

• 基础研究 •

顺铂和紫杉醇对 CIK 细胞杀伤食管癌细胞活性的影响及其分子机制研究*

梅家转 徐虹 刘桂举 赵继智

摘要 目的:研究紫杉醇、顺铂对人食管癌 EC9706 细胞 NKG2D 配体表达及 CIK 细胞杀伤活性的影响,探讨相关分子机制。**方法:**MTT 法测定紫杉醇、顺铂对 EC9706 细胞的 24 h 半数抑制浓度 (IC_{50})。流式细胞仪检测 1/2 IC_{50} 浓度紫杉醇、顺铂作用前、后 EC9706 细胞 NKG2D 配体的表达。乳酸脱氢酶释放法检测效靶比 20:1、30:1 时,CIK 细胞对 1/2 IC_{50} 浓度紫杉醇、顺铂作用前、后 EC9706 细胞的杀伤活性。荧光定量 PCR 法检测 1/2 IC_{50} 浓度紫杉醇、顺铂作用 EC9706 细胞 24 h 前、后 DNA 损伤修复基因 (ATM、ATR、CHK1、CHK2、P53) 表达的变化。**结果:**紫杉醇、顺铂的 24 h 半数抑制浓度分别为 10、5 $\mu\text{g/mL}$ 。1/2 IC_{50} 浓度紫杉醇作用 24 h 后,EC9706 细胞 MICB、ULBP2、ULBP3 表达均明显增强 ($P<0.05$),MICA、ULBP1 表达无显著性变化 ($P>0.05$);1/2 IC_{50} 浓度顺铂作用 24 h 后,EC9706 细胞 MICA、MICB、ULBP2、ULBP3 表达均明显增强 ($P<0.05$),ULBP1 表达无显著性变化 ($P>0.05$)。效靶比 20:1、30:1 时,CIK 细胞对 1/2 IC_{50} 浓度紫杉醇、顺铂作用后的 EC9706 细胞的杀伤活性均明显增强 ($P<0.05$)。1/2 IC_{50} 浓度紫杉醇作用 24 h 后,DNA 损伤修复基因表达均无显著性变化 ($P>0.05$);1/2 IC_{50} 浓度顺铂作用 24 h 后,ATM、ATR、CHK1、CHK2 基因表达均明显增加 ($P<0.05$),P53 基因表达无显著性变化 ($P>0.05$)。**结论:**顺铂、紫杉醇均可增强 CIK 细胞的杀伤活性,其分子机制可能与激活 DNA 损伤修复基因,进而增加 NKG2D 配体表达有关。

关键词 食管癌 紫杉醇 顺铂 细胞因子诱导的杀伤细胞 NKG2D 配体 DNA 损伤修复基因

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.20150396

Effect of cisplatin and paclitaxel on the cytotoxicity of cytokine-induced killer cells on esophagus carcinoma and its molecular mechanisms

Jiazhuan MEI, Hong XU, Guiju LIU, Jizhi ZHAO

Correspondence to: Jiazhuan MEI; E-mail: mjzhuang@163.com

Department of Oncology, Zhengzhou People's Hospital, Zhengzhou 450003, China

This work was supported by the Science and Technology Program of Henan Province (No. 112102310126)

Abstract Objective: To explore the effect of paclitaxel (PTX) and cisplatin (DDP) on the expression of NKG2D ligands of human esophagus carcinoma cell EC9706 and on the cytotoxicity of cytokine-induced killer (CIK) cells, as well as to discuss its molecular mechanisms. **Methods:** The half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) values of PTX and DDP against EC9706 cells for 24 h were measured by MTT assay. The expression levels of NKG2D ligands (MICA, MICB, ULBP1, ULBP2, and ULBP3) on the EC9706 cell surface before and after 24 h culture with 1/2 IC_{50} of PTX or DDP were assayed by flow cytometry. Cytotoxicity of CIK cells against EC9706 cells before and after 24 h culture with 1/2 IC_{50} PTX or DDP was analyzed by lactate dehydrogenase release assay at an effector to target cell ratio (E:T) of 20:1 and 30:1, respectively. The expression levels of DNA damage repair genes (ATM, ATR, CHK1, CHK2, and p53) of EC9706 cells before and after 24 h incubation with 1/2 IC_{50} PTX or DDP were detected by quantitative fluorescent PCR. **Results:** The IC_{50} values of PTX and DDP were 10 and 5 $\mu\text{g/mL}$, respectively. MICB, ULBP2, and ULBP3 on EC9706 cells were upregulated after 24 h culture with 1/2 IC_{50} PTX ($P<0.05$), and the expression levels of MICA, MICB, ULBP2, and ULBP3 were higher after 24 h culture with 1/2 IC_{50} DDP ($P<0.05$). Cytotoxicity of CIK cells against EC9706 cells cultured with 1/2 IC_{50} of PTX or DDP at E:T of 20:1 and 30:1 was significantly enhanced compared with those untreated ($P<0.05$). The expression levels of DNA damage repair genes did not significantly increase after 24 h treatment with 1/2 IC_{50} PTX ($P>0.05$), whereas ATM, ATR, CHK1, and CHK2 were over-expressed after 24 h treatment with 1/2 IC_{50} DDP ($P<0.05$). **Conclusion:** PTX or DDP can enhance the susceptibility of EC9706 cells to CIK cell-mediated lysis by upregulating the expression of NKG2D ligands through activating DNA damage repair genes.

Keywords: esophagus carcinoma, paclitaxel, cisplatin, cytokine-induced killer cells, NKG2D ligands, DNA damage repair genes

作者单位:郑州人民医院肿瘤内科(郑州市450003)

*本文课题受河南省科技计划攻关项目(编号:112102310126)资助

通信作者:梅家转 mjzhuang@163.com

本研究组前期研究^[1-2]表明食管癌细胞株及食管癌组织均表达 NKG2D(natural-killer group 2, member D)配体,CIK 细胞通过 NKG2D-NKG2D 配体通路对食管癌细胞发挥杀伤作用。提高肿瘤细胞表面 NKG2D 配体的表达有助于免疫细胞发挥抗肿瘤作用^[3]。研究发现药物通过 DNA 损伤反应促进肿瘤细胞 NKG2D 配体的表达,从而激发免疫细胞的抗肿瘤活性^[4-5]。紫杉醇(paclitaxel,PTX)、顺铂(cisplatin,DDP)是治疗食管癌最常用的化疗药物。本研究将观察紫杉醇、顺铂对 CIK 细胞杀伤食管癌 EC9706 细胞的影响,并探讨其分子机制,为临床开展化疗联合 CIK 细胞治疗晚期食管癌提供理论和实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

RPMI 1640(美国 Gibco 公司);CD3 单抗(以色列 ProSpec-Tany TechnoGene 公司);FITC-CD4/PE-CD8/PerCP-CD3、FITC-CD56、PE-NKG2D、FITC-IgG1、PE-IgG1、鼠抗人 MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3 单抗和 FITC 标记山羊抗鼠 IgG1 二抗(美国 R&D 公司);基因重组人白细胞介素 2(IL-2,辽宁省卫星生物制品研究所);干扰素- γ (IFN- γ ,上海市克隆生物高技术有限公司);淋巴细胞分离液(天津市灏洋生物制品有限公司);RNA 提取试剂盒(德国 QIAGEN 公司);荧光定量 PCR 试剂盒(美国 Life technologies 公司);LDH 释放试验试剂盒(美国 Promega 公司);紫杉醇(海南中化联合制药专业股份有限公司);顺铂(云南省生物谷灯盏花药业公司);人食管癌 EC9706 细胞株(本实验室冻存)。本文符合本院伦理委员会要求。

1.2 方法

1.2.1 引物设计与合成 用 Primer Express 3.0 软件设计 DNA 损伤修复基因(ATM、ATR、CHK1、CHK2、P53)及 β -actin 基因特异引物(表 1),经美国国立生物技术信息中心数据库 BLAST 验证后,由上海英潍捷

基贸易有限公司合成。

1.2.2 CIK 细胞的制备 密度梯度法分离健康人外周血单个核细胞,经淋巴细胞分离液密度离心,生理盐水洗涤获得外周血单个核细胞。用 RPMI 1640 液调至起始密度 $5.0 \times 10^6/\text{mL}$ 。加入 1 000 U/mL 的 IFN- γ ,放置 37 $^{\circ}\text{C}$,5%CO₂培养箱中培养 24 h 后加入浓度为 50 ng/mL 的 CD3mAb,500 U/mL 的 IL-2,以后每 2~3 d 添加 IL-2 浓度为 500 U/mL 的新鲜培养基。培养 14 d,流式细胞术检测 CIK 的表型满足 CD3⁺>90%、CD3⁺CD8⁺>70%、CD3⁺CD56⁺>30%、CD3⁺CD4⁺<30%、NKG2D>80%用于实验。

1.2.3 EC9706 细胞培养 细胞培养基为含 10%胎牛血清、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 青霉素和 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 链霉素的 RPMI 1640。

1.2.4 MTT 法检测 PTX、DDP 半数抑制浓度(IC₅₀) 取对数生长期 EC9706 细胞计数并稀释至 $5 \times 10^4/\text{mL}$,接种于 96 孔板,每孔 200 μL ,各种药物浓度做 3 个平行孔,1 个空白对照。培养 24 h 后,分别加入不同浓度梯度的 PTX、DDP(表 2),培养 24 h 后,每孔加入 MTT(5 mg/mL)20 μL ,继续培养 4 h,吸去上清,加入 DMSO 150 μL 。用酶标仪(波长 490 nm)检测 A 值,计算抑制率,分别计算出 PTX、DDP 的 24 h 半数抑制浓度(IC₅₀)^[6]。

1.2.5 PTX、DDP 对 EC9706 细胞 NKG2D 配体的影响检测 对数生长期 EC9706 细胞,以 $5 \times 10^4/\text{mL}$ 的浓度接种于 2 个 100 mL 培养瓶中,培养 24 h 后,分别加入 PTX、DDP,使其终浓度为使其终浓度相当于 1/2 IC₅₀,以不加药物组做对照,培养 24 h 后,收集 PTX、DDP 处理前、后的 EC9706 细胞,PBS 洗涤,计数细胞,分管。按 1 $\mu\text{g}/10^6$ 细胞浓度分别加入 MICA、MICB、ULBP1、ULBP2、ULBP3 单抗,4 $^{\circ}\text{C}$ 作用 30 min,PBS 洗涤后再加 FITC 标记的山羊抗鼠 IgG1 二抗,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min,PBS 洗涤后上机,以同型 IgG1 抗体为阴性对照。用流式细胞仪分析 1×10^4 细胞中阳性细胞数,计算百分率。为减少误差,重复实验 3 次。

表 1 DNA 损伤修复基因及 β -actin 基因引物序列

Table1 Primer sequences of DNA damage repair genes and β -actin

Gene	Primer sequence	Fragment size (bp)
ATM	5'-GGTGGACATTATGAGAGCTTCTCAG-3'	139
	5'-GCAGCTTCCAACAGCCTCTAGA-3'	
ATR	5'-GAATGGAGTGCATGCTAACAGGT-3'	147
	5'-CCCAGTCTGACACTCCATGTTGT-3'	
CHK1	5'-TGCTCCTCTAGCTCTGCTGCAT-3'	147
	5'-TCTGACACACCACCTGAAGTGACT-3'	
CHK2	5'-AGAGGCAGACCCAGCTCTCA-3'	158
	5'-CCACCACCTTTGTCAAACAGCTCT-3'	

表 1 DNA 损伤修复基因及 β -actin 基因引物序列 (续表 1)Table 1 Primer sequences of DNA damage repair genes and β -actin

Gene	Primer sequence	Fragment size (bp)
P53	5'-TCACACTGGAAGACTCCAGTGGT-3'	163
	5'-GGCAGTGCTCGCTTAGTGCT-3'	
β -actin	5'-TCCTTCCTGGGCATGGACT-3'	162
	5'-AGTGATCTCCTTCTGCATCTCTGT-3'	

表 2 不同浓度 PTX、DDP 对 EC9706 细胞增殖的抑制率影响

Table 2 Paclitaxel and cisplatin decreased the viability of EC97065 cell line

PTX (μ g/mL)	Inhibition rate (%)	DDP (μ g/mL)	Inhibition rate (%)
0.2	6.74 \pm 1.05	0.2	4.77 \pm 0.68
2.0	13.42 \pm 1.72	1.0	14.36 \pm 3.96
10.0	50.64 \pm 3.54	5.0	52.39 \pm 3.47
20.0	79.92 \pm 3.03	25.0	87.87 \pm 2.27

1.2.6 CIK 细胞杀伤活性测定^[7] 采用 4 h 乳酸脱氢酶释放测定法,参照 Cytotox96 Non-Radioactive Cytotoxicity Assay 实验步骤。取对数生长期 EC9706 细胞计数并稀释至 2×10^5 /mL,接种于 96 孔板,每孔 50 μ L。设定效靶比为 20:1、30:1,以培养 14 d 的 CIK 细胞为效应细胞,加入不同浓度 CIK 细胞 50 μ L,按照试剂盒说明,进行 4 h 乳酸脱氢酶释放实验。酶标仪检测 OD 值(波长 490 nm),分别计算 CIK 细胞对 1/2 IC_{50} 浓度 PTX、DDP 作用 24 h 前、后的 EC9706 细胞的杀伤活性。效靶比为 20:1 时,采用抗 NKG2D 单抗阻断 CIK 细胞表面 NKG2D 受体,同法求出 CIK 细胞对 1/2 IC_{50} PTX、1/2 DDP 作用 24 h 后的 EC9706 细胞杀伤活性;实验重复 3 次。

1.2.7 荧光定量 PCR 法检测 DNA 损伤修复基因表达使用 RNA 提取试剂盒分别提取 1/2 IC_{50} 浓度的 PTX、DDP 作用 24 h 前后 EC9706 细胞的 RNA,紫外分光光度计检测纯度并定量,将所得 RNA 逆转录为 cDNA。荧光定量 PCR 反应体系为:SYBR Green PCR Master Mix(2 \times)10 μ L,上游引物(10 mmol/L)0.4 μ L,下游引物(10 mmol/L)0.4 μ L,cDNA 模板 1 μ L,加水至总体积 20 μ L。两步法 PCR 反应条件为:95 $^{\circ}$ C 预变性 10 min,95 $^{\circ}$ C 变性 10 s,60 $^{\circ}$ C 退火/延伸 1 min,共 50 个循环。采用相对定量法处理数据,以 β -actin 为内参, $Z=2^{-\Delta Ct}$,其中 $\Delta Ct=Ct_{目的基因}-Ct_{\beta-actin}$ 。

1.3 统计学分析

实验数据采用 SPSS 10.0 统计软件进行分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组资料之间的比较采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CIK 细胞表型

如图 1 所示,培养 14 d 后,流式细胞仪测定结果为:CD3⁺>90%、CD3⁺CD8⁺>80%、CD3⁺CD56⁺>30%、

CD3⁺CD4⁺<25%、NKG2D>80%,满足 CIK 细胞的表型要求。

2.2 PTX、DDP 对 EC9706 细胞的半数抑制浓度

如表 2 所示,不同浓度的 PTX、DDP 作用于 EC9706 细胞 24 h,随着浓度的增加,其对肿瘤细胞的抑制作用逐渐增强,PTX、DDP 对 EC9706 细胞的 24 h 半数抑制浓度(IC_{50})分别为 10、5 μ g/mL。

2.3 PTX、DDP 作用前、后 EC9706 细胞表面 NKG2D 配体表达情况

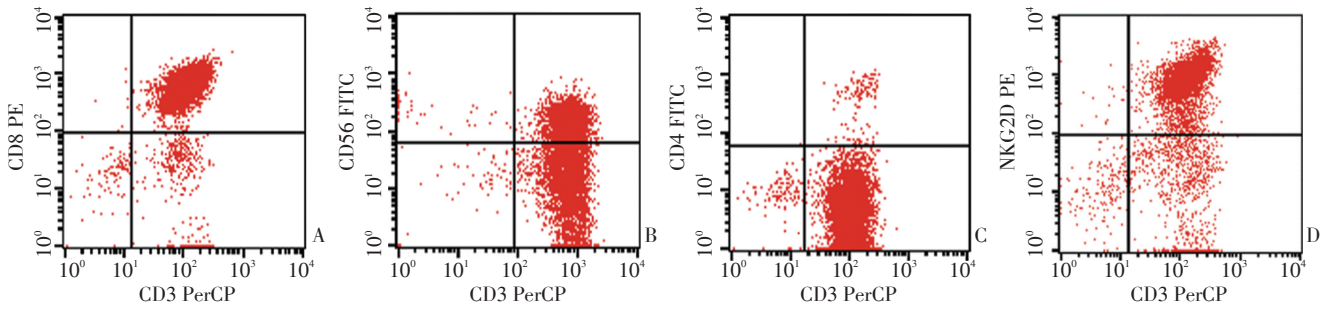
如图 2、表 3 所示,PTX、DDP 处理前 EC9706 细胞 NKG2D 配体表达分别为(蓝色曲线代表同型对照单抗,红色表示原发表达):MICA(27.54 \pm 0.90)%、MICB(3.77 \pm 0.90)%、ULBP1(3.18 \pm 1.56)%、ULBP2(42.78 \pm 0.34)%、ULBP3(4.82 \pm 0.49)%。1/2 IC_{50} PTX(黑色曲线)与 EC9706 细胞共孵育 24 h 后,EC9706 细胞表面 MICB、ULBP2、ULBP3 表达较作用前明显增强($P < 0.05$),MICA、ULBP1 无显著性变化;1/2 IC_{50} DDP(绿色曲线)与 EC9706 细胞共孵育 24 h 后,EC9706 细胞表面 MICA、MICB、ULBP2、ULBP3 表达明显增强($P < 0.05$),ULBP1 无显著性变化。

2.4 PTX、DDP 作用前、后 EC9706 细胞对 CIK 细胞的杀伤敏感性

如表 4 所示,效靶比分别为 20:1、30:1 时,1/2 IC_{50} 浓度的 PTX、DDP 作用后较作用前相比,CIK 细胞对 EC9706 细胞的杀伤活性均明显增高,且差异均有统计学意义($P < 0.05$)。效靶比 20:1,抗 NKG2D 单抗阻断 CIK 细胞表面 NKG2D 受体后,CIK 细胞对 1/2 IC_{50} PTX、1/2 DDP 作用后的 EC9706 细胞杀伤活性分别为(11.98 \pm 1.72)%、(11.26 \pm 1.19)%,与作用前相比差异均有统计学意义($P < 0.05$),抗 NKG2D 单抗阻断 CIK 细胞表面 NKG2D 受体后,CIK 细胞对 1/2 IC_{50} 浓度的 PTX、DDP 作用后的 EC9706 细胞杀伤活性组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.5 PTX、DDP 对 DNA 损伤修复基因表达的影响

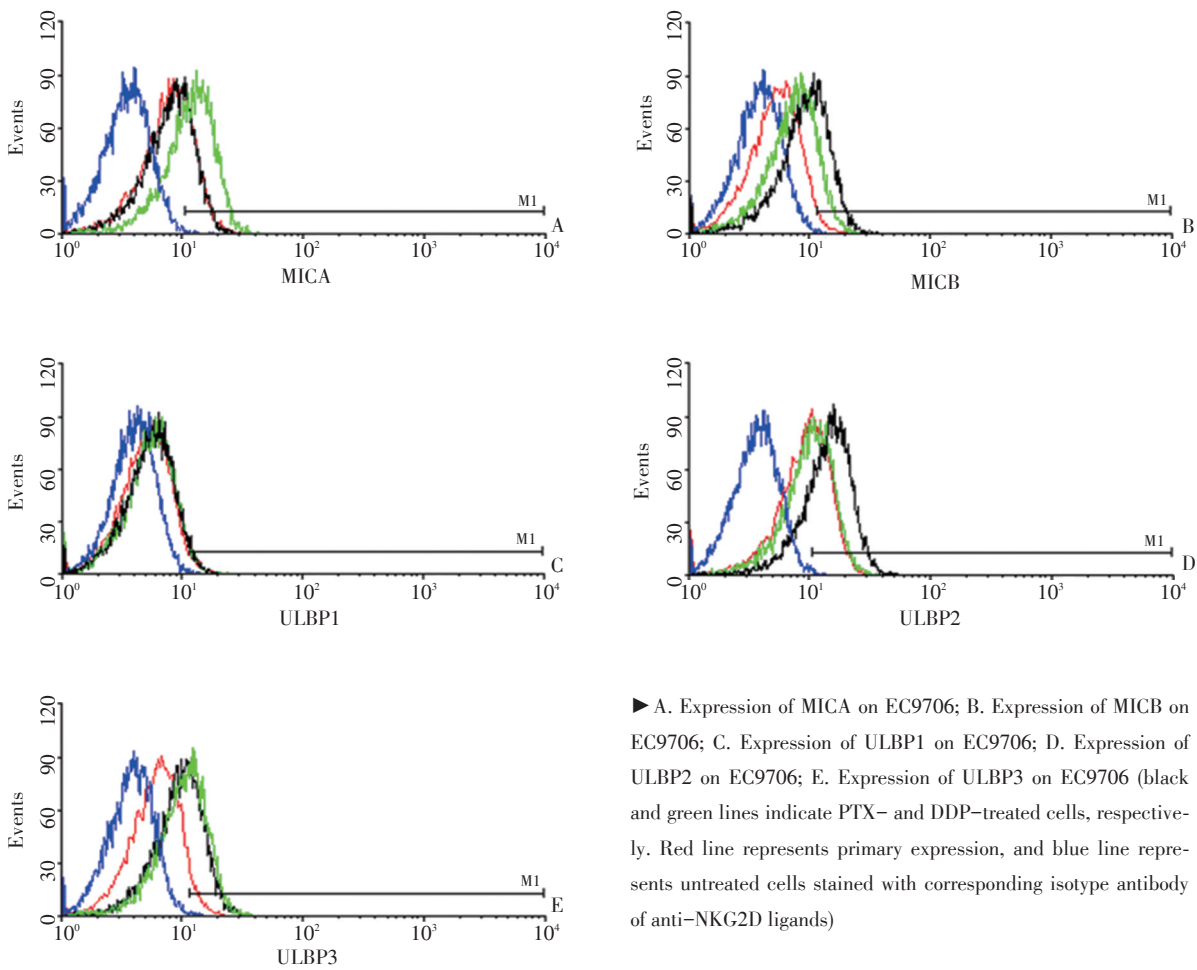
如表 5 所示,1/2 IC_{50} 浓度的顺铂作用 24 h 后,EC9706 细胞的 ATM、ATR、CHK1、CHK2 基因表达均明显增加($P < 0.05$),P53 基因表达无显著性变化($P > 0.05$);1/2 IC_{50} 浓度的紫杉醇作用 24 h 后,EC9706 细胞的 ATM、ATR、CHK1、CHK2、P53 基因表达均无明显变化($P > 0.05$)。



A. CD3⁺CD8⁺>80%; B. CD3⁺CD56⁺>30%; C. CD3⁺CD4⁺<25%; D. NKG2D>80%

图1 CIK 细胞表型

Figure 1 Phenotype of CIK cells



► A. Expression of MICA on EC9706; B. Expression of MICB on EC9706; C. Expression of ULBP1 on EC9706; D. Expression of ULBP2 on EC9706; E. Expression of ULBP3 on EC9706 (black and green lines indicate PTX- and DDP-treated cells, respectively. Red line represents primary expression, and blue line represents untreated cells stained with corresponding isotype antibody of anti-NKG2D ligands)

图2 PTX、DDP 对 EC9706 细胞 NKG2D 配体表达的影响

Figure 2 Expression of NKG2D ligands on EC9706 cells before and after treatment with PTX or DDP

表3 1/2 IC₅₀ PTX、DDP 对 EC9706 细胞 NKG2D 配体表达的影响 (%)

Table 3 Expression of NKG2D ligands on EC9706 cells before and after treatment with 1/2 IC₅₀ PTX or DDP

Item	MICA	MICB	ULBP1	ULBP2	ULBP3
Control	27.54±0.90	3.77±0.90	3.18±1.56	42.78±0.34	4.82±0.49
DDP	36.61±1.32*	19.91±1.32*	4.47±0.23	48.33±0.12*	16.06±1.00*
PTX	26.90±0.39	39.59±3.18*	4.34±0.15	52.80±0.44*	12.45±0.99*

*P<0.05 vs. control

表 4 PTX、DDP 作用前、后 EC9706 细胞对 CIK 细胞的杀伤敏感性比较 ($\bar{x}\pm s, \%$)

Table 4 Cytotoxicity of CIK cells against EC9706 cells before and after treatment with PTX or DDP ($\bar{x}\pm s, \%$)

Item	20:1	30:1
Control	37.08±0.62	44.84±1.06
DDP	59.33±2.10*	68.11±0.86*
PTX	57.65±0.60*	68.21±1.01*

* $P<0.05$ vs. control

表 5 PTX、DDP 对食管癌 EC9706 细胞 DNA 损伤修复基因表达的影响

Table 5 Expression of DNA damage repair genes of EC9706 cells before and after treatment with PTX or DDP

Gene	Control	DDP	PTX
ATM	3.82E-03±1.47E-04	6.36E-03±5.23E-04*	3.07E-03±8.02E-04
ATR	4.87E-03±6.34E-04	7.78E-03±2.44E-04*	4.04E-03±3.51E-04
CHK1	4.03E-03±7.53E-04	8.28E-03±1.66E-03*	4.45E-03±4.57E-04
CHK2	3.54E-03±5.22E-04	5.85E-03±4.14E-04*	3.01E-03±1.14E-04
P53	3.37E-04±7.63E-05	4.73E-04±9.49E-05	4.31E-04±7.09E-05

* $P<0.05$ vs. control

3 讨论

化疗和靶向治疗作为晚期肿瘤患者主要治疗方法,其抗肿瘤的分子靶点相对明确。然而化疗和靶向治疗对机体免疫系统的影响及对免疫细胞抗肿瘤活性的影响尚不明确。越来越多体内外研究表明,化疗和靶向治疗影响机体免疫系统的抗肿瘤活性,甚至其体内抗肿瘤效果与患者体内免疫细胞功能密不可分。研究表明赫赛汀治疗 HER-2 高表达乳腺癌近期效果和远期疗效与患者体内 NK 细胞的不同功能密切相关^[8]。伊马替尼治疗慢性粒细胞白血病患者时,提高患者体内 NK 细胞表面 NKG2D 受体表达增强,增强了 NK 细胞的活性,与伊马替尼共同发挥抗肿瘤作用^[9]。新近的研究表明化疗药物吉西他滨能够诱导肿瘤细胞表面 NKG2D 配体表达,增强免疫细胞对肿瘤细胞的杀伤活性,吉西他滨联合免疫细胞输注提高了晚期肿瘤患者的远期效果^[10],上述研究结果提示化疗和靶向治疗体内抗肿瘤作用与体内免疫系统的作用密不可分,NKG2D-NKG2D 配体系统起关键作用。

NKG2D-NKG2D 配体信号通路在抗肿瘤免疫中发挥重要作用,NKG2D 表达在 NK 细胞、 $\gamma\delta$ T 细胞和 CD8⁺T 细胞表面,是机体免疫细胞抗肿瘤的主要活化性受体^[11]。NKG2D 配体包括两大类^[11]:MHC-I 类链相关分子 A 或 B(MHC class I chain-related molecule A or B;MICA, MICB)及 UL16 结合蛋白(UL16 binding proteins;ULBP1, ULBP2, ULBP3)。NKG2D 配体广泛表达于肿瘤细胞表面,免疫细胞表面 NKG2D 受体与

肿瘤细胞表面 NKG2D 配体结合,激发抗肿瘤免疫应答。

CIK 细胞是人外周血单个核细胞在体外经多种细胞因子共同培养一段时间后获得的异质细胞群。该群体细胞表面表达 NKG2D 受体。CIK 细胞对肿瘤细胞杀伤作用依赖 NKG2D 受体和肿瘤细胞表面 NKG2D 配体结合,释放穿孔素和颗粒酶发挥抗肿瘤作用^[12-13]。NKG2D 配体表达于肿瘤细胞表面,是 CIK 细胞识别肿瘤细胞的重要分子,增加 NKG2D 配体表达能显著增强 CIK 细胞对肿瘤细胞的杀伤活性^[14-15]。研究表明 DNA 损伤反应能启动 DNA 损伤修复系统,上调 DNA 损伤修复相关基因(ATM、ATR、CHK1、CHK2、P53)等表达,进而诱导肿瘤细胞表面 NKG2D 配体表达,增强免疫细胞的抗肿瘤活性^[5]。

化疗是晚期食管癌最主要的治疗手段,PTX、DDP 联合化疗是该类患者的标准治疗方案。本研究证实 PTX、DDP 作用 EC9706 细胞后,CIK 细胞对 EC9706 细胞的杀伤活性明显提高,表明 PTX、DDP 提高了 EC9706 细胞对 CIK 细胞杀伤的敏感性。进一步对 PTX、DDP 提高 EC9706 细胞对 CIK 细胞杀伤敏感性的机制进行了研究,结果显示 PTX、DDP 均能提高 EC9706 细胞表面 NKG2D 配体的表达。DDP 是通过 DNA 损伤反应上调 ATM、ATR、CHK1、CHK2 表达发挥作用,而 PTX 上调 NKG2D 配体表达作用与 DNA 损伤反应无关,可能与紫杉醇是细胞有丝分裂抑制剂,不能直接造成 DNA 损伤有关,相关分子机制有待进一步研究。

临床有多项研究证实,化疗联合自体 CIK 细胞治疗能够延长肿瘤患者的生存期^[10,16],结合本研究认为紫杉醇、顺铂为主的联合化疗方案可与 CIK 细胞组成过继性免疫化疗方案,有望成为治疗食管癌的新方法。

参考文献

- Mei JZ, Zhao JZ, Yang GY, et al. Expression of MICA/B Protein in lung adenocarcinoma and clinical significance[J]. Chin J Oncol, 2012, 34(10):745-747.[梅家转,赵继智,杨广英,等.食管癌组织中组织相容性复合体-I 类分子链相关蛋白 A/B 表达及临床意义[J].中华肿瘤杂志,2012,34(10):745-747.]
- Mei JZ, Liu GJ, Zhang XJ, et al. IL-12 enhance the cytotoxicity of cytokine-induced killer cells against esophageal carcinoma EC9706 cells[J]. Chinese Journal of Cancer Biotherapy, 2013, 20(2):197-200.[梅家转,刘桂举,张晓娟,等.IL-12 增强 CIK 细胞对食管癌 EC9706 细胞的杀伤活性[J].中国肿瘤生物治疗杂志,2013, 20(2):197-200.]
- Wang WJ, Qin SH, Zhang JW, et al. Combination doxorubicin and interferon- α therapy stimulates immunogenicity of murine pancreatic cancer Panc02 cells via up-regulation of NKG2D ligands and MHC class I[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2014, 15(22):

9667-9672.

[4] Leung WH, Vong QP, Lin W, et al. Modulation of NKG2D ligand expression and metastasis in tumors by spironolactone via RXR γ activation[J]. J Exp Med, 2013, 210(12):2675-2692.

[5] Cerboni C, Fionda C, Soriani A, et al. The DNA Damage Response: A Common Pathway in the Regulation of NKG2D and DNAM-1 Ligand Expression in Normal, Infected, and Cancer Cells[J]. Front Immunol, 2014, 4:508.

[6] Zhang XJ, Mei JZ, Zhao JZ, et al. Sequential effect of Ciplatin on killing effect of cell to human lung adenocarcinoma A549 cell line [J]. Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment, 2013, 20(16):1229-1231. [张晓娟, 梅家转, 赵继智, 等. 顺铂对 CIK 细胞杀伤肺腺癌 A549 细胞敏感性影响的研究[J]. 中华肿瘤防治, 2013, 20(16):1229-1231.]

[7] Mei JZ, Liu GJ, Li RJ, et al. Enhancement of Cytotoxicity against IL-15 Up-regulate NKG2D Expression on Cytokine-induced Killer Cells[J]. Cancer Research on Treatment, 2011, 38(5):495-497. [梅家转, 刘桂举, 李瑞君, 等. IL-15 上调 NKG2D 表达对 CIK 细胞杀伤活性的增强作用[J]. 肿瘤防治研究, 2011, 38(5):495-497.]

[8] Beano A, Signorino E, Evangelista A, et al. Correlation between NK function and response to trastuzumab in metastatic breast cancer patients[J]. J Transl Med, 2008, 6:25.

[9] Boissel N, Rea D, Tieng V, et al. BCR/ABL oncogene directly controls MHC class I chain-related molecule A expression in chronic myelogenous leukemia[J]. Immunol, 2006, 176(8):5108-5116.

[10] Morisaki T, Hirano T, Koya N, et al. NKG2D-directed cytokine-activated killer lymphocyte therapy combined with gemcitabine for patients with chemoresistant metastatic solid tumors[J]. Anticancer Res, 2014, 34(8):4529-4538.

[11] Ullrich E, Koch J, Cerwenka A, et al. New prospects on the NKG2D/NKG2DL system for oncology[J]. Oncoimmunology, 2013, 2(10):e26097.

[12] Morisaki T, Onishi H, Koya N, et al. Combinatorial cytotoxicity of gemcitabine and cytokine-activated killer cells in hepatocellular carcinoma via the NKG2D-MICA/MICB system[J]. Anticancer Res, 2011, 31(7):2505-2510.

[13] Mesiano G, Todorovic M, Gammaitoni L, et al. Cytokine-induced killer (CIK) cells as feasible and effective adoptive immunotherapy for the treatment of solid tumors[J]. Expert Opin Biol Ther, 2012, 12(6):673-684.

[14] Chen Y, Lin G, Guo ZQ, et al. Effects of MICA expression on the prognosis of advanced non-small cell lung cancer and the efficacy of CIK therapy[J]. PLoS One, 2013, 8(7): e69044.

[15] Liu C, Suksanpaisan L, Chen YW, et al. Enhancing cytokine-induced killer cell therapy of multiple myeloma[J]. Exp Hematol, 2013, 41(6):508-517.

[16] Jäkel CE, Vogt A, Gonzalez-Carmona MA, et al. Clinical studies applying cytokine-induced killer cells for the treatment of gastrointestinal tumors[J]. J Immunol Res, 2014, 2014:897214.

(2015-04-09 收稿)
(2015-05-22 修回)
(编辑:周晓颖)



作者简介

梅家转 专业方向为肿瘤的综合治疗。
E-mail: mjzhuang@163.com

• 读者 • 作者 • 编者 •

2015 天津乳腺癌防治研究国际研讨会成功召开

2015 年 5 月由中国抗癌协会、中国抗癌协会乳腺癌专业委员会主办, 天津医科大学肿瘤医院承办的 2015 天津乳腺癌防治研究国际研讨会在天津召开。

此次会议的主题为乳腺癌研究的前沿与方向, 会议邀请来自美国、日本、瑞典等国际知名的乳腺癌研究专家, 以及包括香港、台湾在内的我国 30 余个省、市、自治区的乳腺癌领域的研究专家, 分别针对乳腺癌基础研究及流行病学、乳腺癌转化医学与分子分型、乳腺癌影像诊断与外科治疗、内分泌治疗、靶向治疗、放射治疗、综合及个体化治疗等方面进行学术交流, 旨在传递国际乳腺癌领域最新的研究成果, 交流乳腺癌诊断及治疗最新的进展和技术, 为广大的乳腺癌医疗工作者提供与该领域国际、国内顶尖专家面对面交流的机会。此次会议的交流及报告代表了世界上最先进的乳腺癌诊治水平, 为国内乳腺癌从业医疗人员与国际知名乳腺癌研究专家提供了一个出色的交流合作的平台。

——本刊编辑部