

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2012.03.003

· 基础研究 ·

耐地塞米松 B 细胞淋巴瘤细胞逃逸同种异体 NK 细胞的杀伤及其机制

谢宁,周健,宋永平,高全立,张艳莉,符粤文,房佰俊,魏旭东(郑州大学附属肿瘤医院血液科;河南郑州 450003)

[摘要] **目的:**观察地塞米松耐药的人 B 细胞淋巴瘤细胞系对 NK 细胞杀伤敏感性的变化,并探讨其作用机制。**方法:**20 $\mu\text{g/ml}$ 地塞米松(dexamethasone,DXM)诱导 B 细胞淋巴瘤细胞系 SU-DHL-4(简称 SU 细胞)发生耐药,建立多药耐药细胞系 SU/DXM。流式细胞术分选健康人外周血 NK 细胞,流式细胞术检测效靶比 20:1 时,NK 细胞对 SU 和 SU/DXM 细胞的杀伤效应。实时定量 PCR 检测 SU 和 SU/DXM 细胞表面 NK 细胞活化性受体(soluble NK group 2 member D,NKG2D)配体基因[可溶性 MHC I 类分子相关 A/B(MHC class I chain-related molecules A/B, *MICA/B*)及人 UL16 结合蛋白(UL16 binding protein, *ULBP*)1、2、3]的表达。**结果:**成功建立多药耐药细胞系 SU/DXM。与 SU 细胞相比,SU/DXM 细胞对 NK 细胞杀伤的敏感性明显下降[SU 细胞为(11.38 \pm 3.51)%,SU/DXM 细胞为(3.57 \pm 4.22)%, $P < 0.05$],细胞表面 NKG2D 配体基因 *MICA*、*MICB*、*ULBP2* mRNA 表达量降低(SU 细胞分别为 1.014 \pm 0.121、1.009 \pm 0.092、0.993 \pm 0.108,SU/DXM 细胞分别为 0.017 \pm 0.006、0.682 \pm 0.063、0.773 \pm 0.066, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。**结论:**地塞米松能诱导 B 细胞淋巴瘤 SU 细胞发生多药耐药,多药耐药 SU/DXM 细胞能够抵抗 NK 细胞的杀伤,其机制可能与 NKG2D 配体基因表达量下降有关。

[关键词] B 细胞淋巴瘤;地塞米松;NK 细胞;多药耐药;杀伤;NKG2D

[中图分类号] R730.2; R730.3

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2012)03-0247-05

Mechanism of dexamethasone-resistant B-cell lymphoma cells escaping cytotoxicity of allogeneic NK cells

XIE Ning, ZHOU Jian, SONG Yong-ping, GAO Quan-li, ZHANG Yan-li, FU Yue-wen, FANG Bai-jun, WEI Xu-dong (Department of Hematology, Tumor Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Zhengzhou 450003, Henan, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the change of cytotoxicity of NK cells on dexamethasone-resistant B-cell lymphoma cells, and study its mechanism. **Methods:** 20 $\mu\text{g/ml}$ dexamethasone (DXM) was added to induce DXM-resistance B lymphoma SU-DHL-4 cells (SU cells). The multidrug resistance of SU cells was named SU-DXM cells. NK cells, sorted by flow cytometry was chosen as an effector, and the cytotoxicity of NK cells on SU and SU/DXM cells was analyzed through flow cytometry at E:T was 20:1. Real-time PCR was used to detect the gene expression of MHC class I chain-related molecules A/B (*MICA/B*), UL16 binding protein (*ULBP*)1, *ULBP2* and *ULBP3* in both SU and SU/DXM cells. **Results:** After DXM treatment, the SU/DXM cells were established as a multi-drug-resistant cell line. Compared to SU cells, the cytotoxicity sensitivity of NK cells on SU/DXM cells was obviously down-regulated ([3.57 \pm 4.22]% vs [11.38 \pm 3.51]%, $P < 0.05$), and the expressions of NKG2D ligand genes *MICA*, *MICB* and *ULBP2* were statistically lower in SU/DXM cells (*MICA*: 0.017 \pm 0.006, *MICB*: 0.682 \pm 0.063, and *ULBP2*: 0.773 \pm 0.066) than those in SU cells (*MICA*: 1.014 \pm 0.121, *MICB*: 1.009 \pm 0.092, and *ULBP2*: 0.993 \pm 0.108, $P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** Dexamethasone has the ability to induce SU cells to multi-drug-resistant cells, SU/DXM cells, which resist the cytotoxicity mediated by NK cells, and the low gene expression of NKG2D ligands could be one important cause.

[Key words] B-cell lymphoma; dexamethasone; NK cell; multidrug resistance; cytotoxicity; NKG2D

[Chin J Cancer Biother, 2012, 19(3): 247-251]

[基金项目] 河南省科技厅科研项目(No.0611042000)。Project supported by the Research Program of the Science and Technology Bureau of Henan Province (No. 0611042000)

[作者简介] 谢宁(1983-),女,河南省开封市人,博士生,主要从事肿瘤干细胞及靶向治疗方面的研究。E-mail:xiening1015@126.com

[通信作者] 宋永平(SONG Yong-ping, corresponding author),E-mail: songyongping@medmail.com.cn

[网络出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20120529.1639.006.html>

随着异基因造血干细胞移植和分子靶向药物的应用, B 细胞淋巴瘤治疗的临床疗效有了很大的提高, 但是已经发生耐药的 B 细胞淋巴瘤治疗效果一直都不理想。耐药的肿瘤细胞不仅对已经使用过的化疗药物不敏感, 而且对未曾使用过的化疗药物也不敏感, 即产生多药耐药 (multidrug resistance, MDR)^[1]。研究^[2]发现, 在异基因造血干细胞移植中, 同种异体 NK 细胞经过异基因活化后, 一方面降低移植物抗宿主病 (graft-versus-host disease, GVHD) 的发生率, 另一方面能够介导移植物抗白血病 (graft-versus-leukemia, GVL) 效应, 杀伤白血病细胞, 降低复发率。本实验通过体外诱导建立耐药肿瘤细胞系, 观察同种异体 NK 细胞对耐药与非耐药 B 细胞淋巴瘤的杀伤活性, 并研究其可能的机制。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂

RPMI 1640 培养基为 Hyclone 公司产品, 胎牛血清 (fetal calf serum, FCS) 为杭州四季青公司产品。地塞米松 (dexamethasone, DXM) 为天津药业公司产品, 多柔比星 (adriamycin, ADM) 为山东齐鲁制药产品, 阿糖胞苷 (cytosine arabinoside, Ara-c) 为比利时 Pharmacia & Upjohn N. V. /S. A 公司产品, 依托泊苷 (vepaside, Vp-16) 为哈药集团三精升和制药有限公司产品。左旋门冬酰胺酶 (lasparaginase, L-asp) 为江苏恒瑞制药厂产品, 二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 为美国 Sigma 公司产品, 羧基荧光素二醋酸盐琥珀酰亚胺酯 (5, 6-carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester, CFSE)、二甲基四氮唑蓝 [3-(4, 5)-dimethylthiazolium-3, 5-di-phenyltetrazolium bromide, MTT] 和 TRIzol 试剂盒为美国 Invitrogen 公司产品, 逆转录试剂盒和 PCR 试剂盒为 TaKaRa 有限公司产品。CD3-FITC、CD56-PE 鼠抗人单抗为美国 BD 公司产品, 人淋巴细胞分离液为天津灏阳生物制品有限公司产品, 异丙醇和氯仿均为北京化学试剂公司产品。

1.2 细胞株与细胞培养

弥漫性 B 细胞淋巴瘤细胞株 SU-DHL-4(简称 SU 细胞) 为河南省肿瘤医院中心实验室冻存。用含有 10% FCS、100 U/ml 青霉素和 100 μmol/L 链霉素的 RPMI 1640 培养基培养, 培养条件为 37 °C、5% CO₂。通过 MTT 法检测 SU 细胞对于 DXM 的适宜浓度后, 加入 20 μg/ml DXM 进行耐药性培养, 直至细胞生长稳定, 建立 DXM 耐药的细胞系 SU/DXM。

1.3 MTT 检测诱导前后 SU 细胞的耐药指数

分别收集 DXM 诱导前后的 SU 细胞, 计数细胞, 调整细胞密度为 4 × 10⁴/ml, 充分混匀后, 分别加入 96 孔板中, 每孔加入 100 μl。化疗药物 ADM、Ara-c、VP-16 和 L-asp 按照倍比稀释的方法分别稀释 5 个浓度梯度, 每个浓度设置 5 个复孔。每种化疗药物取 100 μl 分别加入 SU 和 SU/DXM 细胞中, 使终体积达到 200 μl。37 °C、5% CO₂ 饱和湿度的条件下培养 3~5 d。每孔加入 20 μl MTT 溶液, 培养箱内培养 4 h, 离心弃上清, 每孔加入 150 μl DMSO, 摇床上放置 10 min 充分溶解, 酶标仪上 490 nm 测定光密度, 计算 IC₅₀ 值和耐药指数, 耐药指数 = 耐药细胞 IC₅₀/敏感细胞 IC₅₀。

1.4 流式细胞仪分选外周血 NK 细胞

分别抽取 3 个健康人外周血各 15 ml, 加肝素抗凝。分别加入 15 ml PBS 液等量稀释, 之后把稀释的外周血小心加入 13 ml Ficoll-Hypaque 淋巴细胞分离液上, 20 °C、800 × g、20 min 离心。抽取中间白膜层, 加 5 倍以上体积 PBS, 4 °C、200 × g、8 min 离心, 弃上清, 共洗涤 3 次, 得到外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cell, PBMC)。调整细胞密度为 1 × 10⁶/ml, 每 1 ml 细胞悬液分别加入 20 μl CD3-FITC、CD56-PE 抗体, 避光、4 °C、孵育 20 min。PBS 洗涤细胞后重悬, 流式细胞仪上分选 NK 细胞。

1.5 流式细胞术检测 NK 细胞对 SU、SU/DXM 细胞的杀伤效应

分别收集靶细胞 (SU、SU/DXM 细胞) 后用 PBS 洗涤并重悬后计数, 加入预温好的 CFSE-PBS 液, 调整细胞密度为 1 × 10⁶/ml。加入 CFSE (终质量浓度为 1.25 μm/ml), 37 °C 染色 5 min。染色结束后用 10 ml 含有 10% FCS 的 RPMI 1640 培养液重悬, 37 °C 孵育 30 min。PBS 洗涤并用无血清培养液重悬, 调整细胞密度为 5 × 10⁵/ml。效应细胞 (NK 细胞) 用 PBS 洗涤后, 无血清培养基重悬, 调整细胞密度为 5 × 10⁶/ml。按效/靶 = 20:1 将效应细胞和 CFSE 标记的靶细胞混匀。200 × g 离心 1 min, 放入 37 °C、5% CO₂ 的温箱中孵育 4 h, 孵育结束后用 400 目筛网过滤至上样管中。上机前加入 PI, 放入冰上待检。NK 细胞杀伤率 (%) = (对照组细胞存活率 - 实验组细胞存活率) / 对照组细胞存活率 × 100%。

1.6 实时定量 PCR 检测 SU、SU/DXM 细胞 NKG2D 配体基因的表达

TRIzol 法提取 SU、SU/DXM 细胞的总 RNA, 以总 RNA 为模板, 反转录为 cDNA。实时定量 PCR 检测 SU 和 SU/DXM 细胞表面 NKG2D 配体基因表达量。可溶性 MHC I 类分子相关 A/B (MHC class I chain

molecules A/B, *MICA/B*) 基因、人 UL16 结合蛋白 (UL16 binding protein, *ULBP*)1,2,3 基因相关的引物序列见表 1,反应条件参考文献[3]。结果用 $\Delta\Delta Ct$ 法进行相对定量分析,计算 SU 和 SU/DXM 细胞系间 NKG2D 配体基因表达的差异。

表 1 NKG2D 配体基因引物序列及长度

Tab.1 Sequence and size of NKG2D ligand gene primers

Gene	Primer sequence 5'→3'	Amplification size(bp)
<i>MICA</i>	F:GTGCCCCAGTCTCCAGAGCTCAG	635
	R:GTGGCATCCCTGTGCTCACTCGTC	
<i>MICB</i>	F:GGCGTCAGGATGGGGTATCTTTGA	690
	R:GGCAGGAGCAGTCGTGAGTTTGCC	
<i>ULBP1</i>	F:CTGCAGGCCAGGATGTCTTGTGAG	319
	R:TGAGGCTGGTGGCCATGGCCTTGG	
<i>ULBP2</i>	F:CTGCAGGCAAGGATGTCTTGTGAG	327
	R:TGAGGCTGGTGGCTGTGGCCCTGA	
<i>ULBP3</i>	F:CTGCAGGTCAGGATGTCTTGTGAG	321
	R:TGAGGCTGGTGGCTATGGCTTTGG	
<i>β-actin</i>	F:GTGGGGCGCCCCAGGCACCA	232
	R:CTCCTTAATGTCACGCACGATTTTC	

1.7 统计学处理

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS16.0 统计学软件, SU/SU/DXM 细胞表面 NKG2D 相关配体表达量比较用配对样本 *t* 检验,靶细胞 NKG2D 配体基因表达量下降与靶细胞逃逸 NK 细胞免疫杀伤的关系以单因素方差分析检验。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 SU 和 SU/DXM 细胞对化疗药物的耐药指数

经 DXM 诱导后,SU 细胞对 DXM 的耐药指数是诱导前的 (8.66 ± 0.24) 倍。经过 200 d 的传代培养,细胞能够稳定生长。SU/DXM 细胞对 ADM、VP-16、L-aspl 的耐药指数分别为诱导前 SU 细胞的 (4.08 ± 1.03) 倍、(2.59 ± 0.02) 倍和 (2.96 ± 0.13) 倍 (表 2, $P < 0.05$)。结果证实了 SU/DXM 细胞已发生多药耐药,是多药耐药细胞。

表 2 DXM 诱导前后 SU 细胞对几种化疗药物的 IC₅₀ 及耐药指数

Tab.2 IC₅₀ and drug-resistant index to different drugs for SU cells before and after DXM induction

Drug	IC ₅₀		Drug-resistant index
	SU	SU/DXM	
ADM	0.002 ± 0.001	0.006 ± 0.001	4.08 ± 1.03
Vp-16	0.101 ± 0.015	0.262 ± 0.041	2.59 ± 0.02
L-aspl	0.158 ± 0.023	0.471 ± 0.088	2.96 ± 0.13
DXM	3.194 ± 0.267	27.416 ± 1.342	8.66 ± 0.24

2.2 SU/DXM 细胞抵抗 NK 细胞的杀伤

NK 细胞经流式细胞仪分选后, CD3⁻ CD16⁺ CD56⁺ 的细胞纯度达到 90.3% (图 1), 符合实验需要。NK 细胞杀伤实验的结果 (图 2) 表明,效/靶 = 20:1 时, NK 细胞对 SU 细胞的杀伤率为 (11.38 ± 3.51) % , 对 SU/DXM 细胞的杀伤率为 (3.57 ± 4.22) % , NK 细胞对 SU/DXM 细胞的杀伤率明显降低 ($P < 0.05$)。结果说明, SU/DXM 细胞能够抵抗 NK 细胞的免疫杀伤。

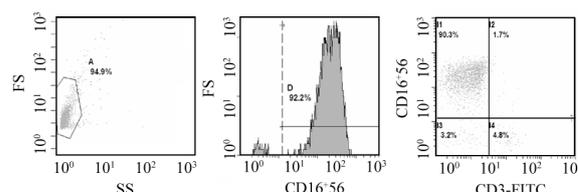


图 1 流式细胞术检测分选后 NK 细胞的纯度

Fig.1 Purity of NK cells after flow cytometry sorting

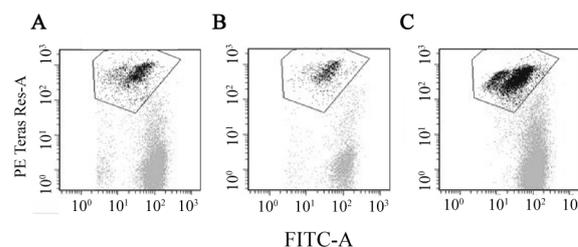


图 2 流式细胞术检测 NK 细胞对 SU/SU/DXM 细胞的杀伤性

Fig.2 Cytotoxicity of NK cells against SU and SU/DXM cells detected by flow cytometry

A: Target cells die naturally without NK cells;

B: Cytotoxicity of NK cells against SU cells;

C: Cytotoxicity of NK cells against SU/DXM cells

2.3 SU/DXM 细胞上调 NKG2D 配体的表达

实时定量 PCR 检测 SU、SU/DXM 细胞 NKG2D 配体基因 mRNA 的表达量,结果(表 3)显示,SU/DXM 细胞 *MICA*、*MICB*、*ULBP2* 基因的表达量较 SU 细胞明显下降($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),*MICA*、*MICB* 和 *ULBP2* mRNA 的表达量在 SU 细胞中分别为 (1.014 ± 0.121)、(1.009 ± 0.092)及 (0.993 ± 0.108);SU/DXM 细胞中分别为(0.017 ± 0.006)、

(0.682 ± 0.063)及(0.773 ± 0.066)。*ULBP1*、*ULBP3* mRNA 的表达在 SU、SU/DXM 细胞中没有显著差异($P > 0.05$)。实时定量 PCR 检测各基因的熔解曲线见图 3。单因素方差分析结果表明,靶细胞表面 NKG2D 配体基因表达量下降与 SU/DXM 细胞逃逸 NK 细胞免疫杀伤两者之间具有相关性($P < 0.05$)。

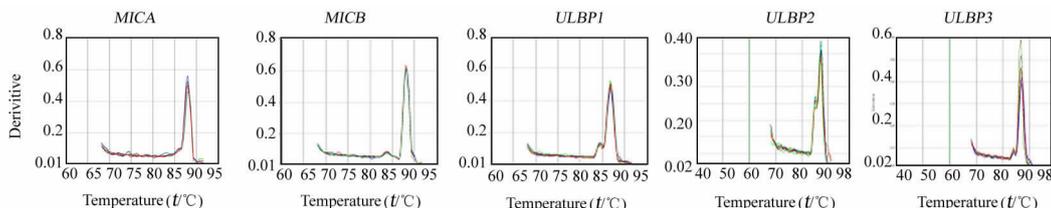


图 3 Real-time PCR 检测 SU、SU/DXM 细胞中 NKG2D 配体基因的表达的熔解曲线

Fig. 3 Fusion curve of NKG2D ligand genes in SU, SU/DXM cells detected by real-time PCR

表 3 Real-Time PCR 检测 SU、SU/DXM 细胞表面 NKG2D 配体基因的表达量($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Expression of NKG2D ligand genes in SU and SU/DXM cells detected by real-time PCR

Cell	<i>MICA</i>	<i>MICB</i>	<i>ULBP1</i>	<i>ULBP2</i>	<i>ULBP3</i>
SU	1.014 ± 0.121	1.009 ± 0.092	1.002 ± 0.103	0.993 ± 0.108	1.005 ± 0.106
SU/DXM	0.017 ± 0.006	0.682 ± 0.063	1.032 ± 0.055	0.773 ± 0.066	1.017 ± 0.125
<i>t</i>	12.332	9.057	0.566	3.911	1.573
<i>P</i>	0.001	0.003	0.611	0.028	0.214

3 讨论

NK 细胞为 CD56⁺CD3⁻的免疫效应细胞,NK 细胞能够识别并杀伤靶细胞,在人体免疫防御中能杀伤病毒感染的细胞和肿瘤细胞。NK 细胞的杀伤活性受细胞膜表面活化性受体和抑制性受体的调节,NK 细胞活化性受体主要有 Fc 受体 NKG2D、CD16、自然杀伤性受体(NCR: NKp30, NKp44, NKp46)以及杀伤细胞 Ig 样受体(killer cell Ig like receptor, KIR)。NKG2D 的配体包括 *MICA*、*MICB* 以及 *ULBP1*、*ULBP2*、*ULBP3* 等^[4]。虽然本研究并未涉及到 NCR 配体基因在靶细胞上的表达情况,但已经有相关的研究报道^[5-7]认为 NCR 的配体与 NKG2D 配体起协同作用。NK 细胞上的 NKG2D 与肿瘤细胞上的 *MICA*、*MICB*、*ULBP* 交联后会直接活化 NK 细胞,激发 NK 细胞的杀伤活性。最近有研究^[8-9]证

实,NKG2D 受体还参与 NK 细胞的分化。

MDR 是多种恶性疾病治疗失败的最终原因,它使细胞对化疗药物不敏感,肿瘤细胞不能被杀死,导致肿瘤容易复发。DXM 是淋巴瘤治疗的常用药物。有文献^[10]报道,DXM 能导致肿瘤细胞中抗凋亡的 Bcl-2 家族中 Bcl-2 和 Bcl-xL 的显著下调,不同程度上活化 Bak 和 Bax,减少细胞色素 C 的释放,导致肿瘤细胞凋亡;还有研究^[11]表明,DXM 能够抑制转录因子 NF- κ B 的活性,从而发挥其诱导细胞凋亡的作用。本研究用 DXM 在体外对 SU 细胞进行长期培养,待细胞稳定传代培养后,通过 MTT 法证实细胞发生多药耐药,对 ADM、VP-16 和 L-asparaginase 等未曾接触的多种化疗药物耐药性增高,成为多药耐药细胞系 SU/DXM。

有研究^[12-16]显示,肿瘤细胞表面 NKG2D 配体的表达会降低 NK 细胞及 CD8⁺T 细胞 NKG2D 分子

的表达,从而降低免疫杀伤功能;但 Champsaur^[17]等的研究表明,NK 细胞与 NKG2D 配体长期作用对于 NK 细胞表面 NKG2D 的表达没有影响,但总体作用结果尚有待于进一步研究。

NK 杀伤实验结果表明,耐药的 SU/DXM 细胞对 NK 细胞的免疫性杀伤敏感性明显下降。定量 PCR 检测显示,NKG2D 配体基因表达量在 SU 和 SU/DXM 细胞中均不同。Sedlak 等^[18]、梅家转等^[19]及 Chen 等^[20]也有类似的研究报道。本研究还发现,MICA、MICB、ULBP2 的基因表达量在 SU/DXM 细胞中明显下降($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),而 ULBP1、ULBP3 基因表达量的差异不具有统计学意义($P > 0.05$)。相关性分析结果表明,NK 细胞的杀伤活性与 NKG2D 配体的表达量明显相关,NKG2D 配体的表达量下降可能是导致 NK 细胞杀伤活性降低的原因之一。SU/DXM 细胞是发生 MDR 的细胞系,细胞中多种基因的表达均可能发生变化。其所以能够逃逸 NK 细胞的免疫杀伤,是多种因素共同作用的结果,其他可能的因素还有待进一步研究。

综上所述,发生 MDR 的 B 细胞淋巴瘤 SU 细胞在抵抗药物杀伤的同时,也能够抵抗 NK 细胞免疫杀伤,NKG2D 配体基因的表达变化与其密切相关。由此可以推测,耐药的淋巴瘤细胞抵抗 NK 细胞免疫杀伤的能力增强,可能是异基因造血干细胞移植治疗后淋巴瘤复发的影响因素之一。

[参考文献]

- [1] 谭耀红,杨纯正. 乳腺癌转移复发肿瘤标志物研究进展 [J]. 国外医学肿瘤分册, 2002, 29 (3): 206-209.
- [2] Ruggeri L, Capanni M, Urbani E, et al. Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants [J]. Science, 2002, 295 (5562): 2097-2100.
- [3] Friese MA, Platten M, Lutz SZ, et al. MICA/NKG2D-mediated immunogene therapy of experimental gliomas [J]. Cancer Res, 2003, 63(24): 8996-9006.
- [4] Carbone E, Neri P, Mesuraca M, et al. HLA class I, NKG2D, and natural cytotoxicity receptors regulate multiple myeloma cell recognition by natural killer cells [J]. Blood, 2005, 105(1): 251-258.
- [5] Pogge von Strandmann E, Simhadri VR, von Tresckow B, et al. Human leukocyte antigen-B-associated transcript 3 is released from tumor cells and engages the NKp30 receptor on natural killer cells [J]. Immunity, 2007, 27(6): 965-974.
- [6] Hecht ML, Rosental B, Horlacher T, et al. Natural cytotoxicity receptors NKp30, NKp44 and NKp46 bind to different heparan sulfate/heparin sequences [J]. J Proteome Res, 2009, 8(2): 712-720.
- [7] Brandt CS, Baratin M, Yi EC, et al. The B7 family member B7-H6 is a tumor cell ligand for the activating natural killer cell receptor NKp30 in humans [J]. J Exp Med, 2009, 206(7): 1495-1503.
- [8] Zafirova B, Wensveen FM, Gulin M, et al. Regulation of immune cell function and differentiation by the NKG2D receptor [J]. Cell Mol Life Sci, 2011, 68 (21): 3519-3529.
- [9] Zafirova B, Mandarić S, Antulov R, et al. Altered NK cell development and enhanced NK cell-mediated resistance to mouse cytomegalovirus in NKG2D-deficient mice [J]. Immunity, 2009, 31 (2): 270-282.
- [10] Laane E, Panaretakis T, Pokrovskaja K, et al. Dexamethasone-induced apoptosis in acute lymphoblastic leukemia involves differential regulation of Bcl-2 family members [J]. Haematologica, 2007, 92 (11): 1460-1469.
- [11] Wissink S, van Heerde EC, van der Burg B, et al. A dual mechanism mediates repression of NF- κ B activity by glucocorticoids [J]. Mol Endocrinol, 1998, 12(3): 355-363.
- [12] Wiemann K, Mittrücker, Feger U, et al. Systemic NKG2D down-regulation impairs NK and CD8 T cell responses *in vivo* [J]. J Immunol, 2005, 175(2): 720-729.
- [13] Coudert JD, Scarpellino L, Gros F, et al. Sustained NKG2D engagement induces cross-tolerance of multiple distinct NK cell activation pathways [J]. Blood, 2008, 111(7): 3571-3578.
- [14] Pietra G, Manaini C, Rivara S, et al. Melanoma cells inhibit natural killer cell function by modulating the expression of activating receptors and cytolytic activity [J]. Cancer Res, 2012, 72 (6): 1407-1415.
- [15] Shen Y, Lu C, Tian W, Wang L, et al. Possible association of decreased NKG2D expression levels and suppression of the activity of natural killer cells in patients with colorectal cancer [J]. Int J Oncol, 2012, 40 (4): 1285-1290.
- [16] Bolanos FD, Tripathy SK. Activation receptor-induced tolerance of mature NK cells *in vivo* requires signaling through the receptor and is reversible [J]. J Immunol, 2011, 186 (5): 2765-2771.
- [17] Champsaur M, Beilke JN, Ogasawara K, et al. Intact NKG2D independent function of NK cells chronically stimulated with the NKG2D ligand Rae-1 [J]. J Immunol, 2010, 185(1): 157-165.
- [18] Sedlak J, Hunakova L, Sulikova M, et al. Protein kinase inhibitor-induced alterations of drug uptake, cell cycle and surface antigen expression in human multidrug-resistant (Pgp and MRP) promyelocytic leukemia HL-60 cells [J]. Leuk Res, 1997, 21 (5): 449-458.
- [19] 梅家转,周健,郭坤元,等. 低表达 MICA/MICB 导致 NK 细胞对人鼻咽癌多药耐药细胞 (CNE2/DDP) 杀伤活性下降 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2006, 13 (5): 349-352.
- [20] Chen Z, Chen L, Baker K, et al. CEACAM1 dampens antitumor immunity by down-regulating NKG2D ligand expression on tumor cells [J]. J Exp Med, 2011, 208(13): 2633-2640.

[收稿日期] 2012-03-13

[修回日期] 2012-04-18

[本文编辑] 韩丹