

NK 细胞治疗血液系统恶性肿瘤的研究进展

王雯欣¹, 黄娟娟¹, 王振坤²综述, 曹峰林^{1△}审校(哈尔滨医科大学第一附属医院: 1. 血液内科; 2. 血液肿瘤实验室 150000)

【关键词】NK 细胞; KIR/HLA 配体错配; 血液系统恶性肿瘤

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2016. 09. 055 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2016)09-1286-03

自然杀伤细胞(NK 细胞)是存在于先天免疫系统中的大颗粒淋巴细胞,在控制病毒感染中占有重要地位^[1]。NK 细胞也是造血系统的一部分,主要起源于 CD34⁺ 造血祖细胞(HPCs)^[2]。目前 NK 细胞已被广泛应用于肿瘤临床治疗,特别是血液系统恶性肿瘤如急性白血病、多发性骨髓瘤(MM)等治疗。本文主要综述 NK 细胞治疗血液系统恶性肿瘤的研究进展。

1 NK 细胞的特点和机制

1.1 NK 细胞表型分析 NK 细胞在人外周血中主要表达 2 种细胞标志物:CD16(FcγRIIIA,免疫球蛋白 G 的 Fc 片段低亲和力受体)和 CD56(神经细胞黏附分子)^[2],因 CD56 表达密度不同,将 NK 分为 CD56^{bright} 和 CD56^{dim} 2 群^[3]。又以 CD16 和 CD56 为基础,将 NK 细胞分为 5 个亚群:CD56^{bright} CD16⁻ (CD56^{bright} 占 50%~70%)、CD56^{bright} CD16^{dim} (CD56^{bright} 占 30%~50%)、CD56^{dim} CD16⁻、CD56^{dim} CD16^{bright}、CD56⁻ CD16^{bright}。在外周血中,CD56^{dim} CD16^{bright} NK 细胞占 90%,为 NK 细胞主要亚群^[4-5]。

1.2 NK 细胞功能 NK 细胞最主要功能为细胞溶解,由不同机制介导,包括胞外分泌的细胞质颗粒穿孔素、颗粒酶以及抗体依赖细胞介导的细胞毒作用(ADCC)。其中,ADCC 可导致 NK 细胞脱颗粒,释放穿孔素、颗粒酶 B 等具有细胞毒性颗粒,杀伤靶细胞^[2]。活化 NK 细胞还可诱导释放各种细胞因子和趋化因子,主要包括干扰素 γ(INF-γ)、肿瘤坏死因子 α(TNF-α)等,发挥调节免疫和造血等作用,也可直接杀伤靶细胞。其中,以 INF-γ 最为重要,其为触发和促进众多免疫反应的核心因素^[6]。

1.3 NK 细胞识别肿瘤方式 NK 细胞表面具有多种受体,可与主要组织相容性复合物(MHC)或非 MHC 类配体相结合,从而传递抑制性或活化性信号,受体以杀伤细胞抑制受体(KIR)和 C 型凝集素为主。杀伤细胞活化受体(KAR)为 KIR 中具有激活功能的受体,虽与 KIR 细胞质区、膜区结构和功能不同,但膜外区结构几乎相同,且具有相同的 MHC-I 类分子作为配体^[7]。正常组织细胞中,KIR 与 MHC-I 类分子结合产生的抑制信号占主导地位,使 NK 细胞不会被激活,自身细胞组织不被破坏^[8]。当异常细胞表面 MHC-I 类分子发生改变、减少、缺失时,影响与 KIR 结合产生的抑制信号,KAR 作用占主导地位,使 NK 细胞活化产生杀伤效应——此为 NK 细胞“丢失自我”识别模式。

1.4 KIR/HLA 配体错配 供者 NK 细胞表面的抑制性 KIR

不能被受者人类白细胞抗原(HLA)识别,称为 KIR/HLA 配体错配^[9]。造血干细胞移植(HSCT)过程中,KIR/HLA 配体错配可能会产生同种异型反应性 NK 细胞池,作用于受者组织及肿瘤细胞^[10]。KIR 与 HLA-I 相互作用调节 NK 细胞的发育与功能,并影响非血缘造血干细胞移植结果,Cooley 等^[11]研究发现,在非血缘造血干细胞移植的急性髓细胞白血病(AML)患者中,供者 KIR B 与受者 HLA-C1、HLA-C 错配可提高临床疗效。NK 细胞过继性免疫治疗中,Miller 等^[12]采用半相合 NK 细胞联合白细胞介素-2(IL-2)治疗 19 例 AML 患者,其中 4 例供者有 KIR/HLA 配体错配,3 例获得完全缓解(CR);其余 15 例患者为非 KIR/HLA 配体错配,仅 2 例获得 CR。因此,无论是造血干细胞移植还是在 NK 细胞过继性免疫治疗,KIR/HLA 配体错配应作为首选。

2 NK 细胞在血液系统恶性肿瘤中的应用

2.1 NK 细胞在造血干细胞移植中的应用 造血干细胞移植可治愈众多血液系统疾病,例如急性白血病、慢性粒细胞白血病、再生障碍性贫血等。研究表明,造血干细胞移植过程中移入有活力的免疫细胞(如 NK 细胞),对移植患者更有益^[13]。Ruggeri 等^[13-14]研究发现,造血移植过程中,受者 I 类等位基因不阻止所有 NK 细胞时,供者将产生同种异体 NK 细胞克隆,克隆的 NK 细胞可靶向杀伤包括 AML 细胞在内的宿主细胞;临床移植和小鼠移植模型中,移植时供者与受者间 NK 细胞的同种异体反应性不仅可消除白血病复发、移植排斥,保护患者抵抗移植抗宿主病(GVHD),还可提高患者生存率;其分析 112 例高风险 AML 患者接受 HLA 半相合移植后,51 例供者有 NK 细胞同种异体反应,61 例供者无 NK 细胞同种异体反应,表明具有同种异体反应的 NK 细胞受者具有较高完全缓解率,较好无事件生存率,降低了复发和死亡风险。Benjamin 等^[15]研究发现,异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)中,特别是 HLA 配体错配供者,NK 细胞会通过抗肿瘤效应影响患者临床结果且不会发生 GVHD。然而,allo-HSCT 后由于 IL-2 低水平可能导致 NK 细胞重建发生障碍^[16]。某些研究者尝试通过消除移植中的 T 细胞受体 α 和 β 及 CD19⁺ B 细胞改善 allo-HSCT 后患者 NK 细胞的重建,使用此种方法时,可向恶性肿瘤患者输注大量半相合 NK 细胞及类似 NK 细胞的 CD56⁺ T 细胞,用以治疗疾病^[17-18]。

2.2 同种异体 NK 细胞过继性免疫治疗 自体 NK 细胞过继性免疫治疗临床效果较差,研究重心转向同种异体 NK 细胞过继性免疫治疗^[19]。2010 年,Rubnitz 等^[20]给予 10 例化疗后达

到第 1 次 CR 的儿童 AML 患者输注 KIR/HLA 配体错配的 NK 细胞和 IL-2, 中位随访时间为 964 d, 所有患者仍处于缓解期。2015 年, Rubnitz 等^[21]选取 29 例复发难治性儿童急性白血病患者, 并将其分为 2 组, 1 组为接受移植后复发难治性急性白血病患者(15 例), 另 1 组为未接受移植的复发难治性急性白血病患者(14 例), 均给予 2 组患者输注父母来源半相合 NK 细胞, 未接受移植组中 7 例患者获得 CR 或 CR 但血细胞计数未完全恢复(CRi), 3 例患者获得了部分缓解(PR); 随后 12 例患者进行造血干细胞移植, 5 例患者无病生存至今; 移植组中 7 例患者获得 CR 或 CRi 且 3 例患者获得 PR, 这 10 例患者成功接受第 2 次造血干细胞移植, 目前有 4 例患者无病生存至今, 表明同种异体 NK 细胞过继免疫治疗儿童急性白血病安全有效。Curti 等^[22]给予 13 例老年高风险 AML 患者(5 例处于疾病活动期、2 例复发、6 例形态学 CR)输注半相合 KIR 配体错配的 NK 细胞, 所有患者均未出现 NK 细胞相关毒性及 GVHD; 5 例处于疾病活动期患者中 1 例获得 CR, 2 例复发患者均获得 CR 且分别持续 9、4 个月, 6 例形态学 CR 患者中有 3 例患者无病生存期分别为 34、32、18 个月, 表明向高风险老年 AML 患者输注半相合 NK 细胞治疗可行有效。NK 细胞不仅对急性白血病具有较好临床疗效, 对其他血液系统恶性肿瘤也具有优秀治疗效果。Shi 等^[23]给予 10 例 MM 患者输注单倍体、去除 T 细胞、KIR 配体错配的 NK 细胞进行治疗, 50% 患者获得 CR。廖皓等^[24]对 14 例接受自体外周血干细胞移植(APBSCT)联合 NK 细胞过继免疫治疗的 MM 患者进行回顾性研究, 比较患者治疗前后免疫状态、生命质量和临床疗效, 最终结果显示, 治疗后患者的生命质量、细胞免疫功能和实验室疗效指标均显著优于治疗前。此外, Bachanova 等^[25]研究发现, 淋巴瘤患者使用同种异体 NK 细胞治疗后也具有临床反应, 为淋巴瘤的治疗开辟了新途径。

3 NK 细胞的扩增

3.1 NK 细胞体外扩增 NK 细胞在外周血中所占比例较少, 为了达到 NK 细胞免疫的治疗目的, 需将 NK 细胞进行体外扩增。目前, NK 细胞体外扩增方法主要以外周血单个核细胞(PBMC)为原始材料, 通过 IL-2、白细胞介素-12(IL-12)、白细胞介素-15(IL-15)、白细胞介素-18(IL-18)等细胞因子刺激, 使 NK 细胞在体外得到特异性扩增^[26]。IL-2、IL-15、白细胞介素-7(IL-7)、IL-18 均为可诱导 NK 细胞增殖的重要细胞因子, 可激活 NK 细胞, 促进 NK 细胞增殖及细胞因子产生^[27]。王晓梦等^[27]对比 IL-2+IL-15、IL-2+IL-15+IL-18、IL-2+IL-15+IL-7、IL-2+CD3 单克隆抗体(OKT3)4 组 NK 细胞体外扩增方案, 4 组方案经过体外扩增 15 d 后, 前 3 组培养方案的 NK 细胞杀伤活性显著高于第 4 组, 前 3 组间差异无统计学意义。

3.2 IL-2 体内扩增 NK 细胞治疗血液系统恶性肿瘤 IL-2 是调节机体免疫核心物质, 与其他细胞因子有协同和拮抗作用, 不仅可促进 NK 细胞增殖, 还可刺激 NK 细胞产生干扰素、肿瘤坏死因子等。有试验证明给予肿瘤患者 IL-2 治疗后, 患者血中 NK 细胞可显著增多。Miller 等^[12]给予 14 例预后不良 AML 患者输注 NK 细胞后皮下注射 IL-2, 大部分患者可耐受, 只有少数患者出现发热、中性粒细胞减少等不良反应, 其中 5 例患者获得 CR, 表明 IL-2 可在患者体内扩增 NK 细胞, 患者可耐受且安全, 为 NK 细胞治疗血液系统肿瘤提供了新方向。

4 小 结

NK 细胞在血液系统恶性肿瘤中的应用越发广泛, 不仅可用于造血干细胞移植, 还可直接给予患者进行过继性免疫治疗。根据大量临床报道显示, 其疗效显著, 但不良反应尚不明确。此外, 有研究者对 NK 细胞体内扩增进行研究, 并提供了治疗新方向。然而, 要完善 NK 细胞治疗血液系统恶性肿瘤过程, 还需不断试验与研究。相信随着研究的不断深入, NK 细胞疗法将会成为血液系统恶性肿瘤患者新希望。

参考文献

- [1] Jost S, Altfeld M. Control of human viral infections by natural killer cells[J]. Annu Rev Immunol, 2013, 31: 163-194.
- [2] Caligiuri MA. Human natural killer cells[J]. Blood, 2008, 112: 461-469.
- [3] Björkström NK, Ljunggren HG, Johansson K, et al. CD56 negative NK cells: Origin, function, and role in chronic viral disease[J]. Trends Immunol, 2010, 31: 401-406.
- [4] Poli A, Michel T, Theresine M, et al. CD56^{bright} natural killer(NK) cells: an important NK cell subset[J]. Immunology, 2009, 126(4): 458-465.
- [5] Mavilio D, Lombardo G, Benjamin J, et al. Characterization of CD56⁻CD16⁺ natural killer(NK) cells: a highly dysfunctional NK subset expanded in HIV-infected viremic individuals[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102: 2886-2891.
- [6] Kramski M, Stratov I, Kent SJ, et al. The role of HIV-specific antibody-dependent cellular cytotoxicity in HIV prevention and the influence of the HIV-1 vpu protein [J]. Aids, 2015, 29: 137-144.
- [7] 李长缨, 胡彬, 刘晓华, 等. KIR 基因的基础与应用[J]. 中国输血杂志, 2008, 21(9): 722-724.
- [8] Raulet DH, Vance RE. Self-tolerance of natural killer cells [J]. Nat Rev Immunol, 2006, 6(7): 520-531.
- [9] Rose MJ, Brooks AG, Stewart LA, et al. Killer Ig-like receptor ligand mismatch directs NK cell expansion in vitro [J]. J Immunol, 2009, 183(7): 4502-4508.
- [10] Purdy AK, Campbell KS. Natural killer cells and cancer regulation by the killer cell Ig-like receptors (KIR) [J]. Cancer Biology and Therapy, 2009, 8(23): 2209-2218.
- [11] Cooley S, Weisdorf DJ, Guethlein LA, et al. Donor killer cell Ig-like receptor B haplotypes, recipient HLA-C1, and HLA-C mismatch enhance the clinical benefit of unrelated transplantation for acute myelogenous leukemia[J]. J Immunol, 2014, 192: 4592-4600.
- [12] 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[J]. Blood, 2005, 105(8): 3051-3057.
- [13] Ruggeri L, Capanni M, Urbani E, et al. Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hem-

atopoietic transplants[J]. Science, 2002, 295: 2097-2100.

[14] Ruggeri L, Mancusi A, Urchielli E, et al. NK cell alloreactivity and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. Blood Cells Mol Dis, 2008, 40(1): 84-90.

[15] Benjamin JE, Gill S, Negrin RS, et al. Biology and clinical effects of natural killer cells in allogeneic transplantation[J]. Curr Opin Oncol, 2010, 22: 130-137.

[16] Pittari G, Fregni G, Roguet L, et al. Early evaluation of natural killer activity in post-transplant acute myeloid leukemia patients[J]. Bone Marrow Transplant, 2010, 45: 862-871.

[17] Schumm M, Lang P, Bethge W, et al. Depletion of T-cell receptor $\alpha\beta$ and CD19 positive cells from apheresis products with the Clini-MACS device[J]. Cytotherapy, 2013, 15: 1253-1258.

[18] Rutella S, Filippini P, Bertaina V, et al. Mobilization of healthy donors with plerixafor affects the cellular composition of T-cell receptor(TCR)- $\alpha\beta$ /CD19-depleted haploidentical stem cell grafts[J]. J Transl Med, 2014, 12: 240-246.

[19] 施菊妹, 邵阳, 胡晓静. 自然杀伤细胞在血液系统肿瘤治疗中的应用[J]. 上海医学, 2010, 33(9): 830-833.

[20] Rubnitz JE, Inaba H, Ribeiro RC, et al. NKAML: a pilot study to determine the safety and feasibility of haploidentical natural killer cell transplantation in childhood acute myeloid leukemia[J]. J Clin Oncol, 2010, 28: 955-959.

[21] Rubnitz JE, Inaba H, Kang G, et al. Natural killer cell

therapy in children with relapsed leukemia[J]. Pediatr Blood Cancer, 2015, 62(8): 1468-1472.

[22] Curti A, Ruggeri L, D'Addio A, et al. Successful transfer of alloreactive haploidentical KIR ligand-mismatched natural killer cells after infusion in elderly high risk acute myeloid leukemia patients[J]. Blood, 2011, 118: 3273-3279.

[23] Shi J, Tricot G, Szmania S, et al. Infusion of haplo-identical killer immunoglobulin-like receptor ligand mismatched NK cells for relapsed myeloma in the setting of autologous stem cell transplantation[J]. Br J Haematol, 2008, 143(5): 641-653.

[24] 廖皓, 孙慧, 陈青, 等. 自体干细胞移植序贯 NK 细胞治疗多发性骨髓瘤的疗效分析[J]. 西南国防医药, 2013, 12(23): 1280-1283.

[25] Bachanova V, Burns LJ, McKenna DH, et al. Allogeneic natural killer cells for refractory lymphoma[J]. Cancer Immunol Immunother, 2010, 59: 1739-1744.

[26] 黄庆生, 李琦, 黄勇, 等. 人 NK 细胞体外高效扩增的实验研究[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2008, 24(12): 1167-1174.

[27] 王晓梦, 李玲, 于津浦, 等. 四种 NK 细胞体外扩增方案及其杀伤活性的比较[J]. 中国肿瘤生物学杂志, 2013, 20(3): 336-341.

(收稿日期: 2015-10-25 修回日期: 2016-01-13)

• 综 述 •

妊娠期合并糖尿病并发酮症酸中毒的病因及预防措施

彭方亮^{1,2}综述, 漆洪波^{1△}审校 (1. 重庆医科大学附属第一医院 400010; 2. 重庆市急救中心 400014)

【关键词】 妊娠期合并糖尿病; 酮症酸中毒; 诱发因素; 预防
DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2016. 09. 056 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2016)09-1288-04

妊娠期合并糖尿病包括孕前糖尿病(PGDM)和妊娠期糖尿病(GDM)。酮症酸中毒(DKA)是 1 种妊娠期严重急性并发症, 以高血酮、高血糖、代谢性酸中毒和严重脱水为主要特点。对母儿危害较大, 如不及时诊治或处理不当, 不仅能导致孕妇死亡, 同时也能引起胎儿畸形、胎儿窘迫、胎死宫内等并发症, 围生期胎儿病死率高达 35. 00%~90. 00%。若能对 DKA 病因进行研究分析, 采取可行预防措施, 将对阻断妊娠期 DKA 发生, 降低围生期母儿病死率有积极意义。本文从妊娠期合并糖尿病并发 DKA 常见诱发因素及预防措施综述如下。

DKA 是 1 种体内脂肪代谢和糖代谢严重紊乱的急性并发症, 主要因患者体内胰岛素相对或绝对缺乏, 血糖水平显著升高, 加速脂肪动员和分解, 并经肝脏代谢氧化成酮体。当血液

中酸性物质累积过度, 超越机体自身酸碱缓冲调节能力, 即发生 DKA。妊娠期出现一系列代谢物质变化致使患糖尿病孕妇更易发生 DKA。此外, 仍有少数孕妇在血糖正常情况下发生妊娠期 DKA^[1]。

1 诊 断

1.1 临床表现 出现口渴、多饮、多尿、疲倦无力等早期临床症状。如治疗不及时, 2~4 d 后病情可恶化, 出现极度口渴、尿量异常增多, 常伴有烦躁、头痛、嗜睡等症状, 甚至出现深大呼吸, 呼气中有烂苹果味(气体中含丙酮), 进入失代偿阶段。后期, 患者出现严重失水、尿量急剧减少、皮肤黏膜干燥失去弹性、血压下降、心动过速。晚期, 各种反射消失, 意识模糊, 最后陷入昏迷。

△ 通讯作者, E-mail: qihongbo728@163. com。