

## 综述

## NK细胞体外扩增的影响因素及临床应用

刘金影<sup>1</sup>, 庞晶晶<sup>2</sup>, 高旭<sup>2</sup>, 寇佳媛<sup>2\*</sup>, 张艳芬<sup>1\*</sup><sup>1</sup>哈尔滨医科大学附属第二医院检验科, 哈尔滨 150081;<sup>2</sup>哈尔滨医科大学基础医学院生物化学与分子生物学教研室, 哈尔滨 150081)

**摘要:** 随着免疫学及分子生物学技术的发展, 以细胞为主体的(如T细胞、NK细胞等)生物疗法在肿瘤过继性细胞免疫治疗中显示出巨大的潜能。与T细胞疗法相比, NK细胞无需激活即可完成杀伤, 具有快速释放炎性细胞因子和杀死靶细胞的能力, 因此近年来受到格外关注。但人体内NK细胞的数量、纯度和活性无法满足科研及临床应用的需要, 阻碍了以NK细胞为基础的多种应用的发展, 故有必要在体外对NK细胞进行有效扩增。本文从NK细胞体外扩增的影响因素及其临床应用两方面进行综述。

**关键词:** NK细胞; 体外扩增; 临床应用

## The influencing factors and clinical applications of NK cell expansion *in vitro*

LIU Jinying<sup>1</sup>, PANG Jingjing<sup>2</sup>, GAO Xu<sup>2</sup>, KOU Jiayuan<sup>2\*</sup>, ZHANG Yanfen<sup>1\*</sup><sup>1</sup>Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150081, China;<sup>2</sup>Department of Biochemistry and Molecular Biology, Basic Medical College,  
Harbin Medical University, Harbin 150081, China)

**Abstract:** With the development of immunology and molecular biology technology, cell based therapies (such as T cells, NK cells, etc.) have shown great potential in adoptive cell immunotherapy for tumors. Compared with T cell therapy, NK cells can complete killing without activation and have the ability to quickly release inflammatory cytokines and kill target cells, thus receiving special attention in recent years. However, the number, purity, and activity of NK cells in the human body cannot meet the needs of scientific research and clinical applications, which hinders the development of various applications based on NK cells. Therefore, it is necessary to effectively expand NK cells *in vitro*. This paper reviews the influencing factors and clinical applications of NK cell expansion *in vitro*.

**Key Words:** NK cells; *in vitro* amplification; clinical application

随着分子生物学技术的发展, 细胞免疫治疗在肿瘤治疗中发挥着越来越重要的作用, 是肿瘤的主要治疗模式之一。NK细胞疗法因其较T细胞疗

法具有更多的优势, 在过继性细胞免疫治疗中具有巨大的临床需求。由于NK细胞在外周血中的占比较低, 无法满足临床及科研需求, 需通过体外

收稿日期: 2023-10-30

基金项目: 哈尔滨医科大学附属第二医院中青年创新科学研究基金项目(KYCX2019-14); 国家自然科学基金项目(82300511); 2022年度黑龙江省留学回国人员择优资助项目

第一作者: E-mail: liujinying1027@163.com

\*通信作者: 张艳芬, E-mail: 460205012@qq.com; 寇佳媛, E-mail: jjiayankou1992@outlook.com

扩增的方法来获得足够数量的高纯度NK细胞,该领域研究也将加速推进NK细胞过继性免疫治疗的顺利开展。虽然对影响NK细胞增殖活化的因素如何进行选择和优化,以达到最佳扩增效果,目前尚无一致结论,但国内外研究者正在从多角度对扩增方法进行探索<sup>[1-9]</sup>。本文对影响NK细胞体外扩增的因素和NK细胞在临床中的应用进行归纳总结。

## 1 NK细胞简介

人体免疫系统包含3种淋巴细胞,分别为T细胞、B细胞以及NK细胞<sup>[10]</sup>,NK细胞是由瑞典免疫学家Kiessling等<sup>[11]</sup>于1975年发现的一类大颗粒淋巴细胞,由骨髓CD34<sup>+</sup>造血干细胞分化而来。通常,NK细胞被定义为CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup>淋巴细胞<sup>[12]</sup>,约占外周血淋巴细胞的10%~15%<sup>[13]</sup>,参与天然免疫和适应性免疫。与T细胞和B细胞的抗肿瘤效应不同之处在于,NK细胞无需抗原提前致敏,也不受主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC)限制<sup>[14]</sup>,可以在体内、体外达到直接杀伤的效果<sup>[15]</sup>。

根据细胞表面CD56的表达情况,可将NK细胞分为高表达CD56(CD56<sup>bright</sup>)的NK细胞和低表达CD56(CD56<sup>dim</sup>)的NK细胞。CD56<sup>bright</sup> NK细胞约占10%,主要存在于淋巴器官中,可产生大量的细胞因子,如肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor  $\alpha$ ,

TNF- $\alpha$ )、干扰素- $\gamma$ (interferon  $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )、白细胞介素-12(interleukin 12, IL-12)、IL-15、IL-18、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulo cyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)等<sup>[16]</sup>; CD56<sup>dim</sup> NK细胞几乎都表达IL-2R $\alpha$ (CD25),不表达或极少表达Fc $\gamma$ R III(CD16),主要起免疫调节作用,杀伤能力较弱<sup>[17]</sup>。CD56<sup>dim</sup> NK细胞占90%以上,主要存在于外周血中,可释放穿孔素和颗粒酶<sup>[13]</sup>,其可通过表面高表达的CD16,经由抗体依赖细胞介导的细胞毒作用(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)发挥抗肿瘤效应<sup>[16]</sup>。NK细胞通过其表面受体间整合的信号来调控细胞激活/抑制状态<sup>[18]</sup>,根据功能,其表面受体可分为活化型受体和抑制型受体,具体见表1。

## 2 NK细胞体外扩增的影响因素

### 2.1 NK细胞来源对其扩增的影响

NK细胞的来源对后续体外扩增效率的影响较大,包括人外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)、脐带血(umbilical cord blood, UCB)和NK-92细胞系等,具体见表2。

### 2.2 细胞因子对NK细胞体外扩增的影响

在培养体系中,添加不同细胞因子对体外NK细胞的增殖、活化及细胞毒性均有重要影响,单一细胞因子对NK细胞的扩增效果有限,联合应用已成为目前扩增的主要方式<sup>[10,17]</sup>,具体见表3。

表1 NK细胞的受体类型

| 分类    | 代表受体                                                                                |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| 活化型受体 | 杀伤细胞免疫球蛋白样受体(killer cell immunoglobulin like receptor, KIR)                         |
|       | 自然细胞毒性受体(natural cytotoxicity receptors, NCR)家族,如NKp30、NKp44、NKp46                  |
|       | 自然杀伤细胞2族成员C(natural killer group 2 member C, NKG2C)异源二聚体                            |
|       | C型凝集素受体(C-type lectin receptors, CLRs),如NKG2D                                       |
|       | 淋巴细胞活化信号分子(signaling lymphocytic activation molecule, SLAM)家族受体,如SLAMF6、SLAMF7、2B4  |
|       | UL-16结合蛋白(UL16 binding protein, ULBP)受体                                             |
|       | CD16受体                                                                              |
| 抑制型受体 | DNAX辅助分子-1(DNAX-accessory molecular-1, DNAM1)受体等                                    |
|       | KIR                                                                                 |
|       | 程序性死亡受体1(programmed cell death protein 1, PD-1)                                     |
|       | 含免疫球蛋白和免疫受体酪氨酸抑制模体结构域T细胞免疫受体(T cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains, TIGIT) |
|       | T细胞免疫球蛋白和黏蛋白结构域3(T cell immunoglobulin and mucin domain 3, TIM-3)                   |
|       | 人淋巴细胞激活基因3(lymphocyte-activation gene 3, LAG3)受体等                                   |

表2 体外扩增NK细胞的主要来源

| 来源        | 扩增实例                                                                                                 | 其他特点                                                                                    | 参考文献       |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| PBMC      | (1)在GMP条件下扩增PBMC来源的NK细胞, 其对自体<br>和异体肿瘤杀伤效果强<br>(2)将PBMC在体外培养14 d后, NK细胞中位纯度可达<br>96%                 | 易收集; 易体外扩增; NK细胞在PBMC中占比10%~15%                                                         | [19,20]    |
| UCB       | 将脐带血单个核细胞与aAPC共培养, 并外源补充IL-<br>2, 每7 d进行一次CD3 <sup>+</sup> 细胞的消耗, 可在2周内使UCB-<br>NK细胞扩增3 000倍, 纯度≥95% | NK细胞在UCB中的占比略高于在PBMC中的占比; 具<br>有更低的免疫原性                                                 | [21,22]    |
| 细胞系(株)    | NK-92细胞在体外培养15~17 d,平均可扩增200倍, 存活<br>率≥80%, 且对肿瘤患者有治疗效果                                              | NK-92细胞系是美国FDA唯一批准可进行临床研究的<br>NK细胞系, 是现临床研究中使用的主要细胞系; 治疗<br>前需进行辐照阻断其增殖; 治疗效果有限         | [12,4]     |
| hESC及iPSC | 使用经过辐照的aAPC进行iPSC-NK细胞的扩增, 3周可<br>扩增10 <sup>5</sup> ~10 <sup>6</sup> 倍                               | 免疫排斥风险较低; FT516是首个获得FDA批准进行<br>临床试验的基因工程iPSC衍生NK细胞的治疗产品;<br>FT538, 已被FDA批准作为Ⅰ期临床试验的研究新药 | [12,23-25] |

aAPC: 人工抗原呈递细胞(artificial antigen presenting cells); hESC: 人胚胎干细胞(human embryonic stem cell); iPSC: 诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cell)

表3 联合应用细胞因子对NK细胞扩增的影响

| 细胞因子                       | 扩增实例                                                                                                                                                                                                          | 参考文献    |
|----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| IL-2+IL-15                 | (1)用IL-2和IL-15联合培养乳腺癌患者外周血PBMC, 扩增15 d后, NK细胞数量为扩增前的(89.60±57.17)倍;<br>(2)用IL-2或IL-2+IL-15刺激从脐带血中分离出的NK细胞, 3 d后, 应用IL-2+IL-15的NK细胞扩增倍数和细胞毒<br>性均优于单独使用IL-2的NK细胞                                               | [26,27] |
| IL-18+IL-15                | 有研究发现单独使用IL-18时, 无法维持B6.RAG <sup>-/-</sup> 脾NK细胞的存活, 但将IL-18联合低浓度IL-15时, 可以使<br>B6.RAG <sup>-/-</sup> 脾NK细胞数量增加, 且较单独应用IL-15时增加更显著, 表明IL-18与IL-15具有协同刺激NK细胞增<br>殖的作用                                          | [28]    |
| IL-2+IL-18                 | 在单独使用IL-2刺激人外周血NK细胞时, 细胞从第5~6天开始增殖,10 d内增加约10倍, 但当IL-2与IL-18联合<br>时, 细胞从第4天就开始剧烈增殖, 第10天平均扩增56倍                                                                                                               | [29]    |
| IL-2+IL-12+IL-<br>15+IL-18 | 有研究评估了不同细胞因子组合对NK细胞扩增的影响, 体外培养17 d后, IL-2+IL-12+IL-15+IL-18组扩增的<br>NK细胞数量超1 000倍, 明显高于对照组和IL-2+IL-15组                                                                                                         | [30]    |
| IL-15+IL-21                | 通过收集CD56 <sup>+</sup> 细胞或去除CD3/CD19 <sup>+</sup> 细胞的方法从PBMCs中分离NK细胞, 并使用不同的细胞因子组合(如<br>IL-2、IL-15和/或IL-21)来进行NK细胞的扩增。结果表明, 离体培养15 d后, 协同使用IL-15+IL-21的细胞因子<br>组合所扩增的NK细胞增殖速度更快, 纯度可达90%以上, 细胞毒性更强             | [31]    |
| IL-2+IL-15+<br>SCF         | 在体外用IL-2、SCF和IL-15的不同组合扩增NK细胞, 18 d后, IL-2+IL-15+SCF组扩增的倍数最高, IL-2+IL-<br>15组和IL-2+IL-15+SCF组在效靶比10:1时杀伤活性均>90%, IL-2的浓度对NK细胞扩增倍数无显著性影响<br>( <i>P</i> >0.05), 但高浓度IL-2组对K562细胞的杀伤率明显高于低、中浓度组( <i>P</i> <0.05) | [32]    |

SCF: 干细胞因子(stem cell factor)

## 2.3 饲养细胞对NK细胞扩增的影响

饲养细胞是不分裂、不增殖, 但仍保持代谢活性的细胞, 通过在其表面表达一些配体或分泌细胞因子来促进其他免疫活性细胞的增殖<sup>[33]</sup>。在体外扩增NK细胞时, 加入饲养细胞可明显提高扩增效率, 机制可能与细胞间相互作用或分泌特殊生长因子有关<sup>[17]</sup>。主要的饲养细胞包括基因修饰的K562细胞、经照射或丝裂霉素C处理的单个核细胞、树突状细胞、自体PBMC等。

### 2.3.1 基因修饰的K562细胞

K562细胞是一种慢性髓系白血病细胞, 呈悬浮生长, 倍增时间为30~40 h。K562细胞不表达内源性HLA I类、II类或CD1d分子, 但能够表达形

成有效免疫突触所需的ICAM-1(CD54)和LFA-3(CD58)等黏附分子; 还可分泌巨噬细胞集落刺激因子、IL-6、IL-8、转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β)以及巨噬细胞炎性蛋白1α<sup>[34]</sup>。K562细胞可以很容易地进行基因操作, 且基因修饰较为稳定<sup>[35]</sup>。

基于以上特点, K562细胞作为骨架细胞被广泛应用于aAPC的制备, 通过基因修饰, 在K562细胞中表达适当的人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)分子、共刺激分子或细胞因子, 将其改造成理想的aAPC用于过继性免疫治疗。Fernández等<sup>[36]</sup>将PBMC与K562-mbIL15-41BBL细胞在补充有5%人AB血清和IL-2的NK MACS培养

基中共培养21 d后, NK细胞可扩增( $903 \pm 576.3$ )倍, 纯度为( $91.75 \pm 1.82$ )%。但由于K562细胞是白血病细胞, 可以导致移植物抗宿主反应(*graft versus host disease*, GVHD)或感染等不良反应<sup>[1]</sup>, 故在回输患者体内之前要进行辐照, 目前认为使用 $\gamma$ 射线对K562细胞进行辐照是使其停止分裂和阻断增殖的最有效方法。也有研究比较了X射线和 $\gamma$ 射线对K562细胞辐照的效果, 结果表明, X射线也可以替代 $\gamma$ 射线来灭活K562细胞<sup>[37]</sup>。

### 2.3.2 经照射或丝裂霉素C处理的单个核细胞

丝裂霉素C(mitomycin C, MMC)是一种广谱的抗肿瘤药物。有研究将30 Gy、50 Gy和70 Gy  $\gamma$ 射线照射后的同种异体外周血单个核细胞(allogeneic PB-MNCs, AlloMNCs)作为饲养细胞, 与健康供者PBMCs共培养来扩增NK细胞。结果发现, 30 Gy  $\gamma$ 射线照射后的AlloMNCs扩增NK细胞的增殖倍数最高, 21 d可扩增约270倍, 纯度由培养前的( $9.7 \pm 2.4$ )%提高到( $56.5 \pm 7.8$ )%, 是一种简单有效的扩增NK细胞的方法<sup>[38]</sup>。

### 2.3.3 树突状细胞

近年来, 树突状细胞(dendritic cells, DC)与NK细胞之间的相互作用受到很多学者关注, 以DC作为饲养细胞的研究也相继开展。有研究用SCGM培养基联合rhIL-2在体外扩增NK细胞, 10 d后, 将自体DC与NK细胞按5:1(5:1组)和1:1(1:1组)比例进行混合后继续培养, 在第14天, 5:1、1:1组和对照组分别扩增约29倍、21倍和16倍, 并且5:1组的CD3<sup>+</sup>CD56/16<sup>+</sup>表达率、对K562细胞的杀伤率以及上清液中TNF- $\alpha$ 和IL-12p70的含量均高于1:1组和对照组, 差别有统计学意义<sup>[39]</sup>, 表明DC可以以比例依赖的方式扩增NK细胞, 但也存在扩增倍数较低的缺点。

### 2.3.4 自体PBMC

自体PBMC不会引起GVHD, 安全性较高。Ahn等<sup>[40]</sup>使用MACS系统从外周血PBMC中纯化NK细胞, 并对保留在MACS过程中的非NK细胞进行辐照(2000 cGy), 将其作为自体饲养细胞与NK细胞共培养, 并外源补充rhIL-2(1 000 U/mL)和OKT 3(10 ng/mL)。结果显示, NK细胞在第16~18 d, 平均可扩增2 515倍, 这是在不使用癌细胞或其他转基因饲养细胞的情况下获得NK细胞的一种

方法。

## 2.4 其他因素

### 2.4.1 培养基

在较高级别的培养中, 培养基的选择至关重要。Fernández等<sup>[36]</sup>比较了四种不同的GMP级生长培养基(RPMI、SCGM、TexMACS和NK MACS), 发现TexMACS和NK MACS培养基扩增的NK细胞纯度最高、污染率最低, 表明这两种培养基是扩增GMP级NK细胞的首选生长培养基, 这与Kl $\delta$ B等<sup>[41]</sup>的研究结果相似: 在X-VIVO-10、SCGM和TexMACS相比时, NK MACS是最好的培养基。

### 2.4.2 药物

有研究将达沙替尼(酪氨酸激酶抑制剂)应用到扩增NK细胞中, 发现浓度为5~50 nmol/L的达沙替尼能够在体外增加NK细胞的扩增效率, 并且在20 nmol/L时对K562细胞的细胞毒作用强于对照组<sup>[42]</sup>。细胞因子组合在体外扩增NK细胞的总体扩增倍数仍不够理想。有报道, 将未纯化的PBMCs NK细胞在添加了700 U/mL IL-2、0.01 KE/mL OK432(被青霉素杀死的低毒化脓性链球菌冻干制剂)和抗CD16抗体的培养基中培养21 d, NK细胞平均可扩增637.5倍, 纯度为 $84.3 \pm 14.9\%$ <sup>[43,44]</sup>, 此方法的扩增效率要优于细胞因子组合<sup>[45]</sup>, 但应用较少。

### 2.4.3 基因修饰

通过对PBMC-NK细胞进行基因改造, 可以增加其体外扩增时间和扩增倍数。Fujisaki等<sup>[46]</sup>研究发现, 将影响PBMC-NK细胞扩增时间的编码人类端粒酶逆转录酶的基因*TERT*转导至已扩增7 d的PBMC-NK细胞中, 可以使NK细胞恢复增殖, 并在体外持续扩增达150周。另一项研究中, 用诱导型MyD88/CD40(iMC)修饰NK细胞, 并与aAPC共培养扩增8 d, 结果显示, 修饰组NK细胞扩增的数量是未修饰组的3倍, 并且在扩增过程中, 若添加一种可以激活iMC的小分子试剂rimiducid(Rim), iMC-NK细胞的数量可再增加2倍<sup>[47]</sup>。

### 2.4.4 生物反应器

传统的、大规模的生产NK细胞过程中, 需要经常补充新鲜培养基、细胞因子和生长因子来维持NK细胞的持续扩增, 这也增加了污染的风险。Milenyi Biotec发明了一种全自动细胞处理平台——

CliniMACS Prodigy, 在GMP条件下结合了细胞分选、细胞离心、洗涤和细胞培养等功能, 已应用于CAR-T细胞的生产制造。据报道, 该系统与Xuri W25设备(GE Healthcare)联合使用能够更有效地生产NK细胞, 且更符合GMP标准<sup>[48]</sup>。Arai等<sup>[4]</sup>用一种封闭的培养系统, 从UCB CD34<sup>+</sup>细胞中扩增NK细胞, 6周时间可扩增超2 000倍, 纯度 $\geq 90\%$ 。此外, 荷兰公司Glycostem Therapeutics在Spanholtz团队开发系统的基础上, 使用全自动CliniMACS Prodigy设备筛选新鲜UCB CD34<sup>+</sup>细胞, 并在Xuri生物反应器中使其进一步分化为成熟NK细胞。结果显示, 40 d内, NK细胞可扩增2 000~3 000倍<sup>[49]</sup>。除了Miltenyi Biotec CliniMACS Prodigy设备外, 还有其他特殊的培养平台, 如Zellwerk ZRP平台也是可用的<sup>[50]</sup>。

### 3 NK细胞的临床应用

#### 3.1 NK细胞的过继性免疫治疗

自体NK细胞的过继性免疫治疗在临床中应用较为广泛, 包括血液系统肿瘤和实体瘤。经验证, 该疗法输注耐受性良好<sup>[51,52]</sup>。一项通过在体外使用修饰的FN-CH296(重组人纤维连接蛋白片段)、IL-2和OK-432扩增出的NK细胞, 来治疗晚期消化道癌症患者的I期临床试验显示, NK细胞对机体无毒副作用, 在最后一次NK细胞输注4周后, 外周血细胞毒性有近2倍的升高<sup>[53]</sup>。但在自体NK细胞过继治疗神经胶质瘤患者的研究中, 仅有部分患者获得部分缓解。一些转移癌和复发性肿瘤患者没有明显的临床疗效<sup>[54-56]</sup>。

近年来也进行了大量同种异体NK细胞过继性免疫治疗的探索。由于NK细胞表面的KIR会阻止其杀伤表达有自身MHC-I类分子的肿瘤细胞, 所以对于HLA配型不符合的患者, 以HLA半相合的造血干细胞作为NK细胞的来源是较为理想的选择。在探索HLA半相合造血干细胞移植后进行同种异体NK细胞过继治疗的血液系统肿瘤中, 发现输注同种异体半相合NK细胞时, 并没有发生GVHD<sup>[57,58]</sup>。Miller等<sup>[59]</sup>对19例急性髓细胞性白血病患者注射HLA半相合的NK细胞和IL-2, 其中5例可获得完全缓解, 并发现KIR-HLA不相合的NK细胞具有更强的杀瘤作用, 且不发生GVHD。多种临

床研究结果均显示, NK细胞的过继免疫疗法是针对癌症/肿瘤的一种可行性较强的治疗方法。

#### 3.2 嵌合抗原受体NK细胞治疗

目前, 嵌合抗原受体NK细胞(chimeric antigen receptor NK cells, CAR-NK)疗法已对复发或难治性CD19表达阳性的癌症患者<sup>[60]</sup>、Delta样配体3过表达的小细胞肺癌患者<sup>[61]</sup>和核磷蛋白1突变的复发和难治性急性髓细胞白血病患者<sup>[62]</sup>表现出很好的杀伤效果, 且已陆续进入I/II期临床试验。表达NK细胞活化型受体NKG2D的CAR-NK细胞疗法已成功建立<sup>[63]</sup>, 其他的NK细胞活化型受体也是CAR-NK细胞疗法的潜在靶标。

与CAR-T细胞相比, CAR-NK细胞具有很多优势, 如NK细胞来源广泛, 可以从PBMC、UCB、iPSC等细胞中获得; 在体外分离和扩增较为容易; 具备更多的肿瘤杀伤途径, 如执行细胞脱粒、激活细胞凋亡和介导ADCC作用<sup>[64]</sup>; 寿命比T细胞短, 因此无需引入自杀基因来阻断其扩增<sup>[65]</sup>; 不会产生CAR-T细胞疗法易造成的细胞因子风暴<sup>[66,67]</sup>, 具有更好的安全性; 工程化的CAR-NK细胞可以靶向多种抗原, 通过逆转抑制性肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME), 实现有效的抗肿瘤作用<sup>[68]</sup>。

#### 3.3 靶向NK细胞免疫检查点的抗体疗法

免疫检查点与其配体的结合是NK细胞耗竭的主要原因, 阻断免疫检查点有助于恢复TME中NK细胞的抗肿瘤活性<sup>[69]</sup>。目前发现的主要的几种NK细胞免疫检查点见表4。

对于NK细胞在临床中的应用, 将通过联合抗体药物<sup>[82,83]</sup>、细胞因子<sup>[84,85]</sup>和或放/化疗<sup>[86]</sup>等方法, 进一步提高其抗肿瘤效果。

### 4 总结与展望

虽然目前基于T细胞的免疫疗法已经成功应用于多种疾病, 但与T细胞相比, NK细胞也显示出一定的优势, 如NK细胞启动杀伤作用的时间较T细胞短, 途径较T细胞多, 针对大多数的放化疗药物, NK细胞具有一定的抵抗力, 分组较T细胞简单, 分泌的细胞因子也不如T细胞分泌的丰富, 这反而降低了发生细胞因子释放综合征的风险, 使得以NK细胞为主的免疫治疗成为更安全的治疗

表 4 NK细胞免疫检查点

| 免疫检查点        | 简介                                                                                                     | 抗体药物及效果                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 参考文献    |
|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| NKG2A        | 又称CD159, 是NKG2家族的抑制性成员, 表达于CD56 <sup>bright</sup> NK细胞、自然杀伤T细胞和CD8 <sup>+</sup> $\alpha$ $\beta$ T细胞亚群 | 莫那珠单抗(Monalizumab)是一种人源化IgG4单克隆抗体;<br>(1)可增加NKG2A <sup>+</sup> NK细胞对HLA-E <sup>+</sup> 头颈部鳞状细胞癌细胞系的脱颗粒作用及IFN- $\gamma$ 的产生;<br>(2)与抗PD-1/程序性死亡配体1(programmed death ligand 1, PD-L1)抗体度伐单抗(Durvalumab)联合, 可通过促进效应T细胞免疫应答, 增强NK细胞的ADCC作用来治疗头颈癌                                                                                                                                                       | [70-72] |
| TIM-3        | 是TIM家族的成员, 表达于T细胞、Treg细胞、NK细胞及DC等细胞表面                                                                  | 萨巴托利单抗(Sabatolimab)是人源化IgG4k单克隆抗体, 可增强晚期黑色素瘤和肺腺癌患者NK细胞的细胞毒性, 促进IFN- $\gamma$ 的产生                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | [73]    |
| TIGIT        | 属于脊髓灰质炎病毒受体样蛋白家族的成员, 主要表达于人NK细胞、T细胞亚群和Treg细胞表面                                                         | 替瑞利尤单抗(Tiragolumab)是一种人源化IgG1/kappa单克隆抗体;<br>(1) TIGIT抑制剂(Clone MBSA43, mouse IgG1)和曲妥珠单抗(Trastuzumab)联用, 可通过增强NK细胞功能来增强Trastuzumab的抗乳腺癌作用;<br>(2) TIGIT抑制剂替瑞利尤单抗(Tiragolumab)与PD-1抑制剂阿替利珠单抗(Atezolizumab)联用, 可显著提高复发性或转移性非小细胞肺癌患者的客观缓解率。                                                                                                                                                          | [74,75] |
| KIR          | 包括抑制型和激活型KIR, 表达于NK细胞、T细胞亚群和自然杀伤T细胞表面, 其配体为MHC- I 类分子                                                  | IPH2101和lirilumab(IPH2102/BMS-986015)是针对NK细胞抑制性受体KIR2DL1/2/3的全人源IgG4单克隆抗体。Lacutamab(IPH4102)是抗KIR抗体的第三个成员, 是一种人源化抗KIR3DL2单克隆抗体<br>(1)IPH2101与来那度胺(Lenalidomide)联合, 能有效增强对多发性骨髓瘤患者的治疗效果;<br>(2)lirilumab在B细胞淋巴瘤中与利妥昔单抗(Rituximab)联用, 可增强NK细胞的抗肿瘤活性;<br>(3)lirilumab与抗CTLA-4单抗(Ipilimumab)联合治疗已完成针对多种进展期实体瘤的 I 期临床实验(NCT01750580);<br>(4)将Lacutamab作为单药或联合化疗来治疗T细胞淋巴瘤的一项 II 期临床试验(NCT03902184)正在进行中。 | [76-78] |
| TGF- $\beta$ | 属于转化生长因子超家族的多功能细胞因子, 由基质细胞表达                                                                           | TGF- $\beta$ 抑制剂(LY2157299)可促进NKG2D的表达和IFN- $\gamma$ 的释放, 对结直肠癌、急性髓系白血病等具有良好的治疗效果                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | [79]    |
| CD200        | 是一种免疫细胞和肿瘤细胞都会表达的糖蛋白, 通过与CD200R结合调控免疫功能                                                                | 添加CD200抗体, 可以增加NK细胞对CD200 <sup>+</sup> 细胞的溶解活性, CD107a的表达从5% $\pm$ 1%增加到11% $\pm$ 2%, 而CD200 <sup>-</sup> 细胞则没有变化19% $\pm$ 4% vs 19% $\pm$ 3%, 阻断CD200与其受体的相互作用能够很大程度上恢复急性髓系白血病患者NK的活性                                                                                                                                                                                                             | [80]    |
| CD47         | 又名整合素相关蛋白, 是一种细胞膜蛋白, 属于免疫球蛋白超家族, 几乎表达于所有正常细胞表面, 在肿瘤细胞表面高表达                                             | 抗CD47抗体(B6H12.2)可在体外增加NK细胞对急性淋巴细胞白血病细胞的凋亡作用, 产生IFN- $\gamma$ , 并增加了30%~40%的CD107a的表达                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | [81]    |

手段。

体外大规模扩增NK细胞是治疗的前提, 更是治疗的基石。从现有的临床试验效果来看, 综合免疫排斥反应和治疗效果, hESC和iPSC无疑是未来NK细胞体外扩增的首选来源。联合多种细胞因子如IL-2、IL-15、IL-18和IL-12等将大大提高其扩增效率, 考虑到经济成本及持续刺激效果, 使用共表达的人工饲养细胞无疑是更优选择。在大规模生产中, 成熟的生物反应器的使用可大大提高NK细胞扩增安全系数, 降低人工操作成本。目前已有的扩增方案仍需要不断的优化, 以期达到更快、纯度更高、杀伤作用更强的效果, 使得以NK细胞为主的免疫治疗在临床中发挥更强有力的作用。

无论是现行的针对NK细胞免疫检查点的抗体药物, 还是未来极可能应用于临床的过继性免疫治疗手段、CAR-NK, 亦或是多种有效手段联用, 均为临床治疗带来无限可能。

参考文献

[1] Spanholtz J, Preijers F, Tordoir M, et al. Clinical-grade generation of active nk cells from cord blood hematopoietic progenitor cells for immunotherapy using a closed-system culture process. *PLoS One*, 2011, 6(6): e20740

[2] Cany J, van der Waart AB, Spanholtz J, et al. Combined IL-15 and IL-12 drives the generation of CD34<sup>+</sup>-derived natural killer cells with superior maturation and alloreactivity potential following adoptive transfer. *Oncoimmunology*, 2015, 4(7): e1017701

[3] Vasu S, Berg M, Davidson-Moncada J, et al. A novel method to expand large numbers of CD56<sup>+</sup> natural killer cells from a minute fraction of selectively accessed

- cryopreserved cord blood for immunotherapy after transplantation. *Cytotherapy*, 2015, 17(11): 1582-1593
- [4] Arai S, Meagher R, Swearingen M, et al. Infusion of the allogeneic cell line NK-92 in patients with advanced renal cell cancer or melanoma: a phase I trial. *Cytotherapy*, 2008, 10(6): 625-632
- [5] Masuyama J, Murakami T, Iwamoto S, et al. *Ex vivo* expansion of natural killer cells from human peripheral blood mononuclear cells co-stimulated with anti-CD3 and anti-CD52 monoclonal antibodies. *Cytotherapy*, 2016, 18(1): 80-90
- [6] Lim O, Lee Y, Chung H, et al. GMP-compliant, large-scale expanded allogeneic natural killer cells have potent cytolytic activity against cancer cells *in vitro* and *in vivo*. *PLoS One*, 2013, 8(1): e53611
- [7] Brehm C, Huenecke S, Esser R, et al. Interleukin-2-stimulated natural killer cells are less susceptible to mycophenolate mofetil than non-activated NK cells: possible consequences for immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother*, 2014, 63(8): 821-833
- [8] Tonn T, Schwabe D, Klingemann HG, et al. Treatment of patients with advanced cancer with the natural killer cell line NK-92. *Cytotherapy*, 2013, 15(12): 1563-1570
- [9] Oyer JL, Pandey V, Igarashi RY, et al. Natural killer cells stimulated with PM21 particles expand and biodistribute *in vivo*: clinical implications for cancer treatment. *Cytotherapy*, 2016, 18(5): 653-663
- [10] 张双, 高维实. 自然杀伤细胞生物学特征及体外扩增技术研究进展. 内蒙古医学杂志, 2021, 53(9): 1081-1083
- [11] Kiessling R, Klein E, Pross H, et al. "Natural" killer cells in the mouse. II. Cytotoxic cells with specificity for mouse Moloney leukemia cells. Characteristics of the killer cell. *Eur J Immunol*, 1975, 5(2): 117-121
- [12] 唐甜, 饶巍. 自然杀伤细胞抗肿瘤免疫治疗研究进展——从实验室到临床. 中国肿瘤, 2017, 26(1): 44-52
- [13] 卜欣阳, 李维妙, 张瑞, 等. 基于自然杀伤(NK)细胞的肿瘤免疫治疗研究新进展. 细胞与分子免疫学杂志, 2023, 39(5): 463-467
- [14] 胡绍雯, 朱惠芳. NK细胞在肿瘤免疫治疗中的研究进展. 中国免疫学杂志, 2023, 39(6): 1318-1325
- [15] 钟明, 王丁丁. 自然杀伤细胞的生物学特性和肿瘤免疫治疗研究概述. 生物学教学, 2021, 46(8): 6-9
- [16] Caligiuri MA. Human natural killer cells. *Blood*, 2008, 112(3): 461-469
- [17] 潘梅萍, 何伟, 谢必峰. NK细胞体外扩增的影响因素. 药物生物技术, 2015, 22(3): 279-282
- [18] 付顺利, 刘永军, 张娜. 肿瘤免疫治疗中NK细胞的激活策略及研究进展. 生命的化学, 2021, 41(3): 444-451
- [19] Sutlu T, Stellan B, Gilljam M, et al. Clinical-grade, large-scale, feeder-free expansion of highly active human natural killer cells for adoptive immunotherapy using an automated bioreactor. *Cytotherapy*, 2010, 12(8): 1044-1055
- [20] Torelli GF, Rozera C, Santodonato L, et al. A good manufacturing practice method to *ex vivo* expand natural killer cells for clinical use. *Blood Transfus*, 2015, 13(3): 464-471
- [21] Shah N, Martin-Antonio B, Yang H, et al. Antigen presenting cell-mediated expansion of human umbilical cord blood yields log-scale expansion of natural killer cells with anti-myeloma activity. *PLoS One*, 2013, 8(10): e76781
- [22] Sarvaria A, Jawdat D, Madrigal JA, et al. Umbilical cord blood natural killer cells, their characteristics, and potential clinical applications. *Front Immunol*, 2017, 8: 329
- [23] Cichocki F, Bjordahl R, Gaidarova S, et al. iPSC-derived NK cells maintain high cytotoxicity and enhance *in vivo* tumor control in concert with T cells and anti-PD-1 therapy. *Sci Transl Med*, 2020, 12(568): eaaz5618
- [24] Bjordahl R, Zhu H, Rogers P, et al. Abstract 3191: FT516, an off-the-shelf engineered NK cell therapeutic product for universal anti-tumor targeting strategy in combination with monoclonal antibodies. *Cancer Res*, 2019, 79(13S): 3191
- [25] Rezner B, Solchaga L, Reyes L, et al. cGMP mass production of FT538, a first-of-kind, off-the-shelf, multiplexed engineered natural killer cell cancer immunotherapy derived from a clonal master induced pluripotent stem cell line. *Blood*, 2020, 136(Supplement 1): 25
- [26] 王晓梦, 于津浦, 李慧, 等. IL-2+IL-15组合培养方案对乳腺癌患者外周血中NK细胞体外扩增的效果. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2013, 20(6): 654-660
- [27] 张碧红, 吴燕峰, 岑丹阳, 等. IL-2和IL-15刺激脐血NK细胞对K562/Jurkat细胞的杀伤活性研究. 中国实验血液学杂志, 2011, 19(2): 358-362
- [28] French AR, Holroyd EB, Yang L, et al. IL-18 acts synergistically with IL-15 in stimulating natural killer cell proliferation. *Cytokine*, 2006, 35(5-6): 229-234
- [29] Senju H, Kumagai A, Nakamura Y, et al. Effect of IL -18 on the expansion and phenotype of human natural killer cells: application to cancer immunotherapy. *Int J Biol Sci*, 2018, 14(3): 331-340
- [30] 周智锋, 李洁羽, 陈明水, 等. 细胞因子组合体外扩增人NK细胞的研究. 中华肿瘤防治杂志, 2014, 21(3): 193-197
- [31] Heinze A, Grebe B, Bremm M, et al. The synergistic use of IL-15 and IL-21 for the generation of NK cells from CD3/CD19-depleted grafts improves their *ex vivo* expansion and cytotoxic potential against neuroblastoma:

- perspective for optimized immunotherapy post haploidentical stem cell transplantation. *Front Immunol*, 2019, 10: 2816
- [32] 熊丹, 杨志刚, 李庆华, 等. 高纯度CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>NK细胞体外扩增技术的研究. *中国实验血液学杂志*, 2010, 18(5): 1310-1315
- [33] Roy A, Krzykwa E, Lemieux R, et al. Increased efficiency of  $\gamma$ -irradiated versus mitomycin C-treated feeder cells for the expansion of normal human cells in long-term cultures. *J Hematother Stem Cell Res*, 2001, 10(6): 873-880
- [34] Butler MO, Lee JS, Ansen S, et al. Long-lived antitumor CD8<sup>+</sup> lymphocytes for adoptive therapy generated using an artificial antigen-presenting cell. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(6): 1857-1867
- [35] Vidard L, Dureuil C, Baudhuin J, et al. CD137 (4-1BB) engagement fine-tunes synergistic IL-15- and IL-21-driven NK cell proliferation. *J Immunol*, 2019, 203(3): 676-685
- [36] Fernández A, Navarro-Zapata A, Escudero A, et al. Optimizing the procedure to manufacture clinical-grade NK cells for adoptive immunotherapy. *Cancers*, 2021, 13(3): 577
- [37] Kim GH, Dang HN, Phan MTT, et al. X-ray as irradiation alternative for K562 feeder cell inactivation in human natural killer cell expansion. *Anticancer Res*, 2018, 38(10): 5767-5772
- [38] 马杰, 赵卫东, 周虎, 等. 辐照后的AlloMNCs诱导NK细胞体外扩增. *免疫学杂志*, 2011, 27(1): 54-57
- [39] 李娟, 赵春亭, 孟冬梅, 等. 树突状细胞对自体自然杀伤细胞体外扩增及功能的影响. *中国实验血液学杂志*, 2008, (4): 898-902
- [40] Ahn YO, Kim S, Kim TM, et al. Irradiated and activated autologous PBMCs induce expansion of highly cytotoxic human NK cells *in vitro*. *J Immunother*, 2013, 36(7): 373-381
- [41] Klöß S, Oberschmidt O, Morgan M, et al. Optimization of human NK cell manufacturing: fully automated separation, improved *ex vivo* expansion using IL-21 with autologous feeder cells, and generation of anti-CD123-CAR-expressing effector cells. *Hum Gene Ther*, 2017, 28(10): 897-913
- [42] 盛立霞, 王佳萍, 赖艳丽, 等. 达沙替尼对NK细胞的体外扩增、细胞亚群、受体表达及细胞毒功能的调节作用. *中国实验血液学杂志*, 2020, 28(5): 1762-1768
- [43] Nhung H, Anh B, Huyen T, et al. *Ex vivo* expansion of human peripheral blood natural killer cells and cytotoxic T lymphocytes from lung cancer patients. *Oncol Lett*, 2018,
- cytotoxic T lymphocytes for cancer treatment in Vietnam. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(13): 3166
- [45] Liu M, Meng Y, Zhang L, et al. High-efficient generation of natural killer cells from peripheral blood with preferable cell vitality and enhanced cytotoxicity by combination of IL-2, IL-15 and IL-18. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 534: 149-156
- [46] Fujisaki H, Kakuda H, Imai C, et al. Replicative potential of human natural killer cells. *Br J Haematol*, 2009, 145(5): 606-613
- [47] Wang X, Jasinski DL, Medina JL, et al. Inducible MyD88/CD40 synergizes with IL-15 to enhance antitumor efficacy of CAR-NK cells. *Blood Adv*, 2020, 4(9): 1950-1964
- [48] Thakkar A, Igarashi RY, Lee DA. Automated closed-system large-scale expansion of clinical-grade natural killer cells. *Cytotherapy*, 2019, 21(5): S31-S32
- [49] Veluchamy J. An off the shelf, GMP compliant, fully closed and semi-automated large-scale production system for allogeneic NK cells. *Cytotherapy*, 2020, 22(5): S161-S162
- [50] Bröker K, Sinelnikov E, Gustavus D, et al. Mass production of highly active NK cells for cancer immunotherapy in a GMP conform perfusion bioreactor. *Front Bioeng Biotechnol*, 2019, 7: 194
- [51] Krause SW, Gastpar R, Andreesen R, et al. Treatment of colon and lung cancer patients with *ex vivo* heat shock protein 70-peptide-activated, autologous natural killer cells: a clinical phase I trial. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(11): 3699-3707
- [52] Lister J, Rybka WB, Donnenberg AD, et al. Autologous peripheral blood stem cell transplantation and adoptive immunotherapy with activated natural killer cells in the immediate posttransplant period. *Clin Cancer Res*, 1995, 1(6): 607-614
- [53] Sakamoto N, Ishikawa T, Kokura S, et al. Phase I clinical trial of autologous NK cell therapy using novel expansion method in patients with advanced digestive cancer. *J Transl Med*, 2015, 13(1): 277
- [54] Parkhurst MR, Riley JP, Dudley ME, et al. Adoptive transfer of autologous natural killer cells leads to high levels of circulating natural killer cells but does not mediate tumor regression. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(19): 6287-6297
- [55] Burns LJ, Weisdorf DJ, DeFor TE, et al. IL-2-based immunotherapy after autologous transplantation for lymphoma and breast cancer induces immune activation and cytokine release: a phase I/II trial. *Bone Marrow Transplant*, 2003, 32(2): 177-186
- [56] deMagalhaes-Silverman M, Donnenberg A, Lemmersky B, et al. Posttransplant adoptive immunotherapy with activated natural killer cells in patients with metastatic breast

- cancer. *J Immunother*, 2000, 23(1): 154-160
- [57] Ruggeri L, Capanni M, Urbani E, et al. Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. *Science*, 2002, 295(5562): 2097-2100
- [58] Ruggeri L, Mancusi A, Capanni M, et al. Donor natural killer cell allorecognition of missing self in haploidentical hematopoietic transplantation for acute myeloid leukemia: challenging its predictive value. *Blood*, 2007, 110(1): 433-440
- [59] Miller JS, Soignier Y, Panoskaltsis-Mortari A, et al. Successful adoptive transfer and *in vivo* expansion of human haploidentical NK cells in patients with cancer. *Blood*, 2005, 105(8): 3051-3057
- [60] Liu E, Marin D, Banerjee P, et al. Use of CAR-transduced natural killer cells in CD19-positive lymphoid tumors. *N Engl J Med*, 2020, 382(6): 545-553
- [61] Liu M, Huang W, Guo Y, et al. CAR NK-92 cells targeting DLL3 kill effectively small cell lung cancer cells *in vitro* and *in vivo*. *J Leukoc Biol*, 2022, 112(4): 901-911
- [62] Dong H, Ham JD, Hu G, et al. Memory-like NK cells armed with a neoepitope-specific CAR exhibit potent activity against NPM1 mutated acute myeloid leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2022, 119(25): e2122379119
- [63] Chang YH, Connolly J, Shimasaki N, et al. A chimeric receptor with NKG2D specificity enhances natural killer cell activation and killing of tumor cells. *Cancer Res*, 2013, 73(6): 1777-1786
- [64] Wang L, Dou M, Ma Q, et al. Chimeric antigen receptor (CAR)-modified NK cells against cancer: opportunities and challenges. *Int Immunopharmacol*, 2019, 74: 105695
- [65] Xia J, Minamino S, Kuwabara K. CAR-expressing NK cells for cancer therapy: a new hope. *Biosci Trends*, 2020, 14(5): 354-359
- [66] Glienke W, Esser R, Priesner C, et al. Advantages and applications of CAR-expressing natural killer cells. *Front Pharmacol*, 2015, 6: 21
- [67] Hermanson DL, Kaufman DS. Utilizing chimeric antigen receptors to direct natural killer cell activity. *Front Immunol*, 2015, 6: 195
- [68] Maalej KM, Merhi M, Inchakalody VP, et al. CAR-cell therapy in the era of solid tumor treatment: current challenges and emerging therapeutic advances. *Mol Cancer*, 2023, 22(1): 20
- [69] Maskalenko NA, Zhigarev D, Campbell KS. Harnessing natural killer cells for cancer immunotherapy: dispatching the first responders. *Nat Rev Drug Discov*, 2022, 21(8): 559-577
- [70] Creelan BC, Antonia SJ. The NKG2A immune checkpoint — a new direction in cancer immunotherapy. *Nat Rev Clin Oncol*, 2019, 16(5): 277-278
- [71] Lee J, Keam B, Park HR, et al. Monalizumab efficacy correlates with HLA-E surface expression and NK cell activity in head and neck squamous carcinoma cell lines. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2023, 149(9): 5705-5715
- [72] 杨春媚, 张婷婷, 钱程, 等. NK细胞抗肿瘤机制及相关免疫疗法的研究进展. *中国药理学通报*, 2019, 35(11): 1492-1496
- [73] Gallois A, Silva I, Osman I, et al. Reversal of natural killer cell exhaustion by TIM-3 blockade. *Oncoimmunology*, 2014, 3(12): e946365
- [74] Xu F, Sunderland A, Zhou Y, et al. Blockade of CD112R and TIGIT signaling sensitizes human natural killer cell functions. *Cancer Immunol Immunother*, 2017, 66(10): 1367-1375
- [75] Yeo J, Ko M, Lee DH, et al. TIGIT/CD226 axis regulates anti-tumor immunity. *Pharmaceuticals*, 2021, 14(3): 200
- [76] Khan M, Arooj S, Wang H. NK Cell-based immune checkpoint inhibition. *Front Immunol*, 2020, 11: 167
- [77] Benson Jr DM, Bakan CE, Zhang S, et al. IPH2101, a novel anti-inhibitory KIR antibody, and lenalidomide combine to enhance the natural killer cell versus multiple myeloma effect. *Blood*, 2011, 118(24): 6387-6391
- [78] Kohrt HE, 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. *Blood*, 2014, 123(5): 678-686
- [79] Otegbeye F, Ojo E, Moreton S, et al. Inhibiting TGF-beta signaling preserves the function of highly activated, *in vitro* expanded natural killer cells in AML and colon cancer models. *PLoS One*, 2018, 13(1): e0191358
- [80] Coles SJ, Man S, Hills R, et al. Over-Expression of CD200 in acute myeloid leukemia mediates the expansion of regulatory T-lymphocytes and directly inhibits natural killer cell tumor immunity. *Blood*, 2010, 116(21): 491
- [81] Valipour B, Abedelahi A, Naderali E, et al. Cord blood stem cell derived CD16<sup>+</sup> NK cells eradicated acute lymphoblastic leukemia cells using with anti-CD47 antibody. *Life Sci*, 2020, 242: 117223
- [82] Ernst D, Williams BA, Wang XH, et al. Humanized anti-CD123 antibody facilitates NK cell antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC) of Hodgkin lymphoma targets via ARF6/PLD-1. *Blood Cancer J*, 2019, 9(2): 6
- [83] Naeimi Kararoudi M, Nagai Y, Elmas E, et al. CD38 deletion of human primary NK cells eliminates daratumumab-induced fratricide and boosts their effector activity. *Blood*, 2020, 136(21): 2416-2427
- [84] Juliá EP, Amante A, Pampena MB, et al. Avelumab, an IgG1 anti-PD-L1 immune checkpoint inhibitor, triggers NK cell-mediated cytotoxicity and cytokine production

- against triple negative breast cancer cells. [Front Immunol](#), 2018, 9: 2140
- [85] Duggan MC, Campbell AR, McMichael EL, et al. Co-stimulation of the fc receptor and interleukin-12 receptor on human natural killer cells leads to increased expression of cd25. [Oncoimmunology](#), 2018, 7(2): e1381813
- [86] Cao G, Wang J, Zheng X, et al. Tumor therapeutics work as stress inducers to enhance tumor sensitivity to natural killer (NK) cell cytotoxicity by up-regulating NKp30 ligand B7-H6. [J Biol Chem](#), 2015, 290(50): 29964-29973