

· 神经肿瘤的免疫治疗专题 ·

相同效靶比下不同靶细胞数量对NK-92MI杀伤靶细胞的影响

潘长青 钱宇星 徐孟辉 张伟

100070 首都医科大学附属北京天坛医院神经外科(潘长青、钱宇星、张伟); 100070 北京市神经外科研究所(徐孟辉)

通信作者: 张伟, Email: zhangwei_vincent@mail.ccmu.edu.cn

DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2025.11.006

【摘要】目的 探究在相同效靶比(E : T)下,不同的靶细胞数量对NK-92MI杀伤靶细胞效果的影响及其可能的原因。**方法** 在标准的4 h杀伤条件下,将NK-92MI分别与数量为20 000、10 000、5 000、2 500的K562、BNI 2-4-S、BNI 1-3-S、BNI 19-1-S细胞共培养,检测靶细胞的溶解比例来判断NK-92MI的杀伤效能,并与数量为2 500、5 000、10 000、20 000的K562和BNI 19-1-S细胞进行耦联实验以探究NK-92MI与靶细胞的结合情况。**结果** 在杀伤实验中,当靶细胞数量分别为2 500、5 000、10 000、20 000时,NK-92MI与K562细胞共培养后的杀伤比例分别为(16.62 ± 2.09)%、(20.84 ± 1.36)%、(31.00 ± 2.01)%、(47.80 ± 1.30)%;与BNI 2-4-S细胞共培养后的杀伤比例分别为(29.94 ± 2.27)%、(39.64 ± 2.47)%、(49.29 ± 1.27)%、(64.25 ± 1.92)%;与BNI 1-3-S细胞共培养后的杀伤比例分别为(41.81 ± 3.59)%、(48.59 ± 3.41)%、(57.10 ± 3.25)%、(64.55 ± 1.90)%;与BNI 19-1-S细胞共培养后的杀伤比例分别为(41.39 ± 2.39)%、(47.85 ± 3.15)%、(54.09 ± 0.67)%、(57.82 ± 2.48)%。NK-92MI的杀伤效能随着靶细胞数量的增加而增加,差异有统计学意义(均P < 0.01)。细胞耦联试验中,当靶细胞数量分别为2 500、5 000、10 000、20 000时,NK-92MI与K562细胞的结合比例分别为(1.85 ± 0.11)%、(5.30 ± 0.37)%、(7.79 ± 0.08)%、(13.10 ± 0.30)%;与BNI 19-1-S细胞的结合比例分别为(2.58 ± 0.21)%、(6.69 ± 0.31)%、(8.46 ± 0.20)%、(13.37 ± 0.78)%。随着靶细胞数增加,NK-92MI与靶细胞的结合显著增加,差异有统计学意义(均P < 0.01)。**结论** 在相同效靶比下,不同的靶细胞数量会影响NK-92MI与靶细胞的接触程度,从而影响NK-92MI对其的杀伤效能,在效靶比相同的情况下,靶细胞越多,NK-92MI与靶细胞接触越充分,NK-92MI对其杀伤效能越好。

【关键词】 NK-92MI; 细胞毒性; 细胞耦联; K562; 胶质瘤干细胞

基金项目: 研究型病房卓越临床研究计划(BRWEP2024W032040200); 北京高等学校卓越青年科学家计划(JWZQ20240101026); 北京市医院管理中心“扬帆”计划临床技术创新项目(ZLRK202314); 北京市医院管理中心“登峰”人才培养计划(DFL20240503); 首都医科大学优秀青年人才项目(A类)(A2205)

Effect of different target cell numbers on the cytotoxicity of NK-92MI against target cells with the same effector-to-target ratio Pan Changqing, Qian Yuxing, Xu Menghui, Zhang Wei

*Department of Neurosurgery, Beijing Tiantan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100070, China
(Pan CQ, Qian YX, Zhang W); Beijing Neurosurgical Institute, Beijing 100070, China (Xu MH)*

Corresponding author: Zhang Wei, Email: zhangwei_vincent@mail.ccmu.edu.cn

【Abstract】Objective To investigate the effect of different numbers of target cells on the cytotoxicity of NK-92MI against target cells at the same effector-to-target (E : T) ratio and its potential underlying mechanisms. **Methods** Under standard 4-hour cytotoxicity conditions, NK-92MI cells were co-cultured with K562, BNI 2-4-S, BNI 1-3-S, and BNI 19-1-S cells in quantities of 20 000, 10 000, 5 000, and 2 500 cells, respectively, and the lysis ratio of target cells was detected to determine the cytotoxic efficacy of NK-92MI. NK-92MI was coupled with K562 and BNI 19-1-S cells in quantities of 2 500, 5 000, 10 000, and 20 000 to investigate the binding of NK-92MI to target cells. **Results** In the cytotoxicity assay, when the number of target cells was 2 500, 5 000, 10 000, and 20 000, the lysis ratios of NK-92MI co-cultured with K562 cells were (16.62 ± 2.09)%, (20.84 ± 1.36)%, (31.00 ± 2.01)%, and (47.80 ± 1.30)%, respectively; the lysis ratios

of NK-92MI co-cultured with BNI 2-4-S cells were $(29.94 \pm 2.27)\%$, $(39.64 \pm 2.47)\%$, $(49.29 \pm 1.27)\%$, and $(64.25 \pm 1.92)\%$, respectively; the lysis ratios of NK-92MI co-cultured with BNI 1-3-S cells were $(41.81 \pm 3.59)\%$, $(48.59 \pm 3.41)\%$, $(57.10 \pm 3.25)\%$, and $(64.55 \pm 1.90)\%$, respectively; the lysis ratios of NK-92MI co-cultured with BNI 19-1-S cells were $(41.39 \pm 2.39)\%$, $(47.85 \pm 3.15)\%$, $(54.09 \pm 0.67)\%$, and $(57.82 \pm 2.48)\%$, respectively. The cytotoxic efficacy of NK-92MI increased with the number of target cells, with statistically significant differences (all $P < 0.01$). In the cell-coupling assay, when the target cell numbers were 2, 500, 5, 000, 10, 000, and 20 000, the binding ratios of NK-92MI to K562 cells were $(1.85 \pm 0.11)\%$, $(5.30 \pm 0.37)\%$, $(7.79 \pm 0.08)\%$, and $(13.10 \pm 0.30)\%$, respectively. In the cell coupling assay, when the target cell numbers were 2 500, 5 000, 10 000, and 20 000, the binding ratios of NK-92MI to K562 cells were $(1.85 \pm 0.11)\%$, $(5.30 \pm 0.37)\%$, $(7.79 \pm 0.08)\%$, and $(13.10 \pm 0.30)\%$, respectively; and the binding ratios of NK-92MI to BNI 19-1-S cells were $(2.58 \pm 0.21)\%$, $(6.69 \pm 0.31)\%$, $(8.46 \pm 0.20)\%$, and $(13.37 \pm 0.78)\%$, respectively. As the number of target cells increased, the binding of NK-92MI to target cells significantly increased, with statistically significant differences (all $P < 0.01$). **Conclusions** At the same E : T ratio, varying numbers of target cells influence the degree of contact between NK-92MI and target cells, thereby affecting the cytotoxic efficacy of NK-92MI against them. At the same E : T ratio, the greater the number of target cells, the more extensive the contact between NK-92MI and target cells, and the higher the cytotoxic efficacy of NK-92MI against them.

【Key words】 NK-92MI; Cytotoxicity; Cell coupling; K562; Glioma stem cells

Fund programs: Research Ward Clinical Excellence Research Program (BRWEP2024W032040200); Beijing Higher Education Institutions Outstanding Young Scientists Program (JWZQ20240101026); "Yangfan" Program Clinical Technology Innovation Project of Beijing Hospitals Authority (ZLRK202314); "Dengfeng" Talent Development Program of Beijing Hospitals Authority (DFL20240503); Outstanding Young Talent Project of Capital Medical University (Class A) (A2205)

NK-92 细胞衍生于 1 例患有急进性非霍奇金淋巴瘤的成年男性外周血单核细胞自然杀伤(natural killer, NK) 细胞株^[1]。NK-92MI 细胞是通过转染得到的源自 NK-92 细胞的 IL-2 非依赖的 NK 细胞株。NK-92 细胞在研究 NK 细胞的生物学功能、细胞免疫疗法创新及临床应用领域被广泛使用^[2]。NK-92 细胞缺乏绝大部分的杀伤抑制性受体而保留着对多种恶性肿瘤的杀伤功能, K562 是其中一种常见的敏感靶细胞^[3-4]。然而, 在相同的效靶比条件下, 不同的研究中 NK-92 对 K562 细胞的溶解效应相差很大, 在 10 : 1 效靶比条件下, 靶细胞溶解比例为 10% ~ 60%^[5-8]。通过分析相关研究中的实验方案, 结果显示除了培养时间不同, 不同研究所用的靶细胞数量不同, 而这可能是带来结果差异的原因。为探究在相同效靶比条件下, 不同的靶细胞数量是否对 NK-92MI 细胞溶解靶细胞效应产生影响, 本实验通过 NK-92MI 与不同靶细胞共培养证实这个猜想, 并提出可能的作用机制。

一、材料与方法

1. 细胞培养: NK-92MI 细胞使用专用培养基培养(Percell 公司货号: CM-0533), 三株胶质瘤干细胞系(BNI-19-1-S、BNI-2-4-S、BNI-1-3-S) 在北京市神经外科研究所分子病理室建立。胶质母细胞瘤组织样本(IDH 野生型, 依据 2021 年 WHO CNS 肿瘤分类^[9], 为 WHO 4 级) 取自在北京天坛医院

接受手术切除的患者。该研究已获得首都医科大学附属北京天坛医院伦理委员会审批(伦理批号: KY2024-174-02)。组织用预冷的杜氏改良伊格尔培养基(DMEM) 清洗, 轻轻剪碎, 随后用 10 ml 胰蛋白酶在 37℃ 下消化 20 min。细胞悬液通过 200 目筛网过滤以获取单细胞, 这些单细胞在无血清培养基 [DMEM/F12 补充有 2% B27、20 ng/ml 表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF) 和 20 ng/ml 成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)] 中培养, 所有的细胞系均通过 STR 分析鉴定为标记细胞系无交叉污染。干细胞系在添加 B27 (Gibco)、人表皮生长因子(human epidermal growth factor, hEGF; Peprotech, 20 ng/ml) 和人成纤维细胞生长因子(human fibroblast growth factor, hFGF; Peprotech, 20 ng/ml) 的 DMEM/F12 中培养, 悬浮干细胞球使用 Accutase(Millipore) 消化传代。

2. 杀伤实验: 利用慢病毒转染方法使 K562、BNI 2-4-S、BNI 1-3-S、BNI 19-1-S 表达荧光素酶并作为靶细胞, 在 E : T=10 : 1, 37℃ 的条件下, 分别以 20 000、10 000、5 000、2 500 的细胞数, 在 96 孔板中与 NK-92MI 细胞共培养 4 h 后, 将培养板室温放置 20 min, 加入等体积混合后的 Bright-Lite Luciferase Assay System 底物(Vazyme 公司, 货号: DD1204), 用酶标仪(Tecan 公司, 型号 M200Pro) 检测 Luciferase 荧光强度。

3. 细胞耦联实验: NK-92MI 细胞经慢病毒转染携带绿色荧光蛋白, K562 或 BNI 19-1-S 靶细胞使用活细胞染料染色橙色荧光(AAT Bioauest公司, 货号Cat# 22622, PE通道)标记。NK细胞和靶细胞按E:T=2:1混合,于37℃、5% CO₂条件下分别以20 000、10 000、5 000、2 500的细胞数共孵育15 min。孵育后轻柔重悬细胞,立即进行流式细胞术分析。计算双阳性(GFP⁺PE⁺)细胞群占比,以此定量细胞耦联。

4. 统计学方法:采用SPSS 27.0统计软件进行数据处理。计数资料采用频数表示;采用Shapiro-Wilk法检验计量资料的正态性,符合正态分布的计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较单因素ANOVA分析,多重比较采用Tukey's HSD检验。双侧检验,以P<0.05为差异有统计学意义。

二、结果

1. 相同效靶比下不同靶细胞数量NK-92MI细胞杀伤靶细胞的效能比较:结果显示,随着靶细胞数量增多,与NK-92MI细胞共培养后其裂解比例越大,差异有统计学意义(均P<0.05),即NK-92MI细胞对其的杀伤效能越好。见表1。多重组间两两比较显示,靶细胞为K562时,靶细胞数量2 500与5 000组间比较,差异有统计学意义(P=0.022),其余不同靶细胞数量组间比较,差异均有统计学意义(均P<0.01);靶细胞为BNI 2-4-S时,不同靶细胞数量组间两两比较,差异均有统计学意义(均P<0.01);靶细胞为BNI 1-3-S时,不同靶细胞数量组间两两比较,差异均有统计学意义(均P<0.01);靶细胞为BNI 19-1-S时,靶细胞数量10 000与20 000组间比较,

表1 相同效靶比下不同靶细胞数量NK-92MI细胞对靶细胞的杀伤比例比较(% , $\bar{x} \pm s$)

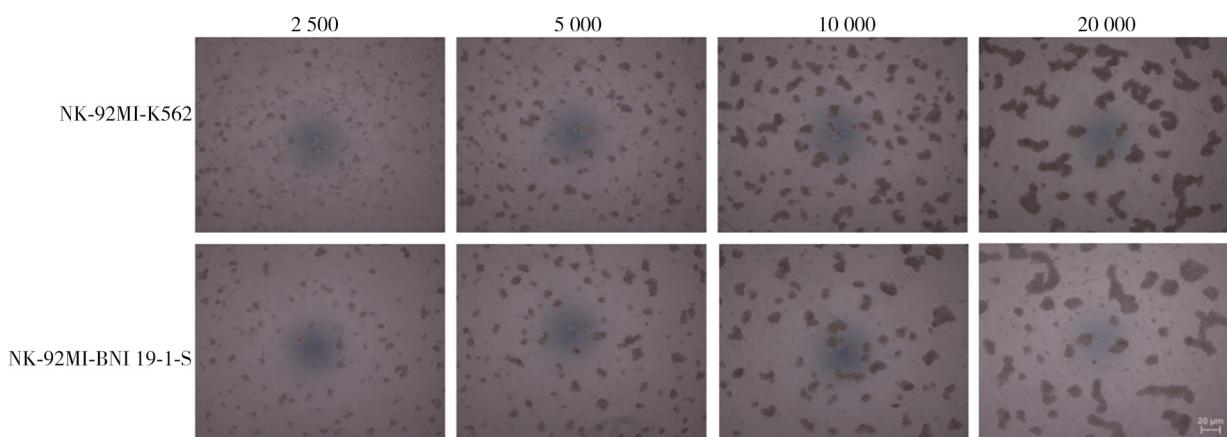
靶细胞 数量	K562	BNI 2-4-S	BNI 1-3-S	BNI 19-1-S
2 500	16.62 ± 2.09	29.94 ± 2.27	41.81 ± 3.59	41.39 ± 2.39
5 000	20.84 ± 1.36	39.64 ± 2.47	48.59 ± 3.41	47.85 ± 3.15
10 000	31.00 ± 2.01	49.29 ± 1.27	57.10 ± 3.25	54.09 ± 0.67
20 000	47.80 ± 1.30	64.25 ± 1.92	64.55 ± 1.90	57.82 ± 2.48
F值	257.80	206.80	53.23	37.46
P值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:NK自然杀伤

差异无统计学意义(P=0.169),其余不同靶细胞数量组间比较,差异均有统计学意义(均P<0.05)。

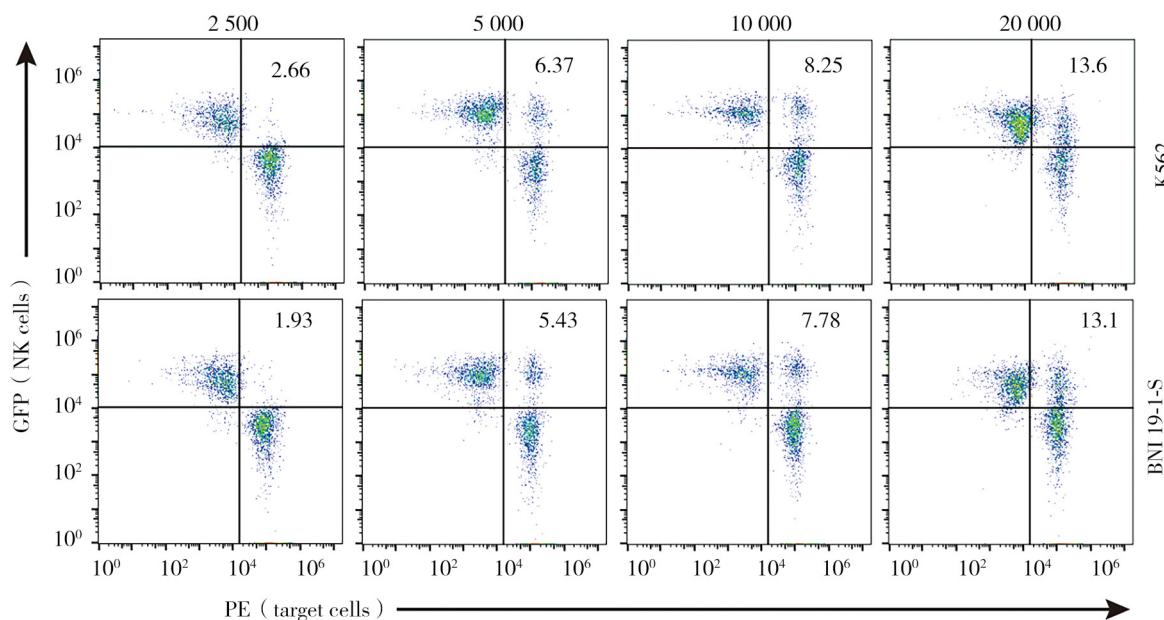
2. 相同效靶比下不同靶细胞数量NK-92MI与靶细胞共培养聚集成团情况观察:将数量为20 000、10 000、5 000、2 500的靶细胞(K562、BNI 19-1-S)在E:T=10:1,37℃的条件下,与NK-92MI细胞共培养4 h后,在显微镜下观察其聚集情况。在光学显微镜下,随着靶细胞数量增多,可见培养的细胞成团比例越高,散在细胞越少。见图1。

3. NK-92MI细胞与K562和BNI 19-1-S细胞的结合情况比较:结果显示,随着靶细胞数量的增加,NK-92MI细胞与K562、BNI 19-1-S细胞的结合率也增加,差异均有统计学意义(均P<0.05),两组趋势均相同;两两比较结果显示,靶细胞为K562时,不同靶细胞数量组间两两比较,差异均有统计学意义(均P<0.01);靶细胞为BNI 19-1-S时,不同靶细胞数量组间两两比较,差异均有统计学意义(均P<0.01)。见图2、表2。



注:图中可见在相同效靶比下,随着靶细胞数量的增加,NK细胞和靶细胞的聚集成团更加明显;蔡司Axiolab Observer显微镜,×50;NK自然杀伤

图1 光学显微镜观察NK-92MI细胞和靶细胞K562和BNI 19-1-S的聚集情况



注:右上象限表示GFP⁺和PE⁺双阳性的细胞群,其占比随着靶细胞数量的增加而增加; NK cells 自然杀伤细胞; target cells 靶细胞

图2 NK-92MI细胞和靶细胞K562和BNI 19-1-S的耦合情况

表2 相同效靶比下不同靶细胞数量NK-92MI与靶细胞的细胞耦联实验结合比例比较(%, $\bar{x} \pm s$)

靶细胞数量	K562	BNI 19-1-S
2 500	1.85 ± 0.11	2.58 ± 0.21
5 000	5.30 ± 0.37	6.69 ± 0.31
10 000	7.79 ± 0.08	8.46 ± 0.20
20 000	13.10 ± 0.30	13.37 ± 0.78
F值	1 105.00	306.10
P值	<0.001	<0.001

注: NK 自然杀伤

讨论 NK-92MI与4种靶细胞进行的杀伤实验都显示在相同效靶比的条件下,靶细胞数量增加,NK-92MI对靶细胞的杀伤效能也增加,这说明杀伤效能随着靶细胞数量的增加而增加是一种普遍现象。细胞耦联实验也证明了在相同效靶比条件下,靶细胞数量越多,NK-92MI细胞与靶细胞的结合越充分,形成的细胞耦联越多。因而可知,在相同效靶比条件下,不同的靶细胞数量会影响NK-92MI与靶细胞的接触程度,从而影响NK-92MI对其杀伤效能。经典理论认为,NK细胞杀伤靶细胞分为2种方式,一是Fc γ RIIIA受体介导的抗体依赖细胞介导的细胞毒作用(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC);二是NK毒性^[10-12]。随着对NK细胞活性受体的研究,发现NK毒性也由不同的活性受体介导^[13-14],黏附分子在其中也发挥重

要作用^[15-16]。但不论哪种方式,NK细胞杀伤靶细胞均以细胞接触为前提。结合经典杀伤机制来看,本研究的发现进一步完善了NK细胞杀伤的“接触依赖模型”。对于Fc γ RIIIA介导的ADCC而言,靶细胞数量的增加会提高抗体包被靶细胞的密度,使NK细胞表面Fc γ RIIIA更易发生交联激活,进而通过ITAM信号通路启动颗粒酶、穿孔素的释放;而在NK毒性通路中,靶细胞数量增加不仅提高了NKG2D、NKp30等活性受体与配体结合的概率,还能通过增强细胞间黏附维持杀伤突触的稳定,延长信号传导时间,最终提升杀伤效率。2种杀伤方式均以细胞直接接触为前提,这也解释了为何靶细胞数量通过调控接触程度,能对整体杀伤效能产生显著影响^[17-18]。

不同实验室NK-92MI细胞杀伤结果存在较大异质性^[19-21],在排除了其他因素的情况下,未控制靶细胞数量可能是发生这种现象的原因。因其对多种肿瘤的杀伤活性而应用广泛,NK-92MI细胞是肿瘤免疫研究与治疗的重要模型。本研究为此类差异导致的可复现性不足提供了可能解释,并为实验设计提供关键参考,即比较不同效应细胞或处理条件时,应控制靶细胞数量。在相同效靶比下,增加靶细胞数量可提升NK细胞与靶细胞的接触充分性,从而增强杀伤效能。但为有利于统计分析,同时需确保杀伤比例不至于过高或过低,本研究中,在96孔板中使用10 000个靶细胞,37℃培养4 h是广泛采用的条件。

本研究存在以下局限性：首先，NK-92MI作为永生化细胞系，其Fc γ RIIIA表达、激活阈值及代谢特性与原代NK细胞存在显著差异，可能限制结论向原代细胞体系的外推，而原代NK细胞对肿瘤的杀伤活性与细胞系存在功能差异^[22]。其次，实验环境方面，二维培养体系无法模拟体内肿瘤微环境中TGF- β 等抑制因子及细胞外基质的调控作用，且3D模型已证实肿瘤空间排布会显著改变NK杀伤动力学^[23]。第三，机制解析层面，尚未明确靶细胞数量对淋巴细胞功能相关抗原-1(lymphocyte function-associated antigen-1, LFA-1)/细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)等黏附分子的调控机制及PI3K/Akt等信号通路的差异化贡献。此外，固定的4 h培养时间和效靶比范围未考虑代谢环境变化的影响，也缺乏对杀伤饱和阈值的系统分析，而不同效靶比与培养时间组合会显著影响实验结果稳定性。

综上所述，本研究结果显示，在相同效靶比下，不同的靶细胞数量会影响NK-92MI与靶细胞的接触程度，从而影响NK-92MI对其的杀伤效能；在相同效靶比的情况下，靶细胞越多，NK-92MI与靶细胞接触越充分，NK-92MI对其杀伤效能越好。本研究还为后续研究提供了拓展方向，例如，可进一步探索不同培养体系(如悬浮培养、3D微球培养)中靶细胞数量对杀伤效能的影响，因为三维环境下细胞接触模式与二维培养存在显著差异；同时，结合单细胞测序技术，分析不同靶细胞数量下NK-92MI的基因表达变化，有望挖掘出调控细胞接触敏感性的关键分子。这些研究将进一步深化对NK细胞杀伤机制的理解，为优化肿瘤免疫治疗策略提供更精准的实验依据。

利益冲突 文章所有作者共同认可文章无相关利益冲突

作者贡献声明 研究构思和设计为潘长青，研究实施、资料收集为潘长青、钱宇星，论文撰写为钱宇星、徐孟辉，获取资助为张伟

参 考 文 献

- [1] Klingemann H. The NK-92 cell line—30 years later: its impact on natural killer cell research and treatment of cancer[J]. *Cytotherapy*, 2023, 25(5): 451-457. DOI: 10.1016/j.jcyt.2022.12.003.
- [2] Xie G, Dong H, Liang Y, et al. CAR-NK cells: a promising cellular immunotherapy for cancer[J]. *EBioMedicine*, 2020, 59: 102975. DOI: 10.1016/j.ebiom.2020.102975.
- [3] Johnson DR. Differential expression of human major histocompatibility class I loci: HLA-A, -B, and -C[J]. *Hum Immunol*, 2000, 61(4): 389-396. DOI: 10.1016/s0198-8859(99)00186-x.
- [4] Altvater B, Landmeier S, Pscherer S, et al. 2B4 (CD244) signaling by recombinant antigen-specific chimeric receptors costimulates natural killer cell activation to leukemia and neuroblastoma cells[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(15): 4857-4866. DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-08-2810.
- [5] Li Y, Hermanson DL, Moriarity BS, et al. Human iPSC-derived natural killer cells engineered with chimeric antigen receptors enhance anti-tumor activity[J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 23(2): 181-192.e5. DOI: 10.1016/j.stem.2018.06.002.
- [6] Le Bouteiller P, Barakonyi A, Giustiniani J, et al. Engagement of CD160 receptor by HLA-C is a triggering mechanism used by circulating natural killer (NK) cells to mediate cytotoxicity[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(26): 16963-16968. DOI: 10.1073/pnas.012681099.
- [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. DOI: 10.1084/jem.20090681.
- [8] Uherek C, Tonn T, Uherek B, et al. Retargeting of natural killer-cell cytolytic activity to ErbB2-expressing cancer cells results in efficient and selective tumor cell destruction[J]. *Blood*, 2002, 100(4): 1265-1273.
- [9] Louis DN, Perry A, Wesseling P, et al. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary[J]. *Neuro Oncol*, 2021, 23(8): 1231-1251. DOI: 10.1093/neuonc/noab106.
- [10] Milella M, Gismondi A, Roncaoli P, et al. CD16 cross-linking induces both secretory and extracellular signal-regulated kinase (ERK)-dependent cytosolic phospholipase A2 (PLA2) activity in human natural killer cells: involvement of ERK, but not PLA2, in CD16-triggered granule exocytosis[J]. *J Immunol*, 1997, 158(7): 3148-3154. DOI: 10.4049/jimmunol.158.7.3148.
- [11] Wei S, Gamero AM, Liu JH, et al. Control of lytic function by mitogen-activated protein kinase/extracellular regulatory kinase 2 (ERK2) in a human natural killer cell line: identification of perforin and granzyme B mobilization by functional ERK2[J]. *J Exp Med*, 1998, 187(11): 1753-1765. DOI: 10.1084/jem.187.11.1753.
- [12] Trotta R, Puorro KA, Paroli M, et al. Dependence of both spontaneous and antibody-dependent, granule exocytosis-mediated NK cell cytotoxicity on extracellular signal-regulated kinases[J]. *J Immunol*, 1998, 161(12): 6648-6656. DOI: 10.4049/jimmunol.161.12.6648.
- [13] Demaria O, Gauthier L, Vetizou M, et al. Antitumor immunity induced by antibody-based natural killer cell engager therapeutics armed with not-alpha IL-2 variant[J]. *Cell Rep Med*, 2022, 3(10): 100783. DOI: 10.1016/j.xcrm.2022.100783.
- [14] Fan J, Shi J, Zhang Y, et al. NKG2D discriminates diverse ligands through selectively mechano-regulated ligand conformational changes[J]. *EMBO J*, 2022, 41(2): e107739. DOI: 10.15252/embj.2021107739.
- [15] Sanz-Ortega L, Andersson A, Carlsten M. Harnessing upregulated E-selectin while enhancing SDF-1 α sensing redirects infused NK cells to the AML-perturbed bone marrow[J]. *Leukemia*, 2024, 38(3): 579-589. DOI: 10.1038/s41375-023-02126-1.

• 神经肿瘤的免疫治疗专题 •

神经胶质瘤的免疫治疗回顾

连奕铭 王裕

100730 北京协和医院神经外科

通信作者: 王裕, Email: ywang@pumch.cn

DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2025.11.007

【摘要】 神经胶质瘤是一种来源于神经胶质细胞的恶性脑肿瘤, 其具有高度侵袭性, 难以通过手术完全切除, 且对传统的放疗和化疗耐受性较高。目前, 免疫治疗已成为神经胶质瘤研究的热点之一。单克隆抗体通过细胞表面抗原-抗体结合的方式阻断肿瘤细胞的增殖信号通路, 如免疫检查点抑制剂; 嵌合抗原受体 T 细胞疗法也在治疗胶质瘤方面显示出一定潜力, 但因抗原异质性和免疫逃逸等问题, 其临床效果尚待改进。此外, 多项进行中的临床试验也探索新治疗策略, 如结合溶瘤病毒、疫苗疗法和基因编辑技术以增强免疫治疗效果。现对神经胶质瘤的免疫治疗方案进行原理和临床试验方面的总结, 并提出未来研究的可能方向, 以为临床治疗提供借鉴。

【关键词】 胶质瘤; 免疫治疗; 免疫检查点抑制剂; 癌症疫苗; 综述

Research progress on immunotherapy for glioma Lian Yiming, Wang Yu

Department of Neurosurgery, Peking Union Medical College Hospital, Beijing 100730, China

Corresponding author: Wang Yu, Email: ywang@pumch.cn

【Abstract】 Glioma is a malignant brain tumor originating from glial cells, characterized by high invasiveness, difficulty in complete surgical resection, and high resistance to conventional radiotherapy and chemotherapy. Currently, immunotherapy has become one of the hot topics in glioma research. Monoclonal antibodies block tumor cell proliferation signaling pathways by binding to cell surface antigen-antibody, such as immune checkpoint inhibitors. Chimeric antigen receptor T-cell (CAR-T) therapy has also demonstrated potential in treating gliomas, but its clinical efficacy remains to be improved due to challenges such as antigen heterogeneity and immune escape. In addition, multiple ongoing clinical trials are exploring novel therapeutic strategies, such as combining oncolytic viruses, vaccine therapies, and gene editing technologies to enhance the efficacy of immunotherapy. This paper summarizes the principles and clinical trials of immunotherapy approaches for glioma and proposes potential directions for future research to inform clinical treatment strategies.

【Key words】 Glioma; Immunotherapy; Immune checkpoint inhibitors; Cancer vaccines; Review

- [16] Martinet L, Smyth MJ. Balancing natural killer cell activation through paired receptors [J]. *Nat Rev Immunol*, 2015, 15(4): 243-254. DOI: 10.1038/nri3799.
- [17] Upshaw JL, Arneson LN, Schoon RA, et al. NKG2D-mediated signaling requires a DAP10-bound Grb2-Vav1 intermediate and phosphatidylinositol-3-kinase in human natural killer cells [J]. *Nat Immunol*, 2006, 7(5): 524-532. DOI: 10.1038/ni1325.
- [18] Maskalenko NA, Zahroun S, Tsygankova O, et al. The Fc γ RIIIA (CD16) L48-H/R polymorphism enhances NK cell-mediated antibody-dependent cellular cytotoxicity by promoting serial killing [J]. *Cancer Immunol Res*, 2025, 13(3): 417-429. DOI: 10.1158/2326-6066.cir-24-0384.
- [19] Liu M, Huang W, Guo Y, et al. CAR NK-92 cells targeting DLL3 kill effectively small cell lung cancer cells in vitro and in vivo [J]. *J Leukoc Biol*, 2022, 112(4): 901-911. DOI: 10.1002/jlb.5ma0122-467r.
- [20] Zhu L, Li XJ, Kalimuthu S, et al. Natural Killer Cell (NK-92MI)-based therapy for pulmonary metastasis of anaplastic thyroid cancer in a nude mouse model [J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 816. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00816.
- [21] Xu Y, Zhou S, Lam YW, et al. Dynamics of natural killer cells cytotoxicity in micowell arrays with connecting channels [J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 998. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00998.
- [22] Miller JS, Soignier Y, Panoskaltsis-Mortari A, et al. Successful adoptive transfer and in vivo expansion of human haploididential NK cells in patients with cancer [J]. *Blood*, 2005, 105(8): 3051-3057. DOI: 10.1182/blood-2004-07-2974.
- [23] Chehade H, Rowse A, Draper D, et al. Abstract 5478: From 2D to 3D: Advancing preclinical platforms in cancer models [J]. *Cancer Res*, 2025, 85(8_Supplement_1): 5478. DOI: 10.1158/1538-7445.am2025-5478.

(收稿日期: 2025-05-06)

(本文编辑: 王影)