DOI:10.3969/j.issn.2097-7948.2026.01.012

· 综述 ·

自然杀伤细胞治疗在血液肿瘤中的应用与挑战

王乙雯[1,2#],李梦迪[3#],刘明娅[1,2],饶书权[1,2*]
[1]中国医学科学院血液病医院(中国医学科学院血液学研究所),血液与健康全国重点实验室,国家血液系统疾病临床医学研究中心,细胞生态海河实验室,天津 300020
[2]天津医学健康研究院,天津 301600
[3]天津医科大学,细胞生态海河实验室,天津 300070

摘要: 自然杀伤(NK)细胞在肿瘤治疗方面展现出的巨大潜力,使其成为免疫治疗领域的一个重要发展方向。NK 细胞特有的主要组织相容性复合物(MHC)非依赖性的杀伤活性,使其成为开发“现货型”细胞治疗产品的理想载体。然而,当前 NK 细胞的临床应用仍面临诸多关键瓶颈,如肿瘤微环境对 NK 细胞的功能抑制、NK 细胞体内存续时间有限以及基因工程改造困难。以成簇规律间隔短回文重复序列(CRISPR)/CRISPR 相关蛋白 9(Cas9)为代表的基因编辑技术正在逐渐革新基因工程的范式,极大地促进了肿瘤免疫细胞治疗的基础和临床研究。本文将综述 NK 细胞的生物学特性、基因工程及其在血液肿瘤免疫治疗中的应用,并探讨其面临的挑战与未来发展方向。

关键词: 自然杀伤细胞;基因编辑;肿瘤免疫治疗
中图分类号: R733.7

Applications and challenges of natural killer cell therapy in hematological malignancies

WANG Yiwen[1,2#], LI Mengdi[3#], LIU Mingya[1,2], RAO Shuquan[1,2*]
[1]State Key Laboratory of Experimental Hematology, National Clinical Research Center for Blood Diseases, Haihe Laboratory of Cell Ecosystem, Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China
[2]Tianjin Institutes of Health Sciences, Tianjin 301600, China
[3]Haihe Laboratory of Cell Ecosystem, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Abstract: Natural killer (NK) cells have demonstrated substantial therapeutic potential in cancer treatment, positioning them as a major focus in the field of immunotherapy. Owing to their unique major histocompatibility complex (MHC) independent cytotoxic activity, NK cells represent an ideal platform for the development of “off-the-shelf” cell-based therapies. However, the clinical application of NK cells still faces several critical challenges, including functional suppression by the tumor microenvironment, limited in vivo persistence, and difficulties in genetic modification. Gene editing technologies, particularly clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR)/CRISPR associated

基金项目: 天津市科技重大专项与工程人口健康领域重大专项(24ZXRKSY00030);天津市自然科学基金资助项目(J230018);中国医学科学院中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(2021-RC310-015)
#共同第一作者
* 通信作者
利益冲突: 作者均声明无利益冲突
伦理批件: 不需要
知情同意: 不需要
引用本文: 王乙雯,李梦迪,刘明娅,等. NK 细胞治疗在血液肿瘤中的应用与挑战[J]. 再生医学研究,2026,1(3):175-191. doi:10.3969/j.issn.2097-7948.2026.01.012.

Fund program: Tianjin Municipal Science and Technology Commission Grant (24ZXRKSY00030); Tianjin Natural Science Foundation Project (J230018); Non-profit Central Research Institute Fund of Chinese Academy of Medical Sciences (2021-RC310-015)
#Co-first author
* Corresponding author
Conflicts of interest: Authors all declare no conflicts of interest.
Ethical approval: not required.
Informed consent: not required.
Cite this article: Wang YW, Li MD Liu MY, *et al.* Applications and challenges of NK cell therapy in hematological malignancies [J]. Zaisheng Yixue Yanjiu, 2026, 1(3): 175-191. doi: 10.3969/j.issn.2097-7948.2026.01.012.

protein 9 (Cas9), are progressively transforming the paradigm of genetic engineering and have greatly advanced both basic and clinical research in tumor immunotherapy. This article reviews the biological characteristics of NK cells, their genetic engineering strategies, and their applications in immunotherapy for hematological malignancies, and further discusses the challenges they face and future development directions.

Key words: Natural killer cells; Gene editing; Tumor immunotherapy

肿瘤免疫治疗作为继手术、放疗和化疗之后的革新性力量,已在血液肿瘤治疗领域实现了突破性进展。在此背景下,自然杀伤(natural killer,NK)细胞作为先天性免疫系统的关键效应细胞,其独特优势在于能够以非主要组织相容性复合物(major histocompatibilitycomplex,MHC)限制性方式识别并杀伤肿瘤细胞,有效应对肿瘤细胞因 MHC 分子下调而产生的免疫逃逸现象[1]。与嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor,CAR)-T 细胞疗法相比,CAR-NK 或基于 NK 细胞的免疫疗法几乎不引发细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome,CRS)和移植物抗宿主病(graft-versus-host disease,GVHD),且不受人类白细胞抗原配型的限制,使其成为开发标准化、现货型细胞治疗产品的理想之选[1](表 1)。然而,未经修饰的 NK 细胞在临床应用中仍面临诸多难题,主要包括:在肿瘤微环境中其功能易受抑制;在体内的持久性和扩增能力不足;基因改造效率低下且表达不稳定等[2]。为此,研究者开发和改进了多种重编程技术,以期提升 NK 细胞的基因工程效率和抗肿瘤活性。本文归纳了 NK 细胞的免疫杀伤机制、关键重编程技术及其在血液肿瘤中的应用,并探讨了其面临的挑战与未来发展方向。

表 1 NK 细胞与 T 细胞对比

Table 1 NK cell *vs*. T cell

项目	NK 细胞	T 细胞
对 MHC-Ⅰ限制性抗原呈递的依赖性	否	是
对 MHC-Ⅰ低表达肿瘤的识别	是	否
对抗原特异性启动的依赖性	否	是
对其他免疫细胞的激活与协调	是	是
直接杀伤肿瘤细胞	是	是
广谱抗肿瘤活性	是	相对受限
优异的细胞输注安全性	是	否(有 CRS 或 GVHD 风险)

NK:自然杀伤;MHC:主要组织相容性复合物;CRS:细胞因子释放综合征;GVHD:移植物抗宿主病。

NK: natural killer; MHC: major histocompatibility complex; CRS: cytokine release syndrome; GVHD: graft-versus-host disease.

1 NK 细胞的生物学特性与血液肿瘤治疗的免疫学原理

1.1 NK 细胞的生物学特性

NK 细胞是机体先天性免疫系统的重要效应细胞,起源于骨髓造血干细胞,主要分布于外周血、脾脏、肝脏及淋巴结,占外周血淋巴细胞总数的 5% ~ 15%[3]。作为天然免疫效应淋巴细胞,NK 细胞无需经过抗原致敏即可识别并裂解病毒感染细胞和恶性肿瘤细胞[4]。其功能依赖于表面激活性受体与抑制性受体共同调控的信号平衡:一方面,激活性受体能够识别肿瘤细胞表面异常表达的激活性配体(B7H6、MICA 等),或者识别抗体包被的靶细胞,即抗体依赖的细胞介导的细胞毒性(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)[5];另一方面,抑制性受体通过与正常细胞表面的 MHC-Ⅰ分子结合,防止免疫系统对自身细胞发起攻击[6]。常见的激活性受体主要包括自然细胞毒性受体(natural cytotoxicity receptor, NCR)家族(NKp46、NKp30 和 NKp44 等)、NKG2D、DNAM-1、NKG2C 等。抑制性受体主要包括 KIR、NKG2A、CD158 等[7]。此外,细胞因子如白细胞介素(interleukin,IL)-2、IL-12、IL-15、IL-18、IL-21 等也是维持 NK 细胞存活和功能的关键成分[8]。

在表型分布及功能特性方面(图 1),人类外周血 NK 细胞主要分为 $CD56^{dim}CD16^{+}$ 和 $CD56^{bright}CD16^{-}$ 两大亚群。其中 $CD56^{dim}$ 亚群约占外周血 NK 细胞的 90%,在骨髓、脾脏和血液中含量较高,主要通过穿孔素-颗粒酶途径及 FasL/TRAIL 途径介导直接杀伤,并具有强 ADCC 活性[9](图 2)。相比之下,$CD56^{bright}$ 亚群占比约 10%,在肺、扁桃体、淋巴结和肠道中更为丰富,主要功能是分泌干扰素-γ(interferon-γ, IFN-γ)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)等细胞因子,参与免疫调节与适应性免疫激活[10]。绝大多数成熟的 NK 细胞具有细胞介导的细胞毒作用,而所有的 NK 细胞都能分泌细胞因子包括

IFN-γ 和 TNF-α，生长因子包括 FLT3L 和 GM-CSF，以及趋化因子包括 CCL5、XCL1 和 XCL2。这些分子能够激活并招募I型树突状细胞和 T 细胞，从而进一步放大抗肿瘤免疫反应[11-13]。

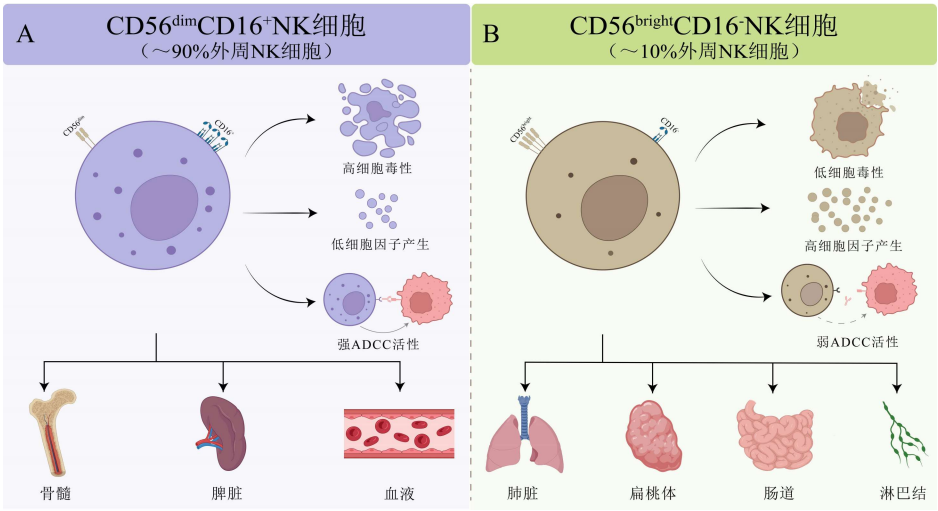


图 1　CD56^{dim}CD16^{+}（A）与 CD56^{bright}CD16^{-}（B）NK 细胞亚群的分布及效应功能差异。A：CD56^{dim}CD16^{+}NK 细胞，约占人类外周 NK 细胞总数的 90%。其特点是细胞毒性强、细胞因子分泌水平低以及 ADCC 活性高，主要分布于骨髓、脾脏和外周血中；B：CD56^{bright}CD16^{-}NK 细胞，约占人类外周 NK 细胞总数的 10%。其特点是细胞毒性较低、细胞因子分泌水平高以及 ADCC 活性较低，主要分布于肺、扁桃体、淋巴结和肠道中。ADCC：抗体依赖的细胞介导的细胞毒性。

Figure 1　Distribution and functional differences of CD56^{dim}CD16^{+}（A）and CD56^{bright}CD16^{-}（B）NK cell subsets. A：CD56^{dim}CD16^{+} NK cells，accounting for approximately 90% of the total human peripheral NK cells. Characterized by high cytotoxicity，low cytokine secretion，and high ADCC activity，they are mainly distributed in the bone marrow，spleen，and peripheral blood；B：CD56^{bright}CD16^{-} NK cells，making up around 10% of the total human peripheral NK cells. Featuring low cytotoxicity，high cytokine secretion，and low ADCC activity，they are predominantly located in the lungs，tonsils，lymph nodes，and intestines. ADCC：antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity.

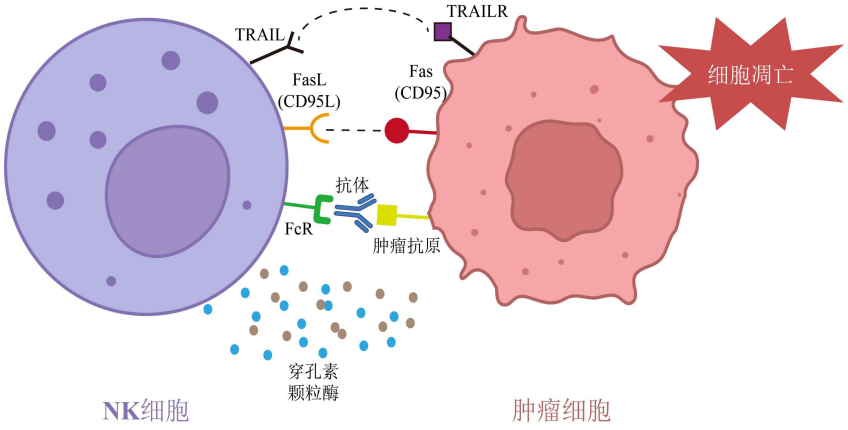


图 2　NK 细胞介导肿瘤细胞凋亡的多种效应机制示意图。NK 细胞表面的 TRAIL 与肿瘤细胞表面的 TRAIL 受体结合，以及 FasL（CD95L）与 Fas（CD95）的结合，均可激活死亡受体通路并诱导肿瘤细胞发生凋亡。同时，在 ADCC 过程中，抗体识别并结合肿瘤细胞表面的抗原，其 Fc 片段与 NK 细胞表面的 FcR 结合，主要通过触发 NK 细胞释放穿孔素和颗粒酶，启动肿瘤细胞内的凋亡程序，最终导致肿瘤细胞死亡。FcR：Fc 受体。

Figure 2　Schematic diagram of multiple effector mechanisms underlying NK cell-mediated tumor cell apoptosis. The binding of TRAIL on the surface of NK cells to TRAIL receptors on the surface of tumor cells，as well as the binding of FasL（CD95L）to Fas（CD95），can activate the death receptor pathway and induce tumor cell apoptosis. Meanwhile，in ADCC，antibodies recognize antigens on the surface of tumor cells，and their Fc segments bind to FcR on the surface of NK cells. This primarily triggers NK cells to release perforin and granzyme，which initiate the apoptotic program inside tumor cells and ultimately lead to tumor cell death. FcR：Fc receptor.

1.2 NK 细胞治疗血液肿瘤的免疫学原理

血液肿瘤的发生发展与免疫系统功能紊乱密切相关,肿瘤细胞通过多种机制逃避免疫监视:一方面,肿瘤细胞可通过下调 MHC-I类分子以外的方式逃避 NK 细胞杀伤[14],例如分泌转化生长因子-β(transforming growth factor,TGF-β)、IL-10 等抑制性细胞因子,或表达程序性死亡配体-1(programmed death ligand 1,PD-L1)、人白细胞抗原-G(human leucocyte antigen-G,HLA-G)等免疫检查点分子,抑制 NK 细胞的活化与增殖;另一方面,血液肿瘤患者的 NK 细胞常存在数量减少、活化受体表达降低、细胞毒性颗粒释放不足等功能障碍,导致其无法有效清除肿瘤细胞[8]。如急性髓系白血病(acute myeloid leukemia,AML)细胞下调 NKG2DL 表达[15-16],多发性骨髓瘤(multiple myeloma,MM)细胞分泌 TGF-β 抑制 NK 细胞活化,淋巴瘤细胞通过 PD-L1/程序性死亡受体 1(programmed death receptor 1,PD-1)通路诱导 NK 细胞耗竭[8]。

血液肿瘤细胞常存在特异性分子表达异常,这些异常分子不仅是肿瘤诊断的标志物,也是 NK 细胞免疫治疗的理想靶点。例如,AML 细胞高表达 CD33、CD123 等,这些分子在正常造血细胞中低表达或不表达,为 NK 细胞靶向治疗提供了特异性基础[17]。通过基因重编程技术,可将 NK 细胞改造成靶向这些异常分子的“精准杀伤武器”[18],例如靶向 CD33 的 CAR-NK 细胞可特异性识别 AML 细胞表面的 CD33[17],激活 NK 细胞的杀伤信号通路,实现对肿瘤细胞的选择性清除。此外,血液肿瘤患者常存在 NK 细胞功能缺陷与免疫抑制微环境[8],这也是肿瘤进展与治疗耐药的重要原因。NK 细胞功能障碍在慢性粒细胞白血病(chronic myelogenous leukemia,CML)[19]、慢性淋巴细胞白血病(chronic lymphocytic leukemia,CLL)[20]、AML[21]和经典型霍奇金淋巴瘤(classical Hodgkin lymphoma,CHL)[22]中均有报道。

NK 细胞重编程免疫治疗的核心原理是通过基因修饰增强 NK 细胞的靶向杀伤能力、抵抗免疫抑制的能力,同时打破肿瘤细胞的免疫逃逸机制,恢复机体的抗肿瘤免疫平衡。Troy 等[23]利用病毒转导与成簇规律间隔短回文重复序列(clustered regularly interspaced short palindromic repeats,CRISPR)/CRISPR 相关蛋白 9(CRISPR-associated protein 9,Cas9)技术敲除了 NK 细胞的 CD38,并在此基础上构建了 CD38-KO/CD38-CAR-NK 细胞,这一策略不仅避免了 CAR 介导的“自相残杀”,还增强了 NK 细胞对 $CD38^+$ MM 的特异性杀伤活性,同时减弱了肿瘤细胞通过 CD38 分子介导的免疫抑制效应,为打破肿瘤微环境提供了新的可行策略。

从免疫学角度看,重编程 NK 细胞在血液肿瘤治疗中展现出三大优势:一是安全性更高,因 NK 细胞寿命相对较短且不存在体内长期克隆扩增的风险,可减少长期或延迟性毒副作用,避免类似CAR-T细胞治疗中报道的二次成瘤的发生[24];二是适用范围更广,重编程 NK 细胞可用于免疫功能低下的患者,在多数情况下无需进行清髓性预处理即可直接应用;三是协同效应更强,与化疗或免疫检查点抑制剂联合使用时,治疗效果可通过“化疗诱导肿瘤细胞表面应激配体表达+NK 细胞靶向杀伤增强”这一协同机制得到提升,进一步提高整体治疗响应率[18]。

2 NK 细胞重编程策略及其在血液肿瘤中应用

近年来,基因编辑技术的快速发展为 NK 细胞重编程提供了重要支撑,显著拓展了其在血液肿瘤免疫治疗中的应用潜力。目前,NK 细胞工程化改造主要依赖三类技术策略:定点基因编辑工具(如 ZFN、TALEN 和 CRISPR/Cas 系统)、病毒或非病毒载体介导的基因递送平台,以及转座子介导的稳定基因整合系统(如 Sleeping Beauty 和 piggyBac)。其中 CRISPR/Cas9 因其高效、灵活及支持多靶点编辑等优势,已成为 NK 细胞工程化改造中应用最为广泛的技术之一。在此基础上,围绕增强靶向识别、放大效应功能、提高体内持久性并克服肿瘤微环境抑制等关键问题,逐步形成了多种具有代表性的 NK 细胞重编程策略(图 3)。

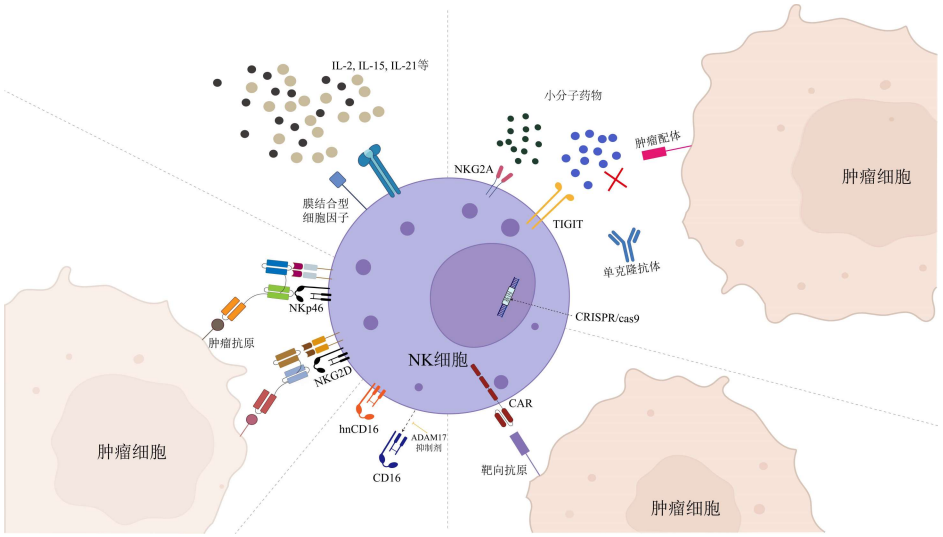


图 3　增强 NK 细胞抗肿瘤活性的重编程策略。该图以 NK 细胞为核心，概述提升其抗肿瘤活性的主要工程化策略。包括：(1) CAR 修饰增强肿瘤抗原特异性识别；(2) 通过提高 CD16 功能(如抑制 ADAM17 介导剪切、采用高亲和力变体)增强 ADCC；(3) 利用 NKCEs 桥接 NK 细胞激活受体与肿瘤抗原以放大激活信号；(4) 通过 IL-2/IL-15/IL-21 等细胞因子提升体内扩增与持久性；(5) 以及利用药物或基因编辑(如 CRISPR/Cas9)阻断 NKG2A/TIGIT 等抑制性通路，缓解微环境免疫抑制。CAR：嵌合抗原受体；IL：白细胞介素；CRISPR：成簇规律间隔短回文重复序列；Cas9：CRISPR 相关蛋白 9。

Figure 3　Reprogramming strategies to enhance NK cell antitumor activity. Overview of key engineering strategies to enhance NK cell antitumor activity. These strategies include: (1) CAR modification to enhance specific recognition of tumor antigens; (2) augmentation of ADCC by optimizing CD16 function (*e. g.*, inhibiting ADAM17-mediated cleavage or employing high-affinity variants); (3) utilization of NKCEs to bridge activating receptors on NK cells with tumor antigens to amplify activation signals; (4) administration of cytokines (*e. g.*, IL-2, IL-15, IL-21) to promote in vivo persistence and expansion; and (5) alleviation of immunosuppression in the tumor microenvironment by blocking inhibitory pathways (*e. g.*, NKG2A, TIGIT) using pharmacological agents or gene editing techniques such as CRISPR/Cas9. CAR: chimeric antigen receptor; IL: interleukin; CRISPR: clustered regularly interspaced short palindromic repeats; Cas9: CRISPR-associated protein 9.

2.1　CAR 修饰

CAR-NK 细胞是表达 CAR 的工程化 NK 细胞，已成为继 CAR-T 疗法之后肿瘤免疫治疗领域的重要发展方向。该技术在保留 NK 细胞固有杀伤功能的基础上，通过引入 CAR 结构进一步增强其靶向性、持久性及抗肿瘤活性。CAR 结构通常由胞外抗原识别区、跨膜域和胞内信号域构成：胞外区负责特异性识别肿瘤抗原，跨膜域介导受体锚定，胞内信号域则激活下游免疫效应[25]。在信号域设计方面，第一代 CAR-NK 仅含 CD3ζ 激活域，第二代和第三代 CAR-NK 在此基础上引入一个或多个额外 CD28、CD137 和 4-1BB 等共刺激结构域，以增强 NK 细胞的激活信号，从而提高 NK 细胞抗肿瘤活性[25]。与前几代不同，第四代 CAR-NK 是通过整合“分子有效载荷”解决 CAR-NK 细胞持久性差的局限。经基因工程改造后，NK 细胞能自主分泌 IL-15等细胞因子，从而实现持续的体内持久性和更强抗肿瘤效力，同时避免了全身性给予细胞因子所带来的毒性风险[26]。

CAR-T 细胞疗法是当前最成熟的细胞治疗方法，在血液系统肿瘤中展现出显著疗效，并已有多个产品获美国食品药品监督管理局批准[27-30]。然而，CAR-T 疗法存在明显缺陷：自体细胞制备耗时长、放化疗后患者 T 细胞功能受损导致产量不足、异体输注易引发 GVHD，以及出现 CRS、神经毒性和长期驻留致二次成瘤等安全性问题[31-32]；相比之下，CAR-NK 疗法优势突出[33-34]。首先，与活化 T 细胞释放的细胞因子相比，激活的 NK 细胞产生 IFN-γ 和 TNF-α，诱导 CRS 和严重神经毒性的倾向性要低得多，同时 NK 细胞不表达 T 细胞受体，不会产生

GVHD。其次,NK 细胞体内存活时间一般只有几天至几周,毒副作用低,二次成瘤风险低。由于 NK 细胞具有不受 MHC 限制的特性,可以将异体来源的 NK 细胞用于“现货型”CAR-NK 细胞治疗,以便长期冻存和按需使用[35-36]。

CAR-NK 细胞疗法在多种血液肿瘤的治疗中正从临床前研究迅速走向临床应用,展现出巨大的潜力。首先,在 $CD19^+$ 淋巴瘤与 CLL 的治疗上,Liu 等[37]在淋巴瘤小鼠模型中通过脐带血(umbilical cord blood, UCB)NK 细胞转导 CD19-CAR,并联合表达 *IL-15* 和诱导型 *caspase-9* 自杀基因,证实了改良的 CD19-CAR-NK 细胞在动物模型中的高效低毒特性,基于此,研究者[38]进一步开展了Ⅰ/Ⅱ期临床试验(NCT03056339),在 $CD19^+$ 淋巴瘤患者中取得了 73%(8/11)的客观缓解率且未观察到明显的 CRS 或 GVHD。进一步优化的诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC)来源 FT596 细胞,其结构包括 CAR 靶向 CD19、高亲和力、不可切割的 CD16 受体(high-affinity non-cleavable CD16, hnCD16)和 IL-15/IL-15R 融合蛋白。在使用 iPSC 来源的 CD19-CAR-NK 细胞(FT596)治疗复发/难治性 B 细胞淋巴瘤的Ⅰ期临床试验(NCT04245722)[39]中,单药治疗或联合 Rituximab 治疗均显示出良好的耐受性、低 CRS 以及未报告神经毒性事件。

在 AML 中,CD33 是 CAR-NK 细胞治疗的潜在靶抗原[40]。Albinger 等[41]研究发现利用慢病毒转导创建源自外周血(peripheral blood, PB)NK 细胞的 CD33-CAR-NK细胞模型,在异种移植小鼠模型中极大地减轻了 AML 负担且未观察到副作用。在临床阶段,2018 年我国报道了首个基于 NK-92 细胞系的 CD33-CAR-NK疗法治疗复发/难治性 AML 的Ⅰ期临床试验[40],3 例 AML 患者在高达 5×10^9 个细胞的剂量下,未观察到明显的不良反应。近年来CD33-CAR-NK治疗迎来突破性进展。研究者[42]使用 CD33-CAR-NK 治疗复发/难治性 AML,60%(6/10)的患者在第 28 天能达到微小残留病阴性完全缓解,且未观察到神经毒性或 GVHD(NCT05008575)。另一个靶点为 CD123,其在 AML 母细胞和白血病干细胞上广泛表达。CD123-NK细胞在体外的 $CD123^+$ AML 细胞系、$CD123^+$ 原代母细胞以及体内的 AML 模型中,均展现出显著的抗白血病活性[43]。这促使开展临床试验以评估该细胞疗法的有效性。临床试验 NCT05574608 旨在评估复发/难治性 AML 患者在接受 FC(F:氟达拉滨;C:环磷酰胺)化疗后,输注同种异体 CD123-CAR-NK 细胞的情况,此试验处于早期Ⅰ期临床阶段[44]。

T 系血液系统恶性肿瘤主要包括 T 细胞急性淋巴细胞白血病及多种成熟 T 细胞淋巴瘤,该类疾病具有侵袭性强和复发率高的挑战。CD7 是一种 T 细胞谱系相关分化抗原,其缺失不会显著影响 T 细胞的发育和基本免疫功能,因此被认为是 T 系恶性肿瘤中潜在免疫治疗靶点。为克服效应细胞与恶性肿瘤共表达 CD7 抗原导致“同类相残”的问题,近年来研究者从不同效应细胞来源和工程化策略角度进行了探索。You 等[45]基于 NK-92-MI 细胞系构建了 CD7-CAR-NK-92MI 细胞,在 T-ALL 患者来源的异种移植小鼠模型中显示出明确的抗肿瘤活性和良好的安全性。而 Lin 等[46]以 iPSC 为来源,通过 CRISPR/Cas9 技术敲除 *CD7*,构建的 CD7-CAR-iNK 细胞从源头上避免了“同类相残”。在 T-ALL 异种移植模型中,输注该细胞显著抑制了肿瘤进展并延长生存;进一步过表达 CXCR4 后,细胞的骨髓归巢能力与体内持久性明显增强,且全程未观察到明显的 CRS 或严重毒性。目前针对 CD7 的CAR-NK细胞治疗在 T 系血液系统恶性肿瘤中的研究仍以临床前研究为主,进入临床试验的项目相对有限。

MM 作为一种无法治愈的血液系统恶性肿瘤,迫切需要新的策略来提供长期无进展生存的机会。B 细胞成熟抗原(B-cell maturation antigen,BCMA)在调节浆细胞中 B 细胞的存活、增殖、分化和成熟方面发挥着重要作用,是识别包括 MM 在内血液系统恶性肿瘤的标志物[47]。BCMA-CAR-NK 细胞治疗 MM 的研究正取得显著突破[47-49]。临床前研究[47]中,BCMA-CAR-NK92 细胞在体外实验中显示出对 MM 细胞系和原代 MM 细胞的强效细胞杀伤能力,并能增强 IFN-γ等细胞因子的分泌;在小鼠皮下瘤模型中,也有效诱导了肿瘤消退。为应对 MM 中 BCMA 分子表

达下调及抗原异质性相关的复发，Cao 等[48]开发了靶向 BCMA 和 GPRC5D 分子的双靶点 CAR-NK 细胞，该细胞不仅能有效裂解 BCMA 低表达/阴性细胞的靶细胞，而且在 MM 荷瘤小鼠模型中较单靶点CAR-NK更显著地提高动物存活率并降低复发风险，凸显其作为通用疗法的优势。临床实验方面，一项Ⅰ期试验采用 iPSCs 衍生的 BCMA-CAR-NK 细胞治疗 9 例 MM 患者，其中 3 例联合使用 Daratumumab，均未出现 CRS 或神经毒性。其中单药治疗（3×10^8 个细胞）使 1 例患者达到非常好的部分缓解，联合治疗（1×10^8 个细胞）使 2 例患者获得缓解[49]。这些数据共同验证了 BCMA-CAR-NK 疗法通过多靶点策略突破耐药瓶颈的安全性与治疗潜力，为难治/复发性 MM 提供了新的治疗方向。针对 MM 的 CAR-NK 疗法目前仍处于起步阶段，需要更多的临床数据支持，针对 MM 治疗的临床实验正在进行（表 2）。

表 2　基于 CAR-NK 的临床试验

Table 2　CAR-NK-based clinical trials

血液系统恶性肿瘤	药物	靶向抗原	临床阶段	国家	临床实验编码
AML/LBL/ALL	CD7-CAR-NK	CD7	Ⅰ	中国	NCT07117175
T-ALL	VGO-Cs01p	CD7	Ⅰ	中国	NCT06849401
NHL/CLL/B-ALL	NKX019	CD19	Ⅰ	美国/澳大利亚	NCT05020678
NHL/ALL/CLL	KUR-502	CD19	Ⅰ	美国	NCT05487651
B 细胞恶性肿瘤	JD010	CD19	Ⅰ	中国	NCT05645601
ALL	CD19-CAR-NK	CD19	Ⅰ	中国	NCT05563545
B 细胞恶性肿瘤	iC9/CAR.19/IL15	CD19	Ⅰ/Ⅱ	美国	NCT03056339[38]
B 细胞恶性肿瘤	FT596	CD19	Ⅰ	美国	NCT04245722[39]
AML/BPDCN	CD123-CAR-NK	CD123	Ⅰ	中国	NCT06690827
AML/BPDCN	CD123-CAR-NK	CD123	Ⅰ/Ⅱ	中国	NCT06006403
AML	JD023	CD123	Ⅰ	中国	NCT05574608[44]
T 细胞恶性肿瘤	CD5-CAR/IL-15	CD5	Ⅰ/Ⅱ	美国	NCT05110742
T 细胞恶性肿瘤	CD5-CAR-NK	CD5	Ⅰ	中国	NCT06909474
T 细胞恶性肿瘤	iC9/CD5-CAR/IL-15	CD5	Ⅱ	美国	NCT07137481
AML/MDS	NKX101	NKG2DL	Ⅰ	美国	NCT04623944
AML	NKG2D-CAR-NK	NKG2DL	不适用	中国	NCT05247957
MM	NKG2D-CAR-NK	NKG2DL	Ⅰ	中国	NCT06379451
AML	CD33-CAR-NK	CD33	Ⅰ/Ⅱ	美国	NCT07026942
AML	CD33-CAR-NK	CD33	Ⅰ/Ⅱ	中国	NCT02944162
AML	CD33-CAR-NK	CD33	Ⅰ	中国	NCT05008575[42]
AML/MDS	SENTI-202	CD33/FLT3	Ⅰ	美国	NCT06325748
AML	CD33-CAR-NK/CLL1-CAR-NK	CD33/CLL1	Ⅰ	中国	NCT06367673
AML	CD33/CLL1 dual CAR-NK	CD33/CLL1	Ⅰ	中国	NCT05987696
AML	CD33/CLL1-CAR-NK	CD33/CLL1	Ⅰ	中国	NCT05215015
AML	CLL-1-CAR-NK	CLL-1	Ⅰ	中国	NCT06307054
AML	CLL-1-CAR-NK	CLL-1	Ⅰ	中国	NCT06027853
TCL/AML	CD70-CAR-NK	CD70	Ⅰ	中国	NCT06696846
MM/PCL	BCMA-CAR-NK	BCMA	Ⅰ	中国	NCT06045091
MM	BCMA-CAR-NK	BCMA	Ⅰ	中国	NCT05652530
MM	BCMA-CAR-NK	BCMA	Ⅰ/Ⅱ	中国	NCT03940833
MM	FT576	BCMA	Ⅰ	美国	NCT05182073
MM	ACT-001	BCMA/GPRC5D	不适用	中国	NCT06594211

AML：急性髓系白血病；ALL：急性淋巴细胞白血病；B-ALL：B 细胞急性淋巴细胞白血病；T-ALL：T 细胞急性淋巴细胞白血病；BPDCN：母细胞性浆细胞样树突状细胞肿瘤；MDS：骨髓增生异常综合征；NHL：非霍奇金淋巴瘤；CLL：慢性淋巴细胞白血病；TCL：T 细胞淋巴瘤；MCL：套细胞淋巴瘤；LBL：淋巴母细胞淋巴瘤；MM：多发性骨髓瘤；PCL：浆细胞白血病。相关信息可在 https://www.clinicaltrials.gov/查询。

AML: acute myeloid leukemia; ALL: acute lymphoblastic leukemia; B-ALL: B-cell acute lymphoblastic leukemia; T-ALL: T-cell acute lymphoblastic leukemia; BPDCN: blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm; MDS: myelodysplastic syndromes; NHL: non-hodgkin lymphoma; CLL: chronic lymphocytic leukemia; TCL: T-cell lymphoma; MCL: mantle cell lymphoma; LBL: lymphoblastic lymphoma; MM: multiple myeloma; PCL: plasma cell leukemia. Relevant information is available at https://www.clinicaltrials.gov/.

2.2 增强 ADCC 效应

ADCC 是 NK 细胞抗肿瘤功能的核心机制之一。NK 细胞通过其表面表达的 IgG 低亲和力 Fc 受体,识别抗体包被靶细胞的 Fc 部分,进而触发杀伤效应[50]。鉴于 NK 细胞固有的 ADCC 能力,将过继性 NK 细胞疗法与靶向肿瘤相关抗原的单克隆抗体相结合,形成了一种具有协同增效潜力的策略[51]。然而,这一策略的临床疗效受到一个关键因素的制约:CD16 在 NK 细胞被激活后会发生脱落现象,致使 ADCC 效应的持久性受限[52],而这种脱落主要由一种金属蛋白酶 ADAM17 所介导[53]。

为了克服这一瓶颈,研究人员[54-56]开发了多种重编程策略。一个方向是对 CD16 脱落机制进行阻断。首先,可以通过基因工程改造 CD16 受体本身,构建 hnCD16,以确保其在激活后仍能稳定地表达在细胞表面,从而维持持久的 ADCC 功能[54]。与未修饰的 NK 细胞相比,hnCD16-iNK 细胞与单抗结合后,在卵巢癌和淋巴瘤异种移植模型中的存活时间得以延长[54]。此外,还可使用ADAM17的小分子抑制剂来阻止 CD16 的降解[55]。一项研究[56]通过应用ADAM17小分子抑制剂成功阻止了这一过程,该干预不仅稳定了 CD16 的表达,更显著增强了 NK 细胞在抗 CD47 抗体存在下的细胞毒性功能,为联合疗法提供了实验依据。另一个方向是通过双特异性抗体桥接以增强 ADCC。AFM13 是一种 CD30/CD16A 双特异性抗体,通过 CD16A 作为免疫效应细胞与 NK 细胞结合[57]。在一项临床Ⅰ期实验(NCT04074746)[58]中,42 例复发/难治性 $CD30^+$淋巴瘤患者,接受了 AFM13 与经过 IL-12/15/18 细胞因子预活化的记忆样脐带血来源 NK(umbilical cord blood NK,UCB-NK)细胞进行“预装载”后输注,总体缓解率达到92.2%,完全缓解率达到66.7%,且未观察到严重毒副作用。在中位随访 20 个月后,2 年总生存率仍有76.2%,显示出持久的疗效潜力。为了进一步验证该策略的可行性,一项多中心Ⅱ期试验的初步分析[59]显示,使用 AFM13 与冻存的“现货型”NK 细胞联合输注,在最初 10 例可评估的患者中同样报告了 90% 的总体缓解率和 60% 的完全缓解率,证明该疗法具备标准化生产和规模化应用的前景。

2.3 联合 NK 细胞接合器

运用外源性的 NK 细胞接合器(NK cell engagers, NKCEs)是另一种重定向 NK 细胞并增强其抗肿瘤活性的策略。这些生物工程分子通常为多臂抗体,作为肿瘤细胞与效应细胞之间的桥梁,促进免疫突触的构建,进而触发杀伤作用[6]。目前在研的 NKCEs 大多以 NK 细胞上的激活性受体 CD16A 为靶点,其他激活受体,如 NKG2D、NKp46 和 NKp30,也作为潜在靶点被积极探寻[60]。从分子结构而言,NKCEs 形式丰富多样。双特异性杀伤细胞接合器(bispecific killer engagers, BiKEs)通常由一个靶向肿瘤相关抗原的单链可变片段和另一个靶向 NK 细胞表面受体的单链可变片段构成。为进一步提高效能,三特异性 NKCEs(trispecific NKCEs, TriKEs)及四特异性 NKCEs(tetraspecific NKCEs, TetraKEs)相继问世。TriKEs 在双特异性结构基础上,通过整合 IL-15 等细胞因子,不仅能够有效激活 NK 细胞,还可显著推动其在体内的增殖与存活。TetraKEs 则更进一步,通过引入额外的靶向结构域,如双肿瘤抗原靶向,在增强肿瘤识别特异性和杀伤效率的同时,进一步优化了免疫突触的形成和持久性[61]。与已广泛应用的 T 细胞衔接器相比,NKCEs 在安全性方面表现出显著优势,其引发 CRS 和神经毒性等严重不良事件的风险更低[6]。

NKG2D 是 NK 细胞上重要的激活性受体之一,其长期与细胞表面配体结合会导致 NK 细胞脱敏,削弱其效应功能[62]。为克服这一问题,研究者开发了多种 NKCEs。其中,一种同时靶向 NKG2D 与 MM 相关抗原 CS1 的 NKCEs,在 MM 临床前小鼠模型中显示出显著疗效[63]。另一种策略是将 NKG2DL 直接融合至肿瘤抗体片段。如 2A9-MICA 由人 MICA 的细胞外结构域与靶向 BCMA 的 scFv 构成的 BiKEs,在体外可显著促进 NK-92 细胞脱颗粒并增强其对 $BCMA^+$MM 细胞的杀伤;在裸鼠模型中亦能有效抑制肿瘤生长且未见明显毒性,展现良好安全性[64]。

NKp46 是 NK 细胞表面的重要天然细胞毒性受体,在 NK 细胞表达水平较高且相对稳定,也是 NKCEs 的可行靶点。Gauthier 等[65]开发出了由靶向

NKp46 的抗体片段、靶向肿瘤抗原的抗体片段，以及能结合 NK 细胞表面 CD16 的 Fc 段组成的 TriKEs，从而实现对 NKp46 和 CD16 的双重激活。在多种血液学和实体瘤模型中，被证明可以有效地增加 NK 细胞向肿瘤部位的募集并控制肿瘤生长。在此基础上研究者开发的 TriKEs（SAR443579）靶向 NKp46 和 CD123[66]，并已在针对复发/难治性 AML 的Ⅰ/Ⅱ期临床试验（NCT06508489、NCT05086315[67]）中开展评估。此外，含 *IL-2* 突变体的 NKp46 TetraKEs 治疗剂在多种临床前模型中表现出更强的 NK 细胞增殖和抗肿瘤活性，为后续设计提供了方向[68]。

2.4　提高体内持久性与扩增能力

过继性输注的 NK 细胞在体内持久性有限，是限制其疗效的主要挑战之一。为了延长 NK 细胞的寿命并增强其扩增能力，研究人员通过基因重编程策略提供持续的细胞因子支持，其中以 IL-2、IL-15 和 IL-21 的应用最为广泛[37,51,69]。IL-2 用于肿瘤免疫治疗已逾 20 年，其临床价值受限于严重缺陷：IL-2 可非特异性激活表达高亲和力受体 IL-2Rα 的调节性 T 细胞和血管内皮细胞，不仅削弱了抗肿瘤效果，还会引发严重的毒副作用如血管渗漏综合征。为解决此问题，新型 IL-2 变体应运而生，新型 OMCP-mutIL-2 融合蛋白仅激活 NK 细胞等 NKG2D$^+$细胞，在有效抑制肿瘤的同时避免了传统 IL-2 的毒性[70]。

IL-15 是维持 NK 细胞发育、存活和功能的关键细胞因子，被认为是增强 NK 细胞疗法持久性的理想选择[37]。其临床转化主要围绕两种策略展开：外源性输注和内源性表达。在外源性输注方面，早期的临床试验已验证全身性输注重组人 IL-15 的可行性，其在 AML 患者中联合给药促进了过继性转移 NK 细胞的体内大量增殖[71]。此外，IL-15 超级激动剂亦是一种选择。例如 ALT-803，它属于融合蛋白，能够把一个 IL-15 超级激动剂突变体与一个二聚化的 IL-15 受体 α-IgG1-Fc 连接起来。在一项多中心临床试验（NCT01885897）[72]中，在不增加调节性 T 细胞的情况下 ALT-803 激活和增加了体内 NK 细胞，并且在血液系统恶性肿瘤患者中表现出良好的耐受性。在内源性表达方面，也可以通过基因工程改造使 NK 细胞表达 IL-15。这包括使 NK 细胞，特别是 CAR-NK 细胞自分泌 IL-15 建立信号环路，或表达膜结合型 IL-15，以减少外源细胞因子依赖[73]。一项针对 CD19$^+$淋巴肿瘤的临床试验（NCT03056339）[38]中，通过在 CAR 设计中加入 IL-15，输注的 CAR-NK 细胞显示出增强的抗肿瘤活性，并在体内持续至少 12 个月，提高了临床缓解率。抗 CD16/IL-15/抗 CD33 TriKEs（GTB-3650）治疗高危骨髓增生异常综合征（myelodysplastic syndromes，MDS）和复发/难治性 AML Ⅰ期试验（NCT06594445）也在进行。利用膜结合细胞因子进行高效的体外扩增，已成为一种成熟的临床策略。一项针对首次完全缓解后儿童 AML 的Ⅱ期临床试验（NCT02763475）[74]，使用经基因改造表达膜结合型 IL-15 和 4-1BBL 的 K562 细胞扩增单倍体相合 NK 细胞，并作为巩固疗法，该研究初步证明该疗法是安全且可行的[74]。类似地，膜结合型 IL-21 体外扩增的 NK 细胞在一项针对复发/难治性 AML 患者的Ⅰ期临床试验（NCT01787474）中也取得了积极成果，观察到 1 年总体生存率的改善趋势[75]，证明该策略在血液肿瘤治疗中的临床应用潜力。

2.5　克服肿瘤微环境抑制

解除肿瘤微环境中 NK 细胞的功能障碍，是实现有效抗肿瘤免疫的关键挑战[76]。NK 细胞表达的抑制性检查点受体（如 NKG2A、TIGIT、PD-1）与肿瘤或免疫抑制细胞上的配体结合，会显著削弱 NK 细胞的杀伤活性和细胞因子分泌能力，从而促进肿瘤免疫逃逸[77]。阻断这些抑制性受体是解除肿瘤微环境直接抑制的重要策略。一方面，可以通过单克隆抗体或小分子药物直接阻断抑制性受体或其配体，从而快速解除肿瘤微环境中的免疫抑制信号。NKG2A 的单克隆抗体 Monalizumab 可以通过阻断 NKG2A 与其在肿瘤细胞上配体 HLA-E 的结合，加强 NK 细胞和 CD8$^+$ T 细胞的抗肿瘤活性[78]。尽管首个 KIR 拮抗剂 Lirilumab 在 AML 的单药治疗中效果不佳，但将其与其他免疫疗法（如抗 PD-1 抗体）联合使用的策略正在积极探索中[79]。此外，TIGIT 受体在 MM 和 AML 患者的 NK 细胞上呈高度表达。多种小鼠模型[80]证实，抑制 TIGIT 可逆转 NK 细胞

的耗竭状态，并促进 NK 细胞介导的抗肿瘤免疫反应。因此，目前已设计了一些临床试验[69]，旨在评估抗 TIGIT 药物单独使用以及与其他免疫检查点抑制剂联合使用的效果。在一项针对复发/难治性 MM 的Ⅰ期平台试验（NCT04150965）[81]中，患者接受抗 TIGIT 抗体（BMS-986207）联合泊马度胺和地塞米松治疗。该联合疗法展现出良好的安全性和抗肿瘤活性，在抗 TIGIT 联合治疗组中，客观反应率高达 50% 且反应持久。

另一方面可以通过 CRISPR/Cas9 技术、病毒载体等手段直接改造 NK 细胞，消除或逆转抑制性信号，实现持久的抗抑制功能。以 CRISPR/Cas9 技术为代表的基因编辑技术，可通过敲除特定基因直接破坏抑制性通路。研究[82]表明，运用 CRISPR/Cas9 技术敲除编码 NKG2A 受体的 *KLRC1*，能有效阻断 NK 细胞的免疫抑制。此外，还能敲除细胞内源性负调控蛋白。例如，通过基因编辑敲除作为 IL-15 信号负调控因子的 *CISH*，可使 NK 细胞对 IL-15 高度敏感，进而增强其增殖、生存及效应功能[83]。在 B 细胞淋巴瘤的临床前模型中，CISH 敲除的CAR-NK 细胞表现出更强的持久性和抗肿瘤活性[84]。

3 NK 细胞重编程与免疫治疗在血液肿瘤中的挑战

3.1 技术层面挑战：细胞来源局限与重编程效率瓶颈

NK 细胞的来源与制备是制约其临床应用的首要技术难题。目前，NK 细胞的主要来源包括 PB-NK、UCB-NK、iPSC-NK 及 NK 细胞系（如 NK-92细胞）[8]，但每种来源均存在明显局限[85]：PB-NK 细胞虽易获取，但数量有限且受供体年龄、健康状况影响较大，体外扩增难度高；UCB-NK 细胞数量丰富、免疫原性低，但脐带血样本的获取与储存依赖完善的脐血库体系，且不同 UCB 样本的 NK 细胞质量差异较大；iPSC-NK 细胞具有无限增殖能力与遗传稳定性，可实现标准化制备[86]，但 iPSCs 的诱导分化过程复杂、成本高，且存在潜在的致瘤风险；NK-92 细胞系虽可大规模培养，但为异源细胞，临床应用需进行照射处理以避免增殖失控，这会导致细胞活性降低与体内持久性不足[87]。

此外，NK 细胞重编程技术的效率与稳定性也面临挑战。当前主流的重编程技术包括病毒载体介导的基因转导与非病毒载体介导的基因编辑如 CRISPR/Cas9 技术。病毒载体虽转导效率高，但存在插入突变风险，且制备过程复杂、成本高；非病毒载体虽安全性更高、成本更低，但存在转导效率低、基因整合不稳定等问题，例如 Sleeping Beauty 转座子介导的 CAR-NK 细胞，其 CAR 基因的整合效率仅为病毒载体的 60% ~70%，且部分细胞在长期培养中会出现 CAR 表达丢失，影响治疗效果[88]。同时，NK 细胞的基因编辑还面临“脱靶效应”风险，例如 CRISPR/Cas9 技术在敲除 *MED12*、*ARIH2*、*CCNC* 等调控靶点时[14]，可能误编辑其他无关基因，导致 NK 细胞功能异常或产生新的突变，为后续临床应用埋下安全隐患。

3.2 临床层面挑战：体内持久性不足与疗效个体差异

NK 细胞在体内的存活时间短、持久性不足[89-91]，是影响其临床疗效的核心问题。研究[6]表明，未经修饰的 NK 细胞输注到患者体内后，其半衰期仅为 12 ~24 h，即使经过 IL-2、IL-15 等细胞因子预处理，体内存活时间也仅能延长至 3 ~7 d。体内持久性不足导致 NK 细胞无法持续清除肿瘤细胞，尤其是对于残留病灶较多的患者，易出现治疗后复发。造成 NK 细胞体内持久性不足的原因主要包括：一是血液肿瘤患者的免疫微环境中存在大量抑制性细胞因子，抑制 NK 细胞的增殖与存活；二是 NK 细胞在杀伤肿瘤细胞的过程中会发生耗竭[90]，表现为活化受体表达降低、细胞因子分泌减少，最终失去杀伤能力；三是当前的重编程技术尚未完全解决 NK 细胞的代谢适应性问题，NK 细胞在体内高代谢状态下易出现能量耗竭，导致存活时间缩短[92]。

此外，疗效的个体差异也是临床层面的重要挑战。不同血液肿瘤患者对 NK 细胞重编程免疫治疗的反应差异显著，部分患者可实现完全缓解，但也有患者仅能达到部分缓解或无反应。这种个体差异主要源于三方面因素：一是患者的肿瘤异质性，不同患者的肿瘤细胞靶点表达水平、基因突变类型不同，例如部分 AML 患者的 CD33 分子表达下调，导致

CD33-CAR-NK 细胞无法有效识别肿瘤细胞[17]；二是患者的免疫状态，免疫功能低下、存在自身免疫疾病的患者，其体内 NK 细胞的存活与活化环境更差，治疗效果也相应降低；三是治疗方案的差异，包括 NK 细胞的输注剂量、输注频率、是否联合细胞因子等，目前尚未形成标准化的治疗方案，不同中心的临床实践差异较大，进一步加剧了疗效的个体波动。

3.3　安全性挑战：脱靶毒性与 CRS 风险

尽管 NK 细胞免疫治疗的安全性显著优于 CAR-T 细胞疗法，但仍存在潜在的安全性风险，其中脱靶毒性与 CRS 是最主要的两类风险。脱靶毒性主要源于 NK 细胞对正常细胞的误杀伤，其发生与靶点的特异性密切相关：若 CAR-NK 细胞的靶点在正常细胞中低表达，即使表达水平远低于肿瘤细胞，也可能导致 NK 细胞对正常细胞的杀伤。例如，CD38 不仅表达于 MM 细胞，也表达于正常造血干细胞、T 细胞及内皮细胞，CD38-CAR-NK 细胞在杀伤肿瘤细胞的同时，可能损伤正常造血干细胞，导致患者出现长期骨髓抑制[23]；DR5 虽在多种肿瘤细胞中高表达，但在正常肝脏细胞、肠道上皮细胞中也有少量表达，DR5-CAR-NK 细胞可能引发肝损伤、肠道炎症等脱靶毒性[93]。

CRS 是 NK 细胞免疫治疗中另一类需警惕的安全性问题。尽管 NK 细胞分泌的细胞因子种类与数量少于 T 细胞，CRS 的发生率与严重程度也低于 CAR-T 细胞疗法，但在高剂量 NK 细胞输注或肿瘤负荷较高的患者中，仍可能发生 CRS。其发生机制为：NK 细胞在杀伤肿瘤细胞的过程中大量释放 IFN-γ、TNF-α 等细胞因子，这些细胞因子进一步激活巨噬细胞、单核细胞等免疫细胞，引发“细胞因子风暴”，导致患者出现发热、低血压、呼吸困难等症状。例如，Bahramloo 等[15]在 AML 患者的 CAR-NK 细胞治疗临床试验中，观察到 15% 的患者出现轻度 CRS，虽未发生严重 CRS，但仍需密切监测患者的生命体征与细胞因子水平，及时给予糖皮质激素、IL-6受体拮抗剂等治疗。

此外，尽管已有基于 NK-92 细胞系的 CD33-CAR-NK 疗法用于治疗复发/难治性 AML 的Ⅰ期临床试验报道，但由于 NK-92 细胞属于肿瘤来源的细胞系，直接体内输注仍存在增殖及成瘤的潜在风险，因此需通过放射线照射等方式对其增殖能力进行调控[94]。有研究[95]表明，5 Gy 及以上照射剂量可完全阻断 NK-92 细胞增殖，10 Gy 照射 7 d 后，细胞存活率降至 0，彻底消除增殖成瘤风险。现有研究仅确定了基础照射剂量和输注方式，但对于不同肿瘤类型、分期的患者，最佳输注剂量、输注频率、联合抗体的使用时机等关键临床方案，尚未通过大样本临床试验明确。且 NK-92 细胞输注后长期是否存在迟发性免疫反应，以及对正常组织的潜在影响，目前缺乏足够数据支持。

4　NK 细胞重编程免疫治疗的未来发展方向与临床转化策略

4.1　技术突破：优化细胞来源与提升重编程效率

优化 NK 细胞来源是解决临床供应问题的关键。未来，iPSC-NK细胞有望成为 NK 细胞的主流来源：一方面，iPSC具有无限增殖能力，可通过大规模培养生产足量的 NK 细胞，满足临床需求；另一方面，可通过基因编辑技术对 iPSC 进行预先修饰，例如敲除 CD70 避免 CAR-NK 细胞的自我杀伤，或整合 IL-15 受体融合蛋白基因增强 NK 细胞的体内持久性[86]。同时，需进一步优化 iPSC 的诱导分化方案，通过添加特定细胞因子与小分子化合物，提高 NK 细胞的分化效率与功能成熟度，降低未分化iPSC 的致瘤风险。

在重编程技术方面，非病毒载体技术将成为未来的发展重点。Sleeping Beauty 转座子、piggyBac 转座子等非病毒载体，具有制备简便、成本低、无插入突变风险等优势，可替代病毒载体用于 NK 细胞的基因修饰[88]。未来需通过优化转座子的载体设计（如缩短转座子长度、添加增强子元件）、改进转染方法（如电穿孔、脂质纳米颗粒递送），提升基因转导效率与整合稳定性；同时，结合 CRISPR/Cas9 技术，实现对 NK 细胞功能靶点的精准调控，例如敲除 *MED12*、*ARIH2*、*CCNC* 等负向调控基因，增强 NK 细胞的细胞毒性与代谢适应性[92]，或敲除 *PD-1*、

*CTLA-4*以抑制免疫检查点分子的表达，提升 NK 细胞抵抗免疫抑制的能力。此外，单细胞测序技术的应用[96]，使得人们对 NK 细胞的异质性有更深入的了解，帮助研究人员筛选出功能最优的 NK 细胞亚群，进一步提升重编程 NK 细胞的整体质量。

4.2 联合治疗策略：协同增强疗效与克服治疗耐药

单一 NK 细胞重编程免疫治疗难以完全清除血液肿瘤细胞，联合治疗是提升疗效、克服耐药的必然选择。未来可从以下 3 个方向构建联合治疗方案：一是 NK 细胞与免疫检查点抑制剂的联合。血液肿瘤细胞常通过表达 PD-L1、HLA-G 等免疫检查点分子抑制 NK 细胞功能，而免疫检查点抑制剂可阻断这种抑制作用，增强 NK 细胞的活化与杀伤能力。例如，Hosseinalizadeh 等[18]的研究表明，CD70-CAR-NK 细胞与 PD-L1 抗体联合使用时，对淋巴瘤细胞的杀伤活性较单独使用 CAR-NK 细胞提升 30% ~40%，且能有效清除 PD-L1$^+$的耐药肿瘤细胞。未来需进一步探索不同免疫检查点抑制剂与 NK 细胞的联合时机与剂量，实现疗效最大化与毒性最小化。二是 NK 细胞与化疗、放疗的联合。化疗、放疗不仅能直接杀伤肿瘤细胞，还能通过诱导肿瘤细胞表达应激相关分子、释放肿瘤抗原，增强 NK 细胞的靶向识别与杀伤能力。例如，在 AML 治疗中，低剂量阿糖胞苷预处理可上调 AML 细胞表面的 CD33 表达，使 CD33-CAR-NK 细胞的杀伤活性提升 2 ~3 倍[17]；放疗可破坏肿瘤免疫抑制微环境，减少 TGF-β 等抑制性细胞因子的分泌，延长 NK 细胞在体内的存活时间。未来需根据不同血液肿瘤的类型与分期，制定“化疗/放疗+NK 细胞”的治疗方案，在降低化疗/放疗剂量、减少副作用的同时，提升整体治疗效果。三是 NK 细胞与 NKCEs 的联合应用。这类多特异性生物工程分子具有“桥梁”功能，可通过一个结构域结合 NK 细胞表面的 CD16A、NKG2D 等活化受体，同时通过另一个结构域锚定肿瘤细胞表面的特异性靶点，形成“NK 细胞-NKCEs-肿瘤细胞”三元复合物，通过拉近细胞间距离、促进免疫突触形成，极大增强 NK 细胞的直接杀伤活性。例如，针对 CD20$^+$淋巴瘤，CD20/CD16 双特异性抗体可引导 NK 细胞特异性杀伤淋巴瘤细胞，与 CD20-CAR-NK 细胞联合使用时，可进一步提升疗效[8]。未来需开发更多针对血液肿瘤靶点的 NKCEs，并探索其与不同类型重编程 NK 细胞的联合模式，为治疗提供更多选择。

4.3 临床转化策略优化：建立标准化体系与加强临床研究设计

NK 细胞重编程免疫治疗的临床转化，需建立从细胞制备到疗效评估的全流程标准化体系。在细胞制备方面，应制定统一的 NK 细胞来源筛选标准、重编程技术操作规范、细胞质量控制标准，确保不同中心制备的 NK 细胞质量一致。例如，对于 iPSC-NK 细胞，需明确其分化效率达到 80% 以上，细胞毒性需在体外实验中对靶细胞的杀伤率超过 70%，且无致瘤性与微生物污染[86]。在临床研究方面，需开展更多高质量的临床试验，尤其是随机对照试验与多中心临床试验，验证 NK 细胞重编程免疫治疗的疗效与安全性。同时，应注重个体化治疗策略的探索：一方面，通过生物标志物检测筛选适合治疗的患者，提高治疗的精准性；另一方面，根据患者的治疗反应调整治疗方案。此外，需建立长期疗效与安全性监测体系：由于血液肿瘤存在复发风险，患者接受 NK 细胞治疗后需接受随访，监测肿瘤标志物、NK 细胞在体内的存活状态及潜在远期毒性，为优化治疗方案提供长期数据支持。

5 小结与展望

NK 细胞重编程免疫治疗作为血液肿瘤治疗的新兴技术，凭借其独特的杀伤机制、良好的安全性及巨大的潜力，为血液肿瘤患者带来了新的希望。然而，该领域仍面临细胞来源局限、体内持久性不足、脱靶毒性等挑战，需通过技术突破、联合治疗策略、临床转化体系完善逐一攻克。未来，随着基础研究的深入与临床经验的积累，NK 细胞重编程免疫治疗有望成为血液肿瘤治疗的重要手段，与传统化疗、放疗、造血干细胞移植及 CAR-T 细胞疗法形成互补，为不同类型、不同分期的血液肿瘤患者提供个体化治疗方案，推动血液肿瘤治疗进入“精准免疫治疗”新时代。

参考文献

1 Heipertz EL, Zynda ER, Stav-Noraas TE, *et al*. Current perspectives on "off-the-shelf" allogeneic NK and CAR-NK cell therapies[J]. Front Immunol, 2021, 12: 732135. doi: 10.3389/fimmu.2021.732135.

2 Li Y, Gao Y, Wang L, *et al*. NK cell adaptation in the tumor microenvironment: insights for NK cell-based immunotherapy[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2025, 86: 181-198. doi: 10.1016/j.cytogfr.2025.10.003.

3 Sender R, Weiss Y, Navon Y, *et al*. The total mass, number, and distribution of immune cells in the human body[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2023, 120(44): e2308511120. doi: 10.1073/pnas.2308511120.

4 Vivier E, Tomasello E, Baratin M, *et al*. Functions of natural killer cells[J]. Nat Immunol, 2008, 9(5): 503-510. doi: 10.1038/ni1582.

5 Hatjiharissi E, Xu L, Santos DD, *et al*. Increased natural killer cell expression of CD16, augmented binding and ADCC activity to rituximab among individuals expressing the FcγRIIIa-158 V/V and V/F polymorphism[J]. Blood, 2007, 110(7): 2561-2564. doi: 10.1182/blood-2007-01-070656.

6 Vivier E, Rebuffet L, Narni-Mancinelli E, *et al*. Natural killer cell therapies[J]. Nature, 2024, 626(8000): 727-736. doi: 10.1038/s41586-023-06945-1.

7 Pegram HJ, Andrews DM, Smyth MJ, *et al*. Activating and inhibitory receptors of natural killer cells[J]. Immunol Cell Biol, 2011, 89(2): 216-224. doi: 10.1038/icb.2010.78.

8 Merino A, Maakaron J, Bachanova V. Advances in NK cell therapy for hematologic malignancies: NK source, persistence and tumor targeting[J]. Blood Rev, 2023, 60: 101073. doi: 10.1016/j.blre.2023.101073.

9 Dogra P, Rancan C, Ma W, *et al*. Tissue determinants of human NK cell development, function, and residence[J]. Cell, 2020, 180(4): 749-763. e13. doi: 10.1016/j.cell.2020.01.022.

10 Michel T, Poli A, Cuapio A, *et al*. Human CD56^{bright} NK cells: an update[J]. J Immunol, 2016, 196(7): 2923-2931. doi:10.4049/jimmunol.1502570.

11 Kyrysyuk O, Wucherpfennig KW. Designing cancer immunotherapies that engage T cells and NK cells[J]. Annu Rev Immunol, 2023, 41(1): 17-38. doi: 10.1146/annurev-immunol-101921-044122.

12 Chiossone L, Dumas PY, Vienne M, *et al*. Natural killer cells and other innate lymphoid cells in cancer[J]. Nat Rev Immunol, 2018, 18(11): 671-688. doi: 10.1038/s41577-018-0061-z.

13 Bottcher JP, Bonavita E, Chakravarty P, *et al*. NK cells stimulate recruitment of cDC1 into the tumor microenvironment promoting cancer immune control[J]. Cell, 2018, 172(5): 1022-1037. e14. doi: 10.1016/j.cell.2018.01.004.

14 Biederstadt A, Rezvani K. Engineered natural killer cells for cancer therapy[J]. Cancer Cell, 2025, 43(11):1987-2013. doi: 10.1016/j.ccell.2025.09.013.

15 Bahramloo M, Shahabi SA, Kalarestaghi H, *et al*. CAR-NK cell therapy in AML: current treatment, challenges, and advantage[J]. Biomed Pharmacother, 2024, 177: 117024. doi: 10.1016/j.biopha.2024.117024.

16 Hilpert J, Grosse-Hovest L, Grünebach F, *et al*. Comprehensive analysis of NKG2D ligand expression and release in leukemia: implications for NKG2D-mediated NK cell responses[J]. J Immunol, 2012, 189(3): 1360-1371. doi: 10.4049/jimmunol.1200796.

17 Zhang R, Liu Q, Zhou S, *et al*. Engineering CAR-NK cells targeting CD33 with concomitant extracellular secretion of anti-CD16 antibody revealed superior antitumor effects toward myeloid leukemia[J]. Cancer Lett, 2023, 558: 216103. doi: 10.1016/j.canlet.2023.216103.

18 Hosseinalizadeh H, Wang LS, Mirzaei H, *et al*. Emerging combined CAR-NK cell therapies in cancer treatment: finding a dancing partner[J]. Mol Ther, 2025, 33(6): 2406-2425. doi: 10.1016/j.ymthe.2024.12.057.

19 Chen CI, Koschmieder S, Kerstiens L, *et al*. NK cells are dysfunctional in human chronic myelogenous leukemia before and on imatinib treatment and in BCR-ABL-positive mice[J]. Leukemia, 2012, 26(3): 465-474. doi: 10.1038/leu.2011.239.

20 MacFarlane AW 4th, Jillab M, Smith MR, *et al*. NK cell dysfunction in chronic lymphocytic leukemia is associated with loss of the mature cells expressing inhibitory killer cell Ig-like receptors[J]. Oncoimmunology, 2017, 6(7): e1330235. doi: 10.1080/2162402X.2017.1330235.

21 Stringaris K, Sekine T, Khoder A, *et al*. Leukemia-induced

phenotypic and functional defects in natural killer cells predict failure to achieve remission in acute myeloid leukemia [J]. Haematologica, 2014, 99(5): 836-847. doi: 10.3324/haematol.2013.087536.

22 Chiu J, Ernst DM, Keating A. Acquired natural killer cell dysfunction in the tumor microenvironment of classic Hodgkin lymphoma [J]. Front Immunol, 2018, 9: 267. doi: 10.3389/fimmu.2018.00267.

23 Troy EC, Sezgin Y, Pereira MDS, *et al.* CD38 KO/CD38-CAR human primary natural killer cells enhance cytotoxicity against CD38-expressing primary lymphoma, leukemia, and myeloma [J]. Blood, 2023, 142: 3443. doi: 10.1182/blood-2023-174742.

24 Marin D, Li Y, Basar R, *et al.* Safety, efficacy and determinants of response of allogeneic CD19-specific CAR-NK cells in $CD19^+$ B cell tumors: a phase 1/2 trial [J]. Nat Med, 2024, 30(3): 772-784. doi: 10.1038/s41591-023-02785-8.

25 Yilmaz A, Cui H, Caligiuri MA, *et al.* Chimeric antigen receptor-engineered natural killer cells for cancer immunotherapy [J]. J Hematol Oncol, 2020, 13(1): 168. doi: 10.1186/s13045-020-00998-9.

26 Gong Y, Klein Wolterink RGJ, Wang J, *et al.* Chimeric antigen receptor natural killer (CAR-NK) cell design and engineering for cancer therapy [J]. J Hematol Oncol, 2021, 14(1): 73. doi: 10.1186/s13045-021-01083-5.

27 Brudno JN, Maus MV, Hinrichs CS. CAR T cells and T-cell therapies for cancer: a translational science review [J]. JAMA, 2024, 332(22): 1924-1935. doi: 10.1001/jama.2024.19462.

28 Crochet G, André M, Bernard W. Chimeric antigen receptor T-cell therapy in aggressive lymphomas [J]. Curr Opin Oncol, 2025, 37(5): 433-440. doi: 10.1097/CCO.0000000000001172.

29 Maude SL, Laetsch TW, Buechner J, *et al.* Tisagenlecleucel in children and young adults with B-cell lymphoblastic leukemia [J]. N Engl J Med, 2018, 378(5): 439-448. doi: 10.1056/NEJMoa1709866.

30 Neelapu SS, Locke FL, Bartlett NL, *et al.* Axicabtagene ciloleucel CAR T-cell therapy in refractory large B-cell lymphoma [J]. N Engl J Med, 2017, 377(26): 2531-2544. doi: 10.1056/NEJMoa1707447.

31 Diorio C, Teachey DT, Grupp SA. Allogeneic chimeric antigen receptor cell therapies for cancer: progress made and remaining roadblocks [J]. Nat Rev Clin Oncol, 2025, 22(1): 10-27. doi: 10.1038/s41571-024-00959-y.

32 Shah NN, Fry TJ. Mechanisms of resistance to CAR T cell therapy [J]. Nat Rev Clin Oncol, 2019, 16(6): 372-385. doi: 10.1038/s41571-019-0184-6.

33 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.

34 Mehta RS, Rezvani K. Chimeric antigen receptor expressing natural killer cells for the immunotherapy of cancer [J]. Front Immunol, 2018, 9: 283. doi: 10.3389/fimmu.2018.00283.

35 Liu S, Galat V, Galat Y, *et al.* NK cell-based cancer immunotherapy: from basic biology to clinical development [J]. J Hematol Oncol, 2021, 14(1): 7. doi: 10.1186/s13045-020-01014-w.

36 Pan K, Farrukh H, Chittepu VCSR, *et al.* CAR race to cancer immunotherapy: from CAR T, CAR NK to CAR macrophage therapy [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2022, 41(1): 119. doi: 10.1186/s13046-022-02327-z.

37 Liu E, Tong Y, Dotti G, *et al.* Cord blood NK cells engineered to express IL-15 and a CD19-targeted CAR show long-term persistence and potent antitumor activity [J]. Leukemia, 2018, 32(2): 520-531. doi: 10.1038/leu.2017.226.

38 Liu E, Marin D, Banerjee P, *et al.* Use of CAR-transduced natural killer cells in CD19-positive lymphoid tumors [J]. N Engl J Med, 2020, 382(6): 545-553. doi: 10.1056/NEJMoa1910607.

39 Ghobadi A, Bachanova V, Patel K, *et al.* Induced pluripotent stem-cell-derived CD19-directed chimeric antigen receptor natural killer cells in B-cell lymphoma: a phase 1, first-in-human trial [J]. Lancet, 2025, 405(10473): 127-136. doi: 10.1016/S0140-6736(24)02462-0.

40 Tang X, Yang L, Li Z, *et al.* First-in-man clinical trial of CAR NK-92 cells: safety test of CD33-CAR NK-92 cells in patients with relapsed and refractory acute myeloid leukemia [J]. Am J Cancer Res, 2018, 8(6): 1083-1089.

41 Albinger N, Pfeifer R, Nitsche M, *et al.* Primary CD33-

targeting CAR-NK cells for the treatment of acute myeloid leukemia[J]. Blood Cancer J, 2022, 12(4): 61. doi: 10.1038/s41408-022-00660-2.

42 Huang R, Wang X, Yan H, *et al.* Safety and efficacy of CD33-targeted CAR-NK cell therapy for relapsed/refractory AML: preclinical evaluation and phase I trial[J]. Exp Hematol Oncol, 2025, 14(1): 1. doi: 10.1186/s40164-024-00592-6.

43 Caruso S, De Angelis B, Del Bufalo F, *et al.* Safe and effective off-the-shelf immunotherapy based on CAR.CD123-NK cells for the treatment of acute myeloid leukaemia[J]. J Hematol Oncol, 2022, 15(1): 163. doi: 10.1186/s13045-022-01376-3.

44 Zhang L, Meng Y, Yao H, *et al.* CAR-NK cells for acute myeloid leukemia immunotherapy: past, present and future[J]. Am J Cancer Res, 2023, 13(11): 5559-5576.

45 You F, Wang Y, Jiang L, *et al.* A novel CD7 chimeric antigen receptor-modified NK-92MI cell line targeting T-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. Am J Cancer Res, 2019, 9(1): 64-78.

46 Lin Y, Xiao Z, Hu F, *et al.* Engineered CRO-CD7 CAR-NK cells derived from pluripotent stem cells avoid fratricide and efficiently suppress human T-cell malignancies[J]. J Hematol Oncol, 2025, 18(1): 57. doi: 10.1186/s13045-025-01712-3.

47 Park E, Mun HJ, Seo E, *et al.* CAR NK92 cells targeting BCMA can effectively kill multiple myeloma cells both *in vitro* and *in vivo*[J]. Biomedicines, 2024, 12(1): 248. doi: 10.3390/biomedicines12010248.

48 Cao Z, Yang C, Wang Y, *et al.* Allogeneic CAR-NK cell therapy targeting both BCMA and GPRC5D for the treatment of multiple myeloma[J]. Blood, 2022, 140 (Supplement 1): 7378. doi: 10.1182/blood-2022-159289.

49 Dhakal B, Berdeja J G, Gregory T, *et al.* Interim phase I clinical data of FT576 as monotherapy and in combination with daratumumab in subjects with relapsed/refractory multiple myeloma[J]. Blood, 2022, 140 (Supplement 1): 4586-4587. doi: 10.1182/blood-2022-166994.

50 Ham H, Medlyn M, Billadeau DD. Locked and loaded: mechanisms regulating natural killer cell lytic granule biogenesis and release[J]. Front Immunol, 2022, 13: 871106. doi: 10.3389/fimmu.2022.871106.

51 Wang K, Wang L, Wang Y, *et al.* Reprogramming natural killer cells for cancer therapy[J]. Mol Ther, 2024, 32(9): 2835-2855. doi: 10.1016/j.ymthe.2024.01.027.

52 Lee SC, Shimasaki N, Lim JSJ, *et al.* Phase I trial of expanded, activated autologous NK-cell infusions with trastuzumab in patients with HER2-positive cancers[J]. Clin Cancer Res, 2020, 26(17): 4494-4502. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-20-0768.

53 Romee R, Foley B, Lenvik T, *et al.* NK cell CD16 surface expression and function is regulated by a disintegrin and metalloprotease-17 (ADAM17)[J]. Blood, 2013, 121(18): 3599-3608. doi: 10.1182/blood-2012-04-425397.

54 Zhu H, Blum RH, Bjordahl R, *et al.* Pluripotent stem cell-derived NK cells with high-affinity noncleavable CD16a mediate improved antitumor activity[J]. Blood, 2020, 135(6): 399-410. doi: 10.1182/blood.2019000621.

55 Pham DH, Kim JS, Kim SK, *et al.* Effects of ADAM10 and ADAM17 inhibitors on natural killer cell expansion and antibody-dependent cellular cytotoxicity against breast cancer cells *in vitro*[J]. Anticancer Res, 2017, 37(10): 5507-5513. doi: 10.21873/anticanres.11981.

56 Valipour B, Mohammadi SM, Abedelahi A, *et al.* The inhibition of ADAM17 in cord blood stem cell-derived $CD16^+$ NK cells to enhance their cytotoxicity against acute lymphoblastic leukemia cells[J]. Hum Immunol, 2024, 85(3): 110769. doi: 10.1016/j.humimm.2024.110769.

57 Wu J, Fu J, Zhang M, *et al.* AFM13: a first-in-class tetravalent bispecific anti-CD30/CD16A antibody for NK cell-mediated immunotherapy[J]. J Hematol Oncol, 2015, 8(1): 96. doi: 10.1186/s13045-015-0188-3.

58 Nieto Y, Banerjee P, Kaur I, *et al.* Allogeneic NK cells with a bispecific innate cell engager in refractory relapsed lymphoma: a phase 1 trial[J]. Nat Med, 2025, 31(6): 1987-1993. doi: 10.1038/s41591-025-03640-8.

59 Maakaron J, Modi D, Mei M, *et al.* Investigating the novel combination of the innate cell engager (ICE®) acimtamig with off-the-shelf allogeneic natural killer cells AlloNK® in relapsed or refractory classical Hodgkin lymphoma (R/R cHL): initial results of the phase 2 luminice-203 study[J]. Blood, 2024, 144: 3052. doi: 10.1182/blood-2024-193896.

60 Zhang M, Lam KP, Xu S. Natural killer cell engagers (NKCEs): a new frontier in cancer immunotherapy[J].

Front Immunol, 2023, 14: 1207276. doi: 10.3389/fimmu.2023.1207276.

61 Zhu A, Bai Y, Nan Y, *et al.* Natural killer cell engagers: from bi-specific to tri-specific and tetra-specific engagers for enhanced cancer immunotherapy[J]. Clin Transl Med, 2024, 14(11): e70046. doi: 10.1002/ctm2.70046.

62 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. doi: 10.1182/blood-2007-07-100057.

63 Chan WK, Kang S, Youssef Y, *et al.* A CS1-NKG2D bispecific antibody collectively activates cytolytic immune cells against multiple myeloma[J]. Cancer Immunol Res, 2018, 6(7): 776-787. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-17-0649.

64 Wang Y, Li H, Xu W, *et al.* BCMA-targeting bispecific antibody that simultaneously stimulates NKG2D-enhanced efficacy against multiple myeloma[J]. J Immunother, 2020, 43(6): 175-188. doi: 10.1097/CJI.0000000000000320.

65 Gauthier L, Morel A, Anceriz N, *et al.* Multifunctional natural killer cell engagers targeting NKp46 trigger protective tumor immunity[J]. Cell, 2019, 177(7): 1701-1713. e16. doi: 10.1016/j.cell.2019.04.041.

66 Gauthier L, Virone-Oddos A, Beninga J, *et al.* Control of acute myeloid leukemia by a trifunctional NKp46-CD16a-NK cell engager targeting CD123[J]. Nat Biotechnol, 2023, 41(9): 1296-1306. doi: 10.1038/s41587-022-01626-2.

67 Stein AS, Jongen-Lavrencic M, Garciaz S, *et al.* A first-in-human study of CD123 NK cell engager SAR443579 in relapsed or refractory acute myeloid leukemia, B-cell acute lymphoblastic leukemia, or high-risk myelodysplasia[J]. HemaSphere, 2023, 7(S3): pe66387cd. doi: 10.1097/01.HS9.0000968884.66387.cd.

68 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.

69 Myers JA, Miller JS. Exploring the NK cell platform for cancer immunotherap[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2021, 18(2): 85-100. doi: 10.1038/s41571-020-0426-7.

70 Ghasemi R, Lazear E, Wang X, *et al.* Selective targeting of IL-2 to NKG2D bearing cells for improved immunotherapy[J]. Nat Commun, 2016, 7(1): 12878. doi: 10.1038/ncomms12878.

71 Cooley S, He F, Bachanova V, *et al.* First-in-human trial of rhIL-15 and haploidentical natural killer cell therapy for advanced acute myeloid leukemia[J]. Blood Adv, 2019, 3(13): 1970-1980. doi: 10.1182/bloodadvances.2018028332.

72 Romee R, Cooley S, Berrien-Elliott MM, *et al.* First-in-human phase 1 clinical study of the IL-15 superagonist complex ALT-803 to treat relapse after transplantation[J]. Blood, 2018, 131(23): 2515-2527. doi: 10.1182/blood-2017-12-823757.

73 Imamura M, Shook D, Kamiya T, *et al.* Autonomous growth and increased cytotoxicity of natural killer cells expressing membrane-bound interleukin-15[J]. Blood, 2014, 124(7): 1081-1088. doi: 10.1182/blood-2014-02-556837.

74 Gómez García LM, Escudero A, Mestre C, *et al.* Phase 2 clinical trial of infusing haploidentical K562-mb15-41BBL-activated and expanded natural killer cells as consolidation therapy for pediatric acute myeloblastic leukemia[J]. Clin Lymphoma Myeloma Leuk, 2021, 21(5): 328-337. e1. doi: 10.1016/j.clml.2021.01.013.

75 Ciurea SO, Kongtim P, Srour S, *et al.* Results of a phase I trial with Haploidentical mbIL-21 *ex vivo* expanded NK cells for patients with multiply relapsed and refractory AML[J]. Am J Hematol, 2024, 99(5): 890-899. doi: 10.1002/ajh.27281.

76 Gaggero S, Witt K, Carlsten M, *et al.* Cytokines orchestrating the natural killer-myeloid cell crosstalk in the tumor microenvironment: implications for natural killer cell-based cancer immunotherapy[J]. Front Immunol, 2021, 11: 621225. doi: 10.3389/fimmu.2020.621225.

77 Chen M, Zhang B, Mu X, *et al.* Recent advances in tumor immunotherapy based on NK cells[J]. Front Immunol, 2025, 16: 1595533. doi: 10.3389/fimmu.2025.1595533.

78 Andre P, Denis C, Soulas C, *et al.* Anti-NKG2A mAb is a checkpoint inhibitor that promotes anti-tumor immunity by unleashing both T and NK cells[J]. Cell, 2018, 175(7): 1731-1743. e13. doi: 10.1016/j.cell.2018.10.014.

79 Armand P, Lesokhin A, Borrello I, *et al.* A phase 1b study of dual PD-1 and CTLA-4 or KIR blockade in patients with relapsed/refractory lymphoid malignancies[J]. Leukemia, 2021, 35(3): 777-786. doi: 10.1038/s41375-020-0939-1.

80 Zhang Q, Bi J, Zheng X, *et al.* Blockade of the checkpoint receptor TIGIT prevents NK cell exhaustion and elicits potent anti-tumor immunity[J]. Nat Immunol, 2018, 19(7): 723-732. doi: 10.1038/s41590-018-0132-0.

81 Richard S, Lesokhin AM, Paul B, *et al.* Clinical response and pathway-specific correlates following TIGIT-LAG3 blockade in myeloma: the MyCheckpoint randomized clinical trial [J]. Nat Cancer, 2024, 5(10): 1459-1464. doi: 10.1038/s43018-024-00818-w.

82 Gong Y, Germeraad WTV, Zhang X, *et al.* NKG2A genetic deletion promotes human primary NK cell anti-tumor responses better than an anti-NKG2A monoclonal antibody [J]. Mol Ther,2024,32(8):2711-2727. doi:10.1016/j.ymthe.2024.06.034.

83 Delconte RB, Kolesnik TB, Dagley LF, *et al.* CIS is a potent checkpoint in NK cell-mediated tumor immunity[J]. Nat Immunol, 2016, 17(7): 816-824. doi: 10.1038/ni.3470.

84 Daher M, Basar R, Gokdemir E, *et al.* Targeting a cytokine checkpoint enhances the fitness of armored cord blood CAR-NK cells[J]. Blood,2021,137(5):624-636. doi: 10.1182/blood.2020007748.

85 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.

86 Wang L, Wang Y, He X, *et al.* CD70-targeted iPSC-derived CAR-NK cells display potent function against tumors and alloreactive T cells[J]. Cell Rep Med, 2025, 6(1): 101889. doi: 10.1016/j.xcrm.2024.101889.

87 Klingemann H, Boissel L, Toneguzzo F. Natural killer cells for immunotherapy - advantages of the NK-92 cell line over blood NK cells[J]. Front Immunol, 2016, 7: 91. doi: 10.3389/fimmu.2016.00091.

88 Bexte T, Botezatu L, Miskey C, *et al.* Engineering of potent CAR NK cells using non-viral Sleeping Beauty transposition from minimalistic DNA vectors[J]. Mol Ther, 2024, 32(7): 2357-2372. doi: 10.1016/j.ymthe.2024.05.022.

89 Berrien-Elliott MM, Becker-Hapak M, Cashen AF, *et al.* Systemic IL-15 promotes allogeneic cell rejection in patients treated with natural killer cell adoptive therapy[J]. Blood, 2022, 139(8): 1177-1183. doi: 10.1182/blood.2021011532.

90 Sun JC, Beilke JN, Lanier LL. Immune memory redefined: characterizing the longevity of natural killer cells [J]. Immunol Rev, 2010, 236(1): 83-94. doi: 10.1111/j.1600-065X.2010.00900.x.

91 Rafei H, Basar R, Acharya S, *et al.* CREM is a regulatory checkpoint of CAR and IL-15 signalling in NK cells[J]. Nature, 2025, 643(8073): 1076-1086. doi: 10.1038/s41586-025-09087-8.

92 Biederstadt A, Basar R, Park JM, *et al.* Genome-wide CRISPR screens identify critical targets to enhance CAR-NK cell antitumor potency[J]. Cancer Cell,2025,43(11): 2069-2088.e11. doi:10.1016/j.ccell.2025.07.021.

93 Chen Q, Xia M, Tang M, *et al.* DR5 CAR-NK cells demonstrate superior scalability and potent antitumor activity with favorable safety[J]. Mol Ther, 2025, 33(12): 6063-6081. doi: 10.1016/j.ymthe.2025.10.035.

94 Gong JH, Maki G, Klingemann HG. Characterization of a human cell line (NK-92) with phenotypical and functional characteristics of activated natural killer cells[J]. Leukemia, 1994, 8(4): 652-658.

95 Jochems C, Hodge JW, Fantini M, *et al.* An NK cell line (haNK) expressing high levels of granzyme and engineered to express the high affinity CD16 allele[J]. Oncotarget, 2016, 7(52): 86359-86373. doi: 10.18632/oncotarget.13411.

96 Bock C, Datlinger P, Chardon F, *et al.* High-content CRISPR screening[J]. Nat Rev Methods Primers, 2022, 2(1): 9. doi: 10.1038/s43586-022-00098-7.

(责任编辑:张卓)