20]. 一方面, 可通过筛选肿瘤细胞表面 NK 细胞活化性受体和抑制性受体的配体表达, 寻找适于 NK 细胞治疗的适应症. 已有研究发现, 60%~80% 的原位黑色素瘤具有缺失或降低的 I 类人淋巴细胞抗原 (human lymphocyte antigen, HLA) 表达, HLA I 类分子是主要的 NK 细胞抑制性受体配体^[21]. 卵巢癌细胞表面高表达 NK 细胞活化性受体 NKG2D 配体 MICA/B 和 ULBPs. 然而, 这些肿瘤细胞虽均具有激活 NK 细胞杀伤功能的潜力, 但体内环境的影响也不可忽视, 治疗效果有待验证^[22]. 另一方面, 选择更适宜的供体 NK 细胞用于治疗, 也是提高肿瘤治疗效果的有效途径. 目前基于 NK 细胞表面杀伤免疫球蛋白样受体 (killer immunoglobulin-like receptor, KIR) 及其配体的基因分型配对模式, 是常用的供体选择模式^[23]. 然而, 选择模式参数越多, 限制越大, 可供选择的供体数量越少, 不利于临床大规模应用. 因此, 供体选择的主要参数制定是 NK 细胞治疗广泛应用的又一挑战. 此外, 优化临床治疗方案, 也是提高 NK 细胞治疗效果的途径. 常规肿瘤治疗方法, 包括放疗和化疗, 一方面可降低肿瘤负荷, 另一方面可为回输 NK 细胞提供增殖空间. 而且, 研究表明放化疗可上调肿瘤细胞表面 NK 细胞活化性受体配体的表达, 提高肿瘤细胞的敏感性, 进一步提高 NK 细胞治疗缓解率^[24]. 新兴的肿瘤免疫治疗方法, 包括 T 细胞治疗、免疫检验点治疗, 理论上与 NK 细胞治疗互有优势, 可互补增效, 也是免疫治疗的希望所在. 然而, 联合治疗的方案, 包括桥接时间、频率等都仍有待大量临床研究探索.

NK 细胞治疗的临床大规模应用还面临 NK 细胞体外生产工艺的技术挑战. 由于 NK 细胞体外扩增工艺相对复杂, 生产工艺的简化是大规模应用的首要条件. 基于饲养细胞的扩增活化工艺, NK 细胞扩增倍数较高 (数千至数万倍), 纯度也可达到约 90%; 但饲养细胞的存在使得临床应用风险增加, 同时需更多的产品检定步骤^[25-26]. 基于细胞因子、抗体

等的无饲养细胞扩增体系, NK 细胞扩增倍数可达数千倍, 纯度可达约 70%, 避免了使用饲养细胞的风险^[27]; 但该生产工艺仍然存在显著的个体差异, 包括细胞活化、体内存留时间等. 因此, 探索 NK 细胞纯度、数量、产品稳定性、安全性、工艺可操作性俱佳的 NK 细胞生产工艺仍是人们面临的挑战.

3 结论与展望

NK 细胞由于发现较晚, 体外培养扩增工艺复杂, 因此其开发应用虽已取得显著进展, 然而仍远落后于 T 细胞; 但其作为天然杀伤细胞, 具有无需预先致敏、快速杀伤及泛特异性广谱抗肿瘤细胞等特点, 在肿瘤免疫治疗领域具有独特的优势. 随着包括细胞制备技术的突破、免疫检验点抑制剂及双/多特异性抗体等药物的开发和应用, 以 NK 为靶向的免疫治疗必将推动抗肿瘤免疫疗法走向另一个高峰.

参考文献 (References)

- [1] ZITVOGEL L, KROEMER G. Targeting PD-1/PD-L1 interactions for cancer immunotherapy [J]. *OncoImmunology*, 2012, 1(8):1223-1225.
- [2] BRUDNO J N, KOCHENDERFER J N. Chimeric antigen receptor T-cell therapies for lymphoma [J]. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 2018, 15 (1): 31-46.
- [3] HERBERMAN R B, NUNN M E, LAVRIN D H. Natural cytotoxic reactivity of mouse lymphoid-cells against syngeneic and allogeneic tumors .1. Distribution of reactivity and specificity [J]. *International Journal of Cancer*, 1975, 16(2):216-229.
- [4] VIVIER E, TOMASELLO E, BARATIN M, et al. Functions of natural killer cells [J]. *Nature Immunology*, 2008, 9(5):503-510.
- [5] WANG X, RIVIERE I. Clinical manufacturing of CAR T cells: Foundation of a promising therapy [J]. *Molecular Therapy Oncolytics*, 2016, 3:16015.
- [6] ARABI F, TORABI-RAHVAR M, SHARIATI A, et al. Antigenic targets of CAR T Cell Therapy. A retrospective view on clinical trials [J]. *Experimental Cell Research*, 2018, 369(1):1-10.
- [7] PARKHURST M R, RILEY J P, DUDLEY M E, et al. Adoptive transfer of autologous natural killer cells leads to high levels of circulating natural killer cells but does not mediate tumor regression [J]. *Clinical Cancer Research*, 2011, 17(19):6287-6297.
- [8] CHABANNON C, MFARREJ B, GUIA S, et al. Manufacturing natural killer cells as medicinal products

- [J]. *Frontiers in Immunology*, 2016, 7:504.
- [9] KOEPESELL S A, MILLER J S, MCKENNA JR D H. Natural killer cells: A review of manufacturing and clinical utility[J]. *Transfusion*, 2013, 53(2):404-410.
- [10] SCONOCCHIA G, TITUS J A, MAZZONI A, et al. CD38 triggers cytotoxic responses in activated human natural killer cells[J]. *Blood*, 1999 94:3864-3871.
- [11] GODING S R, YU S, BAILEY L M, et al. Adoptive transfer of natural killer cells promotes the anti-tumor efficacy of T cells[J]. *Clinical Immunology*, 2017, 177:76-86.
- [12] KELLY J M, DARCY P K, MARKBY J L, et al. Induction of tumor-specific T cell memory by NK cell-mediated tumor rejection[J]. *Nature Immunology*, 2002, 3(1):83-90.
- [13] DELLA CHIESA M, PESCE S, MUCCIO L, et al. Features of memory-Like and PD-1(+) human NK cell subsets[J]. *Frontiers in Immunology*, 2016, 7:351.
- [14] OVERACRE-DELGOFFE A E, CHIKINA M, DADEY R E, et al. Interferon- γ drives T_{reg} fragility to promote anti-tumor immunity[J]. *Cell*, 2017, 169(6): 1130-1141.
- [15] FANG F, XIAO W, TIAN Z. NK cell-based immunotherapy for cancer [J]. *Seminars in immunology*, 2017, 31:37-54.
- [16] VIVIER E, UGOLINI S, BLAISE D, et al. Targeting natural killer cells and natural killer T cells in cancer [J]. *Nature Reviews Immunology*, 2012, 12(4): 239-252.
- [17] CAROTTA S. Targeting NK cells for anticancer immunotherapy: Clinical and preclinical approaches[J]. *Frontiers in immunology*, 2016, 7:152.
- [18] MILLER J S, SOIGNIER Y, PANOSKALTSIS-MORTARI A, et al. Successful adoptive transfer and in vivo expansion of human haploidentical NK cells in patients with cancer [J]. *Blood*, 2005, 105(8): 3051-3057.
- [19] LI R, WANG C, LIU L, et al. Autologous cytokine-induced killer cell immunotherapy in lung cancer: a phase II clinical study [J]. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 2012, 61(11):2125-2133.
- [20] BOTTINO C, DONDERO A, BELLORA F, et al. Natural killer cells and neuroblastoma: Tumor recognition, escape mechanisms, and possible novel immunotherapeutic approaches [J]. *Frontiers in immunology*, 2014, 5:56.
- [21] PIETRA G, MANZINI C, RIVARA S, et al. Melanoma cells inhibit natural killer cell function by modulating the expression of activating receptors and cytolytic activity[J]. *Cancer Research*, 2012, 72(6): 1407-1415.
- [22] GELLER M A, COOLEY S, JUDSON P L, et al. A phase II study of allogeneic natural killer cell therapy to treat patients with recurrent ovarian and breast cancer [J]. *Cytotherapy*, 2011, 13(1):98-107.
- [23] WANG W, ERBE A K, DESANTES K B, et al. Donor selection for ex vivo-expanded natural killer cells as adoptive cancer immunotherapy [J]. *Future Oncology*, 2017, 13(12):1043-1047.
- [24] AMES E, CANTER R J, GROSSENBACHER S K, et al. Enhanced targeting of stem-like solid tumor cells with radiation and natural killer cells [J]. *OncImmunology*, 2015, 4(9):e1036212.
- [25] KNORR D A, NI Z, HERMANSON D, et al. Clinical-scale derivation of natural killer cells from human pluripotent stem cells for cancer therapy[J]. *Stem Cells Translational Medicine*, 2013, 2(4):274-283.
- [26] HERMANSON D L, BENDZICK L, PRIBYL L, et al. Induced pluripotent stem cell-derived natural killer cells for treatment of ovarian cancer[J]. *Stem Cells*, 2016, 34(1):93-101.
- [27] GRANZIN M, WAGNER J, KOHL U, et al. Shaping of natural killer cell antitumor activity by ex vivo cultivation[J]. *Frontiers in immunology*, 2017, 8:458.