

# NKG2D 受体配体系统介导肿瘤免疫逃逸的研究进展

张 妍,刘爱国

(华中科技大学同济医学院附属同济医院,湖北 武汉 430030)

**摘要:** NK 细胞作为机体固有免疫的重要组成部分,在肿瘤免疫监视机制中起重要作用。NKG2D 是 NK 细胞重要的激活受体,通过识别位于肿瘤细胞表面的 NKG2D 配体,介导细胞毒效应清除肿瘤细胞。然而存在多种因素可影响 NKG2D 受体与配体的表达,阻断了 NKG2D 信号转导,为肿瘤细胞免疫逃逸提供可能。NKG2D 受体配体系统还可作为临床诊疗的靶点,为肿瘤患者诊断、治疗以及评估预后提供依据。本文就 NKG2D 受体配体系统介导的肿瘤细胞免疫逃逸的机制以及目前已有的针对性免疫治疗方法进行综述,为临床应用提供更多思路。

**关键词:** NKG2D; NKG2D 配体; 肿瘤细胞; 免疫逃逸; 免疫治疗

中图分类号: R73 文献标识码: A 文章编号: 1004-0242(2020)08-0602-06

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2020.08.A008

## Research Progress of Tumor Immune Escape Mediated by NKG2D and Its Ligands

ZHANG Yan, LIU Ai-guo

(Tongji Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

**Abstract:** NK cells, as an important part of innate immunity, play an important role in tumor immune surveillance mechanism. NKG2D is an important activated receptor of NK cells. By recognizing NKG2D ligand located on the surface of tumor cells, NKG2D mediates cytotoxic effect to eliminate tumor cells. However, there are many factors that can affect the expression of NKG2D receptors and ligands, inhibit the signal transduction of NKG2D, leading to tumor cell immune escape. NKG2D receptor/ligand system can also be used as a target for clinical diagnosis, treatment and prognosis evaluation in cancer patients. This article reviews the mechanism of NKG2D receptor/ligand system mediated immune escape of tumor cells and related targeting immunotherapy for clinical application.

**Key words:** NKG2D; NKG2D ligands(NKG2DL); tumor; immune escape; immunotherapy

NKG2D 是一种 C 型凝集素受体,在 NK 细胞、CD8<sup>+</sup>T 细胞、 $\gamma\delta$ T 细胞及部分 CD4<sup>+</sup>T 细胞表面广泛表达<sup>[1]</sup>,在 NK 细胞激活过程中起重要作用,与 NK 细胞不同的是 NKG2D 为 T 细胞的活化提供共刺激信号<sup>[2]</sup>,并不能直接激活 T 细胞。NKG2D 可识别一系列亲和力不同、结构多样的配体,包括 MHC-I 类分子相关分子 A/B(MICA/B)<sup>[3]</sup>及 6 种 MHC-I 类分子相关分子 UL16 结合蛋白(ULBP1-6)<sup>[4]</sup>。NKG2D 配体(NKG2DL)的表达受严格调控,一般不存在于

正常细胞表面,而在多种肿瘤细胞表面均有表达,如肝细胞癌、胰腺癌、淋巴瘤<sup>[5]</sup>、黑色素瘤、神经母细胞瘤等<sup>[6]</sup>。肿瘤细胞表面 NKG2DL 与相关受体结合介导 NK 细胞与 CD8<sup>+</sup>T 细胞产生细胞毒效应。目前已发现多种途径可抑制 NKG2D 或 NKG2DL 的表达,促使肿瘤细胞发生免疫逃逸。

## 1 NKG2D 信号转导通路

NKG2D 受体是一种由两种 II 型跨膜糖蛋白组成的同源二聚体,在细胞膜外具有 C 型凝集素样结

收稿日期:2020-04-29;修回日期:2020-06-14

基金项目:国家自然科学基金(81472706、81874187)

通信作者:刘爱国,E-mail:drliuaguo@163.com

构,人 NKG2D 受体由杀伤细胞凝集素样受体 K 亚家族成员 1 基因编码,定位于 12 号染色体的 NK 基因复合体<sup>[7]</sup>。通常在正常细胞上不表达 NKG2DL,只有在细胞受到感染或恶变时才表达,NK 细胞可通过识别 NKG2DL 杀死肿瘤细胞,而不损害其他正常细胞<sup>[8]</sup>。NKG2D 与肿瘤细胞表面配体结合产生激活信号,因其胞内片段没有信号元件,故与 DNAX 激活蛋白 10(DAP10)结合形成复合体,一同将激活信号传至胞内,DAP10 的细胞质结构域含有 YXXM (Tyr.X.X-Meth)序列,其功能是募集磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)和生长因子受体结合蛋白 2(Grb2)。在 NK 细胞中 PI3K 的激活可介导抗凋亡激酶 Akt 的磷酸化,并产生脂质产物 PIP3 启动细胞外信号调节激酶(ERK)1/2 通路,此外胞内 Grb2/VAV-1 通路也被激活,进而通过磷脂酶 C(PLC)激活 ERK1/2 通路<sup>[9]</sup>。上述两种途径导致 NK 细胞内  $Ca^{2+}$ 浓度增加,引起肌动蛋白的细胞骨架重组,使 NK 细胞释放穿孔素、颗粒酶及多种转录因子,介导细胞毒作用,达到免疫监视的目的<sup>[10]</sup>。然而,NKG2D 与其配体的表达受多种因素调控,两者无法识别结合也为肿瘤细胞躲避免疫系统的攻击提供可能。

## 2 NKG2D 介导的肿瘤免疫逃逸

相关研究表明,包括胰腺癌、黑色素瘤在内的多种肿瘤,可显著下调 NKG2D 受体在 NK 细胞及 CD8<sup>+</sup>T 细胞的表达。因此,NK 细胞 NKG2D 表达降低可能是肿瘤患者 NK 细胞功能障碍的重要机制之一<sup>[11]</sup>。NKG2D 受体的表达受多种细胞因子调控,IL-2、IL-12、IL-15、IL-18 等细胞因子可显著上调 NKG2D 的表达,从而影响 NK 细胞的成熟、增殖、存活、NK 细胞亚群的分布及其激活<sup>[12]</sup>。然而,肿瘤微环境中含有肿瘤细胞及免疫抑制细胞分泌的多种细胞因子包括转化生长因子- $\beta$  (TGF- $\beta$ )、podocalyxin 样蛋白 1 (PCLP1)、巨噬细胞迁移抑制因子(MIF)、吡咯啉-2,3-双加氧酶(IDO)、前列腺素 E2 (PGE2) 等,对 NKG2D 的表达具有负性调控作用。此外,肿瘤微环境自身理化性质改变同样可以影响 NKG2D 的表达。

越来越多的证据证实,肿瘤微环境中的 TGF- $\beta$  对减弱 NK 细胞介导的免疫监视起关键性作用,TGF- $\beta$  可上调 NK 细胞 miR-1245 的表达,后者可作

用于 NKG2D 转录产物中的靶位点,降低 NKG2D 的表达水平<sup>[13]</sup>,此外 TGF- $\beta$  可降低 DAP10 在 mRNA 和蛋白质水平上的表达,使得 NKG2D 无法形成复合物,激活信号传导受阻,造成了 NK 细胞的功能缺陷<sup>[14]</sup>。PCLP1 是一种 CD34 相关的唾液黏蛋白,在乳腺癌患者中其过表达与肿瘤侵袭性及不良预后相关。Amo 等<sup>[15]</sup>研究证实了 PCLP1 可抵抗 NK 细胞介导的细胞溶解,并可通过接触依赖的方式下调 NKG2D 在内的多种 NK 细胞激活受体,降低 T 细胞增殖能力,实现肿瘤细胞免疫逃逸。MIF 是一种肿瘤衍生蛋白,可抑制转录因子 p53 的活性,刺激肿瘤细胞迁移、增殖、血管生成,并可特异性下调 NK 细胞和 CD8<sup>+</sup>T 细胞表面 NKG2D 的表达水平<sup>[16]</sup>。Park 等<sup>[17]</sup>发现 IDO 代谢产物犬尿氨酸通过抑制 NK 细胞中 STAT1 和 STAT3 通路的激活,降低 NKG2D 和 Nkp40 的表达。PGE2 阻断 IL-15 介导的 NK 细胞 NKG2D 表达上调,PGE2 还可与 NK 细胞表面 EP2/4 结合,阻断 AC/cAMP/PKA 通路,抑制 NKG2D 的转录<sup>[18]</sup>。

缺氧是肿瘤微环境的一个重要特征,可直接或间接诱导免疫抑制分子的分泌,使 NK 细胞失去通过 IL-2 和其他细胞因子上调 NKG2D 表达的能力<sup>[19]</sup>。缺氧条件下,肿瘤细胞可分泌缺氧诱导因子-1(HIF-1)通过与 Foxp3 启动子区结合,直接下调 Foxp3 的表达,诱导调节性 T 细胞(Tregs)的形成,并调节骨髓来源的抑制性细胞(MDSCs)的功能和分化<sup>[20]</sup>。此外,肿瘤细胞可分泌含有 TGF- $\beta$  及 miR-23a 的细胞外囊泡,从而下调 NKG2D 的表达<sup>[21-22]</sup>。肿瘤本身也可以表达 NKG2D 受体,与邻近肿瘤细胞上的 NKG2DL 结合,激活 PI3K/AKT/mTOR 信号通路,促进肿瘤增殖。

## 3 NKG2DL 介导的肿瘤免疫逃逸

NKG2DL 在多种肿瘤细胞表面表达,NKG2D 与配体间的特异性识别介导 NK 细胞或效应 T 细胞对肿瘤的杀伤作用。既往研究结果显示,随着肿瘤恶性程度的增加,NKG2DL 的表达出现下调,细胞膜上可供识别的受体减少,肿瘤细胞以此实现免疫逃逸<sup>[23]</sup>。

### 3.1 转录水平调控

在转录水平,异柠檬酸脱氢酶(IDH)基因突变会导致肿瘤细胞原有酶活性的丧失,通过 NKG2D 配

体 ULBP1 和 ULBP3 的表观遗传沉默获得对 NK 细胞的抗性<sup>[24]</sup>。多聚 ADP 核糖聚合酶 1(PARP1)被证明能够抑制白血病干细胞中 NKG2DL 的转录,从而使它们能够逃避 NKG2D 介导的免疫监视<sup>[2]</sup>。此外,肿瘤微环境含有丰富的细胞因子,其中干扰素 IFN- $\gamma$  可通过 STAT-1 通路下调黑色素瘤细胞中 MICA 的 mRNA 水平<sup>[25]</sup>。IL-6 可通过 JAK/Stat3 途径上调 PD-L1 的同时下调 NKG2DL 的表达<sup>[26]</sup>。TGF- $\beta$  不仅可以通过旁分泌的方式减少免疫细胞表面 NKG2D 的表达,通过自分泌选择性下调 MICA、ULBP2 和 ULBP4,而 MICB、ULBP1 和 ULBP3 不受影响<sup>[27]</sup>。

### 3.2 转录后水平调控

在转录后水平主要依靠内源性 microRNA 对 NKG2DL 的转录产物进行修饰,改变 mRNA 的稳定性或抑制 mRNA 的翻译。相关研究表明,miR-20a、miR-93、miR106b、miR-373 及 miR-520d 可与 NKG2DL 启动子的 3'-非翻译区(UTR)结合,从而在翻译水平上使 NKG2DL 的表达下调,有利于肿瘤生长<sup>[28]</sup>。结果表明,NKG2D 介导的肿瘤排斥反应在肿瘤生长的早期阶段是有效的,因此下调 NKG2D 配体的表达对于处于该阶段的肿瘤是有利的。后来,在更晚期的肿瘤中,NKG2D 配体的持续表面表达和可溶性 MICA 的脱落诱导了 NKG2D 的内化和降解,从而促进了肿瘤对免疫识别的回避<sup>[29]</sup>。因此,这里提出的基于 microRNA 的免疫逃避机制可能在肿瘤生长的早期阶段有用。

### 3.3 翻译后水平调控

翻译后的 NKG2DL 在细胞膜表面表达,可经蛋白水解脱落形成可溶性形式(sNKG2DL),或被外泌体包裹释放发挥生物学效应。肿瘤细胞表面配体的脱落主要依赖于肿瘤微环境中的金属蛋白酶家族(即 MMPs 和 ADAMS)<sup>[30]</sup>,脱落过程还受抑制金属蛋白酶活性的蛋白质(如 TIMP3)或促进蛋白水解的蛋白质(如二硫键异构酶 ERp5)的影响,ERp5 可与 MICA 形成二硫键复合物,诱导 MICA $\alpha$ 3 结构域的构象变化,使其发生蛋白水解<sup>[31]</sup>。通过 GPI 锚点连接到膜上的配体,如 ULBP1、ULBP3 或 MICA 等位基因 \*008,还可经外泌体从肿瘤细胞中释放<sup>[32]</sup>。NKG2DL 脱落以可溶性形式释放到血液中使肿瘤细胞表面配体减少,影响 NKG2D 的正常激活。更重要的是,释放的配体仍然能够与 NK 或 T 细胞上的

NKG2D 受体结合,导致 NK 和效应 T 细胞表面 NKG2D 受体内化,然而来自同一配体家族的多种亚型可以被一个功能性受体识别,单个配体的脱落足以使免疫细胞对整个配体家族视而不见<sup>[33]</sup>。此外,NKG2D 受体的长期参与也被证明下调了其他 NK 细胞受体的活性,这可能部分与 CD3 $\zeta$  信号分子的降解有关,这也削弱了 T 细胞的活性<sup>[34]</sup>。因此,脱落是逃避 NKG2D 介导的免疫监视的一种非常有效的方法。虽然可溶性形式和外泌体释放的 NKG2D 配体都与 NKG2D 受体结合并介导受体内化,但外泌体释放的配体具有交联表面受体的特性而表现出更强的诱导受体内化的能力<sup>[35]</sup>。

## 4 血清 sNKG2DL 水平可作为评估肿瘤预后指标

在多种癌症类型,如乳腺癌、结直肠癌、卵巢癌、前列腺癌、肺癌中,高水平的循环可溶性 MIC 与不良的临床预后和转移有关。其他 NKG2DL 家族的脱落,如 ULBP2,也被报道与某些实体肿瘤和血液系统恶性肿瘤的不良预后相关<sup>[36]</sup>。既往研究表明,NKG2DL 作为肿瘤标志物应用于临床诊断,结果往往相互矛盾,然而 Schmiedel 等<sup>[37]</sup>学者认为,这种多样性是由于在组织学上不能区分可溶性和膜表达的配体,而肿瘤患者血清 sNKG2DL 的水平是一个有价值的预后因素。原因在于这一指标与 NK 和 T 细胞活性呈负相关;其次,还与疾病的分期相关,对患者生存呈负面影响。与 sNKG2DL 导致的免疫细胞活性下降一致,在清除患者血清 sNKG2DL 后使用 PD-1 抗体靶向治疗可极大改善预后,因此对于不涉及 NKG2D 轴靶向治疗的患者,需要考虑血清 sNKG2DL 水平对预后进行评估<sup>[38]</sup>。

## 5 针对 NKG2D 受体配体系统的免疫治疗方案

上述免疫逃逸机制的研究,为 NKG2D 受体配体系统的免疫治疗提供了理论基础。因此,最大限度地激活 NKG2D 在免疫细胞上的表达,充分诱导 NKG2DL 在肿瘤细胞中的表达,抑制 NKG2DL 从肿

瘤细胞脱落,清除循环中 sNKG2DL 已成为免疫治疗研究的核心概念。

IL-2 是首批被批准用于治疗人类的细胞因子之一,它通过增加恶性肿瘤患者 CD16<sup>+</sup>NK 细胞中 NKG2D 的表达来增强 NK 细胞的细胞毒作用。然而,大剂量 IL-2 治疗会引起严重的副作用,如毛细血管渗漏综合征、发热、低血压、血管内皮激活引起的器官毒性等<sup>[39]</sup>。研究表明,低剂量的 IL-2 与 IL-18 联合使用同样可增强 NKG2D 的表达,而不会对癌症患者造成 IL-2 相关的毒性。此外,将与 IL-2R $\alpha$  低亲和力突变体 IL-2 与 NKG2D 高亲和力结合的痘病毒 MHC-I 类分子融合在一起形成融合蛋白,使 IL-2 靶向作用于 NK 细胞,融合蛋白促进了 NK 细胞激活受体的表达,并消除了 IL-2 的治疗相关的副作用<sup>[40]</sup>。IL-15 与 IL-2 结构类似,经 IL-15 过夜治疗后,NKG2D 的表达增加,干扰素- $\gamma$  的分泌可部分恢复<sup>[41]</sup>。

一些抗肿瘤药物可介导肿瘤细胞应激反应,促使其表达包括 NKG2DL 在内的多种应激配体,使肿瘤细胞更易受到免疫系统的攻击。例如组蛋白去乙酰化酶(HDAC)抑制剂丙戊酸,它在体外和体内均能显著上调 NKG2DL 的表达,但其他 HDAC 抑制剂明显诱导金属蛋白酶的表达,因此也可能增加配体脱落的风险<sup>[42]</sup>。此外,也有报道称 HDAC 治疗后 NK 细胞 NKG2D 受体表达受损,其原理尚未阐明,因此该领域的研究仍有待完善<sup>[43]</sup>。

诱导肿瘤细胞表面 NKG2DL 的表达理论上有助于介导免疫细胞的杀伤,然而许多晚期癌症以可溶性形式释放配体,仅以此方式无法阻断肿瘤细胞对免疫系统的抑制。脱落抑制剂的使用可有效降低循环 sNKG2DL 的水平,如使用 ADAM10 或 ERp5 抑制剂阻止蛋白水解<sup>[44]</sup>。但是脱落酶活性对于增强免疫应答同样具有重要作用,例如,TNF- $\alpha$  的释放是由 ADAM17 介导的,抑制脱落酶活性可能影响免疫细胞的分泌功能<sup>[45]</sup>。此外,虽然抑制脱落对许多癌症患者有所帮助,但 NKG2DL 经外泌体释放仍无法避免。因此,有学者提出清除循环中 sNKG2DL 的治疗方案。

针对 sMIC 通路的肿瘤免疫治疗目前已有多种方案。包括通过靶向 MIC 的  $\alpha 3$  域(调节脱落的序列)或 ERp5(调节蛋白酶作用于 MIC)来阻止 MIC 的

脱落<sup>[46]</sup>,通过预先吸收去除血浆 sMIC 后进行抗肿瘤治疗,以及用单克隆抗体清除 sMIC。其中 sMIC 抗体清除已被证明是治疗转移性癌症的一种有效、安全的方法。结果表明,用单克隆抗体 B10G5 清除 sMIC 可显著降低原发肿瘤浸润程度,消除转移<sup>[47]</sup>。机制上,B10G5 解除 sMIC 对 NKG2D 表达的抑制,免疫细胞表面 NKG2D 稳定表达,消除了肿瘤诱导的抗原特异性 CD8<sup>+</sup>T 细胞耐受,恢复 NK 细胞及效应 T 细胞免疫监视功能<sup>[48]</sup>。

嵌合抗原受体(CAR)是一种人工修饰的融合蛋白,由细胞外抗原识别结构域与细胞内信号域融合而成<sup>[49]</sup>。CAR-NK 细胞可以通过 CAR 依赖和 NK 细胞受体依赖的机制杀伤靶细胞,从而消灭肿瘤相关抗原阳性的肿瘤细胞或表达 NK 细胞相关受体配体的肿瘤细胞<sup>[50]</sup>。NK 细胞表面携带多种受体,利用 NKG2D 作为信号分子构建而成的 NKG2D-CAR-NK 细胞,经 CD3 $\zeta$  与 DAP10 将信号传至胞内介导细胞激活并产生细胞毒性<sup>[51]</sup>。与内源性 NKG2D 受体的 NK 细胞相比,NKG2D-CAR 诱导的 NK 细胞总体上可以显著增强 NK 细胞的活性,对表达 NKG2DL 的多种肿瘤细胞都有有效的杀伤作用,在临床前研究阶段表现出强大抗肿瘤活性,目前多项针对 CAR-NK 安全性与有效性的临床试验正逐步开展<sup>[52]</sup>。

## 6 小结与展望

近年来,肿瘤免疫逃逸及免疫治疗的一直是研究的热点问题,NKG2D 作为免疫细胞重要的激活受体,其介导的免疫逃逸机制正逐步揭开,特别是对 NKG2DL 转录和翻译后的调控机制有了更多新的见解。但免疫逃逸的过程极其复杂,对于单一靶点的调控并不足以描述肿瘤细胞与免疫系统间的相互作用,同时 NKG2D 可识别多种生物学特性不同的配体,目前已知的几种调控机制只能对其中单个配体发挥作用,而对家族中其他配体的影响尚未阐明。相关工作仍在继续,更多的调控机制将在今后的研究中不断完善,完整、系统地认识 NKG2D 受体配体系统在肿瘤逃逸中的作用将为肿瘤的治疗提供新的思路。

利用抗体清除 sNKG2DL 在临床前模型中被证明是一种有效而安全的方法,但 NKG2DL 的脱落不仅受金属蛋白酶的影响,还可通过外泌体作用于靶

细胞,因此单纯清除血浆 sNKG2DL 的方法仍无法控制脱落的 NKG2DL 对受体的内化作用,利用相关蛋白或非编码 RNA 控制肿瘤细胞外泌体的分泌或许能成为抑制肿瘤逃逸重要的辅助手段,减少脱落的 NKG2DL 对免疫细胞功能的抑制。

此外,基于 NKG2D-CAR-NK 细胞的免疫疗法应用于血液学恶性肿瘤与实体瘤的相关临床试验已经开展并取得一些成果,针对部分肿瘤被证实具有抗肿瘤活性,且有很高的安全性。CAR-NK 细胞在体内的寿命短,能极大改善 CAR-T 细胞引起的细胞因子风暴及其他不良反应,但它们在体内的短暂存在可能限制了对肿瘤的杀伤效果,因此 CAR-NK 细胞免疫疗法在部分实体瘤中的治疗效果仍需要进一步研究<sup>[53]</sup>。此外,由于 NK 细胞的异质性,筛选合适的 NK 细胞亚群(如杀伤亚群)选择性扩增和构建特异性 CAR-NK 细胞的必要性尚待探索。相信随着 CAR-NK 细胞研究的不断深入,上述问题终将得以解决,CAR-NK 细胞免疫疗法也有望成为抗肿瘤治疗的重要手段。

## 参考文献:

- [1] Duan S, Guo W, Xu Z, et al. Natural killer group 2D receptor and its ligands in cancer immune escape [J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 29.
- [2] Paczulla A M, Rothfelder K, Raffel S, et al. Absence of NKG2D ligands defines leukaemia stem cells and mediates their immune evasion [J]. *Nature*, 2019, 572 (7768): 254–259.
- [3] Garrido F, Aptsiauri N. Cancer immune escape: MHC expression in primary tumours versus metastases [J]. *Immunology*, 2019, 158(4): 255–266.
- [4] Habarth K, Brennan K, Hoglund V, et al. NKG2D ligand expression in pediatric brain tumors [J]. *Cancer Biol Ther*, 2016, 17(12): 1253–1265.
- [5] Di Vito C, Mikulak J, Zaghi E, et al. NK cells to cure cancer [J]. *Sem Immunol*, 2019, 41: 101272.
- [6] Sheppard S, Ferry A, Guedes J, et al. The paradoxical role of NKG2D in cancer immunity [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1808.
- [7] Wang J, Li CD, Sun L. Recent advances in molecular mechanisms of the NKG2D pathway in hepatocellular carcinoma [J]. *Biomolecules*, 2020, 10(2): 301.
- [8] Dhar P, Wu J D. NKG2D and its ligands in cancer [J]. *Curr Opin Immunol*, 2018, 51: 55–61.
- [9] Liu H, Wang S, Xin J, et al. Role of NKG2D and its ligands in cancer immunotherapy [J]. *Am J Cancer Res*, 2019, 9(10): 2064–2078.
- [10] Kawakami T, Ito K, Matsuda Y, et al. Cytotoxicity of natural killer cells activated through NKG2D contributes to the development of bronchiolitis obliterans in a murine heterotopic tracheal transplant model [J]. *Am J Transplant*, 2017, 17(9): 2338–2349.
- [11] Jelenčić V, Šestan M, Kavazović I, et al. NK cell receptor NKG2D sets activation threshold for the NCR1 receptor early in NK cell development [J]. *Nat Immunol*, 2018, 19(10): 1083–1092.
- [12] Granzin M, Wagner J, Köhl U, et al. Shaping of natural killer cell antitumor activity by ex vivo cultivation [J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 458.
- [13] Aldinucci D, Borghese C, Casagrande N. Formation of the immunosuppressive microenvironment of classic hodgkin lymphoma and therapeutic approaches to counter it [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(10): 2416.
- [14] Wilton KM, Overlee BL, Billadeau DD. NKG2D-DAP10 signaling recruits EVL to the cytotoxic synapse to generate F-actin and promote NK cell cytotoxicity [J]. *J Cell Sci*, 2019, 133(5): jcs230508.
- [15] Amo L, Tamayo-Orbegozo E, Maruri N, et al. Podocalyxin-like protein 1 functions as an immunomodulatory molecule in breast cancer cells [J]. *Cancer Lett*, 2015, 368(1): 26–35.
- [16] Yao J, Leng L, Sauler M, et al. Transcription factor ICBP90 regulates the MIF promoter and immune susceptibility locus [J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(2): 732–744.
- [17] Park A, Yang Y, Lee Y, et al. Indoleamine-2,3-Dioxygenase in thyroid cancer cells suppresses natural killer cell function by inhibiting NKG2D and Nkp46 expression via STAT signaling pathways [J]. *J Clin Med*, 2019, 8(6): 842.
- [18] Al Dulaimi D, Klibi J, Olivo Pimentel V, et al. Critical contribution of NK group 2 member D expressed on invariant natural killer T cells in concanavalin-induced liver hepatitis in mice [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1052.
- [19] Cui C, Fu K, Yang L, et al. Hypoxia-inducible gene 2 promotes the immune escape of hepatocellular carcinoma from nature killer cells through the interleukin-10-STAT3 signaling pathway [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 229.
- [20] Hsu TS, Lai MZ. Hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  plays a predominantly negative role in regulatory T cell functions [J]. *J Leukoc Biol*, 2018, 104(5): 911–918.
- [21] Berchem G, Noman MZ, Bosseler M, et al. Hypoxic tumor-derived microvesicles negatively regulate NK cell function by a mechanism involving TGF- $\beta$  and miR23a transfer [J]. *Oncoimmunology*, 2016, 5(4): e1062968.
- [22] Rossi GR, Trindade ES, Souza-Fonseca-Guimaraes F. Tumor microenvironment-associated extracellular matrix components regulate NK cell function [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 73.
- [23] Frazao A, Rethacker L, Messaoudene M, et al. NKG2D/NKG2L ligand pathway offers new opportunities in cancer treatment [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 661.
- [24] Zhang X, Rao A, Sette P, et al. IDH mutant gliomas es-

- cape natural killer cell immune surveillance by downregulation of NKG2D ligand expression [J]. *Neuro-oncology*, 2016, 18(10): 1402–1412.
- [25] Xu L J, Ma Q, Zhu J, et al. Combined inhibition of JAK1/2/Stat3-PD-L1 signaling pathway suppresses the immune escape of castration-resistant prostate cancer to NK cells in hypoxia[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(6): 8111–8120.
- [26] Xu L, Chen X, Shen M, et al. Inhibition of IL-6-JAK/Stat3 signaling in castration-resistant prostate cancer cells enhances the NK cell-mediated cytotoxicity via alteration of PD-L1/NKG2D ligand levels [J]. *Mol Oncol*, 2018, 12(3): 269–286.
- [27] Lazarova M, Steinle A. Impairment of NKG2D-mediated tumor immunity by TGF- $\beta$ [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2689.
- [28] Stern-Ginossar N, Gur C, Biton M, et al. Human microRNAs regulate stress-induced immune responses mediated by the receptor NKG2D[J]. *Nat Immunol*, 2008, 9(9): 1065–1073.
- [29] Yi M, Xu L, Jiao Y, et al. The role of cancer-derived microRNAs in cancer immune escape [J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1): 25.
- [30] Zingoni A, Vulpis E, Loconte L, et al. NKG2D ligand shedding in response to stress: role of ADAM10 [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 447.
- [31] Kaiser BK, Yim D, Chow IT, et al. Disulphide-isomerase-enabled shedding of tumour-associated NKG2D ligands[J]. *Nature*, 2007, 447(7143): 482–486.
- [32] López-Cobo S, Campos-Silva C, Valés-Gómez M. Glycosyl-Phosphatidyl-Inositol (GPI)-anchors and metalloproteases: their roles in the regulation of exosome composition and nkg2d-mediated immune recognition[J]. *Front Cell Develop Biol*, 2016, 4: 97.
- [33] Maurer S, Kropp KN, Klein G, et al. Platelet-mediated shedding of NKG2D ligands impairs NK cell immune-surveillance of tumor cells [J]. *Oncoimmunology*, 2018, 7(2): e1364827.
- [34] Yang D, Sun B, Dai H, et al. T cells expressing NKG2D chimeric antigen receptors efficiently eliminate glioblastoma and cancer stem cells [J]. *Immunother Cancer*, 2019, 7(1): 171.
- [35] Federici C, Shahaj E, Cecchetti S, et al. Natural-killer-derived extracellular vesicles: immune sensors and interactors[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 262.
- [36] Maccalli C, Giannarelli D, Chiarucci C, et al. Soluble NKG2D ligands are biomarkers associated with the clinical outcome to immune checkpoint blockade therapy of metastatic melanoma patients[J]. *Oncoimmunology*, 2017, 6(7): e1323618.
- [37] Schmiedel D, Mandelboim O. NKG2D ligands-critical targets for cancer immune escape and therapy [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 2040.
- [38] Zhang J, Larrocha P S, Zhang B, et al. Antibody targeting tumor-derived soluble NKG2D ligand sMIC provides dual co-stimulation of CD8 T cells and enables sMIC(+) tumors respond to PD1/PD-L1 blockade therapy[J]. *J Immunother Cancer*, 2019, 7(1): 223.
- [39] Prajapati K, Perez C, Rojas LBP, et al. Functions of NKG2D in CD8(+) T cells: an opportunity for immunotherapy [J]. *Cell Mol Immunol*, 2018, 15(5): 470–479.
- [40] 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: 12878.
- [41] Easom NJW, Stegmann KA, Swadling L, et al. IL-15 overcomes hepatocellular carcinoma-induced NK cell dysfunction[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1009.
- [42] López-Cobo S, Pieper N, Campos-Silva C, et al. Impaired NK cell recognition of vemurafenib-treated melanoma cells is overcome by simultaneous application of histone deacetylase inhibitors [J]. *Oncoimmunology*, 2018, 7(2): e1392426.
- [43] Lazarova M, Steinle A. The NKG2D axis: an emerging target in cancer immunotherapy [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2019, 23(4): 281–294.
- [44] Ding H, Yang X, Wei Y. Fusion proteins of NKG2D/NKG2DL in cancer immunotherapy [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(1): 177.
- [45] Saad MI, Rose-John S, Jenkins BJ. ADAM17: an emerging therapeutic target for lung cancer[J]. *Cancers*, 2019, 11(9): 1218.
- [46] Peng Z, Chen Y, Cao H, et al. Protein disulfide isomerases are promising targets for predicting the survival and tumor progression in glioma patients [J]. *Aging*, 2020, 12(3): 2347–2372.
- [47] Wu J. Antibody targeting soluble NKG2D ligand sMIC refuels and invigorates the endogenous immune system to fight cancer[J]. *Oncoimmunology*, 2016, 5(3): e1095434.
- [48] Ferrari de Andrade L, Tay R E, Pan D, et al. Antibody-mediated inhibition of MICA and MICB shedding promotes NK cell-driven tumor immunity[J]. *Science*, 2018, 359(6383): 1537–1542.
- [49] Greppi M, Tabellini G, Patrizi O, et al. Strengthening the antiTumor NK cell function for the treatment of ovarian cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(4): 890.
- [50] Hu Y, Tian Z G, Zhang C. Chimeric antigen receptor(CAR)-transduced natural killer cells in tumor immunotherapy[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39(2): 167–176.
- [51] Sun B, Yang D, Dai H, et al. Eradication of Hepatocellular Carcinoma by NKG2D-Based CAR-T Cells[J]. *Cancer Immunol Res*, 2019, 7(11): 1813–1823.
- [52] Sievers NM, Dörrie J, Schaft N. CARs: Beyond T cells and T cell-derived signaling domains[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(10): E3525.
- [53] Siegler EL, Zhu Y, Wang P, et al. Off-the-shelf CAR-NK cells for cancer immunotherapy[J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 23(2): 160–161.