

· 专题报道 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2010.03.004

舒尼替尼体内诱导耐药鼻咽癌细胞表达 NKG2DLs 增强 NK 细胞的抑瘤作用

黄宇贤¹, 王 杨², 李玉华¹, 宋朝阳¹, 陈土珍¹, 周 璇¹, 涂三芳¹, 何颖芝¹, 郭坤元¹(1. 南方医科大学珠江医院血液科, 广东 广州 510282; 2. 广东省人民医院肺癌研究所, 广东 广州 510080)

[摘要] 目的:探讨体内条件下舒尼替尼对耐药鼻咽癌 CNE2/DDP 细胞 NKG2DLs(natural killer group 2 member D ligands)表达的诱导作用,及其对 NK 细胞抗肿瘤活性的影响。方法:建立 ABCG2^{high} CNE2/DDP 和 ABCG2^{low} CNE2/DDP 细胞裸鼠皮下移植瘤模型,分如下 8 组:A、E 组分别接种 ABCG2^{high}、ABCG2^{low} CNE2/DDP 细胞,B、F 组分别接种舒尼替尼处理的 ABCG2^{high}、ABCG2^{low} CNE2/DDP 细胞,C、G 组分别接种 ABCG2^{high}、ABCG2^{low} CNE2/DDP 细胞后再输注 NK 细胞;D、H 组接种舒尼替尼处理的 ABCG2^{high}、ABCG2^{low} CNE2/DDP 细胞后再输注 NK 细胞。检测各组裸鼠成瘤时间、成瘤率、肿瘤体积和抑瘤率。免疫组织化学法检测移植瘤组织中 NKG2DLs 的表达。结果:A、B、C、D 和 E、F、G、H 组肿瘤出现时间分别为(5.43 ± 1.00)、(8.50 ± 0.35)、(11.10 ± 1.25)、(13.56 ± 1.23) d 和(9.00 ± 1.00)、(12.30 ± 0.78)、(14.50 ± 0.50)、(17.25 ± 0.77) d,其中舒尼替尼与 NK 细胞联合处理组(D 和 H 组)成瘤时间最晚($P < 0.01$)。A、B、C、D 和 E、F、G、H 组肿瘤质量分别为(2.63 ± 0.89)、(1.00 ± 0.03)、(0.65 ± 0.08)、(0.21 ± 0.27) g 和(2.79 ± 0.83)、(1.18 ± 0.77)、(0.96 ± 0.50)、(0.86 ± 0.82) g,其中舒尼替尼与 NK 细胞联合处理组肿瘤质量最小($P < 0.01$);舒尼替尼与 NK 细胞联合处理的 D 组和 H 组的抑瘤率分别为 92% 和 69%。舒尼替尼上调移植瘤组织中 NKG2DLs 的表达,且 ABCG2^{high} CNE2/DDP 细胞移植瘤中的 NKG2DLs 表达率高于 ABCG2^{low} CNE2/DDP 细胞。结论:舒尼替尼可在体内诱导 CNE2/DDP 移植瘤组织表达 NKG2DLs,增强 NK 细胞的抗肿瘤作用。

[关键词] 舒尼替尼;自然杀伤细胞;NKG2D 配体;鼻咽肿瘤;裸鼠移植瘤

[中图分类号] R730.54; R730.51

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2010)03-0262-06

Sunitinib enhances inhibitory effect of NK cells against xenografts in nude mice by up-regulating NKG2DLs expressions in multidrug resistant nasopharyngeal carcinoma cells

HUANG Yu-xian¹, WANG Yang², LI Yu-hua¹, SONG Chao-yang¹, CHEN Tu-zhen¹, ZHOU Xuan¹, TU San-fang¹, HE Ying-zhi¹, GUO Kun-yuan¹(1. Department of Hematology, Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510282, Guangdong, China; 2. Lung Cancer Institute, Guangdong General Hospital, Guangzhou 510080, Guangdong, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of sunitinib on NKG2D ligands (NKG2DLs) expressions and its influences on anti-tumor effect of NK cells. **Methods:** ABCG2^{high} CNE2/DDP- and ABCG2^{low} CNE2/DDP cell-implanted mouse tumor models were established and were divided into the following 8 groups. A, E: inoculated with ABCG2^{high} CNE2/DDP or ABCG2^{low} CNE2/DDP cells; B, F: inoculated with sunitinib-stimulated ABCG2^{high} CNE2/DDP cells or ABCG2^{low} CNE2/DDP cells; C, G: inoculated with ABCG2^{high} CNE2/DDP cells or ABCG2^{low} CNE2/DDP cells and NK cells; and D, H: inoculated with sunitinib-stimulated ABCG2^{high} CNE2/DDP cells or ABCG2^{low} CNE2/DDP cells and NK cells. Tumor formation times and rates, tumor volumes, and tumor inhibitory rates were observed in different groups. NKG2DLs expressions in implanted tumor tissues were examined by immunohistochemistry assay. **Results:** Tumor formation times in A, B,

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 30973454);广东省自然科学基金重点项目(No. 9251051501000007)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30973454), and the Key Program of Natural Science Foundation of Guangdong Province (No. 9251051501000007)

[作者简介] 黄宇贤(1980-),男,广东省揭阳市人,博士,南方医科大学附属珠江医院细胞治疗中心负责人,主要从事 NK 细胞受、配体调控和肿瘤免疫调控相关研究,E-mail: hyx6610@163.com

[通信作者] 郭坤元(GUO Kun-yuan, corresponding author),E-mail: gzyuan@pub.guangzhou.gd.cn

C, D, E, F, G, and H groups were (5.43 ± 1.00), (8.50 ± 0.35), (11.10 ± 1.25), (13.56 ± 1.23), (9.00 ± 1.00), (12.30 ± 0.78), (14.50 ± 0.50), and (17.25 ± 0.77) d, respectively, with those in sunitinib and NK cell combination groups (D and H groups) being the longest ones ($P < 0.01$). Tumor masses in A, B, C, D, E, F, G, and H groups were (2.63 ± 0.89), (1.00 ± 0.03), (0.65 ± 0.08), (0.21 ± 0.27), (2.79 ± 0.83), (1.18 ± 0.77), (0.96 ± 0.50), and (0.86 ± 0.82) g, respectively, with those in sunitinib and NK cell combination groups (D and H groups) being the lightest ones ($P < 0.01$); the tumor inhibitory rates in sunitinib and NK cell combination groups (D and H groups) were 62% and 69%. Sunitinib up-regulated NKG2DLs expressions in implanted tumor tissues, with those in ABCG2^{high}CNE2/DDP cells higher than those in ABCG2^{low}CNE2/DDP cells. **Conclusion:** Sunitinib can up-regulate NKG2DLs expressions in CNE2/DDP cell-implanted tumor tissues *in vivo* and enhance anti-tumor effect of NK cells.

[**Key words**] sunitinib; natural killer cell; natural killer group 2 member D ligand (NKG2DL); nasopharyngeal neoplasmas; xenograft in nude mice

[Chin J Cancer Biother, 2010, 17(3): 262-267]

舒尼替尼、索拉非尼、硼替佐米和西妥昔单抗等分子靶向药物能诱导耐药鼻咽癌细胞株 CNE2/DDP 表达 NKG2DLs (natural killer group 2 member D ligands), 增强肿瘤细胞对 NK 细胞杀伤的敏感性。其初步的分子机制是分子靶向药物作用于肿瘤细胞后, DNA 损伤修复系统相关的信号分子(如 ATR、CHK1、CHK2)表达上调, 并能诱导 NF- κ B 的表达。另外, 分子靶向药物处理后的 CNE2/DDP 细胞 caspase-8 活性增强和线粒体膜电位发生去极化, 启动细胞凋亡的死亡受体信号通路和线粒体信号通路, 诱导肿瘤细胞凋亡。在体内复杂的情况下, 分子靶向药物是否仍具有诱导 CNE2/DDP 细胞表达 NKG2DLs, 增强肿瘤细胞对 NK 细胞杀伤敏感性的作用呢? 本研究利用高表达 ABCG2 (ATP-binding cassette superfamily G member 2) 的 CNE2/DDP 细胞 (简称 ABCG2^{high}CNE2/DDP 细胞) 和低表达 ABCG2 的 CNE2/DDP 细胞 (简称 ABCG2^{low}CNE2/DDP 细胞) 建立裸鼠皮下移植瘤模型, 观察舒尼替尼在体内能否诱导肿瘤细胞表达 NKG2DLs, 并增强肿瘤细胞对 NK 细胞抑瘤作用的敏感性。

1 材料与方法

1.1 试剂及器材

舒尼替尼购自辉瑞公司, 用 DMSO 溶解, 并用不含血清的 RPMI 1640 稀释, 使 DMSO 终体积分数为 0.1%^[1]。胎牛血清购自杭州四季青公司, RPMI 1640 购自 Gibco 公司, 小鼠抗人 NKG2DLs 单克隆抗体(包括 anti-MICA、anti-ULBP2) 购自 BD 公司, PE 标记的羊抗鼠 IgG1、PE 标记的鼠抗人 ABCG2 单抗购自 eBioscience 公司, 抗 CD56 免疫磁珠、抗 PE 免疫磁珠购自 Miltenyi Biotec 公司。杀伤活性检测试剂盒购自 Promega 公司。5810R 高速低温离心机购

自 Eppendorff 公司, 2010 酶标仪购自郑州赛博仪器公司, Olympus 倒置荧光显微镜购自 Olympus 公司, 二氧化碳培养箱购自 Thermo 公司, Epics Aitra 型流式细胞仪购自 Beckman Coulter 公司, 电子天平购自美国西特公司。

1.2 细胞株

高、低表达 ABCG2 的 CNE2/DDP 细胞与 NK 细胞由本实验室常规磁珠法分选。ABCG2^{high}CNE2/DDP 细胞 ABCG2 表达率维持在 75% 以上。分选后的 NK 细胞中 CD3⁻CD16⁺CD56⁺ 细胞纯度在 90% 以上, 细胞形态良好。人慢性髓系白血病细胞株 K562 由本室冻存。

1.3 裸鼠荷瘤模型的建立

BALB/c 裸鼠(15 ~ 20g, 4 周龄, 24 只, 雌雄各半) 由南方医科大学 SPF 动物实验中心提供并饲养(动物合格证号: 0035847)。24 只 BALB/c 裸鼠随机分成 8 组, 每组 3 只。A 组: 接种 ABCG2^{high}CNE2/DDP 细胞; B 组: 接种 ABCG2^{high}CNE2/DDP 细胞 + 舒尼替尼 (ABCG2^{high}CNE2/DDP 细胞与 1 μ mol/L 舒尼替尼孵育 24 h 后, 再接种裸鼠); C 组: 接种 ABCG2^{high}CNE2/DDP 细胞 + NK 细胞; D 组: 接种 ABCG2^{high}CNE2/DDP 细胞 + 舒尼替尼 + NK 细胞; E 组: 接种 ABCG2^{low}CNE2/DDP 细胞; F 组: 接种 ABCG2^{low}CNE2/DDP 细胞 + 舒尼替尼 (细胞与 1 μ mol/L 的舒尼替尼孵育 24 h 后, 再接种裸鼠); G 组: 接种 ABCG2^{low}CNE2/DDP 细胞 + NK 细胞; H 组: 接种 ABCG2^{low}CNE2/DDP 细胞 + 舒尼替尼 + NK 细胞。收集各组 CNE2/DDP 细胞, PBS 洗涤 2 次, 离心计数后分别重悬于无血清 RPMI 1640 培养基中, 配制成每 0.1 ml 含 1×10^6 个 CNE2/DDP 细胞的悬液。用 1 ml 注射器将 0.1 ml 细胞悬液注射于 BALB/c 裸鼠臀部皮下。对于 NK 细胞治疗组, NK 细胞悬于无血清

RPMI 1640培养基中,配制成每 0.2 ml 含 3×10^7 个细胞的悬液,用 1 ml 注射器将 0.2 ml NK 细胞悬液经尾静脉注射于 BALB/c 裸鼠体内。注射 NK 细胞与皮下注射肿瘤细胞在同一天进行。

1.4 肿瘤生长情况监测

自 CNE2/DDP 细胞接种之日起,观察每组裸鼠成瘤时间、成瘤率,待肿瘤出现后用毫米游标卡尺测量肿瘤的长、宽最大垂直直径,分别记为 a、b。肿瘤体积计算公式: $V = 1/2ab^2$ [4]。裸鼠在成瘤后 3 周处死裸鼠,称肿瘤质量。计算肿瘤生长抑制率:肿瘤生长抑制率(%) = $(1 - \text{处理组肿瘤质量} / \text{对照组肿瘤质量}) \times 100\%$ [2]。

1.5 肿瘤组织 H-E 染色以及免疫组织化学法检测 MICA 和 ULBP2 的表达

肿瘤组织 10% 甲醛溶液固定 48 h,常规脱水、浸蜡、包埋,5 μm 连续切片,行 H-E 染色,观察肿瘤组织病理变化。

选取 NKG2DLs 中的 MICA 和 ULBP2 分别代表 MHC-I 链相关分子和人巨细胞病毒糖蛋白 UL16 结合蛋白,免疫组织化学检测 MICA 和 ULBP2 的表达,方法如下:石蜡切片厚 5 μm ,60 $^\circ\text{C}$ 烤片过夜,石蜡切片脱蜡至水,缓冲液洗 2 次。抗原修复:Tris-EDTA 缓冲液高压 2~3 min,冷却至室温。3% 山羊血清封闭,37 $^\circ\text{C}$ 孵育 10 min,PBS 冲洗 2 次,分别加入 anti-MICA(1:100 稀释)和 anti-ULBP2(1:30 稀释),37 $^\circ\text{C}$ 孵育 1 h,PBS 冲洗 5 min \times 3 次。加入二抗,37 $^\circ\text{C}$ 孵育 30 min,DAB 显色 2~4 min,自来水终止反应。苏木精复染,常规脱水,透明,封片。每一

组织切片在镜下观察,随机取 2 个视野拍照。细胞质或细胞膜出现棕黄色为阳性,根据细胞被染色的比例分为 5 级:阴性(-),细胞未染色;弱阳性(+),0~25% 细胞染色;阳性(++),26%~50% 细胞染色;中阳性(+++),51%~75% 细胞染色;强阳性(++++),>75% 细胞染色 [3]。

1.6 统计学方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS13.0 软件进行数据处理,不同处理组的比较采用单向方差分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 舒尼替尼联合 NK 细胞对 CNE2/DDP 细胞裸鼠移植瘤生长的抑制作用

根据肿瘤生长情况监测结果,A、B、C、D、E、F、G 和 H 组肿瘤出现时间分别为(5.43 \pm 1.00)、(8.50 \pm 0.35)、(11.10 \pm 1.25)、(13.56 \pm 1.23)、(9.00 \pm 1.00)、(12.30 \pm 0.78)、(14.50 \pm 0.50)和(17.25 \pm 0.77)d,不同处理组间肿瘤出现时间有明显差异($F = 35.252, P = 0.000$)。肿瘤出现时间长短排序依次为 A 组 < E 组 < B 组 < F 组 < C 组 < G 组 < D 组 < H 组。随着接种时间的延长,各组肿瘤体积不同程度地增大,体积大小依次为 E 组 > A 组 > F 组 > B 组 > G 组 > H 组 > C 组 > D 组,见表 1;不同处理组间肿瘤体积大小均有明显差异($F = 14.614, P = 0.000$)。结果提示,舒尼替尼与 NK 细胞联用能明显抑制两种 CNE2/DDP 细胞裸鼠移植瘤的生长,两者具有协同作用。

表 1 各组移植瘤的出现时间、移植瘤体积和移植瘤质量

Tab.1 Tumor formation times, volumes and masses of implanted tumors in nude mice of different groups

Group	Time(t/d)	Volume(V/mm ³)	Mass(m/g)
A	5.43 \pm 1.00 [△]	2 625.93 \pm 415.37	2.63 \pm 0.89
B	8.50 \pm 0.35	1 218.87 \pm 223.36 ^{*△}	1.00 \pm 0.03 ^{*△}
C	11.10 \pm 1.90 ^{*△}	512.71 \pm 394.36 ^{*△}	0.65 \pm 0.08 ^{*△}
D	13.56 \pm 1.23 ^{*△}	169.91 \pm 218.20 ^{*△}	0.21 \pm 0.27 [*]
E	9.00 \pm 1.00 [*]	2 740.50 \pm 967.29	2.79 \pm 0.83
F	12.30 \pm 0.78 ^{*△}	1 591.50 \pm 1 077.39 ^{*△}	1.18 \pm 0.77 ^{*△}
G	14.50 \pm 0.50 ^{*△}	866.16 \pm 250.93 ^{*△}	0.96 \pm 0.50 ^{*△}
H	17.25 \pm 0.77 ^{*△}	576.27 \pm 91.54 ^{*△}	0.86 \pm 0.82 ^{*△}

* $P < 0.05$ vs A; [△] $P < 0.05$ vs E

另外, A、B、C、D 和 E、F、G、H 组裸鼠移植瘤生长抑制率分别为 0、61%、75%、92% 和 0、57%、64%、69%。在各处理组中, 高表达 ABCG2 的 CNE2/DDP 细胞肿瘤生长抑制率从大到小依次为 D 组 > C 组 > B 组 > A 组。低表达 ABCG2 的 CNE2/DDP 细胞肿瘤生长抑制率从大到小依次为 H 组 > G 组 > F 组 > E 组。结果表明, 体内舒尼替尼能增强 NK 细胞的抑瘤作用。

2.2 舒尼替尼联合 NK 细胞对 CNE2/DDP 细胞裸

鼠移植瘤组织恶性程度的影响

移植瘤组织切片经 H-E 染色鉴定为低分化鳞状上皮细胞癌。在 A、E 组中组织细胞排列紊乱, 呈巢状, 细胞呈多边形, 核异常分裂, 一个或多个核仁深染, 胞质比例失调。在 D 组和 H 组可见假胞膜形成, 肿瘤组织呈空泡状, 空泡旁边较多坏死区 (图 1)。结果表明, 舒尼替尼联合 NK 细胞可影响 CNE2/DDP 细胞裸鼠移植瘤病理组织的恶性程度。

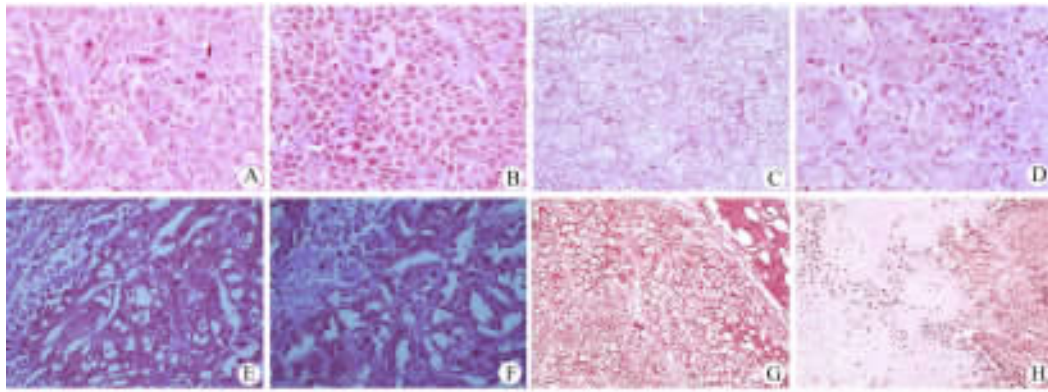


图 1 舒尼替尼联合 NK 细胞对裸鼠移植瘤组织恶性程度的影响 (×100)

Fig. 1 Effect of sunitinib combined with NK cells on malignant grade of implanted tumor tissues in nude mice (×100)

A: ABCG2^{high}CNE2/DDP cells; B: ABCG2^{high}CNE2/DDP cells + sunitinib; C: ABCG2^{high}CNE2/DDP cells + NK cells; D: ABCG2^{high}CNE2/DDP cells + sunitinib + NK cells; E: ABCG2^{low}CNE2/DDP cells; F: ABCG2^{low}CNE2/DDP cells + sunitinib; G: ABCG2^{low}CNE2/DDP cells + NK cells; H: ABCG2^{low}CNE2/DDP cells + sunitinib + NK cells.

2.3 舒尼替尼与 NK 细胞联用对 CNE2/DDP 细胞移植瘤组织中 MICA、ULBP2 表达的影响

NKG2DLs 主要包括两类分子, 其中一类为 MHC-I 链相关分子 A 或 B (MHC class I-related chain molecules A/B, MICA/B), MICA 是典型的 MHC-I 链相关分子, 在病理组织中较容易检测^[4]。另一类为人巨细胞病毒糖蛋白 UL16 结合蛋白 (UL16-binding proteins, ULBPs), 其代表分子为 ULBP2, 其表达率高于其他 ULBPs 分子^[5]。因此,

本研究的免疫组化选取 MICA、ULBP2 作为检测指标。结果 (表 2) 显示, A 和 C 组移植瘤组织中 MICA、ULBP2 呈弱阳性表达; B 和 D 组移植瘤组织中 MICA、ULBP2 呈中度阳性或强阳性表达; E 和 G 组移植瘤组织中 MICA、ULBP2 呈弱阳性表达; F 和 H 组移植瘤组织中 MICA、ULBP2 呈阳性或中度阳性表达。结果提示, 舒尼替尼可上调 CNE2/DDP 细胞移植瘤组织中 MICA、ULBP2 的表达。

表 2 不同处理组移植瘤组织中 MICA 和 ULBP2 的表达

Tab. 2 MICA and ULBP2 expressions in implanted tumor tissues of different treatment groups

NKG2DL	Different treatment groups							
	A	B	C	D	E	F	G	H
MICA	- ~ +	+++	- ~ +	+++	- ~ +	++	- ~ +	++
ULBP2	+	++	+	+++	+	+ ~ ++	+	++

3 讨论

肿瘤常为多基因突变所致, 肿瘤病因学的差异影响肿瘤的治疗效果。大部分肿瘤细胞对放、化疗敏感, 但放、化疗对耐药肿瘤细胞、肿瘤干细胞、微小残留病灶的效果有限^[6]。另外, 由于放、化疗对肿瘤患者本身的免疫系统也有损伤作用。因此, 肿瘤的治疗不仅要针对局部异常生长的肿瘤细胞, 还应针对患者存在的全身性功能的紊乱, 包括遗传性改变、免疫系统的改变、肿瘤干细胞和微小残留病灶^[6]。过继性细胞免疫治疗从不同于放、化疗杀伤的角度出发, 通过主动或被动的机制激活机体的免疫应答, 改善机体免疫状态, 杀伤肿瘤细胞或清除微小残留病灶, 同时不损伤自身组织, 是肿瘤治疗学的发展方向, 但目前存在疗效难以评估和有效率不高等问题。

ABCG2^{high}CNE2/DDP 细胞是一种高度耐药和具有“SP”特征的多药耐药鼻咽癌细胞, 对放、化疗不敏感。对于这类肿瘤细胞须寻找新的、不同于放化疗杀伤机制的治疗方案, 才有可能获得较好的治疗效果^[7-8]。目前开展的生物治疗, 如过继性细胞免疫治疗(包括NK细胞免疫治疗)或各种细胞因子及肿瘤疫苗治疗, 从不同于放、化疗杀伤机制的角度出发, 力求恢复或增强机体对肿瘤细胞的免疫清除能力^[9-10]。生物治疗可提高部分晚期肿瘤患者的生活质量和“带瘤”生存时间, 但是, 这些方法相对于肿瘤治疗的3大传统治疗方案(手术、化疗、放疗)而言, 其总体有效率仍较低^[11-12]。本课题前期的体外实验发现, 无论单靶点、多靶点的分子靶向药物, 或是单克隆抗体分子靶向药物都能诱导肿瘤细胞表达NKG2DLs, 增强肿瘤细胞对NK细胞杀伤的敏感性。分子靶向药物还可通过激活NK细胞分泌IFN- γ 来增强NK细胞的杀伤活性。另外, 文献^[13-16]报道分子靶向药物(如依马替尼、吉非替尼、索拉非尼)可逆转肿瘤细胞耐药, 增强肿瘤细胞对放化疗的敏感性。在体内的复杂环境下, 分子靶向药物是否对肿瘤细胞和免疫效应细胞具有同样的效应, 值得研究。

本研究结果表明, BALB/c 裸鼠接种 ABCG2^{high}CNE2/DDP 细胞与 ABCG2^{low}CNE2/DDP 细胞后, 最早出现移植瘤的是 ABCG2^{high}CNE2/DDP 细胞; 但随着时间的推移, ABCG2^{low}CNE2/DDP 细胞移植瘤的体积和质量超过 ABCG2^{high}CNE2/DDP 细胞。肿瘤的体内生长特点符合其体外的生长特点, 即高表达 ABCG2 的肿瘤细胞是一种快速生长型细胞, 而 ABCG2^{low}CNE2/DDP 细胞则属于慢周期细胞^[17-18]。

在小鼠移植瘤模型中, 不同处理措施对移植瘤生长的抑制效果不同, 抑制作用最明显的是肿瘤细胞先经舒尼替尼处理后, 再用NK细胞治疗, 舒尼替尼联合NK细胞治疗对 ABCG2^{high}CNE2/DDP 细胞和 ABCG2^{low}CNE2/DDP 细胞移植瘤的生长抑制率分别为92%和69%, 并且移植瘤组织中出现明显的坏死灶。另外, 在 ABCG2^{high}CNE2/DDP 细胞各处理组中, 移植瘤的体积、质量均小于 ABCG2^{low}CNE2/DDP 细胞各处理组, 而肿瘤生长抑制率大于 ABCG2^{low}CNE2/DDP 细胞各处理组, 说明舒尼替尼联合NK细胞的治疗效应在 ABCG2^{high}CNE2/DDP 细胞中比在 ABCG2^{low}CNE2/DDP 细胞中的作用明显。体外实验证明, 舒尼替尼处理后, ABCG2^{high}CNE2/DDP 细胞的 NKG2DLs 表达率高于 ABCG2^{low}CNE2/DDP 细胞。本研究体内实验的结果同样显示, 舒尼替尼处理后的 ABCG2^{high}CNE2/DDP 细胞移植瘤组织中, NKG2DLs (MICA、ULBP2) 的表达强度高于 ABCG2^{low}CNE2/DDP 细胞移植瘤。

因此, 在体内复杂环境下, 分子靶向药物可诱导 CNE2/DDP 鼻咽癌细胞表达 NKG2DLs, 增强NK细胞对 CNE2/DDP 细胞裸鼠皮下移植瘤的抑制作用。分子靶向药物联合过继性细胞免疫治疗(NK细胞治疗)可能使晚期耐药、复发的肿瘤患者获得更好的疗效, 也为靶向-过继性细胞免疫治疗方案的确立提供了实验依据。

[参考文献]

- [1] Liu L, Cao Y, Chen C, Zhang X, Mc Nabola A, Wilkie D, et al. Sorafenib blocks the Raf/MEK/ERK pathway, inhibits tumor angiogenesis, and induces tumor cell apoptosis in hepatocellular carcinoma model PLC/PRF/5 [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(24): 11851-11858.
- [2] Nakamura Y, Oka M, Soda H, Shiozawa K, Yoshikawa M, Itoh A, et al. Gefitinib, an epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, reverses breast cancer resistance protein/ABCG2-mediated drug resistance [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(4): 1541-1546.
- [3] Azzalini L, Ferrer E, Ramalho LN, Moreno M, Dominguez M, Colmenero J, et al. Smoking exacerbates nonalcoholic fatty liver disease in obese rats [J]. *Hepatology*, 2010, 51(5): 1567-1576.
- [4] Choy MK, Phipps ME. MICA polymorphism: Biology and importance in immunity and disease [J]. *Trends Mol Med*, 2010, 16(3): 97-106.
- [5] McGilvray RW, Eagle RA, Rolland P, Jafferji I, Trowsdale J, Durrant LG. ULBP2 and RAET1E NKG2D ligands are independent predictors of poor prognosis in ovarian cancer patients [J]. *Int J Cancer*, 2010, 1(6): 1-9.

- [6] 曾益新. 肿瘤的生物治疗与分子靶向治疗 [J]. 中国处方药, 2007, 4(61): 51-52.
- [7] Wu C, Alman BA. Side population cells in human cancers [J]. Cancer Lett, 2008, 268(1): 1-9.
- [8] Kondo T. Stem cell-like cancer cells in cancer cell lines [J]. Cancer Biomark, 2007, 3(4/5): 245-250.
- [9] Copier J, Dalglish AG, Britten CM, Finke LH, Gaudernack G, Gnjjatic S. Improving the efficacy of cancer immunotherapy [J]. Eur J Cancer, 2009, 45(8): 1424-1431.
- [10] Franceschetti M, Pievani A, Borleri G, Vago L, Fleischhauer K, Golay J, et al. Cytokine-induced killer are terminally differentiated activated CD8 cytotoxic T-EMRA lymphocytes [J]. Exp Hematol, 2009, 37(3): 616-628.
- [11] Linn YC, Lau SK, Liu BH, Ng LH, Yong HX, Hui KM. Characterization of the recognition and functional heterogeneity exhibited by cytokine-induced killer cell subsets against acute myeloid leukemia target cell [J]. Immunology, 2009, 126(3): 423-435.
- [12] Ayello J, Van de Ven C, Fortino W, Wade-Harris C, Satwani P, Baxi L, et al. Characterization of cord blood natural killer and lymphokine activated killer lymphocytes following *ex vivo* cellular engineering [J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2006, 12(6): 608-622.
- [13] Jordanides NE, Jorgensen HG, Holyoake TL, Mountford JC. Functional ABCG2 is overpressed on primary CML CD34⁺ cells and is inhibited by imatinib mesylate [J]. Blood, 2006, 108(4): 1370-1373.
- [14] Rahmani M, Nguyen TK, Dent P, Grant S. The multikinase inhibitor sorafenib induces apoptosis in highly imatinib mesylate-resistant *bcrl/abl*⁺ human leukemia cells association with signal transducer and activator of transcription 5 inhibition and myeloid cell leukemia-1 down-regulation [J]. Mol Pharmacol, 2007, 72(3): 788-795.
- [15] Sundvall M, Karrila A, Nordberg J, Grenman R, Elenius K, et al. EGFR targeting drugs in the treatment of head and neck squamous cell carcinoma [J]. Expert Opin Emerg Drugs, 2010, 23(6): 324-332.
- [16] Cassell A, Grandis JR. Investigational EGFR-targeted therapy in head and neck squamous cell carcinoma [J]. Expert Opin Emerg Drugs, 2010, 23(8): 132-140.
- [17] 黄宇贤, 王 杨, 卢晓珣, 郭坤元. 高、低表达三磷酸腺苷结合转运蛋白 G 超家族成员 2 的人鼻咽癌耐药细胞生物学特性差异的研究 [J]. 解放军医学杂志, 2008, 33(8): 987-991.
- [18] Patrawala L, Calhoun T, Schneider-Broussard R, Zhou J, Claypool K, Tang DG. Side population is enriched in tumorigenic stem-like cells, whereas ABCG2⁺ and ABCG2⁻ cancer cells are similarly tumorigenic [J]. Cancer Res, 2005, 65(14): 6207-6219.
- [收稿日期] 2009 - 12 - 12 [修回日期] 2010 - 01 - 28
- [本文编辑] 徐红梅

· 编者 · 作者 · 读者 ·

《中国肿瘤生物治疗杂志》关于抵制学术不端行为的声明

中国广大科技工作者坚持严谨求实、刻苦钻研、勇于创新的科学精神,取得了举世瞩目的科技成果,代表了中国科技工作者的主流。然而,近年来少数科技人员出现了抄袭剽窃、伪造数据、篡改数据、虚假署名、一稿多投等学术不端行为,影响了科技期刊的正常出版工作,给作者及其所在单位甚至全国带来非常负面的影响。《中国肿瘤生物治疗杂志》是中国肿瘤生物治疗领域唯一的高级学术刊物,一贯坚持“学术至上,质量第一”的原则,坚决抵制学术不端行为,努力维护学术纯洁性。为维护学术道德、保证期刊质量和学术声誉,本刊特作以下声明:

1. 作者投稿时须作出稿件无学术不端行为的声明。
2. 稿件审查过程中,本刊编辑部将采用“学术不端文献检测系统”,通过大量国内外学术文献的全文比对,对稿件进行学术不端行为的检查。
3. 本刊已加入“《中国学术文献网络出版总库》删除学术不端文献系统”,该系统协助本刊对已发表论文的学术不端行为进行全面复核。
4. 已发表的论文一经查实有学术不端行为,本刊将立即删除,第一时间刊登撤销声明,终止该论文在各相关数据库、文摘库中的传播,尽快消除不良影响。同时,视情节轻重给作者以下处理:书面警告、通知作者所在单位、在本领域相关期刊通报、2年内本刊不刊登有其署名的稿件、相关学术责任人(通讯作者)署名的其他稿件延缓审稿等。

(本刊编辑部)