

# 白细胞介素体外调控NK细胞生物学活性的研究进展

房橙橙<sup>1,2</sup>, 张帆<sup>2</sup>, 李康<sup>2</sup>, 张君<sup>2</sup>, 李全海<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>河北医科大学基础医学院免疫学教研室, 河北 石家庄

<sup>2</sup>河北医科大学第一医院细胞治疗实验室, 河北 石家庄

收稿日期: 2023年3月1日; 录用日期: 2023年3月28日; 发布日期: 2023年4月4日

## 摘要

自然杀伤细胞(natural killer, NK)可以自主杀伤靶细胞, 在固有免疫中可以起到抵抗病毒感染和肿瘤细胞的作用。NK细胞的发育及其生物学活性受到多种细胞激素调节与控制, 尤其是白细胞介素家族细胞因子, 并且通过调节不同的信号通路而在各个阶段发挥重要作用。然而, 调节NK细胞发育或生物学活性的各种细胞因子的具体作用仍不明确。本文将描述不同白细胞介素的单独和不同组合来扩增NK细胞的现有方案, 从而全面了解不同白细胞介素调控NK细胞的生物学活性作用, 将有助于提高NK细胞在肿瘤免疫治疗的疗效。

## 关键词

自然杀伤细胞, 白细胞介素, 生物学活性

# Research Progress of Interleukins Regulating Biological Activity of NK Cells *in Vitro*

Chengcheng Fang<sup>1,2</sup>, Fan Zhang<sup>2</sup>, Kang Li<sup>2</sup>, Jun Zhang<sup>2</sup>, Quanhai Li<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Immunology, School of Basic Medicine, Hebei Medical University, Shijiazhuang Hebei

<sup>2</sup>Cell Therapy Laboratory of the First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang Hebei

Received: Mar. 1<sup>st</sup>, 2023; accepted: Mar. 28<sup>th</sup>, 2023; published: Apr. 4<sup>th</sup>, 2023

## Abstract

Natural killer cells are named for their ability to kill target cells autonomously and play an impor-

文章引用: 房橙橙, 张帆, 李康, 张君, 李全海. 白细胞介素体外调控 NK 细胞生物学活性的研究进展[J]. 临床医学进展, 2023, 13(4): 5071-5078. DOI: 10.12677/acm.2023.134719

**tant role in innate immunity against infection and tumor cells, so they have attracted much attention in tumor immunotherapy. The development and biological activity of NK cells are regulated by a variety of cytokines, especially interleukin family cytokines, which play roles in different stages by regulating different signaling pathways. However, the specific role of each cytokine that regulates NK cell development or biological activity remains unclear. In this review, we attempt to describe existing protocols for expanding NK cells with different interleukins alone and in different combinations, so that a comprehensive understanding of the role of different interleukins in regulating NK cell biological activity will contribute to improving the efficacy of immunotherapy for NK cell tumors.**

## Keywords

Natural Killer Cells, Interleukin, Biological Activity

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

自然杀伤细胞(natural killer, NK)存在于骨髓 CD34<sup>+</sup>淋巴细胞中[1], 一般出现在机体血液和内部淋巴结等器官中, 是机体抑制恶性肿瘤和防止病菌侵染的天然屏障。NK 细胞不需要进行预先致敏, 就能够杀伤一些血液系统癌细胞。当白血病靶细胞上的主要组织相容性复合体 I (major histocompatibility complex, MHC-I)的表达下降, 或者活化性配体的表达提升时, NK 细胞活化后杀伤性被激活, 从而起到抗白血病的效应。但 NK 细胞在人体内数量很少, 仅占外周血单个核细胞的 5%~10%, 并不能满足临床应用的需求, 所以必须对 NK 细胞进行扩增, 当存在足够多的数量后, 才能在一定程度上满足临床应用的需求。目前, NK 细胞的扩增与纯化已成为临床研究与应用急需解决的问题[2]。截止目前, 扩增 NK 细胞最常用的方法是细胞因子刺激法, 例如: 白介素-2、白介素-12、白介素-15、白介素-18 和白介素-21 单独或联合作用。然而, 不同细胞因子选择、组合是影响 NK 细胞生长、增殖、生存等功能的重要因素。因此, 针对不同疾病, 探究最优组合是近年来医学界对 NK 细胞体外扩增与纯化的研究热点。本文将综述不同白细胞介素类细胞因子体外调控 NK 细胞生物学活性的研究进展。

## 2. 不同细胞因子对 NK 细胞活化扩增

### 2.1. 白细胞介素-12 (Interleukin 12, IL-12)

树突状细胞(Dendritic Cell, DC)、巨噬细胞(Macrophage)和 B 细胞(B Cell)均可以产生 IL-12, 其受体由两个亚基( $\alpha$  和  $\beta$ )组成, 通过 JAK-STAT 信号通路介导信号传导[3]。JAK-STAT 这种信号表达通路在不同物种间高度保守, 哺乳动物表达 JAK 家族中的 JAK1、JAK2、JAK3 和 TYK2 四个成员, 并且同时表达 STAT1、STAT2、STAT3、STAT4、STAT5A、STAT5B 和 STAT6 七个 STAT 蛋白。JAK-STAT 信号通路由酪氨酸激酶 Janus 激酶(Janus kinases, JAKs)和转录激活因子(signal transducers and activators of transcription, STAT)组成, 其中酪氨酸激酶 Janus 激酶是一种非受体型酪氨酸激酶。IL-12 与受体结合形成的受体二聚体与 JAKs 靠近后活化, 活化后的 JAKs 作用于细胞因子受体, 使其受体本身的酪氨酸残基磷酸化, STAT 本身有特殊的 SH2 结构域, 活化的受体复合物与 SH2 结构域发生磷酸化, 形成同/异二聚体并进入细胞核, 与靶基因融合后, 启动基因的转录和表达[4]。有证据表明, 在稳定状态下, STAT4 和 IL-12

受体缺陷小鼠的周围有相对稳定的NK细胞群。由于其在IL-12下游的作用相当受限,缺乏STAT4的小鼠表现为IL-12诱导的NK细胞增殖、IFN- $\gamma$ 的产生和细胞毒性降低[5],而髓样分化因子(myeloid differentiation factor 88, MyD88)可通过转录水平调节IL-12,进而提高NK细胞IFN- $\gamma$ 的表达水平[6]。

## 2.2. 白细胞介素-2 (Interleukin 2, IL-2)

已有研究表明,在NK细胞增殖中,IL-2发挥着重要的作用[7]。IL-2和淋巴细胞功能相关分子-1通过促进靶细胞间的结合,来诱导NK细胞脱颗粒。IL-2间接活化NK细胞是通过增加IL-12受体和IL-12信号通路相关因子STAT4来增强NK细胞对IL-12的信号转导[8]。此外,IL-2还可通过JAK1、JAK3、STAT1、STAT3和STAT5信号通路诱导NK细胞和T细胞增殖,从而增强NK细胞的杀伤活性。然而,与T细胞不同的是,IL-2可激活NK细胞的JAK2和STAT4信号因子[9]。现已证实[10],NK细胞由IL-2诱导纯化时,在第7天其扩增细胞数量可达到峰值,且杀伤性最强,即少量纯化的NK细胞就能够达到较好的治疗效果。骨髓CD34<sup>+</sup>细胞虽然不能削弱K562细胞的增殖能力,但在进行了IL-2诱导培养之后,CD34<sup>+</sup>细胞产生了定向分化为CD56<sup>+</sup>细胞的能力,进而起到了削弱K562细胞的增殖效果。

## 2.3. 白细胞介素-15 (Interleukin 15, IL-15)

NK细胞的生长以及发挥其生物学功能与IL-15息息相关,IL-15能够促进CD34<sup>+</sup>造血干细胞定向分化为NK细胞,同时增强NK细胞的杀伤活性。此外,IL-15还可与IL-2受体的 $\alpha$ 链结合,同样可以促进造血干细胞定向分化为NK细胞[11]。mTOR通路参与了IL-15信号转导,mTOR的激活是提高NK细胞代谢的关键。免疫系统影响IL-12的产生,而IL-15是在体内平衡条件下产生的[12]。IL-15还可以增强IFN- $\gamma$ 的产生,这一过程是通过上调NK细胞表面CD16和NKG2DNK的表达来实现,同时还可以诱导骨髓CD34<sup>+</sup>细胞分化为NK细胞[13]。在临床前毒理学研究中,IL-15可诱导NK细胞的长期扩增和活化[14],发挥抗肿瘤的作用。最近研究证明,IL-15扩增纯化的NK细胞表现出NCRs和CD69的上调以及对白血病和急性淋巴细胞白血病细胞的杀伤作用[15]。STAT5是NK细胞存活、生长、成熟的主要调节因子,STAT5可由多种细胞因子激活例如:IL-2、IL-7和IL-15,但有研究显示,与IL-2、IL-7相比,IL-15在NK细胞的发育成熟中起到更为重要的作用[16]。当小鼠缺乏IL-15或其受体亚基的基因敲除后,NK细胞产生量大大减少,此结果提示IL-15在NK细胞发育中发挥着不可或缺的作用[17]。同时STAT5是IL-15下游的关键转录因子,受损的STAT5信号将会严重影响NK细胞的活性和功能。

## 2.4. 白细胞介素-18 (Interleukin 18, IL-18)

IL-18属IL-1细胞因子家族,IL-18可由不同类型的细胞产生,包括NK细胞、T细胞、巨噬细胞[18]和树突状细胞[19]等。在炎症微环境中NK细胞营养转运蛋白表达增加,从而导致营养摄取的升高。已有文献报道[20],IL-18可以在不依赖mTORC1途径下,提高营养转运蛋白CD98/LAT1的表达,从而影响NK细胞增殖。当用亮氨酸处理IL-18后刺激NK细胞,可以激活代谢感受器mTORC1,这表明氨基酸转运蛋白的高表达诱导了氨基酸驱动的mTORC1活化。当IL-18与IL-2联合应用时,IL-18的浓度不变,IL-2浓度降低,结果使得FAS配体表达上调后NK细胞凋亡。而当IL-2浓度升高,NK细胞数量无明显变化,这提示了IL-18调控NK细胞与IL-2浓度相关[21]。

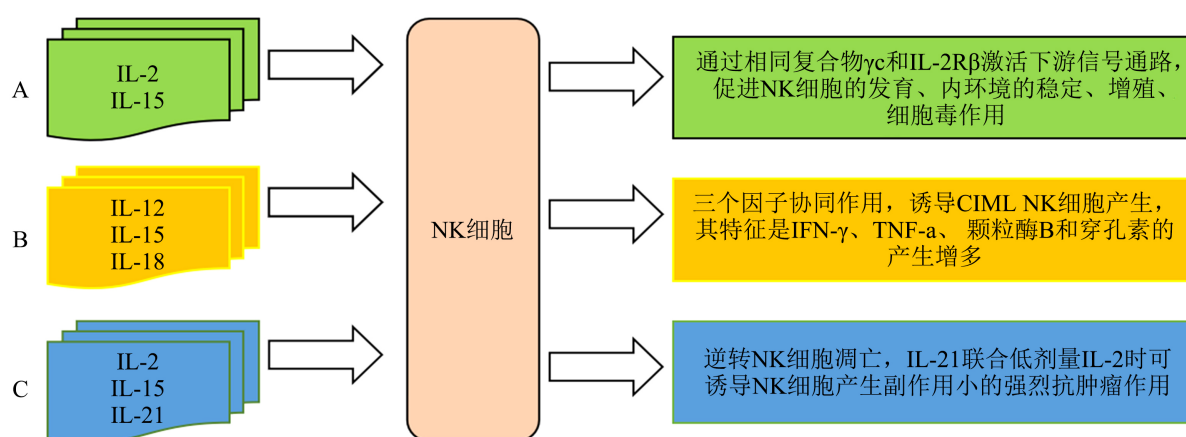
## 2.5. 白细胞介素-21 (Interleukin 21, IL-21)

IL-21属于IL-2家族的一员,IL-21受体 $\alpha$ 链与IL-21的共同 $\gamma$ 链组成异源二聚体发出信号,IL-21主要由CD4<sup>+</sup>T细胞[22]产生。研究发现,IL-21在很大程度上影响了NK细胞的成熟[23],重组IL-21可以增强NK细胞的细胞毒性,此过程是通过增强穿孔素和IFN- $\gamma$ 的表达来实现,进而促进细胞因子的产生[24]。

低剂量 IL-21 作用于 NK 细胞，结果可促进其生长，而高剂量的 IL-21 在作用于 NK 细胞时，则产生相反效果[25]。另外，IL-21 还具有增强 NK 细胞的细胞毒性和增强 ADCC 应答的作用[26]。IL-21 可以抑制 IL-15 对 NK 细胞的增殖作用，却促进了由 IL-15 驱动的 NK 细胞的终末分化，即细胞毒性和 IFN- $\gamma$  的分泌[27]。

### 3. 不同白细胞介素联合对 NK 细胞活化扩增的影响

不同细胞因子对 NK 细胞作用各有侧重，不同的细胞因子联合作用将对 NK 细胞成熟、增殖、存活产生不同的影响。目前已报导参与联合作用的细胞因子有 IL-2, IL-10, IL-12, IL-15, IL-18, IL-21 等，它们通过多种组合方式，促进 NK 细胞的增殖、存活、成熟。NK 细胞在体外的扩增培养难点是因为 NK 细胞仅占外周血单个核细胞的 5%~10%，数量少，并且只由单一的细胞因子诱导 NK 细胞，无法实现高效扩增，所以探寻细胞因子的最优联合作用是高质量体外扩增 NK 细胞的关键。



**Figure 1.** Effects of different interleukins combined on the biological activity of NK cells

**图 1.** 不同白细胞介素联合对 NK 细胞生物学活性的影响

#### 3.1. IL-2 与 IL-15 的联合应用

IL-2 和 IL-15 联合应用是体外扩增 NK 细胞的经典方法。IL-15 受体由  $\alpha$ ,  $\beta$  和  $\gamma$  三个亚基构成，与 IL-2 具有相同的  $\beta$ 、 $\gamma$  链，由此二者被认为在细胞因子生物学方面非常相似。同时，IL-2 和 IL-15 是  $\gamma_c$  细胞因子家族中与其受体相互作用相关的功能性成员，它们都可以通过  $\gamma_c$  和 IL-2R $\beta$  链组成的复合物激活多条下游信号通路，包括：Jak1/3 和 STAT3/5、PI3K 途径、MAPK 途径，以及最终激活 NF- $\kappa$ B [28]。它们通过这些信号通路对 NK 细胞的发育和内环境稳定、诱导增殖、细胞毒性效应产生促进作用[29] (图 1(A))。IL-15 可促进 NK 细胞的增殖，而 IL-2 与 NKG2D 的表达有关[30]。王晓梦等[31]以十例晚期实体肿瘤患者的外周血单个核细胞为来源，建立了 4 种 NK 细胞体外培养实验方案：方案 1 是 IL-2 + IL-15；方案 2 是 IL-2 + IL-15 + IL-18；方案 3 是 IL-2 + IL-15 + IL-7；方案 4 是新型 NK 培养基(IL-2 + OKT3)进行对照。比较细胞杀伤活性时，发现前 3 种培养方案显著强于第 4 种。综合比较细胞的免疫原性、扩增能力以及杀伤活性等方面，最终得出方案 1 为最简单的细胞因子组合优于其余方案，此结果证明 IL-2、IL-15 在 NK 细胞体外扩增方面有一定优势。

然而，体外培养 NK 细胞时，无论是 IL-15 和 IL-2 单独应用还是联合使用，仍不能达到肿瘤免疫治疗所需的细胞数。据张彩[32]等人的研究证实，在饲养细胞及重组人白介素-2、植物血凝素等培养条件下，可获得了较多的 NK 克隆数，提示 NK 细胞体外扩增受到多种因子调控。

### 3.2. IL-12、IL-15 与 IL-18 组合

IL-12、IL-15 和 IL-18 三种细胞因子联合应用于小鼠 NK 细胞,可在短期(16 小时)内将其激活,并在数周后刺激 NK 细胞使其产生持久且增强的 IFN- $\gamma$ , 这些 NK 细胞扩增可将其增强的功能传递给子细胞,被称为细胞因子诱导的记忆样 NK 细胞[32]。此细胞的特点是在静息一段时间后(25 小时~27 小时),多种免疫效应作用增强,例如,在体外,人类记忆样 NK 细胞表现出更高的 IFN- $\gamma$  和 TNF- $\alpha$  生成,颗粒酶 B 和穿孔素表达增加,以及对肿瘤靶点的更高细胞毒性(图 1(B))。另有报道,IL-12、IL-15 和 IL-18 不同组合预刺激 NK 细胞 16 至 18 小时后,再单独应用 IL-2 作用 4 天,结果发现:三种细胞因子的协同效应赋予它们最佳的多功能效应特性,即同时产生脱颗粒、多种细胞因子和趋化因子的释放,如 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  等;此外,还发现三种细胞因子刺激后 CD107a<sup>-</sup>、IFN $\gamma$ <sup>-</sup>、TNF $\alpha$ <sup>-</sup>、CCL3<sup>-</sup>四种因子阴性的 NK 细胞百分比降低,扩增后其 CXCR4、CD62L 显著下调、CD25 表达增高[33]。

### 3.3. IL-2、IL-15 和 IL-21 组合

研究发现,IL-21 可诱导与 IL-2 或 IL-15 共同培养的 NK 细胞的凋亡,但 IL-21 与 IL-2、IL-15 联合短时间刺激 NK 细胞能逆转 NK 细胞的凋亡,并使 NK 细胞增殖增加[34]。在不使用饲养细胞的前提下,去除 CD3 的外周血单个核细胞用 IL-21 和 IL-15 处理培养 13~20 天,产生的活化 NK 细胞纯度可大于 90%。对 41 名白血病患者进行造血干细胞移植 2~3 周后,这些白血病患者,较对照组的临床症状显著改善[35]。已有报道,在一些小鼠模型中,T 细胞和 NK 细胞在 IL-21 的诱导下产生较强的杀伤肿瘤细胞作用,但常常伴随着并发症;通常情况下,IL-21 副作用的严重程度随给药剂量、给药途径和给药时间的不同而不同[36]。然而,IL-21 联合低剂量 IL-2 时可诱导 NK 细胞产生强烈抗肿瘤作用,副作用较小(图 1(C))。

## 4. 体外调控 NK 细胞生物学活性的其它影响因素

### 4.1. 培养基的选择

研究者在探讨不同细胞因子组合对 NK 细胞体外扩增效果的同时,也对培养基的选择进行了对比。各种新型培养基已经被应用于临床研究,并取得了令人满意的疗效。据哈尔滨医科大学肿瘤研究所[37]研究数据表明,无血清培养基用于 A-NK 细胞的临床生物治疗,即不减少 A-NK 细胞的数量和活性,又能提高其临床应用的安全性,有利于 A-NK 细胞的进一步开展临床应用研究。

### 4.2. NK 细胞的来源

NK 细胞的来源也是一个影响体外扩增的重要因素。目前它的来源主要有三个途径:不同来源的单个核细胞、纯化的 NK 细胞以及 HPC 诱导分化的 NK 细胞[38]。Martha 等[39]以造血干细胞为来源,比较冷冻或新鲜分离的脐带血造血干细胞和冷冻的外周血造血干细胞在体外生成 NK 细胞的能力,结果显示使用冷冻脐带血造血干细胞在用于生产的 NK 细胞中比新鲜分离的脐带血造血干细胞、外周血造血干细胞能产生更高的细胞数目,且不损害其功能,更适用于 NK 细胞免疫治疗。并且在 Anna Domagala [40]的文章中指出,从脐带血 CD34<sup>+</sup>细胞中分离出大量具有功能的 NK 细胞,在 IL-2 和 IL-15 的刺激下,脐带血 CD34<sup>+</sup>细胞分离出的 NK 细胞与外周血和脐带血分离出的 NK 细胞有同样的增殖反应,但是脐带血 CD34<sup>+</sup>细胞分离出的 NK 细胞端粒长度较其余两种 NK 细胞更长,表明在 NK 细胞的增殖过程中,脐带血 CD34<sup>+</sup>细胞分离出的 NK 细胞寿命更长。以上方法均可以为 NK 细胞的扩增提供有力依据。

### 4.3. 抗凝剂的选择

活化的 NK 细胞能扩散浸润至肿瘤组织中发挥作用,而且 NK 细胞的活化不受肿瘤表面 MHC I 类分

子的限制即能产生较强的抗肿瘤作用[41]。陈玲等[42]探讨 NK 细胞培养前不同抗凝剂的使用对其增殖的影响, 结果发现肝素钠抗凝外周血培养的 NK 细胞不仅增殖率高, 同时其杀伤功能的表达也未受到明显影响。这为 NK 细胞体外培养增殖条件的优化, 提供了新的思路, 使得 NK 细胞发挥更好的抗肿瘤效果。

## 5. 展望

NK 细胞是机体抵抗肿瘤感染的第一道天然屏障。在免疫反应的前期, NK 细胞通过分泌细胞因子和趋化因子调节机体的免疫应答。然而, NK 细胞体外扩增的数量、纯化程度以及杀伤力, 尚不能满足临床治疗的要求, 目前体外扩增 NK 细胞的方法在细胞数量、功能和处理方式上都有各自优缺点, 有待深入研究优化。如果未来研发出体外扩增稳定、高纯度、高杀伤力的 NK 细胞, 将极大提高其在治疗癌症其它疾病方面的应用价值。

## 基金项目

2021 年政府资助省级医学优秀人才项目(LS202110); “三三三人才工程”人才培养资助(A201905007); 民生科技专项(19277785D)。

## 参考文献

- [1] Ray, A.K., Somanchi, S.S., Dastgheyb, N., *et al.* (2019) Expression of Carcinoma, Apoptosis, and Cell-Death-Related Genes Are Determinants for Sensitivity of Pediatric Cancer Cell Lines to Lysis by Natural Killer Cells. *Pediatric Blood & Cancer*, **66**, 27783. <https://doi.org/10.1002/pbc.27783>
- [2] 杨志刚, 曾耀英, 何贤辉君, 等. 一种分离、培养扩增小鼠 NK 细胞方法的建立[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2005, 21(3): 379-389.
- [3] Behzadi, P., Behzadi, E. and Ranjbar, R. (2016) IL-12 Family Cytokines: General Characteristics, Pathogenic Microorganisms, Receptors, and Signalling Pathways. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, **63**, 1-25. <https://doi.org/10.1556/030.63.2016.1.1>
- [4] Fensome, A., Ambler, C.M., Arnoid, E., *et al.* (2020) Design and Optimization of a Series of 4-(3-azabicyclo[3.1.0]hexan-3-yl)pyrimidin-2-amines: Dual Inhibitors of TYK2 and JAK1. *Bioorganic Medicinal Chemistry*, **28**, 115481-115502. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115481>
- [5] Swain, M.G. (2010) Natural Killer T Cells within the Liver: Conductors of the Hepatic Immune Orchestra. *Digestive Diseases (Basel, Switzerland)*, **28**, 7-13. <https://doi.org/10.1159/000282059>
- [6] Madera, S. and Sun, J.C. (2015) Cutting Edge: Stage-Specific Requirement of IL-18 for Antiviral NK Cell Expansion. *Journal of Immunology*, **194**, 1408-1412. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1402001>
- [7] Sharma, R. and Das, A. (2018) IL-2 Mediates NK Cell Proliferation but Not Hyperactivity. *Immunologic Research*, **66**, 151-157. <https://doi.org/10.1007/s12026-017-8982-3>
- [8] Tait Wojno, E.D., Hunter, C.A. and Stumhofer, J.S. (2019) The Immunobiology of the Interleukin-12 Family: Room for Discovery. *Immunity*, **50**, 851-870. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.03.011>
- [9] Törnroos, H., Hägerstrand, H. and Lindqvist, C. (2019) Culturing the Human Natural Killer Cell Line NK-92 in Interleukin-2 and Interleukin-15—Implications for Clinical Trials. *Anticancer Research*, **39**, 107-112. <https://doi.org/10.21873/anticancer.13085>
- [10] 朱向情, 刘凌, 吴琼, 等. 自然杀伤细胞分离、培养方法的建立[J]. 中华细胞与干细胞杂志(电子版), 2021, 2(4): 269-273. <https://navi.cnki.net/knavi/journals/ZXGA/detail?uniplatform=NZKPT>
- [11] Abel, A.M., Yang, C., Thakar, M.S., *et al.* (2018) Natural Killer Cells: Development, Maturation, and Clinical Utilization. *Frontiers in Immunology*, **9**, 1869. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01869>
- [12] Zhang, M.L., Wen, B., Aaton, O.M., *et al.* (2018) IL-15 Enhanced Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity Mediated by NK Cells and Macrophages. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **115**, 10915-10924. <https://doi.org/10.1073/pnas.1811615115>
- [13] Arachchige, A.S.P.M. (2021) Human NK Cells: From Development to Effector Functions. *Innate Immunity*, **27**, 212-229.
- [14] Montazersaheb, S., Fathi, E. and Farahzadi, R. (2021) Cytokines and Signaling Pathways Involved in Differentiation

- Potential of Hematopoietic Stem Cells towards Natural Killer Cells. *Tissue & Cell*, **70**, Article ID: 101501. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2021.101501>
- [15] Waldmann, T.A., Lugli, E., Roederer, M., *et al.* (2011) Safety (Toxicity), Pharmacokinetics, Immunogenicity, and Impact on Elements of the Normal Immune System of Recombinant Human IL-15 Inrhesus Macaques. *Blood*, **117**, 4787-4795. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-10-311456>
- [16] Dam, M.M.O., Prins, H.J., Boerwan, G.H., *et al.* (2016) Preparation of Cytokine-Activated NK Cells for Use in Adoptive Cell Therapy in Cancer Patients: Protocol Optimization and Therapeutic Potential. *Immunotherapy*, **39**, 90-100. <https://doi.org/10.1097/CJI.000000000000110>
- [17] Marcaisi, A., Viel, S., Grau, M., *et al.* (2013) Regulation of Mouse NK Cell Development and Function by Cytokines. *Frontiers in Immunology*, **4**, 450. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2013.00450>
- [18] Choi, Y.H., Lim, E.J., Kim, S.W., *et al.* (2019) IL-27 Enhances IL-15/IL-18-Mediated Activation of Human Natural Killer Cells. *The Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, **7**, 168. <https://doi.org/10.1186/s40425-019-0652-7>
- [19] Vecchié, A., Bonaventura, A., Toldo, S., *et al.* (2021) IL-18 and Infections: Is There a Role for Targeted Therapies? *Journal of Cellular Physiology*, **236**, 1638-1657. <https://doi.org/10.1002/jcp.30008>
- [20] Kaplanski, G. (2018) Interleukin-18: Biological Properties and Role in Disease Pathogenesis. *Immunological Reviews*, **281**, 138-153. <https://doi.org/10.1111/imr.12616>
- [21] Sherratt, S., Patel, A., Baker, D.A., *et al.* (2020) Affiliations Differential IL-18 Dependence of Canonical and Adaptive NK Cells for Antibody Dependent Responses to *P. falciparum*. *Frontiers in Immunology*, **11**, 533. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00533>
- [22] Wawrocki, S., Druszczynska, M., Kowalewicz, K.M., *et al.* (2016) Interleukin 18 (IL-18) as a Target for Immune Intervention. *Acta Biochimica Polonica*, **63**, 59-63. [https://doi.org/10.18388/abp.2015\\_1153](https://doi.org/10.18388/abp.2015_1153)
- [23] Jakobisiak, M., Golab, J., Lasek, W., *et al.* (2011) Interleukin 15 as a Promising Candidate for Tumor Immunotherapy. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, **22**, 99-108. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2011.04.001>
- [24] Kweon, S.H., Phan, M.T.T., Chun, S., *et al.* (2019) Expansion of Human NK Cells Using K562 Cells Expressing OX40 Ligand and Short Exposure to IL-21. *Frontiers in Immunology*, **10**, 879. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00879>
- [25] Harper, J., Huot, N., Micci, L., *et al.* (2021) IL-21 and IFN $\alpha$  Therapy Rescues Terminally Differentiated NK Cells and Limits SIV Reservoir in ART-Treated Macaques. *Nature Communications*, **12**, 2866. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-23189-7>
- [26] Toomey, J.A., Gays, F., Foster, D., *et al.* (2015) Extending the Lifespan and Efficacies of Immune Cells Used in Adoptive Transfer for Cancer Immunotherapies—A Review. *Oncoimmunology*, **4**, e1002720. <https://doi.org/10.1080/2162402X.2014.1002720>
- [27] Mcmichael, E.L., Jaime-Ramirez, A.C., Guenterberg, K.D., *et al.* (2017) IL-21 Enhances Natural Killer Cell Response to Cetuximab-Coated Pancreatic Tumor Cells. *Clinical Cancer Research*, **23**, 489-502. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-0004>
- [28] Brady, J., Carotta, S., Thong, R.P.L., *et al.* (2010) The Interactions of Multiple Cytokines Control NK Cell Maturation. *Immunology*, **185**, 6679-6688. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0903354>
- [29] Allison, M., Mathews, J., Gilliland, T., *et al.* (2022) Natural Killer Cell-Mediated Immunotherapy for Leukemia. *Cancer (Basel)*, **14**, 843. <https://doi.org/10.3390/cancers14030843>
- [30] Kaweme, N.M. and Zhou, F.L. (2021) Optimizing NK Cell-Based Immunotherapy in Myeloid Leukemia: Abrogating an Immunosuppressive Microenvironment. *Frontiers in Immunology*, **12**, Article ID: 683381. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.683381>
- [31] 王晓梦, 李玲, 于津浦, 等. 四种NK细胞体外扩增方案的比较[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2013, 20(3): 336-341.
- [32] 张彩, 田志刚. 人NK细胞克隆化培养条件的初步探讨[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 1999, 6(3): 181-182.
- [33] Uppendahl, L.D., Felices, M., Bendzick, L., *et al.* (2019) Cytokine-Induced Memory-Like Natural Killer Cells Have Enhanced Function, Proliferation, and *in Vivo* Expansion against Ovarian Cancer Cells. *Gynecologic Oncology*, **153**, 149-157. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2019.01.006>
- [34] Terrén, I., Mikelez, I., Odriozola, I., *et al.* (2018) Implication of Interleukin-12/15/18 and Ruxolitinib in the Phenotype, Proliferation, and Polyfunctionality of Human Cytokine-Preactivated Natural Killer Cells. *Frontiers in Immunology*, **9**, 737. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00737>
- [35] Choi, I., Yoon, S.R., Park, S.Y., *et al.* (2014) Donor-Derived Natural Killer Cells Infused after Human Leukocyte Antigen-Haploidentical Hematopoietic Cell Transplantation: A Dose-Escalation Study. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, **20**, 696-704. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2014.01.031>
- [36] Goel, G., Tye-Din, J.A., Qiao, S.W., *et al.* (2019) Cytokine Release and Gastrointestinal Symptoms after Gluten Chal-

- lenge in Celiac Disease. *Clinical Trial*, **5**, eaaw7756. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aaw7756>
- [37] 张彦, 王志华, 张春艳, 等. 无血清培养基与完全培养基对体外激活的 A-NK 细胞支持作用的比较[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2003, 10(1): 38.
- [38] Luevano, M., Domogala, A., Blundell, M., *et al.* (2014) Frozen Cord Blood Hematopoietic Stem Cells Differentiate into Higher Numbers of Functional Natural Killer Cells *in Vitro* than Mobilized Hematopoietic Stem Cells or Freshly Isolated Cord Blood Hematopoietic Stem Cells. *PLOS ONE*, **9**, e87086. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087086>
- [39] Rogatko, K.M., Mika, W.R., Bogunia, K.K., *et al.* (2016) Prediction of NK Cell Licensing Level in Selection of Hematopoietic Stem Cell Donor, Initial Results. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis (Warsz)*, **64**, 63-71. <https://doi.org/10.1007/s00005-016-0438-2>
- [40] Anna, D., Michael, B., Adrian, T., *et al.* (2017) Natural Killer Cells Differentiated *in Vitro* from Cord Blood CD34+ Cells Are More Advantageous for Use as an Immunotherapy than Peripheral Blood and Cord Blood Natural Killer Cells. *Cytotherapy*, **19**, 710-720. <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2017.03.068>
- [41] David, D.F., Khusraw, J., Maria, J.P., *et al.* (2022) Natural Killer Cells Kill Extracellular *Pseudomonas aeruginosa* Using Contact-Dependent Release of Granzymes B and H. *PLOS Pathogens*, **18**, e1010325. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1010325>
- [42] 陈玲, 吕小婷, 徐涛, 等. 3 种不同抗凝剂对外周血培养的 NK 细胞功能影响[J]. 生物医学工程与临床, 2018, 22(5): 572-577.