

基于 NK 细胞的肿瘤免疫治疗研究进展

田志刚 (中国科学技术大学 免疫学研究所, 合肥 230027)



[作者简介] 田志刚, 博士, 教授, 国家杰出青年科学基金获得者, 中国科学院“百人计划”入选者, 国家自然科学基金委“天然免疫”创新研究群体学术带头人。1982 年山西医科大学(医学本科)、1985 年山东省医科院(免疫学硕士)、1989 年吉林大学白求恩医学院(免疫学博士)毕业。曾为山东省医科院基础医学研究所所长(1996-2003)、美国国立卫生研究院(NIH)国立癌症研究所(NCI)访问学者(1994-1996; 2000-2001)、美国弗吉尼亚医学院访问教授(1999-2000)、日本金泽大学国立癌症研究所访问教授(2001-2002); 现为 中国免疫学会副理事长、中国免疫学会肿瘤免疫与生物治疗分会会长、《中国肿瘤生物治疗杂志》副主编、《中国免疫学杂志》副主编、中国免疫学会英文会刊 *Cellular & Molecular Immunology* 执行主编(SCI 收录)。一直从事 NK/NKT 细胞、天然免疫识别与各种肝脏疾病的免疫学机制和应用前景探索。以通讯

作者在 *Proc Natl Acad Sci USA* (2 篇)、*Hepatology* (6 篇)、*J Hepatol* (3 篇)、*J Immunol* (6 篇)、*J Allergy Clin Immunol*、*Clin Cancer Res*、*Haematologica* (3 篇)、*Proteomics*、*Semin Immunopathol* 等发表 SCI 论文 70 余篇 (IF > 5 论文 26 篇), 获国家自然科学基金二等奖 (第一作者) 1 项。E-mail: ustctzg@yahoo.com.cn

[摘要] NK 细胞发育分化研究取得较大进展, 除骨髓、外周血和脾脏外, 胸腺、肝脏、淋巴结等器官中 NK 细胞前体细胞 (NK precursors, NKPs) 的分化及其迁移特性引起极大关注。人类 CD56^{bright} NK 细胞易于在次级淋巴组织及非淋巴组织中聚集, 而 CD56^{dim} NK 细胞则能够趋化招募至外周炎症部位。NK 细胞活化受体包括细胞因子受体、膜整合素分子、天然细胞毒受体、免疫球蛋白样杀伤受体, 以及新发现的许多识别分子。在肿瘤的发生发展过程中, NK 细胞既可以通过“内识别”方式直接识别恶性转化的癌细胞并被活化, 也可以在辅助细胞 (单核细胞、巨噬细胞、树突状细胞) 的作用下被活化。DC 细胞可以触发 NK 细胞的活化, 其中 IL-15R-IL-15 的反式信号转导极其重要。NK 细胞的肿瘤生物治疗取得了较大进展, 其中基于 NK 细胞天然免疫识别的肿瘤生物治疗有很多新的途径。

[关键词] NK 细胞; 识别受体; 肿瘤; 免疫治疗

[中图分类号] R730.51; R392.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2009)01-002-04

Progress in NK cell-based immunotherapy of tumor

TIAN Zhi-gang (Institute of Immunology, University of Science & Technology of China, Hefei 230027, China)

[Abstract] The development and differentiation of NK cells are highly noted in recent years. In addition to the peripheral blood, spleen and bone marrow, the liver, lymph nodes and thymus are also considered as important organs for differentiation of NK cell precursors (NKPs). Human NK cell subset CD56^{bright} is enriched in secondary lymphoid tissues and non-lymph tissues; NK subset cell CD56^{dim} can migrate to peripheral inflammatory region. Activating receptors on NK cells include cytokine receptors, integrin receptors, natural cytotoxic receptors, immunoglobulin-like killer receptors, and many new receptors and ligands different from the aforementioned receptor families. In the process of tumor progression, NK cells can directly recognize malignant cells via “internal recognition” and be activated; they can also be activated by accessory cells such as monocytes, macrophages and dendritic cells. DC cells can trigger the activation of NK cells, in which the reverse signal transduction of IL-15R-IL-15 plays an important role. Great progression has been made in NK cell-based immunotherapy of tumor, in particular there are many new ways in NK cell innate recognition-based tumor biotherapy.

[Key words] NK cell; recognition receptor; neoplasms; immunotherapy

[Chin J Cancer Biother, 2009, 16(1); 2-5]

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (No. 30721002)。Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30721002)

1 NK细胞的一些新概念

近年来免疫学家开始关注除骨髓和外周血外的胸腺、肝脏、淋巴结、脾脏等器官中NK细胞前体细胞(NKPs)的分化其迁移特性^[1-3]。小鼠NKP表型为Lin⁻CD122⁺NK1.1⁻DX5⁻,人类NKP的表型尚不清楚。NKPs进一步发育分化为不成熟NK细胞(iNKs),表达部分NK细胞特异性标志,如CD161、NKG2D;进而经过一系列的“education”后成为成熟NK细胞(mNKs),表达多种细胞标志,如CD122、NK1.1、DX5、NKG2D、CD16、Ly49、CD94/NKG2A/C、CD11b以及CD43等。小鼠胎肝中iNKs(CD11^{low}CD49b⁺Ly49⁻)的发现提示肝脏可能是除骨髓以外NK细胞发育分化的另一重要场所。怀孕期间子宫蜕膜层CD56^{hi}CD16⁻NK细胞,其表型及功能均不同于其他组织器官的NK细胞亚群,推测可能与孕期子宫局部微环境有关。人类CD56^{bright}CD16⁻NK细胞优势表达CD62L、CCR7、CXCR4以及一系列黏附分子,提示该群细胞易于在次级淋巴组织及非淋巴组织中聚集;而CD56^{dim}CD16⁺NK细胞高表达CXCR1、CX3CR1以及ChemR23受体,提示是能够趋化招募至外周炎症部位的重要机制。“CD3 ζ 信号接头分子”在CD56^{bright}NK细胞中的表达水平明显低于CD56^{dim}NK细胞,可能是其杀伤功能差异的重要原因。

2 NK细胞的识别活化机制

NK细胞可通过多种受体而被活化,这些活化受体包括细胞因子受体、膜整合素分子、天然细胞毒受体(CD16, NKp46, NKp30, NKp44, NKp80)、免疫球蛋白样杀伤受体(NKG2家族, DNAM-1/CD226家族, SLAMs家族/SLAM, 2B4, NTB-A, CD84),识别非己抗原分子的受体(Ly49H)以及其他一些受体(如CD18, CD2, TLR-3/-9等);NK细胞抑制性受体包括多种识别MHC-I类分子的特异性受体(Ly49s, KIRs, CD94/NKG2A/B)。目前NK细胞的天然免疫识别机制较为公认的是Raulet等^[4,6]归纳的“non-self”、“missing-self”、“induced-self”等三种识别模式。

NK细胞对机体正常细胞维持免疫耐受的机制尚不清楚,推测在NK细胞发育分化过程中NK细胞前体细胞与正常自身细胞的相互作用对NK细胞进行“education”,从而使得NK细胞对自身细胞具有免疫耐受功能。除KIR/Ly49分子与经典MHC-I类分子相互作用,新近研究^[7-8]表明,机体存在

MHC-I类分子非依赖的“missing-self”识别,如小鼠NKRP-1B-Clr-b、人类NKRP-1A-LLT-1、大鼠NKRP-1B-RCTL等识别;另外,CD94/NKG2A识别非经典MHC-I类分子(Qa-1, HLA-E),当自身反应性CD4⁺T细胞不表达Qa-1分子时,NK细胞会对其实施杀伤^[7-8]

3 NK细胞用于肿瘤免疫治疗的新进展

在肿瘤的发生、发展过程中,NK细胞既可以通过“内识别”方式(如NCRs、NKG2D、SLAMs、DNAMs等)直接识别恶性转化癌细胞并被活化,也可以在辅助细胞(单核细胞、巨噬细胞、树突状细胞等)的作用下被活化^[9-14]。这些辅助细胞通过其模式识别受体(包括细胞表面受体TLR2、TLR4,胞内胞质受体RIG-1、NALP3、NOD2,内体受体TLR7、TLR9等识别多种病原体)来应答内外环境的变化,再通过分泌多种可溶性因子或直接接触的方式将信号传递至NK细胞,使NK细胞得以发挥其杀伤功能及分泌炎症性细胞因子功能。在人类,已经证实存在的可溶性因子有IL-12、IL-18、type I IFN、IL-2及TNF α ;直接接触的分子有GITRL/GITR、IL-12/IL-12R、CD48/2B4、MICA or MICB or ULBP1-ULBP3/NKG2D、AICL/NKp80、IL-15R-IL-15/IL-15 $\beta\gamma$ 等。

研究^[15-19]表明肿瘤发生过程中NK细胞的活化也可以由DC细胞触发,其中IL-15R-IL-15的反式信号转导极其重要。触发后的NK细胞在8h以内会进入外周血,到达肿瘤组织部位,再在其他活化信号的作用下成为效应细胞。多种细胞因子包括IFN- α/β 、IL-12、IL-15等、肿瘤细胞表面表达的“应激”蛋白、共刺激分子等共同诱导了NK细胞的效应功能。研究发现IL-15R信号通过JAK3依赖途径磷酸化DAPI0分子,对NKG2D介导的信号转导和杀伤功能产生重要作用,被誉为“a new couple on the scene”。

在肿瘤的发生发展过程中,细胞可能参与对抗肿瘤适应性免疫细胞的负调控。在自身免疫性疾病研究中发现,NKG2A⁺NK细胞可直接杀伤不表达Qa-1分子的自身反应性CD4⁺T细胞,从而预防自身免疫性疾病的发生^[7-8]。这种NKG2A⁺NK细胞如果直接杀伤不表达Qa-1分子的抗肿瘤CTL细胞或Th细胞,则可能导致肿瘤的免疫逃逸。对该免疫负调控效应的干预有可能成为继干预调节性T细胞之后的免疫治疗新途径。抗肿瘤免疫发生过程中炎症反应会导致多种趋化因子的产生,NK细胞表面表达某些趋化因子的受体如CX3CR1、CCR2等,

从而使NK细胞被招募至肿瘤组织部位发挥相应生物治疗效应。

4 基于NK细胞识别受体的肿瘤免疫治疗新途径

基于NK细胞的肿瘤生物治疗取得了较大进展,其中基于NK细胞天然免疫识别的肿瘤生物治疗途径有很多新的设想^[13]:(1)利用细胞因子、造血生长因子和免疫调节剂可以促进NK细胞活化性受体的表达和加强杀伤分子(如穿孔素、粒酶)的表达和功能,其中I型干扰素、IL-2、IL-12、IL-15、IL-18、IL-21在体内外实验中均显示强有力的功效;(2)靶向NK细胞抑制性受体的人源化单克隆抗体可促使NK细胞免疫识别谱偏向免疫活化,从而使NK细胞大量活化;(3)采用RNA干扰(RNAi)技术消减NK细胞抑制性受体表达或直接转基因超高表达NK细胞活化性受体,使NK细胞易于活化而获得杀伤活性;(4)构建表达嵌合受体的NK细胞,使该细胞的活化受体含有超高活性的胞内信号功能区而易于高度活化,或者使该细胞活化受体具有特定的识别特性(例如具备识别Erb2的单链抗体多变区),使该细胞可以靶向癌细胞;(5)免疫放疗和免疫化疗方案大幅度提高NK细胞的抗癌功效。近期研究证明,适度放疗和化疗可以使肿瘤细胞高表达NK细胞活化受体识别(如NKG2D)的配基(如MICA、MICB等),使肿瘤细胞易于被NK细胞识别而清除;同时,还发现组蛋白脱乙酰酶抑制剂和蛋白酶体抑制剂可以诱导肿瘤细胞DR2,从而被NK细胞以TRAIL途径杀伤;(6)基于NK细胞的ADCC效应设计生物治疗方案。采用治疗性单抗或治疗性双功能抗体结合NK细胞体内转输可以极大提高临床肿瘤生物治疗的疗效。

5 NK细胞与自身免疫疾病的发生、发展

研究^[18,20]表明天然免疫系统及获得性免疫系统均参与了多种自身免疫性疾病的发生发展,而且天然免疫细胞NK细胞与自身反应性T细胞存在直接相互作用关系。NK细胞可通过多种机制抑制反应性T细胞,如NK细胞直接对APCs或T细胞行使杀伤功能;NK细胞分泌抑制性细胞因子IL-10、TGF- γ ;NK细胞上调自身反应性T细胞WAF1的表达以调节细胞周期;亦或通过作用于其他调节性细胞如NKT、Treg细胞间接抑制反应性T细胞。另一方面,NK细胞可通过多种机制促进反应性T细胞的增殖分化,如分泌炎症细胞因子IFN- γ ;促进APC细胞的活化;上调T细胞共刺激分子的表达如

OX40、2B4;亦或上调MHC-II类分子的表达行使抗原提呈功能。

研究者^[20]利用小鼠EAE模型已证实NK细胞能够通过CD94/NKG2A-Qa-1分子作用对自身反应性T细胞行使调节功能,NKG2A⁺NK细胞直接杀伤不表达Qa-1分子的自身反应性CD4⁺T细胞,提示NK细胞在自身免疫病治疗过程中可能有新的应用空间。自身免疫病发生过程中炎症反应会导致多种趋化因子的产生,NK细胞表面表达某些趋化因子的受体如CX3CR1、CCR2等,从而NK细胞被招募至炎症组织部位发挥相应生物学效应。在小鼠MC-MV感染模型中,肝脏局部CCL2、CCL3表达上调,招募NK细胞至肝脏,NK细胞抗病毒的同时导致肝组织损伤。在人类,心脏移植患者感染Coxsackievirus-B4病毒后,心脏局部CX3CL1表达增高,招募NK细胞至心脏,NK细胞控制病毒感染的同时加速心脏排斥。另外,在EAE模型中亦证实脑部CX3CL1能够招募NK细胞至CNS发挥调节作用^[20]。

6 结束语

1976年美国几个研究小组同时发现可“自然杀伤(natural killer)”癌细胞的NK细胞,为T和B细胞之后的第三类淋巴细胞,誉为天然免疫核心细胞。由于前期NK细胞识别“自我-非己”机制不清,NK细胞研究停滞不前。20世纪90年代初发现了NK细胞识别受体,NK细胞进入第二个研究高潮。1998年爱尔兰医生报道肝脏NK/NKT细胞占淋巴细胞总数50%以上,是其他器官含量的5~10倍,以研究肝脏免疫细胞为核心的“肝脏免疫学”从此诞生。纵观NK细胞研究发展历史,NK细胞天然免疫“泛特异识别”机制和NK细胞发育分化迁移的“区域”特性始终是其核心科学问题,这两个研究领域的新突破总伴随着NK细胞理论和应用的巨大进展。基于NK细胞的肿瘤免疫治疗的研究进展也同样遵循这个规律,推动NK细胞这两个领域的研究进展必然会加快肿瘤免疫治疗的发展。

[参考文献]

- [1] Di Santo JP. Natural killer cells: diversity in search of a niche [J]. *Nat Immunol*, 2008, 9(5): 473-475.
- [2] Huntington ND, Voshenrich CA, Di Santo JP. Developmental pathways that generate natural-killer-cell diversity in mice and humans [J]. *Nat Rev Immunol*, 2007, 7(9): 703-714.
- [3] Walzer T, Vivier E. NK cell development: gas matters [J]. *Nat Immunol*, 2006, 7(7): 702-704.

- [4] Lanier LL. Up on the tightrope: natural killer cell activation and inhibition[J]. *Nat Immunol*, 2008, 9(5): 495-502.
- [5] Kärre K. Natural killer cell recognition of missing self[J]. *Nat Immunol*, 2008, 9(5): 477-480.
- [6] Raulet DH, Vance RE. Self-tolerance of natural killer cells[J]. *Nat Rev Immunol*, 2006, 6(7): 520-531.
- [7] Vivier E, Romagné F. Good news, bad news for missing-self recognition by NK cells: autoimmune control but viral evasion[J]. *Immunity*, 2007, 26(5): 549-551.
- [8] Lu L, Ikizawa K, Hu D, *et al.* Regulation of activated CD4⁺ T cells by NK cells via the Qa-1-NKG2A inhibitory pathway[J]. *Immunity*, 2007, 26(5): 593-604.
- [9] Vivier E, Tomasello E, Baratin M, *et al.* Functions of natural killer cells[J]. *Nat Immunol*, 2008, 9(5): 503-510.
- [10] Terme M, Ullrich E, Delahaye NF, *et al.* Natural killer cell-directed therapies: moving from unexpected results to successful strategies[J]. *Nat Immunol*, 2008, 9(5): 486-494.
- [11] Lanier LL. Evolutionary struggles between NK cells and viruses[J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(4): 259-268.
- [12] Schwartzberg PL, Mueller KL, Qi H, *et al.* SLAM receptors and SAP influence lymphocyte interactions, development and function[J]. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9(1): 39-46.
- [13] Ljunggren HG, Malmberg KJ. Prospects for the use of NK cells in immunotherapy of human cancer[J]. *Nat Rev Immunol*, 2007, 7(5): 329-339.
- [14] Newman KC, Riley EM. Whatever turns you on: accessory-cell-dependent activation of NK cells by pathogens[J]. *Nat Rev Immunol*, 2007, 7(4): 279-291.
- [15] Colucci F. Unexpected partnership between IL-15 and DAP10[J]. *Nat Immunol*, 2007, 8(12): 1289-1291.
- [16] Hornig T, Bezradica JS, Medzhitov R. NKG2D signaling is coupled to the interleukin 15 receptor signaling pathway[J]. *Nat Immunol*, 2007, 8(12): 1345-1352.
- [17] Huntington ND, Legrand N, Alves NL, *et al.* IL-15 trans-presentation promotes human NK cell development and differentiation *in vivo*[J]. *J Exp Med*, 2009, 206(1): 25-34.
- [18] Mortier E, Woo T, Advincula R, *et al.* IL-15/Ralpha chaperones IL-15 to stable dendritic cell membrane complexes that activate NK cells via trans presentation[J]. *J Exp Med*, 2008, 205(5): 1213-1225.
- [19] Huntington ND, Puthalakath H, Gunn P, *et al.* Interleukin 15-mediated survival of natural killer cells is determined by interactions among Bim, Noxa and Mcl-1[J]. *Nat Immunol*, 2007, 8(8): 856-863.
- [20] Shi FD, Van Kaer L. Reciprocal regulation between natural killer cells and autoreactive T cells[J]. *Nat Rev Immunol*, 2006, 6(10): 751-760.

[收稿日期] 2009-02-02

[修回日期] 2009-02-10

[本文编辑] 韩丹

· 读者 · 作者 · 编者 ·

《中国肿瘤生物治疗杂志》常用英文缩略词表(一)

根据科技名词使用规则,已被公认公知的缩略词可以不加注释直接使用,非公认公知的缩略词首次出现时应写出全称。为方便作者和读者撰写和阅读论文,本刊将陆续公布肿瘤生物治疗专业中公认公知的常用英文缩略词,并注明其英文全称和中文名称。作者撰写论文时,可直接使用这些缩略词,无需写出英文全称。

AFP	alpha-fetoprotein	甲胎蛋白
AIDS	acquired immunodeficiency syndrome	获得性免疫缺陷综合征(艾滋病)
AJCC	American Joint Committee on Cancer	美国癌症联合委员会
ASCO	American Society of Clinical Oncology	美国临床肿瘤学会
ATCC	American Type Culture Collection	美国典型培养物保藏中心
CEA	carcinoembryonic antigen	癌胚抗原
ConA	concanavalin A	刀豆球蛋白 A
CR	complete remission, complete response	完全缓解
CSF	colony-stimulating factor	集落刺激因子
CT	computed tomography	计算机体层摄影
CTL	cytotoxic T lymphocyte	细胞毒性 T 淋巴细胞
DC	dendritic cell	树突状细胞
DCR	disease control rate	疾病控制率
DFS	disease-free survival	无病生存
DNA	deoxyribonucleic acid	脱氧核糖核酸
DRFS	distant recurrence-free survival	无远处复发生存