

## 自然杀伤细胞联合拉帕替尼对乳腺癌细胞体外杀伤作用及机制研究

孙越<sup>1</sup>, 杨琳<sup>1</sup>, 王文榜<sup>1</sup>, 张志斐<sup>1</sup>, 金媛媛<sup>2</sup>, 于德红<sup>1</sup>, 杨兆勇<sup>2</sup>

(1 华北理工大学药学院, 唐山 063210; 2 中国医学科学院/北京协和医学院医药生物技术研究所, 北京 100050)

**[摘要]** **目的:**探讨自然杀伤细胞(NK细胞)对乳腺癌细胞的体外杀伤活性以及与低浓度拉帕替尼联合杀伤乳腺癌细胞的作用效果和可能的作用机制。**方法:**采用CCK-8方法检测不同浓度拉帕替尼对乳腺癌细胞24,48和72h增殖活性的影响;乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)检测试剂盒检测NK细胞以及NK细胞联合拉帕替尼对肿瘤细胞的杀伤作用;流式细胞术检测拉帕替尼作用前后人表皮生长因子受体2(HER-2)低表达乳腺癌细胞MDA-MB-231和BT549表面HER-2表达水平的变化;流式细胞术检测乳腺癌细胞表面NK细胞激活性和抑制性受体的配体表达情况。**结果:**拉帕替尼对乳腺癌细胞增殖活性的抑制与作用时间和浓度成正比,对HER-2高表达乳腺癌细胞的增殖抑制率要大于HER-2低表达乳腺癌细胞;NK细胞对乳腺癌细胞均具有一定的杀伤活性,拉帕替尼(HER-2高表达乳腺癌细胞MDA-MB-453和BT474选择拉帕替尼的终浓度为 $0.1\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,HER-2低表达乳腺癌细胞MDA-MB-231和BT549选择拉帕替尼的终浓度为 $3.125\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )联合NK细胞能显著提高NK细胞对乳腺癌细胞的杀伤效率;拉帕替尼( $3.125\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )与HER-2低表达乳腺癌细胞作用后能提高HER-2低表达乳腺癌细胞表面HER-2的表达水平。**结论:**拉帕替尼能够提高NK细胞对乳腺癌细胞的体外杀伤活性,其协同作用机制可能与拉帕替尼提高乳腺癌细胞表面HER-2的表达水平有关。

**[关键词]** 自然杀伤细胞;乳腺癌;拉帕替尼;免疫治疗**[中图分类号]** R967 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1003-3734(2023)23-2417-08

## Research on cytotoxicity and mechanisms of natural killer cells combined with lapatinib on breast cancer cells *in vitro*

SUN Yue<sup>1</sup>, YANG Lin<sup>1</sup>, WANG Wen-bang<sup>1</sup>, ZHANG Zhi-fei<sup>1</sup>, JIN Yuan-yuan<sup>2</sup>, YU De-hong<sup>1</sup>, YANG Zhao-yong<sup>2</sup>

(1 College of Pharmacy, North China University of Science and Technology, Tangshan 063210, China;

2 Institute of Medical Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100050, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the cytotoxicity effect of NK cells on breast cancer cells *in vitro*, and the cytotoxicity and possible mechanism of NK cells combined with low concentration lapatinib on breast cancer cells. **Methods:** CCK-8 method was used to detect the effect of different concentrations of lapatinib on the proliferation of breast cancer cells for 24 h, 48 h and 72 h. LDH Assay Kit was applied to detect cytotoxicity of NK cells and NK cells combined with lapatinib on tumor cells. Changes of HER-2 expression on the surface of MDA-MB-231 and BT549 breast cancer cells before and after treatment with lapatinib and the ligand expression of NK cell activated and inhibitory receptors on breast cancer cell surface were both evaluated by flow cytometry. **Results:** The inhibitory effect of lapatinib on the proliferative activity of breast cancer cells was proportional to the time and concentration of action. The inhibitory rate on the proliferation of HER-2 high-expression breast cancer cells was greater than that of HER-2 low-expression breast cancer cells. NK cells had certain cytotoxicity against breast cancer cells, and lapatinib (The final concentration of lapatinib was  $0.1\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  in HER-2 high-expression breast cancer cells MDA-MB-

**[作者简介]** 孙越,女,硕士,主要从事细胞药理学研究。E-mail:sunyue19970825@163.com。**[通讯作者]** 于德红,女,教授,主要从事中药药效物质基础和质量控制研究。E-mail:ydh613@126.com。金媛媛,女,主要从事酶类、蛋白多肽类等生物大分子的设计、活性和成药性研究和细胞治疗产品及技术的研究与开发。E-mail:jinyuanyuan@imb.pumc.edu.cn。

453 and BT474 and  $3.125 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  in HER-2 low-expression breast cancer cells MDA-MB-231 and BT549) combined with NK cells could significantly improve the killing efficiency of NK cells against breast cancer cells. Lapatinib ( $3.125 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) could increase the expression level of HER-2 on the surface of HER-2 low-expression breast cancer cells after interacting with HER-2 low-expression breast cancer cells. **Conclusion:** Lapatinib improves the killing activity of NK cells against breast cancer cells *in vitro*, and its synergistic mechanism may be related to the increased expression of HER-2 on the surface of breast cancer cells by lapatinib.

[Key words] natural killer cells; breast cancer; lapatinib; immunotherapy

乳腺癌是发生在乳腺上皮组织的恶性肿瘤,近年来随着乳腺癌早期检测的普及,乳腺癌的发病率呈逐年上升趋势,已成为全球女性发病率最高的癌症之一,其死亡率仅次于肺癌<sup>[1]</sup>。乳腺癌的治疗方式主要包括手术、放化疗、内分泌治疗、靶向治疗和免疫治疗。靶向治疗因其疗效好、不良反应低,成为很多患者的治疗选择。其中,针对人表皮生长因子受体 2 (HER-2) 阳性的靶向治疗药物是使用最早、最多、最成熟的一类靶向治疗药物,包括曲妥珠单抗、帕妥珠单抗、拉帕替尼<sup>[2-3]</sup>、来那替尼、吡咯替尼等。但对于三阴性乳腺癌 (triple-negative breast cancer, TNBC), 目前国内的主要治疗方法还是化疗,国外虽然有靶向药 (奥拉帕利) 以及免疫治疗药 (帕博利珠单抗) 获批治疗三阴性乳腺癌,但是靶向治疗要求患者携带乳腺癌易感基因 (BRCA) 突变,免疫治疗要求患者联合阳性分数 (CPS) 评分  $\geq 10$ , 适用范围都比较窄,分别只有约 30% 和 38% 的患者可以使用,远不能满足三阴性乳腺癌的治疗需求,且其在手术后的复发率、区域淋巴结转移率均显著高于其他类型的乳腺癌,局部放射治疗和全身化疗疗效也较其他类型的乳腺癌差,生存率要远低于非三阴性乳腺癌患者<sup>[4-6]</sup>。随着对乳腺癌发生、发展机制研究的不断深入,在传统治疗手段基础上如何联合应用免疫治疗,进一步改善乳腺癌患者的生存期和生活质量已成为当今研究热点。

肿瘤细胞过继免疫治疗是指将患者自体或异体的免疫细胞经体外扩增后,再回输至患者体内的一种肿瘤免疫治疗方法。近 30 年来,随着对自然杀伤 (NK 细胞) 生物学特性及功能研究的深入,NK 细胞过继治疗<sup>[7]</sup>的进展突飞猛进,目前 NK 细胞已成为肿瘤免疫治疗手段其中的一个重要分类。NK 细胞功能的发挥依赖其表面活化性受体和抑制性受体传导的活化性和抑制性信号之间的平衡<sup>[8]</sup>,其中最重要的活化性受体 NKG2D,其相关配体 ULBPs 和 MICA/B 广泛表达于肿瘤细胞和病毒感染细胞表

面<sup>[9]</sup>,大量实验表明,在许多上皮细胞肿瘤中,如肝癌、乳腺癌、黑色素瘤及某些造血系统恶性肿瘤细胞表面 MICA/B 分子表达增加,可以增强 NK 细胞抗肿瘤作用<sup>[10]</sup>。但在肿瘤患者体内,NK 细胞存在着不同程度的功能缺陷<sup>[11]</sup>。因此,如何获得大量高效的 NK 细胞成为决定 NK 细胞过继治疗疗效的关键。本研究针对乳腺癌治疗和 NK 细胞过继治疗所面临的问题,探讨靶向治疗药物拉帕替尼和 NK 细胞联合应用时是否存在协同抗肿瘤效应及其机制,为乳腺癌个体化治疗、充分发挥拉帕替尼的生物学功能、提高 NK 细胞过继治疗特异性等问题开辟新思路、新方法。

## 材料与方法

### 1 试剂

RPMI-1640 培养基及胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS, 美国 Gibco 公司,批号: 8122434, 2441523P); X-VIVO 15 培养基 (Lonza 公司,批号: 0001028106); CCK-8、乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 试剂盒 (Dojindo 公司,批号: WA627, VZ716); 别藻蓝蛋白 (allophycocyanin, APC, 批号: B342946)、藻红蛋白 (phycoerythrin, PE) 同型对照抗体 (批号: B269407)、抗 CD3-FITC 抗体 (批号: B378281)、抗 CD56-APC 抗体 (批号: B346763)、抗 CD16-PE 抗体 (批号: B980102)、抗 CD337 (NKp30)-PE 抗体 (批号: B240891)、抗 CD336 (NKp44)-PE 抗体 (批号: B290956)、抗 CD155-PE 抗体 (批号: B315243)、抗 CD112-PE 抗体 (批号: B248696)、抗 MICA/MICB-PE 抗体 (批号: B320906)、抗 HLA-E-APC 抗体 (批号: B347830)、抗 CD340 (erbB2/HER-2)-APC 抗体 (批号: B350273)、抗 CD314 (NKG2D)-PE 抗体 (批号: B266059)、抗 CD226 (DNAM-1)-APC 抗体 (批号: B317634) 购于 Biolegend 公司; 抗 ULBP-1-PE 抗体 (批号: AAJW0520041)、抗 ULBP-2/5/6-PE 抗体 (批号: LWE0820091)、抗 ULBP-3-PE 抗体 (批号: ABPX0720051) 购于 R&D system 公司。

## 2 仪器

FACSCalibur 流式细胞仪(美国 BD Biosciences 公司),酶标仪(美国伯腾仪器有限公司);低速离心机(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。

## 3 细胞

人乳腺癌细胞株 MDA-MB-231,MDA-MB-453,BT474,BT549 购于中国医学科学院基础医学研究所细胞资源中心。

## 4 肿瘤细胞培养

乳腺癌细胞 MDA-MB-231,MDA-MB-453,BT474 和 BT549 常规培养于含 10% FBS 的 RPMI-1640 培养基,置于 37 °C,含 5% CO<sub>2</sub> 恒温箱培养,每 3 ~ 5 d 按照 1:2 ~ 1:5 的比例传代 1 次。

## 5 NK 细胞体外扩增培养

在产妇知情同意情况下,使用一次性采血袋采集足月妊娠产妇经产道或剖宫产分娩的胎儿脐静脉血(伦理审批文号:CGYJ-BD-080-V2)50 mL,快速 4 °C 运输至实验室,离心取黄色血浆层,水浴锅提前预热,温度设置为 56 °C,热灭活时间为 30 min,再次离心后弃去血浆底层白色沉淀,留上层黄色血浆备用。脐带血下层部分使用等体积盐水或磷酸盐缓冲液(PBS)稀释,采用 Ficoll 密度梯度离心法提取单个核细胞。使用 25 mL 加入白细胞介素(IL)-15(40 ng·mL<sup>-1</sup>),IL-2(1 000 U·mL<sup>-1</sup>),NK 细胞活化因子和 10% 自体血浆的 AIMV 无血清培养基将单个核细胞浓度调至(1 ~ 3) × 10<sup>6</sup> 个·mL<sup>-1</sup>,接种于瓶底面积为 75 cm<sup>2</sup> 的培养瓶中,培养 d 3 补充含 10% 自体血浆的无血清培养基 AIMV 25 mL,d 5 离心换液,使用含 10% 自体血浆、IL-2(1 000 U·mL<sup>-1</sup>)的 100 mL X-VIVO 培养液重新悬浮细胞,将细胞放入瓶底面积为 175 cm<sup>2</sup> 的培养瓶中继续培养,d 6 ~ d 15 根据细胞生长情况,使用含 10% 自体血浆、IL-2(1 000 U·mL<sup>-1</sup>)的无血清培养基 X-VIVO 择机补液。d 15 左右时可根 据实验需要收获细胞,使用流式细胞仪进行表型鉴定。

## 6 CCK-8 法检测细胞增殖

选取 4 种乳腺癌细胞 MDA-MB-231,MDA-MB-453,BT474 和 BT549 于含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基中培养至对数生长期,胰酶消化后,加入 96 孔板,每孔 90 μL,均含有细胞 1 × 10<sup>4</sup> 个·孔<sup>-1</sup>,同时设 3 个复孔。实验分空白对照组、拉帕替尼不同浓度组(实验组),终质量浓度分别为 0.1,0.39,0.78,1.562 5,3.125,6.25,12.5 和 25 μmol·L<sup>-1</sup>,37 °C 培养 24,48 和 72 h。培养结束前,在所有孔中

避光加入 CCK-8 溶液 10 μL,将混匀后的 96 孔板放入细胞培养箱中继续孵育 20 min 左右,在全自动酶标仪上检测 450 nm 处各孔的吸光值(A)。

$$\text{细胞增殖活力}/\% = (A_{\text{实验组}} - A_{\text{空白组}}) / (A_{\text{对照组}} - A_{\text{空白组}}) \times 100\% \quad \text{公式(1)}$$

## 7 LDH 法检测杀伤效率

实验分空白培养液组、最大释放组、自然释放组、NK 细胞组、NK 细胞与拉帕替尼联合组、NK 细胞自然释放组,同时每组设 3 个复孔。取对数生长期的乳腺癌细胞,以 1 × 10<sup>4</sup> 个·孔<sup>-1</sup>接种到自然释放组、最大释放组、NK 细胞组以及 NK 细胞与拉帕替尼联合组(乳腺癌细胞经低浓度拉帕替尼预处理 24 h),NK 细胞、NK 细胞与拉帕替尼联合组和 NK 细胞自然释放组加入不同效靶比的 NK 细胞。共孵育 8 h 后按照 LDH 检测说明书上操作,测定,计算杀伤活性/%。

$$\text{杀伤活性}/\% = (A_{\text{实验组}} - A_{\text{肿瘤细胞自然释放组}} - A_{\text{效应细胞自然释放组}}) / (A_{\text{肿瘤细胞最大释放组}} - A_{\text{肿瘤细胞自然释放组}}) \times 100\% \quad \text{公式(2)}$$

## 8 流式细胞术检测细胞表面受体和配体的表达

按不同组收取 NK 细胞、乳腺癌细胞以及拉帕替尼预处理的乳腺癌细胞,PBS 洗 1 次后,以 1 000 r·min<sup>-1</sup>离心 5 min,进行细胞计数,按照抗体使用说明调整细胞数至 1 × 10<sup>6</sup> 个·管<sup>-1</sup>并依次加入相应的荧光抗体,室温避光孵育 20 min,再用每次 1 mL 的 PBS 洗细胞 2 次,1 200 r·min<sup>-1</sup>离心 5 min,弃去上清,最后用 200 μL PBS 重悬细胞,标记好的细胞经由 FACSCalibur 流式细胞仪(BD Biosciences 公司)检测,并使用 NovoExpress 软件对数据进行分析。

## 9 数据处理

采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析。两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,差异有统计学意义以 *P* < 0.05 表示。使用 Graph-Pad Prism 8.3.0 软件进行绘图。

## 结 果

### 1 NK 细胞免疫表型及活化性受体的鉴定

流式细胞术分析结果见图 1,培养前 CD3-CD56<sup>+</sup> 细胞百分率为 5.18%,体外扩增培养 14 d 后 CD3-CD56<sup>+</sup> 细胞百分率提高到 97.93%,且扩增培养后的 NK 细胞高表达激活性受体 NKG2D(99.69%),CD16(99.58%),NKp30(99.8%),NKp44(97.95%)以及 DNAM-1(80.26%),说明培养获得的 NK 细胞为高纯度、高细胞毒性的细胞。

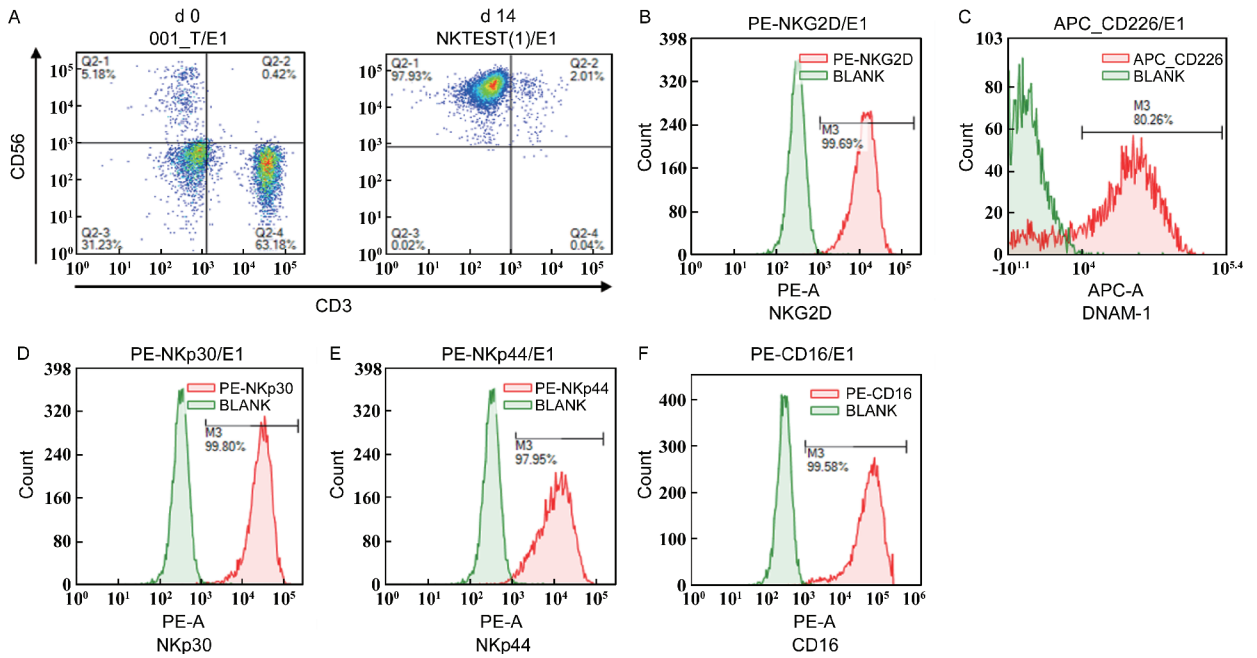


图1 流式细胞术检测细胞因子诱导 UCB-NK 细胞培养前后 CD3-CD56<sup>+</sup> 细胞亚群分布以及活化性受体的表达

## 2 不同浓度的拉帕替尼对乳腺癌细胞增殖活性的影响

CCK-8 法检测结果见图 2, 用不同浓度拉帕替尼处理乳腺癌细胞后, 随着拉帕替尼浓度的升高和

作用时间的延长, 乳腺癌细胞的增殖活性降低, 拉帕替尼对 HER-2 高表达乳腺癌细胞 (MDA-MB-453 和 BT474) 的增殖抑制要显著高于 HER-2 低表达乳腺癌细胞 (MDA-MB-231 和 BT549)。

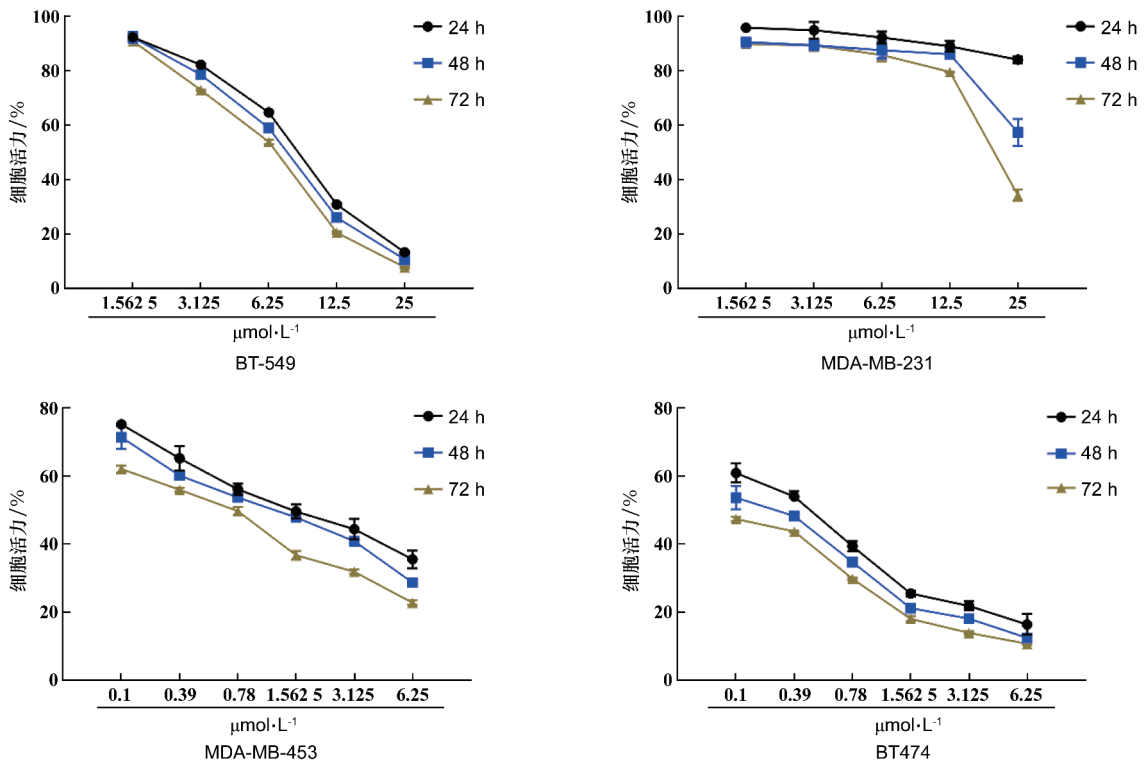
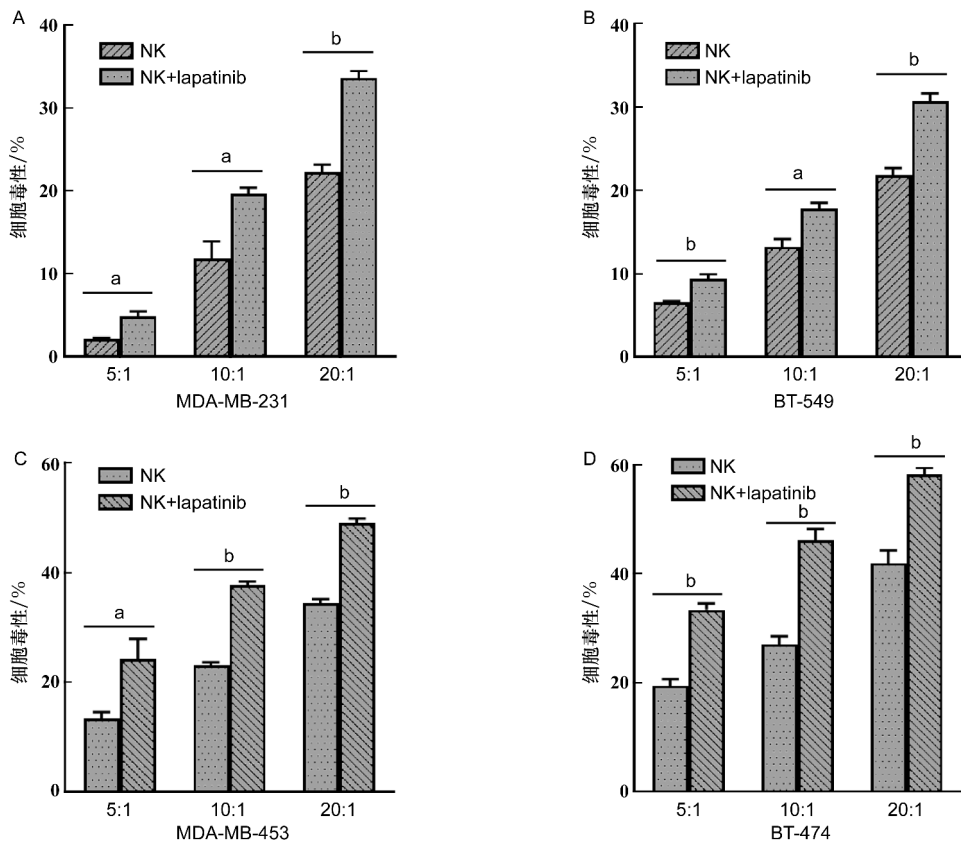


图2 不同浓度的拉帕替尼对乳腺癌细胞增殖的影响

### 3 NK 细胞联合拉帕替尼对乳腺癌细胞的杀伤活性

由于拉帕替尼对 HER-2 高表达乳腺癌细胞的增殖抑制作用更强,所以根据实验结果,在与 NK 细胞联用时,对于 HER-2 高表达乳腺癌细胞 MDA-MB-453 和 BT474 选择拉帕替尼的终浓度为 0.1

$\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,HER-2 低表达乳腺癌细胞 MDA-MB-231 和 BT549 选择拉帕替尼的终浓度为  $3.125\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,LDH 法检测结果见图 3,相较于 NK 细胞组,不同效靶比的 NK 细胞 + 拉帕替尼对乳腺癌细胞的杀伤率均显著升高( $P < 0.01$ )。



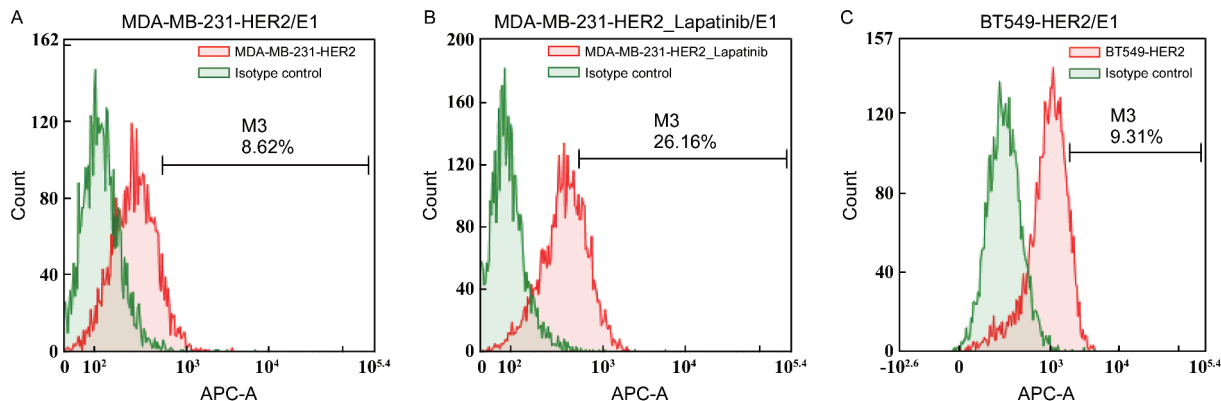
与 NK 单独作用乳腺癌细胞的杀伤活性相比, a:  $P < 0.01$ , b:  $P < 0.001$

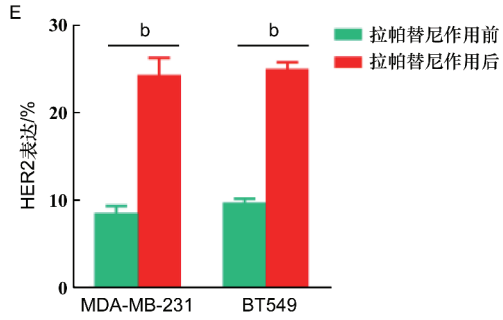
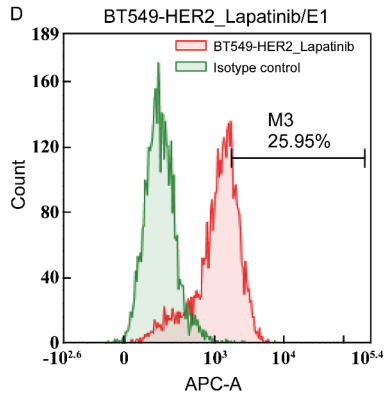
图 3 NK 细胞联合拉帕替尼对乳腺癌细胞的杀伤活性

### 4 拉帕替尼作用后三阴性乳腺癌细胞表面 HER-2 的表达

流式细胞术检测结果显示,拉帕替尼作用 HER-2 低表达乳腺癌细胞 48 h 后,乳腺癌细胞表面

HER-2 表达水平显著提高,MDA-MB-231 细胞 HER-2 表达由  $(8.54 \pm 0.69)\%$  提高到  $(24.39 \pm 1.64)\%$ , BT-549 细胞 HER-2 表达由  $(9.79 \pm 0.35)\%$  提高到  $(25.14 \pm 0.59)\%$ ,见图 4。





与未用拉帕替尼作用的乳腺癌细胞表面 HER-2 表达相比,  $b: P < 0.001$

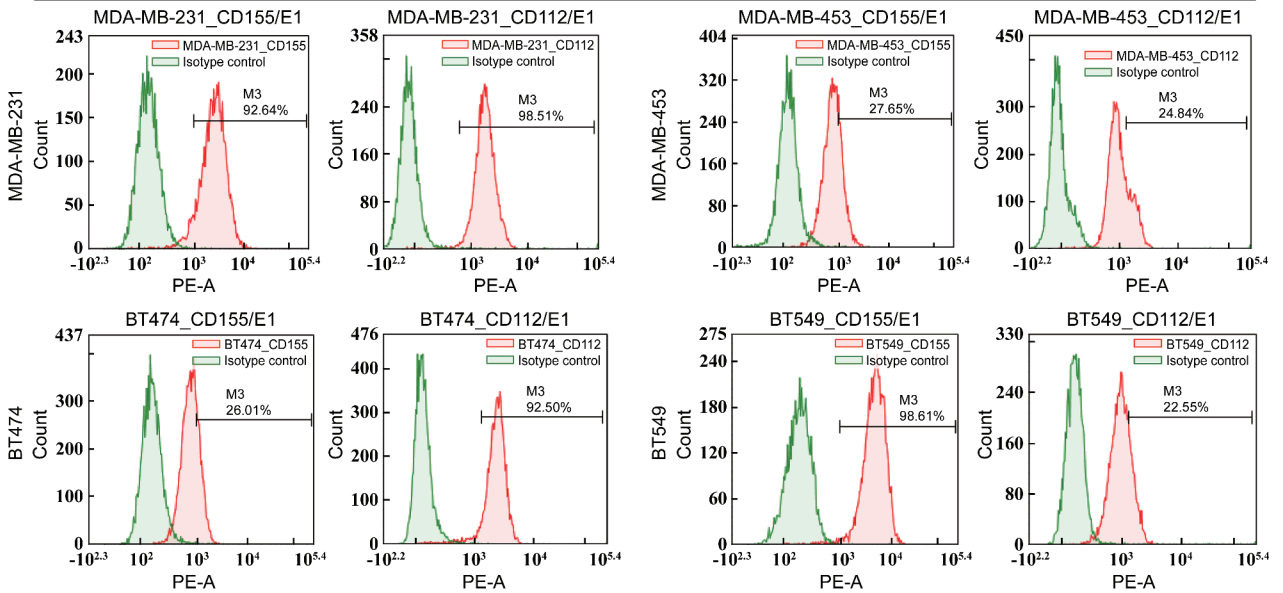
图 4 拉帕替尼作用后三阴性乳腺癌细胞表面 HER-2 表达水平的变化

### 5 乳腺癌细胞表面 NK 细胞活化性和抑制性配体表达水平

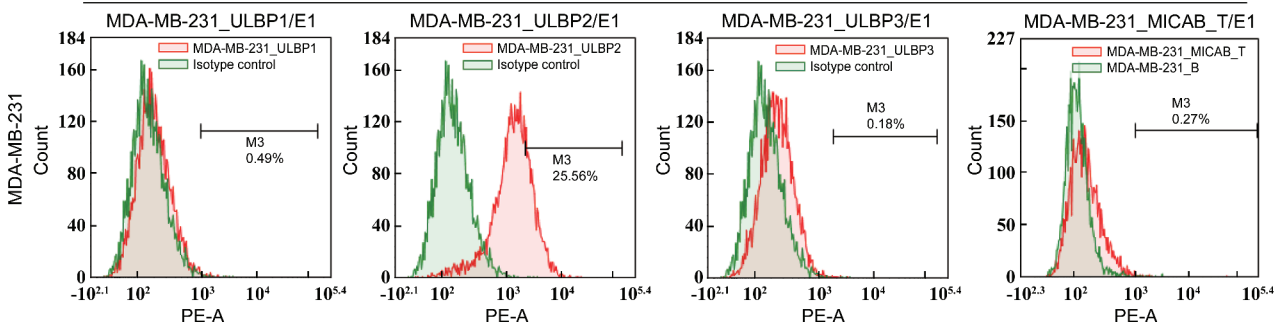
流式细胞术检测结果见图 5, 乳腺癌细胞表面均低表达 NK 细胞活化性受体 NKG2D 的配体, 不同

程度地表达 NK 细胞活化性受体 DNAM-1 的配体 CD155 和 CD112, 但 CD155 和 CD112 同时也是 NK 细胞抑制性受体 TIGIT 的配体。几乎不表达 NK 细胞抑制性受体 NKG2A 的配体 HLA-E。

#### DNAM-1/TIGIT



#### NKG2D



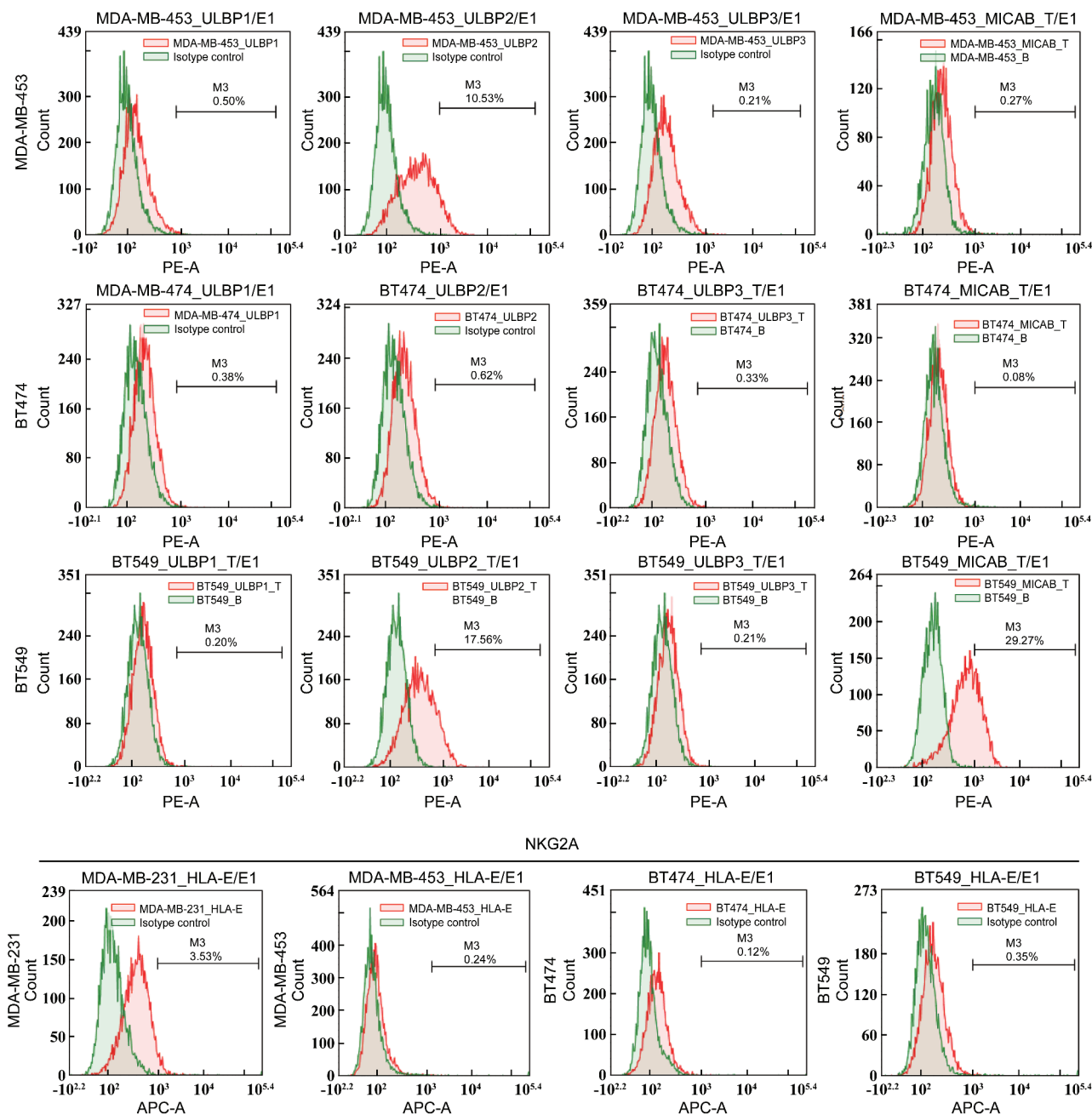


图 5 乳腺癌细胞表面 NK 细胞活化性和抑制性配体表达

## 讨 论

HER-2 受体是一种穿膜蛋白,为表皮生长因子受体家族的成员之一,具有酪氨酸激酶活性。研究发现,HER-2 在 20% ~ 30% 的乳腺癌中呈扩增或过表达<sup>[12]</sup>。曲妥珠单抗是第 1 个用于临床的靶向治疗药物,在 HER-2 阳性乳腺癌患者治疗中具有里程碑式的意义<sup>[13]</sup>。然而有研究发现,在单独使用曲妥珠单抗治疗的情况下其有效率 ≤ 35%,并且有超过

5% 的患者有严重的不良反应(如心功能障碍等),约 40% 的患者在用药后会出现包括寒战和(或)发热等其他不良反应<sup>[14]</sup>,许多患者在接受治疗的 12 个月内会产生耐药性<sup>[15]</sup>。而目前对于三阴性乳腺癌更是尚无新的治疗方法,化疗仍是临床医师选择的唯一三阴性乳腺癌有效治疗方案。拉帕替尼为 HER-2 阳性乳腺癌的靶向治疗药物,其独特之处在于可通过多种途径识别肿瘤细胞并发挥抗肿瘤作用,通过抑制乳腺癌细胞生长所需要的信号,进而杀

死并清除肿瘤细胞。本研究选取了4株乳腺癌细胞系,分别是MDA-MB-231,MDA-MB-453,BT474和BT549,并通过流式细胞术的方法检测其细胞表面HER-2的表达情况,流式结果显示MDA-MB-453和BT474是HER-2高表达的细胞株,MDA-MB-231和BT549是HER-2低表达的细胞株。我们通过体外杀伤实验,首先再次验证了拉帕替尼对HER-2高表达乳腺癌细胞的杀伤活性强于HER-2低表达乳腺癌细胞的杀伤活性,同时发现NK细胞对HER-2高表达乳腺癌细胞的杀伤活性也要强于HER-2低表达乳腺癌细胞的杀伤活性,NK细胞联合拉帕替尼均能提高NK细胞对乳腺癌细胞的杀伤活性。通过对作用机制的进一步研究发现,拉帕替尼作用后能提高HER-2低表达乳腺癌细胞表面HER-2的表达,我们推测这可能是拉帕替尼能够增强NK细胞对HER-2低表达乳腺癌细胞的杀伤活性的原因之一。

另一方面,研究表明CD155在各种正常人体组织中几乎不表达或弱表达,但通常在人类恶性肿瘤中过度表达,作为共刺激受体CD226和天然杀伤细胞和T细胞上的共抑制受体TIGIT和CD96的配体,CD155似乎在免疫中发挥双重作用<sup>[16]</sup>。CD155与TIGIT之间的相互作用能力最强,CD155一旦结合TIGIT,NK细胞马上就被抑制。在多种人类恶性肿瘤中CD155的表达上调,与肿瘤的侵袭力和迁移能力增强有关<sup>[17-20]</sup>。从本研究流式检测结果看,HER-2高表达乳腺癌细胞的CD155均呈低表达,而HER-2低表达乳腺癌细胞的CD155均为高表达,CD155的高表达有可能是导致NK细胞对HER-2低表达乳腺癌细胞杀伤活性低的原因之一。NK细胞对本研究中4株乳腺癌细胞的杀伤活性不依赖于CD112,MICA/B,ULBP1,ULBP2,ULBP3和HLA-E的表达。因此,后续研究中可以使用抗TIGIT抑制剂联合NK细胞,以便在HER-2低表达乳腺癌中发挥协同的抗肿瘤作用。

综上所述,拉帕替尼联合NK细胞免疫治疗为HER-2高表达乳腺癌的治疗提供了一种可能有效的解决方案,而对于HER-2低表达的乳腺癌,可通过与拉帕替尼或者抗TIGIT抑制剂联用,制定合理的化疗联合NK细胞过继免疫治疗的方案,有望为HER-2低表达乳腺癌的治疗提供一种全新的解决方法。

#### [ 参 考 文 献 ]

[1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL RL, *et al.* Global cancer statis-

tics 2020; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249.

- [2] SEGOVIA-MENDOZA M, GONZÁLEZ-GONZÁLEZ ME, BARRERA D, *et al.* Efficacy and mechanism of action of the tyrosine kinase inhibitors gefitinib, lapatinib and neratinib in the treatment of HER2-positive breast cancer; preclinical and clinical evidence[J]. *Am J Cancer Res*, 2015, 5(9): 2531-2561.
- [3] SHIRAIISHI K, MIMURA K, IZAWA S, *et al.* Lapatinib acts on gastric cancer through both antiproliferative function and augmentation of trastuzumab-mediated antibody-dependent cellular cytotoxicity[J]. *Gastric Cancer*, 2013, 16(4): 571-580.
- [4] COUGHLIN SS. Epidemiology of breast cancer in women[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1152: 9-29.
- [5] LI XX, YANG J, PENG LM, *et al.* Triple-negative breast cancer has worse overall survival and cause-specific survival than non-triple-negative breast cancer[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2017, 161(2): 279-287.
- [6] VAGIA E, MAHALINGAM D, CRISTOFANILLI M. The landscape of targeted therapies in TNBC[J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(4): 916.
- [7] TERRÉN I, ORRANTIA A, VITALLÉ J, *et al.* NK cell metabolism and tumor microenvironment[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2278.
- [8] FERLAZZO G, MÜNZ C. NK cell compartments and their activation by dendritic cells[J]. *J Immunol*, 2004, 172(3): 1333-1339.
- [9] COLONNA M, SAMARIDIS J. Cloning of immunoglobulin-superfamily members associated with HLA-C and HLA-B recognition by human natural killer cells[J]. *Science*, 1995, 268(5209): 405-408.
- [10] WALDHAEUER I, STEINLE A. NK cells and cancer immunosurveillance[J]. *Oncogene*, 2008, 27(45): 5932-5943.
- [11] DEWAN MZ, TAKADA M, TERUNUMA H, *et al.* Natural killer activity of peripheral-blood mononuclear cells in breast cancer patients[J]. *Biomed Pharmacother*, 2009, 63(9): 703-706.
- [12] HOU J, ZHOU ZR, CHEN XX, *et al.* HER2 reduces breast cancer radiosensitivity by activating focal adhesion kinase *in vitro* and *in vivo*[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(29): 45186-45198.
- [13] GHAZALI N, PARKER L, SETTLE K, *et al.* Sustained response of HER2-positive metastatic salivary adenocarcinoma, not otherwise specified, treated with trastuzumab[J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, 2016, 122(3): 292-299.
- [14] VOGEL CL, COBLEIGH MA, TRIPATHY D. Efficacy and safety of Herceptin (trastuzumab, humanized anti-HER2 antibody) as a single agent in first-line treatment of HER2 overexpressing metastatic breast cancer (HER2+/MBC)[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 1998, 17: 98a.
- [15] SUN LC, BURNETT J, GASPARYAN M, *et al.* Novel cancer stem cell targets during epithelial to mesenchymal transition in PTEN-deficient trastuzumab-resistant breast cancer[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(32): 51408-51422.
- [16] LIU L, YOU XW, HAN S, *et al.* CD155/TIGIT, a novel immune checkpoint in human cancers (Review)[J]. *Oncol Rep*, 2021, 45(3): 835-845.
- [17] FRED-PASTOR WA, LAMBERT LJ, ELY ZA, *et al.* The CD155/TIGIT axis promotes and maintains immune evasion in neoantigen-expressing pancreatic cancer[J]. *Cancer Cell*, 2021, 39(10): 1342-1360. e14.
- [18] DUAN XG, LIU JX, CUI JJ, *et al.* Expression of TIGIT/CD155 and correlations with clinical pathological features in human hepatocellular carcinoma[J]. *Mol Med Rep*, 2019, 20(4): 3773-3781.
- [19] BEVELACQUA V, BEVELACQUA Y, CANDIDO S, *et al.* Nectin like-5 overexpression correlates with the malignant phenotype in cutaneous melanoma[J]. *Oncotarget*, 2012, 3(8): 882-892.
- [20] SMAZYNSKI J, HAMILTON PT, THORNTON S, *et al.* The immune suppressive factors CD155 and PD-L1 show contrasting expression patterns and immune correlates in ovarian and other cancers[J]. *Gynecol Oncol*, 2020, 158(1): 167-177.

编辑:毕晓帆/接受日期:2023-02-13