



# 自然杀伤细胞免疫疗法在恶性肿瘤 治疗中的研究进展

卢 鹏<sup>1</sup>, 纪 猛<sup>2</sup>, 王 皓<sup>3</sup>, 齐念民<sup>3</sup>, 吴月红<sup>1</sup>

(1. 浙江理工大学生命科学与医药学院, 杭州 310018; 2. 杭州标模生物科技有限公司, 杭州 310018; 3. 上海丽坤生物科技股份有限公司, 上海 201499)

**摘 要:** 自然杀伤细胞(Natural killer cell, NK)介导的免疫疗法是一种新的、安全的细胞治疗方法, 临床已证实能够有效治疗多种恶性肿瘤。目前, NK 细胞免疫疗法的研究主要集中在优化 NK 细胞的来源和增强 NK 细胞抗肿瘤活性两个方面。文章从 NK 细胞免疫疗法的发展、细胞来源及抗肿瘤活性等方面进行简述。NK 细胞来源于骨髓, 是除 T、B 细胞之外的第三大类淋巴细胞。目前用于治疗的 NK 细胞的来源主要有外周血和脐带血分离的 NK 细胞、NK 细胞系和多能干细胞来源的 NK 细胞(Natural killer cells from pluripotent stem cells, PSC-NK); 其中, PSC-NK 作为 NK 细胞一种新的来源, 具有数量充足和质量统一的特点, 能够满足对癌症患者进行治疗的细胞数量需求, 更符合临床治疗的要求。嵌合抗原受体联合的 NK 细胞(Chimeric antigen receptor modified natural killer cells, CAR-NK)比天然状态的 NK 细胞具有更强的特异性和细胞毒性, 可进一步增强其抗肿瘤的活性。另外, 通过基因工程技术改造 NK 细胞, 避免在体内添加扩增 NK 细胞的外源性细胞因子, 从而提高 NK 细胞的安全性和持久性, 可有效推动 NK 细胞免疫疗法的临床应用。

**关键词:** 自然杀伤细胞; 免疫治疗; 恶性肿瘤; 多能干细胞; 嵌合抗原受体

**中图分类号:** Q291

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1673-3851 (2022) 11-0915-08

## Progress of natural killer cell immunotherapy in the treatment of malignant tumors

LU Peng<sup>1</sup>, JI Meng<sup>2</sup>, WANG Hao<sup>3</sup>, QI Nianmin<sup>3</sup>, WU Yuehong<sup>1</sup>

(1. College of Life Sciences and Medicine, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China; 2. Hangzhou Biaomo Biosciences Co., Ltd., Hangzhou 310018, China; 3. Asia Stem Cell Therapies Co., Ltd., Shanghai 201499, China)

**Abstract:** Natural killer cell (NK)-mediated immunotherapy is a new and safe cell therapy that has been clinically proven to be effective in treating a variety of malignancies. Currently, research on NK cell immunotherapy has focused on optimizing the source of NK cells and enhancing the anti-tumor activity of NK cells. This article briefly reviews the development, cell source and antitumor activity of NK cell immunotherapy. NK cells are derived from bone marrow and are the third major type of lymphocytes besides T and B cells. The main sources of NK cells currently used for therapeutic purposes are NK cells for isolating peripheral blood and and cord blood, NK cell lines and NK cells from pluripotent stem cells (PSC-NK). Among them, PSC-NK, as a new source of NK cells, has the characteristics of sufficient quantity and uniform quality to meet the demand of cell quantity for the treatment of cancer patients, and

收稿日期: 2022-03-08 网络出版日期: 2022-09-06

基金项目: 企业委托研发项目(21040400-J)

作者简介: 卢 鹏(1997- ), 男, 江苏连云港人, 硕士研究生, 主要从事多能干细胞方面的研究。

通信作者: 吴月红, E-mail: wuyuehong2003@163.com

is more in line with the requirements of clinical treatment. Chimeric antigen receptor modified natural killer cells (CAR-NK) have stronger specificity and cytotoxicity than NK cells in their natural state, which can further enhance their anti-tumor activity. In addition, the modification of NK cells by genetic engineering technology avoids the addition of exogenous cytokines to expand NK cells in vivo, improves the safety and durability of NK cells, and can effectively promote the clinical application of NK cell immunotherapy.

**Key words:** natural killer cells; immunotherapy; malignancy; pluripotent stem cells; chimeric antigen receptors

## 0 引 言

恶性肿瘤严重危害着人类的生命健康,据预测,到 2040 年全球每年将有 2750 万例新增恶性肿瘤患者<sup>[1]</sup>。目前临床上主要通过手术、化学药物治疗、放射治疗及药物靶向治疗等手段延长恶性肿瘤患者的生存周期<sup>[2]</sup>,然而许多癌症患者被检查出来时已处于恶性肿瘤晚期,在接受传统方法治疗后,恶性肿瘤复发率仍高达 60%<sup>[3]</sup>,因此急需寻找一种安全有效的治疗恶性肿瘤的方法。

自然杀伤细胞(Nature killer, NK)免疫疗法是一种将不同来源的 NK 细胞,经体外培养扩增或基因工程改造后注入机体治疗恶性肿瘤的方法。NK 细胞是不同于 T、B 淋巴细胞的 CD56<sup>+</sup> 淋巴细胞亚群,属于非特异性免疫细胞,不需要通过复杂的免疫反应就可以识别并杀伤肿瘤细胞<sup>[4]</sup>。NK 细胞已被证明对多种恶性肿瘤都有细胞毒性<sup>[5]</sup>。NK 细胞的杀伤能力由多种抑制受体严格调控,如抑制性杀伤细胞免疫球蛋白样受体(Killer-cell immunoglobulin-like receptors, KIRs)。KIRs 与正常细胞上的 MHC-I 分子结合,从而保护正常细胞<sup>[6-7]</sup>。NK 细胞免疫疗法治疗效果可以通过优化 NK 细胞的来源和增强 NK 细胞的抗肿瘤活性来提高。目前 NK 细胞主要是从外周血和脐带血分离纯化获得的 NK 细胞、NK 细胞系和多能干细胞来源的 NK 细胞(Natural killer cells from pluripotent stem cells, PSC-NK),其中 PSC-NK 因具有数量充足和质量统一的特点而备受关注。增强 NK 细胞抗肿瘤活性的方法主要是通过嵌合抗原受体修饰 NK 细胞和增强 NK 细胞体内持久性。随着 NK 细胞免疫疗法在实验室研究的深入及在临床上应用的不断成功,这一免疫细胞治疗方法正在快速发展<sup>[8]</sup>。

本文对目前 NK 细胞免疫疗法在恶性肿瘤治疗中的应用进行综述,首先介绍 NK 细胞免疫疗法的研究进展及临床研究,接着指出 PSC-NK 是一种更符合临床要求的细胞来源,最后介绍增强 NK 细胞

免疫疗法治疗效果的方法。期待为 NK 细胞,特别是 PSC-NK 免疫疗法的应用提供帮助。

## 1 NK 细胞免疫疗法的发展

### 1.1 先天免疫系统抵御恶性肿瘤

人类的免疫系统非常复杂,科学上将免疫分为先天免疫和适应性免疫。其中,先天免疫系统中的免疫细胞反应速度快,无需特定的抗原刺激就可以识别肿瘤细胞和坏死细胞,在机体防御肿瘤中起着重要的作用。先天免疫细胞包含巨噬细胞、单核细胞和 NK 细胞<sup>[9]</sup>。NK 细胞是先天免疫中主要的效应细胞,有着高度的异质性<sup>[10]</sup>。在体外, NK 细胞对肿瘤细胞具有直接杀伤的效果;在体内,通过释放免疫反应的可溶性因子<sup>[11]</sup>,阻止恶性肿瘤的形成。先天免疫系统缺陷的病人体内的恶性肿瘤通过逃逸免疫不断增殖发展和扩散转移,最终对机体健康造成严重的危害<sup>[12]</sup>。

### 1.2 NK 细胞免疫疗法研究进展

早期试验使用的 NK 细胞是从人体血液中分离,然后经过免疫磁珠细胞筛选,最后在体外用白细胞介素-2(IL-2)诱导扩增得到<sup>[13]</sup>。Miller 等<sup>[14]</sup>研究发现,急性髓系白血病病人化疗后,通过输入单倍体相同的 NK 细胞可以减少病人预后的病痛。Bachanova 等<sup>[15]</sup>对淋巴瘤患者进行的 NK 细胞免疫治疗,获得了良好的术后效果。Courau 等<sup>[16]</sup>利用无基质和生长因子的培养基中制备的肿瘤球体与免疫细胞的共培养模型,发现 NK 细胞可以通过 IFN- $\gamma$  和 NK 细胞活化性受体(NKG2D)及其配体(MICA/B)途径诱导肿瘤细胞死亡,有望成为体外研究抗肿瘤免疫反应的有效工具。目前 NK 细胞免疫疗法研究主要集中在优化 NK 细胞的来源和增强 NK 细胞抗肿瘤活性两个方面<sup>[17]</sup>。最近,通过单独使用细胞因子或联合多种因子共同刺激 NK 细胞<sup>[18]</sup>,及基因工程改造的饲养层细胞的使用,为 NK 细胞的扩增效率的提升提供帮助<sup>[19]</sup>,有望推动 NK

细胞免疫疗法的发展。

1.3 NK 细胞免疫疗法的临床研究

NK 细胞免疫疗法最先应用于治疗血液恶性肿瘤,临床数据显示,利用 NK 细胞能够治疗慢性粒细胞白血病和急性髓性白血病<sup>[20]</sup>。一项 I 期临床试验将供体的肝源性 NK 细胞用 IL-2 刺激后静脉回输给肝癌患者,病人术后没有出现肝癌复发的情况<sup>[21]</sup>。随着 NK 细胞免疫疗法研究的深入,研究发现基因修饰和细胞因子刺激的 NK 细胞能够抑制 HIV 感染<sup>[22]</sup>。肿瘤患者体内分离得到的 NK 细胞的功能缺失<sup>[23]</sup>,而健康人体内的 NK 细胞功能完全,从而保证机体的健康<sup>[24]</sup>,因此通过回输具有功能的 NK 细胞能够有效治疗肿瘤患者。

本文对不同来源 NK 细胞治疗多种恶性肿瘤的研究进行总结(见表 1)。目前用于治疗肿瘤的 NK 细胞主要来源于自体、异体的 NK 细胞和 NK92 细胞;NK 细胞免疫疗法在恶性血液肿瘤、转移性结直肠癌<sup>[25]</sup>以及淋巴瘤等恶性肿瘤的治疗处于 I 期临床试验阶段,对部分癌症的治疗处于 II 期临床试验

阶段,例如非小细胞肺癌、成神经管细胞瘤<sup>[26]</sup>和默克尔细胞癌。一项利用 NK 细胞对 157 名大肠癌患者进行的临床研究表明,NK 细胞浸润的患者存活时间明显增长<sup>[27]</sup>。越来越多的研究证明 NK 细胞可以浸润实体瘤,推动着 NK 细胞治疗实体瘤的发展<sup>[28]</sup>。研究发现,通过添加 IL-2 可以扩增 NK 细胞,提高细胞活力<sup>[29]</sup>。通过使用膜结合 IL-21(mbIL-21)的抗原呈递细胞作为饲养层细胞扩增的脐带血来源的 NK 细胞体外存活时间更长,具有更强的肿瘤细胞毒性<sup>[30]</sup>。脐带血来源的 NK 细胞能够抑制人结肠癌细胞 HT29 异种移植物的生长;与贝伐珠单抗联合使用有更好的治疗效果,说明不论是单独使用还是与贝伐珠单抗联合使用,脐带血来源的 NK 细胞都可作为有效的治疗结直肠癌的免疫细胞<sup>[31]</sup>。但是,从脐带血分离得到的 NK 细胞是含有单核细胞和其他血细胞的细胞异质混合物,临床上需要为不同的患者单独分离纯化 NK 细胞,不仅成本高,还会耽误患者的治疗时间,因此急需寻找一种更有利于临床应用的 NK 细胞来源。

表 1 不同来源 NK 细胞治疗恶性肿瘤情况

信息来源	来源编号	NK 细胞来源	适应症	临床阶段
Krause 等 <sup>[25]</sup>	—	自体	转移性结直肠癌	I
clinicaltrials. gov	NCT00720785	自体	转移性癌症;血液恶性肿瘤	I
clinicaltrials. gov	NCT00909558	自体	乳腺癌,肝细胞癌,前列腺癌	I
clinicaltrials. gov	NCT01857934	自体	儿童晚期神经母细胞瘤	I
clinicaltrials. gov	NCT02734524	自体	非小细胞性肺癌	II
clinicaltrials. gov	NCT00660166	异体	淋巴瘤;骨髓瘤;白血病	I
clinicaltrials. gov	NCT00995137	异体	急性淋巴细胞白血病	I
clinicaltrials. gov	NCT01212341	异体	恶性淋巴瘤;实体瘤	I
clinicaltrials. gov	NCT01337544	异体	儿童实体瘤	I / II
clinicaltrials. gov	NCT01520558	异体	急性髓性白血病	I / II
clinicaltrials. gov	NCT00900809	NK92	急性髓样白血病	I
Tonn 等 <sup>[26]</sup>	—	NK92	成神经管细胞瘤	I / II
clinicaltrials. gov	NCT02465957	NK92	默克尔细胞癌	II

2 多能干细胞来源的 NK 细胞研究进展

2.1 多能干细胞来源的 NK 细胞的优势与应用

NK 细胞主要来源于外周血 NK 细胞、NK 细胞系(NK92)和 PSC-NK<sup>[32]</sup>。多能干细胞包括胚胎干细胞和诱导多能性干细胞(Induced pluripotent stem cells,iPSC),其中 iPSC 作为一种可再生的异体细胞,具有极高的临床应用价值<sup>[33]</sup>。多能干细胞在建立疾病模型、研究疾病发病机制和新药筛选等方面有着很好的应用前景。随着细胞因子导入方法的发展,制备 iPSC 不仅有用反转录病毒及慢病毒

载体的方法,还有用腺病毒载体和利用非病毒载体转导的方法<sup>[34-35]</sup>。有研究表明:通过转座子和细胞穿膜肽得到 iPSC 的方法有可能逐渐优化获取 iPSC 的方式<sup>[36-37]</sup>,有助于满足实验室研究及临床应用的需要。

多能干细胞能够生产出无限数量且质量统一的 NK 细胞,为 NK 细胞免疫疗法提供标准化的细胞来源,有利于恶性肿瘤的临床治疗<sup>[38]</sup>。PSC-NK 和原代 NK 细胞有着相似的表型和功能<sup>[39]</sup>,对多种血液肿瘤细胞和实体肿瘤细胞都有细胞毒性(见表 2)。目前大部分 PSC-NK 细胞免疫疗法仍处于临



床 I 期研究阶段,用于治疗急性白血病、淋巴瘤以及多种恶性实体肿瘤。值得一提的是,与供体来源的

NK 细胞相比,PSC-NK 细胞有更强的溶解肿瘤细胞的能力<sup>[40]</sup>。

表 2 多能干细胞衍生的 NK 细胞治疗多种恶性肿瘤情况

信息来源	信息编号	细胞来源	适应症	研究阶段
Woll 等 <sup>[32]</sup>	—	hESC(H9)	白血病	小鼠实验
Knorr 等 <sup>[40]</sup>	—	hESC	白血病	小鼠实验
clinicaltrials.gov	NCT03841110	异体 iPSC	晚期实体瘤	临床 I 期
clinicaltrials.gov	NCT04023071	异体 iPSC	急性粒细胞性白血病/B 细胞淋巴瘤	临床 I 期
clinicaltrials.gov	NCT04245722	异体 iPSC	淋巴瘤\慢性淋巴细胞白血病	临床 I 期
clinicaltrials.gov	NCT04551885	异体 iPSC	成人实体瘤	临床 I 期
clinicaltrials.gov	NCT04555811	异体 iPSC	非霍奇金淋巴瘤	临床 I 期
clinicaltrials.gov	NCT04630769	异体 iPSC	卵巢癌\输卵管腺瘤\原发性腹膜腔癌	临床 I 期
clinicaltrials.gov	NCT04714372	异体 iPSC	骨髓性白血病\单核细胞白血病	临床 I 期
clinicaltrials.gov	NCT04614636	异体 iPSC	急性髓性白血病\骨髓瘤	临床 I 期

2.2 PSC-NK 细胞免疫疗法的优化

PSC-NK 临床应用具有标准化和制备速度快的优点<sup>[41]</sup>。按照传统的方式,需要通过建立供体、分离和扩增 NK 细胞等步骤,时间成本增加,不利于临床应用;不仅如此,癌症患者自身的 NK 细胞杀伤肿瘤的功能缺失,而且扩增得到的 NK 细胞数量有限<sup>[42]</sup>。Zhu 等<sup>[43]</sup>对人类 PSC 诱导 NK 细胞的方法进行优化,从 PSC 中得到功能成熟的 NK 细胞,并扩增到足够的数量,能够满足临床要求。相比于脐带血来源的 NK 细胞,PSC-NK 是一种同质的细胞群体,在体外和体内都能有效杀伤肿瘤细胞<sup>[44]</sup>。通过多能干细胞得到的 NK 细胞已经能够治疗多种肿瘤,但通过化学修饰的 NK 细胞具有更强的特异性和持久性,而且对人类白细胞抗原(Human leukocyte antigen,HLA)丢失患者的治疗也有着光明的应用前景<sup>[45]</sup>。

3 增强 NK 细胞的抗肿瘤活性的研究进展

3.1 嵌合抗原受体修饰的 NK 细胞及其应用

嵌合抗原受体修饰的 NK 细胞(Chimeric antigen receptor modified natural killer cells,CAR-NK)具有出色的肿瘤细胞毒性。嵌合抗原受体主要由两个部分组成:一是抗原识别,由抗体重链和轻链可变片段融合组成;二是内切结构域,能把来自表面的结合信号转化为信号级联,最终激活 NK 细胞对肿瘤细胞的溶解特性<sup>[46]</sup>。研究发现,将 CAR 靶标的抗原数量控制在 200~2000 个可以保护正常细胞,增强 NK 细胞抗肿瘤效果<sup>[47]</sup>。嵌合抗原受体修饰的 T 淋巴细胞(Chimeric antigen receptormodified T lymphocytes,CAR-T)免疫疗法需要考虑患者的免疫排斥,因此生产成本很高,而且需要对患者进行严格的审查资格。

相比之下,CAR-NK 细胞免疫疗法不需要考虑免疫排斥反应<sup>[48]</sup>,因此更加快捷,还具有更高的安全性<sup>[49]</sup>。另外,CAR-T 在长期的治疗过程中存在肿瘤脱靶的危险,而 CAR-NK 寿命较短,几乎不会出现脱靶,能够去除残留的发生异质性的恶性肿瘤细胞。

随着 CAR-NK 细胞免疫疗法的深入研究,目前对脐带血 NK 细胞、外周血 NK 细胞、PSC-NK 和 NK92 等 4 种不同来源的 NK 细胞进行 CAR 修饰(见图 1),为 NK 细胞免疫治疗提供多种细胞来源。本文整理了美国临床试验数据库(clinicaltrials.gov)中 CAR-NK 治疗的多项研究(见表 3),这些研究涉及白血病、淋巴瘤和胰腺癌等恶性肿瘤。多项研究进入临床 II 期试验研究阶段,说明 CAR-NK 免疫疗法在癌症治疗方面的安全性和有效性。研究发现,使用雷戈拉非尼和 CAR-NK 细胞联合治疗结直肠癌的效果比单用 CAR-NK 细胞或雷戈拉非尼更显著<sup>[50]</sup>。临床上对 3 例转移性结直肠癌患者进行局部输注 CAR-NK 细胞治疗,有效减轻患者的肿瘤负担<sup>[51]</sup>。这些数据能为 CAR-NK 的应用研究提供坚实的基础。

3.2 提升 NK 细胞体内持久性和安全性研究进展

异体 NK 细胞输入病人体内需要补充外源性细胞因子来维持持久性,NK 细胞存活周期通常只有几周,因此需要多次输注才会达到较好的治疗效果。临床上使用的外源性细胞因子,如重组 IL-2 和 IL-15,会对病人造成不良的效果。为克服这个困难,Imamura 等<sup>[53]</sup>使用逆转录病毒介导的方法,将人类 IL-15 基因与编码 CD8 $\alpha$  跨膜结构域的基因联系起来,改造人类 NK 细胞,让其细胞表面表达 IL-15(Membrane IL-15、mbIL-15),从而避免外源

性细胞因子的影响,同时证明表达 mbIL-15 的 NK 细胞能够在不添加外源 IL-15 和 IL-2 的情况下增殖,相比利用外源 IL-15 扩增的 NK 细胞,具有更长的生存周期,在体外对白血病、淋巴瘤和实体瘤细胞具有更强的细胞毒性。最近,有研究将 NK 细胞膜表达细胞因子的方法与 CAR-NK 技术相结合得到

的 NK 细胞,在体外对表达 CD19 的细胞系和原发性白血病细胞具有杀伤效果,而且能够延长异种淋巴瘤小鼠的生存周期<sup>[54]</sup>,这种基于脐带血衍生的 NK 细胞免疫疗法,能够避免使用外源细胞因子对机体造成的毒性作用。

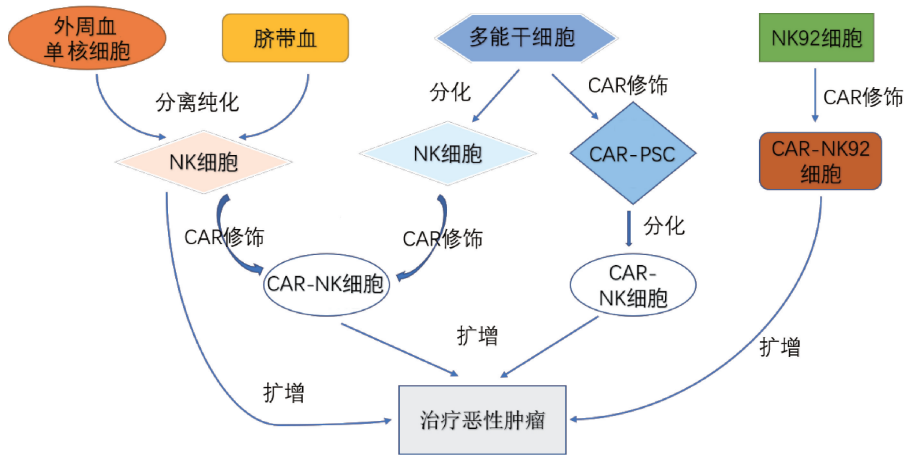


图 1 用于治疗恶性肿瘤的 CAR-NK 细胞的来源和方法

表 3 CAR-NK 细胞临床试验情况

信息来源	编号	细胞来源	适应症	临床阶段
clinicaltrials.gov	NCT03940820	Robo1CAR-NK	实体瘤	I / II
clinicaltrials.gov	NCT03941457	Robo1 特异性 NK 细胞	胰腺癌	I / II
clinicaltrials.gov	NCT00995137	PB-NK	急性 B 细胞淋巴细胞白血病	I
clinicaltrials.gov	NCT02944162	NK92	急性髓细胞白血病	I / II
clinicaltrials.gov	NCT02742727	NK92	白血病,淋巴瘤	I / II
clinicaltrials.gov	NCT03383978	NK92	神经母细胞瘤	I / II
clinicaltrials.gov	NCT04714372	iPSC(FT596)	B 细胞淋巴瘤	I
clinicaltrials.gov	NCT03415100	PB-NK	转移性实体肿瘤	I
clinicaltrials.gov	NCT03940820	NK92	实体肿瘤	I / II
clinicaltrials.gov	NCT01974479	PB-NK	B 细胞淋巴细胞白血病 <sup>[52]</sup>	II

4 结束语

本文对 NK 细胞免疫疗法的应用和发展进行综述,总结 NK 细胞来源的优化和增强 NK 细胞杀伤肿瘤的活性的方法。虽然 NK 细胞的临床应用仍存在争议,但观察到 NK 细胞具有很强的肿瘤细胞杀伤活力,所以研究 NK 细胞的免疫疗法是有必要的。如何获得质量统一、数量充足的 NK 细胞是目前 NK 细胞免疫细胞疗法临床研究的重要课题。目前从外周血和脐带血分离得到的 NK 细胞或有残留其他细胞;NK92 细胞用于临床治疗前需要进行繁琐的处理。PSC-NK 细胞作为一种新的 NK 细胞的来源,不仅能够产生足量的 NK 细胞,而且能够做到统一化生产,对临床应用的发展具有很大的帮助。与此同时,新的 CAR 靶点和 NK 特异性的 CAR 结构

的使用有助于提高 NK 细胞的抗肿瘤活性,通过基因转导技术提升 NK 细胞体内持久性和安全性,为治疗结恶性肿瘤带来新的希望。

参考文献:

[1] Hayes C. Cellular immunotherapies for cancer[J]. Irish Journal of Medical Science, 2021, 190(1): 41-57.

[2] Yang Y P. Cancer immunotherapy: harnessing the immune system to battle cancer [J]. The Journal of Clinical Investigation, 2015, 125(9): 3335-3337.

[3] Sorrentino C, D'Antonio L, Fieni C, et al. Colorectal cancer-associated immune exhaustion involves T and B lymphocytes and conventional NK cells and correlates with a shorter overall survival[J]. Frontiers in Immunology, 2021, 12: 778329.

- [4] Sivori S, Meazza R, Quintarelli C, et al. NK cell-based immunotherapy for hematological malignancies [J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2019, 8(10): E1702.
- [5] Di Vito C, Mikulak J, Zaghi E, et al. NK cells to cure cancer[J]. *Seminars in Immunology*, 2019, 41: 101272.
- [6] Mantesso S, Geerts D, Spanholtz J, et al. Genetic engineering of natural killer cells for enhanced antitumor function [J]. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11: 607131.
- [7] Di Marco G S, Reuter S, Kentrup D, et al. Cardioprotective effect of calcineurin inhibition in an animal model of renal disease [J]. *European Heart Journal*, 2010, 32(15): 1935-1945.
- [8] Myers J A, Miller J S. Exploring the NK cell platform for cancer immunotherapy[J]. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 2021, 18(2): 85-100.
- [9] Cheng M, Chen Y Y, Xiao W H, et al. NK cell-based immunotherapy for malignant diseases[J]. *Cellular & Molecular Immunology*, 2013, 10(3): 230-252.
- [10] Yoon J C, Yang C M, Song Y, et al. Natural killer cells in hepatitis C: current progress[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2016, 22(4): 1449-1460.
- [11] Stojanovic A, Cerwenka A. Natural killer cells and solid tumors[J]. *Journal of Innate Immunity*, 2011, 3(4): 355-364.
- [12] Wu S Y, Fu T, Jiang Y Z, et al. Natural killer cells in cancer biology and therapy [J]. *Molecular Cancer*, 2020, 19(1): 120.
- [13] Meyer-Monard S, Passweg J, Siegler U, et al. Clinical-grade purification of natural killer cells in haploidentical hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Transfusion*, 2009, 49(2): 362-371.
- [14] 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.
- [15] Bachanova V, Burns L J, McKenna D H, et al. Allogeneic natural killer cells for refractory lymphoma [J]. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 2010, 59(11): 1739-1744.
- [16] Courau T, Bonnereau J, Chicoteau J, et al. Cocultures of human colorectal tumor spheroids with immune cells reveal the therapeutic potential of MICA/B and NKG2A targeting for cancer treatment[J]. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 2019, 7(1): 74.
- [17] Chiossone L, Dumas P Y, Vienne M, et al. Natural killer cells and other innate lymphoid cells in cancer[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2018, 18(11): 671-688.
- [18] Berg M, Lundqvist A, McCoy P Jr, et al. Clinical-grade ex vivo-expanded human natural killer cells up-regulate activating receptors and death receptor ligands and have enhanced cytolytic activity against tumor cells [J]. *Cytotherapy*, 2009, 11(3): 341-355.
- [19] Harada H, Watanabe S, Saijo K, et al. A Wilms tumor cell line, HFWT, can greatly stimulate proliferation of CD56+ human natural killer cells and their novel precursors in blood mononuclear cells[J]. *Experimental Hematology*, 2004, 32(7): 614-621.
- [20] Dolstra H, Roeven M W H, Spanholtz J, et al. Successful transfer of umbilical cord blood CD34 + hematopoietic stem and progenitor-derived NK cells in older acute myeloid leukemia patients [J]. *Clinical Cancer Research*, 2017, 23(15): 4107-4118.
- [21] Ohira M, Hotta R, Tanaka Y, et al. Pilot study to determine the safety and feasibility of deceased donor liver natural killer cell infusion to liver transplant recipients with hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 2022, 71(3): 589-599.
- [22] Alter G, Heckerman D, Schneidewind A, et al. HIV-1 adaptation to NK-cell-mediated immune pressure[J]. *Nature*, 2011, 476(7358): 96-100.
- [23] Gao Y, Guo J, Bao X L, et al. Adoptive transfer of autologous invariant natural killer T cells as immunotherapy for advanced hepatocellular carcinoma: a phase I clinical trial[J]. *The Oncologist*, 2021, 26(11): e1919-e1930.
- [24] Burke S, Lakshmikanth T, Colucci F, et al. New views on natural killer cell-based immunotherapy for melanoma treatment [J]. *Trends in Immunology*, 2010, 31(9): 339-345.
- [25] Krause S W, 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[J]. *Clinical Cancer Research*, 2004, 10(11): 3699-3707.
- [26] Tonn T, Becker S, Esser R, et al. Cellular immunotherapy of malignancies using the clonal natural killer cell line NK-92[J]. *Journal of Hematotherapy & Stem Cell Research*, 2001, 10(4): 535-544.
- [27] Coppola A, Arriga R, Lauro D, et al. NK cell inflammation in the clinical outcome of colorectal carcinoma[J]. *Frontiers in Medicine*, 2015, 2: 33.
- [28] Carrega P, Bonaccorsi I, Di Carlo E, et al. CD56 (bright) perforin (low) noncytotoxic human NK cells are abundant in both healthy and neoplastic solid tissues and recirculate to secondary lymphoid organs via

- afferent lymph[J]. *Journal of Immunology*, 2014, 192(8): 3805-3815.
- [29] Becker P S A, Suck G, Nowakowska P, et al. Selection and expansion of natural killer cells for NK cell-based immunotherapy[J]. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 2016, 65(4): 477-484.
- [30] Denman C J, Senyukov V V, Somanchi S S, et al. Membrane-bound IL-21 promotes sustained ex vivo proliferation of human natural killer cells[J]. *PLoS One*, 2012, 7(1): e30264.
- [31] Xu C, Liu D N, Chen Z X, et al. Umbilical cord blood-derived natural killer cells combined with bevacizumab for colorectal cancer treatment [J]. *Human Gene Therapy*, 2019, 30(4): 459-470.
- [32] Woll P S, Grzywacz B, Tian X H, et al. Human embryonic stem cells differentiate into a homogeneous population of natural killer cells with potent in vivo antitumor activity[J]. *Blood*, 2009, 113(24): 6094-6101.
- [33] Xu X Y, Huang J S, Li J, et al. Induced pluripotent stem cells and Parkinson's disease: modelling and treatment[J]. *Cell Proliferation*, 2016, 49(1): 14-26.
- [34] Stadtfeld M, Nagaya M, Utikal J, et al. Induced pluripotent stem cells generated without viral integration[J]. *Science*, 2008, 322(5903): 945-949.
- [35] Okita K, Nakagawa M, Hyenjong H, et al. Generation of mouse induced pluripotent stem cells without viral vectors [J]. *Science*, 2008, 322(5903): 949-953.
- [36] Kim D, Kim C H, Moon J I, et al. Generation of human induced pluripotent stem cells by direct delivery of reprogramming proteins[J]. *Cell Stem Cell*, 2009, 4(6): 472-476.
- [37] Zhou H Y, Wu S L, Joo J Y, et al. Generation of induced pluripotent stem cells using recombinant proteins[J]. *Cell Stem Cell*, 2009, 4(5): 381-384.
- [38] Hermanson D L, Ni Z, Kaufman D. Human pluripotent stem cells as a renewable source of natural killer cells[J]. *SpringerBriefs in Stem Cells*, 2015, 6: 69-79.
- [39] Wang K J, Han Y, Cho W C, et al. The rise of human stem cell-derived natural killer cells for cancer immunotherapy [J]. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 2019, 19(2): 141-148.
- [40] Knorr D A, Bock A, Brentjens R J, et al. Engineered human embryonic stem cell-derived lymphocytes to study in vivo trafficking and immunotherapy[J]. *Stem Cells and Development*, 2013, 22(13): 1861-1869.
- [41] Matsubara H, Niwa A, Nakahata T, et al. Induction of human pluripotent stem cell-derived natural killer cells for immunotherapy under chemically defined conditions[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2019, 515(1): 1-8.
- [42] Lamb M G, Rangarajan H G, Tullius B P, et al. Natural killer cell therapy for hematologic malignancies: successes, challenges, and the future [J]. *Stem Cell Research & Therapy*, 2021, 12(1): 211.
- [43] Zhu H, Kaufman D S. An improved method to produce clinical-scale natural killer cells from human pluripotent stem cells [J]. *Methods in Molecular Biology*, 2019, 2048: 107-119.
- [44] Woll P S, Martin C H, Miller J S, et al. Human embryonic stem cell-derived NK cells acquire functional receptors and cytolytic activity [J]. *Journal of Immunology*, 2005, 175(8): 5095-5103.
- [45] Saetersmoen M L, Hammer Q, Valamehr B, et al. Off-the-shelf cell therapy with induced pluripotent stem cell-derived natural killer cells [J]. *Seminars in Immunopathology*, 2019, 41(1): 59-68.
- [46] Arias J, Yu J W, Varshney M, et al. Hematopoietic stem cell- and induced pluripotent stem cell-derived CAR-NK cells as reliable cell-based therapy solutions [J]. *Stem Cells Translational Medicine*, 2021, 10(7): 987-995.
- [47] Watanabe K, Terakura S, Martens A C, et al. Target antigen density governs the efficacy of anti-CD20-CD28-CD3  $\zeta$  chimeric antigen receptor-modified effector CD8 + T cells[J]. *Journal of Immunology*, 2015, 194(3): 911-920.
- [48] Giuliani M, Fleury M, Vernochet A, et al. Long-lasting inhibitory effects of fetal liver mesenchymal stem cells on T-lymphocyte proliferation [J]. *PLoS One*, 2011, 6(5): e19988.
- [49] Oei V Y S, Siernicka M, Graczyk-Jarzynka A, et al. Intrinsic functional potential of NK-cell subsets constrains retargeting driven by chimeric antigen receptors[J]. *Cancer Immunology Research*, 2018, 6(4): 467-480.
- [50] Zhang Q, Zhang H X, Ding J G, et al. Combination therapy with EpCAM-CAR-NK-92 cells and regorafenib against human colorectal cancer models [J]. *Journal of Immunology Research*, 2018, 2018: 4263520.
- [51] 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]. *Molecular Therapy*, 2019, 27(6): 1114-1125.

[52] Shimasaki N, Fujisaki H, Cho D, et al. A clinically adaptable method to enhance the cytotoxicity of natural killer cells against B-cell malignancies [ J ]. Cytotherapy, 2012, 14(7): 830-840.

[53] Imamura M, Shook D, Kamiya T, et al. Autonomous growth and increased cytotoxicity of natural killer cells expressing membrane-bound interleukin-15[J]. Blood, 2014, 124(7): 1081-1088.

[54] Liu E, Tong Y, Dotti G, et al. Cord blood NK cells engineered to express IL-15 and a CD19-targeted CAR show long-term persistence and potent antitumor activity[J]. Leukemia, 2018, 32(2): 520-531.

(责任编辑:张会巍)