

doi: 10. 3969/j. issn. 1000-484X. 2024. 07. 001

## · 专家述评 ·

## NK细胞的发育分化及转录因子调控

何悦颜 彭 慧 (中国科学技术大学生命科学与医学部, 前沿交叉科学与生物医学研究所, 合肥 230027)

中图分类号 R392 文献标志码 A 文章编号 1000-484X(2024)07-1345-10

[摘要] 自然杀伤(NK)细胞是固有免疫系统重要成员,在抗病毒以及抗肿瘤中发挥重要作用。NK细胞发育分化历经多个阶段,受多种因素调控。成年机体外周组织广泛存在的经典NK(cNK)细胞主要由骨髓造血干细胞(HSCs)经共同淋巴祖细胞(CLPs)、NK细胞前体(NKPs)阶段发育而来,转录因子在调控造血前体向NK细胞分化过程中发挥关键作用。近年随着固有淋巴细胞(ILCs)家族其他成员的发现和深入研究,揭示了NK细胞具有独立于其他ILCs亚群的发育路径,NK细胞发育分化阶段界定更为精细,一系列调控NK细胞各阶段发育分化的转录因子也逐步被发现。本文围绕NK细胞发育阶段的界定和转录因子调控方面展开论述,将有助于深入理解NK细胞的发育分化过程。

[关键词] NK细胞;发育分化;转录调控

## Development and transcriptional regulation of NK cells

HE Yueyan, PENG Hui. Center for Advanced Interdisciplinary Science and Biomedicine of IHM, Division of Life Sciences and Medicine, University of Science and Technology of China, Hefei 230027, China

[Abstract] Natural killer (NK) cells are important members of innate immune system, playing an important role in anti-viral and anti-tumor responses. Development and differentiation of NK cells go through multiple stages and are regulated by a variety of factors. Conventional NK (cNK) cells, which are widely present in peripheral tissues of adult organisms, mainly develop from bone marrow hematopoietic stem cells (HSCs) through common lymphoid progenitors (CLPs) and NK cell precursors (NKPs). Transcription factors play a key role in regulating differentiation of hematopoietic precursors into NK cells. In recent years, with discovery and in-depth study of other members of innate lymphoid cells (ILCs) family, it has been revealed that NK cells have a developmental pathway independent of other ILC subsets, development and differentiation stages of NK cells have been more finely defined, and a series of transcription factors regulating development and differentiation of NK cells at various stages have been gradually discovered. This article focuses on definition of NK cell development stages and regulation of transcription factors, which will improve our understanding of development and differentiation of NK cells.

[Key words] NK cells; Development and differentiation; Transcriptional regulation



何悦颜,2021年毕业于华中师范大学生物技术专业,获理学学士学位,曾在中国科学院武汉病毒研究所与湖北天勤生物科技有限公司实习。2021年进入中国科学技术大学彭慧教授课题组进行硕士阶段学习,2023年转为博士阶段,现为中国科学技术大学免疫学研究所彭慧教授课题组2023级在读博士生,

主要从事NK细胞发育分化研究,E-mail:heyueyan@mail.ustc.edu.cn。



彭 慧,中国科学技术大学特任教授,博士生导师。长期从事NK细胞研究,致力于解析NK细胞的发育分化及其在疾病中的作用机制,发现了肝脏特有NK细胞新亚群,围绕其谱系发育、功能、疾病意义取得重要进展,相关成果以(共)通信作者发表在*Science*,*Cell*,*Immunity*,*JEM*等高水平期刊。获国家自然科学基金

二等奖,入选中国科协青年人才托举工程,获得中国免疫学会青年学者奖,E-mail:huiPeng@ustc.edu.cn。

自然杀伤(natural killer, NK)细胞是固有免疫系统重要组成,属于 I 型固有淋巴细胞(innate lymphoid cells, ILCs),可通过直接裂解靶细胞或分泌 IFN- $\gamma$  等细胞因子发挥抗病毒及抗肿瘤作用<sup>[1-4]</sup>。NK 细胞被视作 CD8<sup>+</sup>T 细胞在固有免疫系统中的镜像细胞,其效应功能相似,但激活机制和发育路径不同<sup>[5]</sup>。NK 细胞激活取决于胚系基因编码的多种活化性以及抑制性受体所转导信号的整合<sup>[6]</sup>。不同于 T 细胞在胸腺中的发育, NK 细胞主要在骨髓中由造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSCs)发育而来,经历多个阶段,最终产生具有效应功能的 NK 细胞<sup>[7]</sup>。此外,近年研究发现,肝脏等特定组织器官中存在的组织驻留 NK 细胞可由原位的造血前体细胞发育分化而来<sup>[8]</sup>。本文阐述的 NK 细胞为骨髓来源的经典 NK(conventional NK, cNK)细胞。

自 NK 细胞发现以来,已有大量研究报道了影响 NK 细胞发育与成熟的细胞因子、转录因子以及其他骨髓来源信号<sup>[9]</sup>。NK 细胞通过响应外界环境信号激活相关信号通路,使特定转录因子发挥作用,调控基因表达程序,从而决定细胞的谱系命运。NK 细胞谱系定向与功能成熟由包括 T-BOX 转录因子在内的转录因子网络协调<sup>[10]</sup>。本综述将聚焦调控 NK 细胞谱系定向以及分化成熟的转录因子及分子机制,对其发育分化机制的深入理解有利于开发基于 NK 细胞的疾病治疗新策略。

## 1 NK 细胞发育及成熟

### 1.1 小鼠 NK 细胞发育与成熟

NK 细胞是继 T 细胞和 B 细胞之后被发现的第三大类淋巴细胞,主要由骨髓中的 HSCs 经共同淋巴祖细胞(common lymphoid progenitors, CLPs)阶段发育而来,在 CLPs 下游存在独立于 T 细胞和 B 细胞的发育路径。近年新的 ILCs 亚群不断被发现,其发育分化路径与 NK 细胞存在共性和差异性,使 NK 细胞早期发育阶段划分更为精细复杂。根据分泌的细胞因子以及依赖的转录因子不同, ILCs 可分为 I 型、II 型与 III 型, NK 细胞属于 I 型 ILCs<sup>[11]</sup>。在 CLPs 下游,研究者根据 NFIL3 以及 TCF1 高表达分别鉴定了 CXCR6<sup>+</sup> $\alpha$  淋巴祖细胞( $\alpha$ -lymphoid progenitors,  $\alpha$ -LPs)以及早期固有淋巴祖细胞(early innate lymphoid progenitors, EILPs)作为共同固有淋巴祖细胞(common innate lymphoid progenitors, CILPs),缺乏向 T、B 细胞的分化潜能,但能发育为所有已知 ILCs 谱系<sup>[11-13]</sup>。在 CILPs 下游,与其他 ILCs 发育途径不同, NK 细胞从

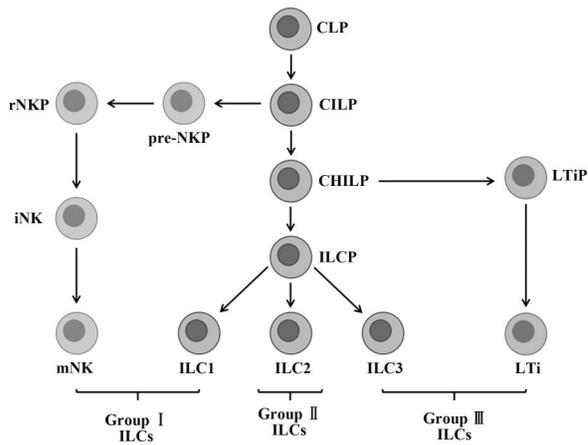
ILCs 的主线发育途径中分支出来<sup>[14]</sup>。

ILCs 主线发育途径中, KLOSE 等<sup>[15]</sup>根据 ID2 表达鉴定了一群存在于骨髓和胎肝中的共同辅助样固有淋巴祖细胞(common helper innate lymphoid progenitors, CHILPs),位于 CILPs 下游,缺乏向 cNK 细胞分化的潜能,但能产生所有辅助样 ILCs 谱系,包括 ILC1s、ILC2s、ILC3s 以及淋巴组织诱导(lymphoid tissue inducer, LTi)细胞。依据 PLZF 或 PD-1 高表达界定的固有淋巴细胞前体(innate lymphoid cell precursors, ILCPs)位于 CHILPs 下游,丧失了向 LTi 细胞分化的潜能<sup>[16-17]</sup>。而 LTi 细胞发育在 CHILPs 下游即发生分支,经过 LTi 祖细胞产生 LTi 细胞<sup>[14]</sup>。然而,最近研究表明 ILCPs 仍保留向 cNK 细胞分化的潜能<sup>[18-19]</sup>,因此 ILCPs 的定义是否准确还需进一步探究。

CILPs 下游的细胞依序获得不同表面标志物以进入不同发育阶段, NK 细胞在骨髓中的发育可分为 3 个连续阶段,即 NK 细胞前体(NK cell precursors, NKPs)、不成熟 NK(immature NK, iNK)细胞以及成熟 NK(mature NK, mNK)细胞<sup>[20]</sup>。从 HSCs 到 NKPs 的形成过程是 NK 细胞谱系定向的关键阶段,早期研究利用 CD122<sup>+</sup>NK1.1<sup>-</sup>CD49b<sup>-</sup>定义 NKPs,但后续研究证明该群体仍保留向 T 细胞分化的潜能<sup>[17, 21-22]</sup>。最近, NKPs 定义被细化为 Lin<sup>-</sup>Flt3<sup>-</sup>NK1.1<sup>-</sup>CD27<sup>+</sup>2B4<sup>+</sup>CD127<sup>+</sup>CD122<sup>+</sup>,且其上游最早向 NK 细胞定向的 pre-NKPs 或 pre-pro NK 细胞也被鉴定出来<sup>[23-24]</sup>。由于 NKPs 早在新的 ILCs 亚群被报道之前已被定义,其是否具有向 cNK 细胞以外其他 ILCs 亚群发育分化的潜能还有待探究。NKPs 在获得 NK1.1、NKp46 表达后,即进入 iNK 细胞阶段,该阶段相对 mNK 细胞低表达 CD49b、CD11b 表面分子和杀伤分子<sup>[7]</sup>。NK 细胞的成熟在骨髓中起始,在外周继续, iNK 细胞及 mNK 细胞在 S1P5、CX3CR1、CXCR3、CXCR6、CCR1 等作用下从骨髓实质迁向骨髓血窦,进而进入血液,血液中的 NK 细胞在不同整合素、趋化因子等作用下向不同组织迁移<sup>[25]</sup>。获得 NK1.1 表达后,也可通过 CD27 与 CD11b 将 NK 细胞成熟划分为 CD27<sup>+</sup>CD11b<sup>-</sup>、CD27<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>、CD27<sup>-</sup>CD11b<sup>+</sup> 3 个连续阶段<sup>[26]</sup>,此外, KLRG1 与 CD43 也可作为终末成熟 NK 细胞的表面标志分子(图 1)<sup>[27-28]</sup>。

### 1.2 人类 NK 细胞发育与成熟

人类 NK 细胞主要源自骨髓,但也能在次级淋巴组织及一些外周组织中发育分化<sup>[29]</sup>。在骨髓中,其发育起源于 HSCs,经历淋巴系多能前体细胞(lymphoid-primed multipo-



Note: CLPs can differentiate into all lymphocytes including T cells, B cells and ILCs. Downstream of CLPs, CILPs lack developmental potential to T and B cells, but can develop into all ILCs including group I ILCs (mNK cells and ILC1s), group II ILCs (ILC2s), and group III ILCs (ILC3s and LTi cells). Downstream of CILPs, NK cells branch off from main developmental pathway of ILCs, pre-NKPs differentiate into rNKPs that can further generate iNK cells and mNK cells. CHILPs can differentiate into ILCPs with potential of generating ILC1s, ILC2s and ILC3s, and LTiPs that are restricted to LTi cell lineage.

图1 小鼠 ILCs 的发育路径

Fig. 1 Developmental pathways of ILCs in mice

tent progenitors, LMPPs)以及CLPs阶段进而发育为CD122<sup>+</sup>NKPs, CD122作为IL-15受体β链,其表达标志着前体细胞可响应IL-15信号,获得向NK细胞谱系定向分化的能力<sup>[30-31]</sup>。从NKPs阶段到终末成熟NK细胞发育是一个逐步过程,活化性受体表达,如NKG2D、NKp46等标志着NK细胞发育进入iNK细胞阶段,进而发育为CD56<sup>bright</sup>阶段, NKp80又可将CD56<sup>bright</sup>阶段划分为NKp80<sup>+</sup>与NKp80<sup>-</sup>前后两个亚阶段,之后NK细胞会下调CD56表达从而进入CD56<sup>dim</sup>mNK细胞阶段,在CD56<sup>dim</sup>mNK细胞阶段中, KIR及CD57上调表达标志着NK细胞终末成熟<sup>[32-33]</sup>。与小鼠中利用CD27/CD11b划分NK细胞成熟相似,在人类中,利用CD56及CD57可将人类NK细胞成熟划分为CD56<sup>bright</sup>CD57<sup>-</sup>、CD56<sup>dim</sup>CD57<sup>-</sup>与CD56<sup>dim</sup>CD57<sup>+</sup> 3个连续阶段<sup>[7]</sup>。然而,近年研究表明人类NK细胞发育存在很多分叉节点,因此,NK细胞发育途径可能远比上述单线发育模型复杂<sup>[34]</sup>。

## 2 调控NK细胞发育及成熟的转录因子

### 2.1 影响NK细胞早期发育的转录因子

**2.1.1 NFIL3** *Nfil3*在LMPPs与CLPs阶段即开始表达,在pre-NKPs阶段上调表达,mNK细胞阶段表达最高<sup>[35]</sup>。尽管早期研究表明NFIL3主要通过促进

NKPs向iNK细胞转变从而影响NK细胞发育<sup>[36-37]</sup>,对更精确定义的NKPs进行分析发现,NFIL3缺陷可导致NKPs减少,而CLPs数量不变,说明NFIL3主要调控CLPs向NKPs转变,在IL-15信号前即发挥作用<sup>[35]</sup>。机制上,NFIL3可直接结合在其下游转录因子EOMES及ID2调节区域,从而促进其转录<sup>[35,37]</sup>。NFIL3仅在NK细胞早期发育中发挥作用,获得NKp46表达后,NK细胞分化成熟则不依赖于NFIL3<sup>[38]</sup>。NFIL3缺陷可导致Eomes<sup>+</sup>NK细胞完全缺失,但仍能部分保留Eomes<sup>-</sup>NK细胞<sup>[39-41]</sup>。由于骨髓和脾脏中的NK细胞以Eomes<sup>+</sup>NK细胞为主,而肝脏和胸腺含有较高比例Eomes<sup>-</sup>NK细胞(也称为ILC1s),提示骨髓来源cNK细胞发育分化严格依赖于NFIL3,而髓外发育形成的NK细胞仅部分依赖NFIL3。除对NK细胞发育的影响,研究表明NFIL3也是ILC2s和ILC3s发育依赖的转录因子,且利用NFIL3高表达可界定ILCs的共同祖细胞α-LPs<sup>[11,42]</sup>,提示NFIL3可能在α-LPs及其下游阶段发挥作用。

**2.1.2 TCF1** *Tcf7*是编码TCF1蛋白的基因,在EILPs阶段即开始表达,且在NK细胞发育整个阶段持续表达<sup>[12,43]</sup>。早期研究聚焦于TCF1调控NK细胞发育过程中Ly49受体的获得<sup>[44]</sup>。近年研究表明TCF1通过限制颗粒酶导致的细胞自我损伤促进NK细胞早期发育,然而在NK细胞发育后期,其可抑制NK细胞功能成熟<sup>[45]</sup>。最近研究也鉴定了TCF1在NKPs阶段的调控网络,可直接靶向NK细胞相关基因发挥作用<sup>[43]</sup>。除对NK细胞发育进行调控,研究表明TCF1也调控ILCs家族其他成员发育,其缺陷影响EILPs产生<sup>[46]</sup>。

**2.1.3 ETS1与PU.1** ETS1与PU.1属于ETS家族转录因子,均可调控小鼠骨髓CLPs向NKPs转变。ETS1早在pre-NKPs阶段即发挥作用,对NK细胞早期发育和终末成熟至关重要,其调控关键转录因子,如T-BET与ID2、NKR<sub>s</sub>以及信号分子表达<sup>[47-48]</sup>。ETS1在人类NK细胞发育中也发挥重要作用,ETS1缺失导致NK细胞发育受抑制,在机制上,ETS1可直接诱导控制NK细胞分化的关键转录因子,如NFIL3、T-BET、GATA3等表达,抑制细胞凋亡以及促进NK细胞激活相关基因表达<sup>[49]</sup>。

PU.1在NK细胞上表达,PU.1缺失后小鼠骨髓NKPs以及脾脏mNK细胞数显著减少,由于PU.1调控细胞因子受体基因表达,其可能通过维持NKPs和NK细胞对特定细胞因子的应答促进NK细胞发育分化<sup>[50]</sup>。

**2.1.4 STAT5** JAK-STAT 信号通路是 IL-15R 下游的一条信号通路,低浓度 IL-15 即可活化此信号通路<sup>[51]</sup>。哺乳动物中,STAT5 由 2 个相邻基因 *Stat5a*、*Stat5b* 编码,磷酸化的 STAT5a 与 STAT5b 能够形成同源二聚体、异源二聚体或四聚体,易位到细胞核驱动相应靶基因表达,从而影响 NK 细胞发育、存活、增殖与功能<sup>[52-53]</sup>。

STAT5 在 NK 细胞发育中扮演重要角色,NK 细胞特异性缺陷 STAT5 导致脾脏与淋巴结 NK 细胞比例及数量显著降低,NK 细胞成熟以及增殖受损<sup>[54-55]</sup>。STAT5 通过促进抗凋亡分子,如 BCL-2 或 MCL-1 转录维持 NK 细胞存活,并抑制 NK 细胞促血管生成因子 VEGF-A 表达<sup>[55-56]</sup>。

NK 细胞中,*Stat5b* 转录水平显著高于 *Stat5a*,与 STAT5a 缺失相比,STAT5b 缺失会导致更严重的外周 NK 细胞发育缺陷,表明 STAT5b 在小鼠 NK 细胞发育中起主导作用<sup>[57]</sup>。其缺失会降低小鼠骨髓 NKPs 数量以及终末成熟 NK 细胞比例,也会影响 NK 细胞增殖<sup>[58-59]</sup>。人类 *Stat5b* 突变会导致外周血 NK 细胞数量降低,CD56<sup>dim</sup> 亚群呈不成熟状态,以及 CD56<sup>bright</sup> 亚群功能受损<sup>[58]</sup>。尽管 STAT5a 的作用不及 STAT5b,但 STAT5a 蛋白表达减少会损害 NK 细胞数量及成熟度,表现在 NK 细胞增殖能力降低以及终末成熟 NK 细胞比例下降<sup>[60]</sup>。

STAT5 二聚体与四聚体在 NK 细胞发育与成熟中扮演不同角色,STAT5 二聚体足以促进早期 NK 细胞发育及增殖,而 STAT5 四聚体通过介导成熟相关基因表达以及诱导抗凋亡蛋白 BCL-2 表达从而促进 NK 细胞成熟与存活<sup>[53]</sup>。

**2.1.5 ID2** NK 细胞组成性表达 *Id2*,早在 1999 年就有研究报道 ID2 缺陷导致小鼠脾脏 NK 细胞显著减少,揭示了 ID2 在 NK 细胞发育中的重要作用<sup>[61]</sup>。近年研究逐渐阐述了 ID2 发挥作用的机制,ID2 的经典作用是拮抗 E 蛋白活性,E 蛋白促进 T 细胞与 B 细胞发育,所以在骨髓 NK 细胞发育的多个阶段,E 蛋白活性需被抑制<sup>[62]</sup>。此外,ID2 可通过抑制 SCOS3 在内的多种 E 蛋白靶基因从而促进 IL-15R 信号,维持 NK 细胞稳态,通过限制 naïve T 淋巴细胞相关基因附近 E 蛋白结合位点染色质可及性改变 NK 细胞对促炎细胞因子的应答,从而促进 CD27<sup>+</sup>CD11b<sup>-</sup> NK 细胞中 NK 细胞分化以及细胞毒性功能相关基因表达<sup>[63-64]</sup>。TCF1 是 ID2 下游一个重要靶点,ID2 缺陷导致 TCF1 上调表达,从而阻滞 NK 细胞成熟<sup>[65]</sup>。

ID2 缺陷主要影响 mNK 细胞数量,而不影响 NKPs 与 iNK 细胞发育<sup>[62]</sup>。*Id2*<sup>-/-</sup> NKPs 中 *Id3* 表达显著升高,ID3 对 ID2 缺陷的 NK 细胞发育至关重要,提示 *Id2*<sup>-/-</sup> 小鼠 NKPs 数目稳定可能由于 ID3 的代偿作用<sup>[62,64]</sup>。因此,ID2 和 ID3 可协同调控 NK 细胞发育分化。

此外,ILC1s、ILC2s、ILC3s 及其前体 CHILPs 均高表达 *Id2*,ID2 缺陷也会影响其他 ILCs 亚群发育分化<sup>[15,61,66-67]</sup>。

**2.1.6 TOX 家族** TOX 家族转录因子包括 TOX、TOX2、TOX3 与 TOX4,其结构相似,但生物学功能有所不同,其中 TOX 与 TOX2 在 NK 细胞发育中发挥重要作用<sup>[68]</sup>。

ALIAHMAD 等<sup>[69]</sup>研究表明 *Tox*<sup>-/-</sup> 小鼠 mNK 细胞数量显著减少,而 NKPs 无影响,表明 TOX 主要影响 NK 细胞成熟。除在小鼠中的研究,在人类中的体外实验也表明 TOX 与 TOX2 正调控 NK 细胞成熟,通过直接或间接调控 T-BET 发挥作用<sup>[70-71]</sup>。

然而最近研究表明 TOX 正调控 NK 细胞早期发育及功能,而对晚期 NK 细胞发育及功能无影响。机制上,TOX 主要通过促进激酶 MST1 表达调节 NK 细胞稳态<sup>[72]</sup>。

**2.1.7 FOXO 家族** 在哺乳动物中,FOXO 家族由 4 个成员组成:FOXO1、FOXO3、FOXO4、FOXO6,FOXO1 与 FOXO3 在 CLPs、pre-NKPs、rNKPs 及 NK 细胞都有表达,但 FOXO3 在 NK 细胞表达较低<sup>[73-74]</sup>。目前关于 FOXO1 在 NK 细胞发育与成熟中的作用存在争议,FOXO1 除通过影响 CD27<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> 向 CD27<sup>+</sup>CD11b<sup>-</sup> 转变从而负调控 NK 细胞终末成熟外,造血细胞缺失 FOXO1 可导致骨髓中 CLPs、pre-pro NK 细胞及 NK 细胞比例和数量增加,NK 细胞增殖水平升高,表明 FOXO1 也负调控 NK 细胞早期发育与增殖<sup>[74-75]</sup>。最近研究发现,FOXO1 与 FOXO3 两者同时缺陷可逆转 FOXO1 单独缺陷导致的效应,并阻滞 NK 细胞发育与成熟<sup>[73]</sup>,提示 FOXO3 促进 NK 细胞发育分化,而 FOXO1 可能通过拮抗 FOXO3 的作用抑制 NK 细胞发育分化。也有研究表明 FOXO1 在 NK 细胞发育中发挥正向作用,iNK 细胞的细胞质中磷酸化的 FOXO1 与 ATG7 相互作用诱导自噬,从而促进 NK 细胞发育<sup>[76]</sup>。

**2.2 影响 NK 细胞成熟的转录因子**

**2.2.1 EOMES 与 T-BET** EOMES 与 T-BET 是 T-box 家族转录因子,其 DNA 结合结构域高度同源<sup>[77]</sup>,

提示其可能具有冗余的转录活性,然而二者在NK细胞中具有不同表达模式且发挥不同作用。

EOMES对NK细胞发育与成熟至关重要,造血系统缺失EOMES或NK细胞特异性缺失EOMES均会导致NK细胞数量显著减少<sup>[78-80]</sup>。小鼠骨髓 pre-pro NK细胞不表达EOMES,其主要在iNK细胞表达,且在终末成熟NK细胞阶段EOMES表达显著下降<sup>[81-82]</sup>。近年研究表明其主要作用于NK细胞早期发育,并参与调控NK细胞稳态维持,EOMES缺陷会影响所有成熟阶段的NK细胞亚群数量,阻碍NK细胞受体等NK细胞标志性基因表达,如CD122表达下调,促进CD27<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>阶段细胞凋亡,且阻滞CD27<sup>+</sup>CD11b<sup>-</sup>至CD27<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>阶段细胞成熟<sup>[80,82-83]</sup>。

T-BET在rNKPs阶段即开始表达,随NK细胞发育成熟表达进一步上调,但在骨髓中表达被抑制,较脾脏与肝脏表达水平低<sup>[81-82,84]</sup>。IL-18-RUNX3及T-BET自身可激活NK细胞中的*Tbx21-CNS-3*元件,对T-BET适度表达以及NK细胞成熟至关重要<sup>[84]</sup>。近年研究表明Eomes<sup>-</sup>NK细胞的存在严格依赖于T-BET,而Eomes<sup>+</sup>NK细胞中仅终末成熟阶段的数量受T-BET调控<sup>[78,81]</sup>,两群细胞对T-BET和EOMES依赖程度不同,这是将Eomes<sup>-</sup>NK细胞归为独立于经典NK细胞的ILC1s亚群的重要依据。机制上,T-BET可促进终末成熟NK细胞存活,抑制iNK细胞转录程序,诱导ZEB2、BLIMP1等抑制因子表达,并诱导NK细胞对IL-12的响应<sup>[82,85-87]</sup>;此外,T-BET还可通过诱导SIP5表达促进NK细胞从骨髓和淋巴结迁到外周组织<sup>[88]</sup>。

T-BET和EOMES间存在拮抗作用,T-BET缺陷的NK细胞表达更高水平的EOMES,而EOMES缺陷的NK细胞表达更高水平的T-BET,二者在NK细胞的不同成熟阶段发挥不同作用<sup>[82]</sup>。EOMES与T-BET表达相对值对NK细胞成熟至关重要,在NK细胞成熟中发挥的互补作用可能是由于阶段特异性表观遗传分子或特异性辅助因子的作用<sup>[82]</sup>。

**2.2.2 ZEB2与BLIMP1** *Zeb2*在成熟CD27<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>NK细胞的表达明显高于不成熟CD11b<sup>-</sup>NK细胞,提示其可能在NK细胞终末成熟中发挥重要作用。研究表明ZEB2位于T-BET下游,影响成熟NK细胞存活、从骨髓中迁出以及终末成熟<sup>[89]</sup>。

BLIMP1在NKPs中不表达,在iNK细胞中以IL-15依赖方式被诱导表达,在小鼠与人类终末成熟NK细胞亚群表达最为显著<sup>[86]</sup>。研究表明BLIMP1在T-BET下游发挥作用,通过促进NK细胞分化以

及限制其增殖,从而调节NK细胞成熟及稳态<sup>[86]</sup>。

**2.2.3 GATA3** GATA3属于GATA结合蛋白转录因子家族,与启动子元件的共有序列[A/T]GATA[A/G]结合发挥作用<sup>[90]</sup>。与T细胞以及IL-7Rα<sup>+</sup>ILCs亚群发育严重受损不同,GATA3缺陷并不会影响NK细胞数量,表明GATA3并不影响NK细胞早期发育<sup>[91-92]</sup>。然而,GATA3对NK细胞成熟及其从骨髓中的迁出至关重要,GATA3促进CD27<sup>+</sup>CD11b<sup>-</sup>向CD27<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>阶段转变,通过维持NK细胞黏附分子表达,从而促进其迁移到外周<sup>[91,93]</sup>。

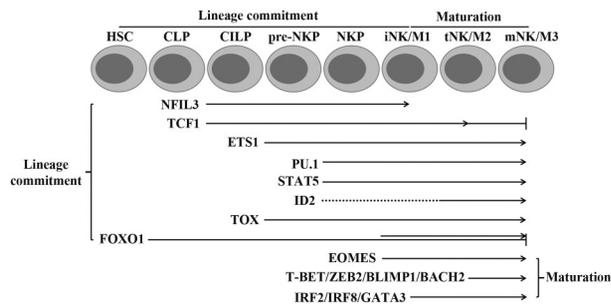
**2.2.4 BACH2** BACH2表达与TCF1表达呈正相关,负调控NK细胞终末成熟及功能<sup>[94-95]</sup>。BACH2通过抑制效应基因表达从而抑制NK细胞终末分化,BACH2缺失导致具有细胞毒性的NK细胞积聚,使NK细胞对肺癌转移的控制得到增强<sup>[94-95]</sup>。

**2.2.5 IRF家族** IRF家族包含9个转录因子,即IRF1~IRF9,其中IRF1、IRF2和IRF8对NK细胞的调控作用已被揭示。IRF1主要影响IL-15基因表达以及骨髓中抗辐射细胞,调控NK细胞发育微环境从而影响NK细胞发育<sup>[96-97]</sup>。在稳态及病毒感染后,IRF2缺失导致小鼠及人类NK细胞成熟受阻,从而削弱NK细胞抗病毒能力<sup>[98-101]</sup>。此外,IRF2对人类NK细胞早期发育阶段的细胞增殖也至关重要<sup>[101]</sup>。然而,也有研究表明,IRF2不仅调控NK细胞发育,也是ILC1s、ILC2s以及ILC3s发育形成依赖的转录因子,IRF2缺失导致PLZF<sup>high</sup>ILCPs比例减少<sup>[102]</sup>。IRF8也可调控小鼠及人类NK细胞功能成熟,在NK细胞介导的抗病毒免疫应答中发挥重要作用<sup>[103-104]</sup>。

**2.2.6 其他** 除ETS1与PU.1外,研究表明Ets1家族成员MEF在NK细胞发育中也扮演重要角色,MEF缺失会导致小鼠脾脏及人类外周血NK细胞数量显著降低,影响小鼠及人类NK细胞成熟及杀伤功能<sup>[105-106]</sup>。

SMAD3缺陷会导致骨髓中NK细胞显著增加,通过抑制NFIL3发挥作用<sup>[107-108]</sup>;与SMAD3不同,SMAD4在NK细胞发育中发挥正向作用,促进NK细胞成熟及抗肿瘤功能<sup>[109]</sup>。

RUNX3在NKPs阶段即起始表达,研究表明RUNX3在NK细胞早期发育阶段通过直接结合到CD122基因启动子促进CD122表达;RUNX3也可通过上调Ly49受体等表达促进NK细胞后期成熟<sup>[110-111]</sup>;与RUNX3相似,RUNX2也可正向调控CD122表达,从而驱动人类NK细胞产生<sup>[112]</sup>。



Note: Many transcription factors play an important role in NK cell lineage commitment and maturation. NFIL3, TCF1, ETS1, PU.1, STAT5, ID2, TOX and FOXO1 are critical for NK cell lineage commitment. EOMES, T-BET, ZEB2, BLIMP1, BACH2, IRF2, IRF8, GATA3 play a role in NK cell maturation.

图2 影响NK细胞发育的转录因子

Fig. 2 Transcription factors involved in NK cell development

除已知 FOXO1 和 SMAD3 对 NK 细胞的发育成熟发挥负调控作用外,最近研究表明,ZHX2 作为转录抑制子也可抑制 NK 细胞成熟及功能,在机制上,其通过直接负调控 ZEB2 发挥作用<sup>[113]</sup>;FRA-2 过表达使 NFIL3 表达显著降低,从而在 pre-NKPs 阶段即阻碍 NK 细胞发育<sup>[114]</sup>。

IKAROS 对 NKPs 产生至关重要,而 IKAROS 家族另一成员 AIOLOS 则是在 NK 细胞终末成熟阶段发挥重要作用<sup>[115-116]</sup>。

研究表明转录因子 PBX1 缺失影响 NK 细胞早期发育,通过直接调控 Nfil3 从而调控 pre-NKPs 及 rNKPs 数量(图2)<sup>[117]</sup>。

### 3 总结与展望

NK 细胞发育分化是一个复杂有序的过程,起始于骨髓中的 HSCs,先后在骨髓与外周经历谱系定向发育与后期成熟,最后成为具有杀伤功能的 NK 细胞。造血前体细胞向 NK 细胞谱系定向发育的关键是 NKPs 的产生,研究者鉴定出具有 NK 细胞发育潜能,但缺乏 T、B 细胞发育潜能的前体细胞,并将其作为 NKPs,但其是否能向 ILC1s 等其他 ILCs 谱系分化尚不清楚。

转录因子是决定细胞谱系命运的关键因素。通过使用基因敲除小鼠模型、过继转输、骨髓重建以及细胞体外培养等手段,影响 NK 细胞早期发育与后期成熟的多个转录因子被鉴定,NFIL3、TCF1 等转录因子影响前体细胞向 NK 细胞谱系定向发育,TOX、FOXO1 等转录因子影响 NK 细胞后期成熟过程。然而,多种已知调控 NK 细胞发育的转录因

子也可影响 ILCs 其他成员,如 NFIL3、TCF1、ID2 等均可调控 ILCs 早期前体,从而影响 ILCs 各成员发育分化,ETS1 可影响包括 T、B 细胞在内的多种淋巴谱系发育<sup>[118]</sup>。因此,目前仍不清楚 LMPPs/CLPs 定向往 NK 细胞发育的关键分子机制,特异调控 NK 细胞早期谱系定向的转录因子还有待研究。此外,以往对 NK 细胞发育分化的研究大多基于小鼠模型,相关机制是否适用于人类 NK 细胞缺乏验证,对人类 NK 细胞发育分化转录调控机制的深入理解有助于开发基于人类 NK 细胞的免疫治疗方法<sup>[119]</sup>。

### 参考文献:

- [1] SPITS H, ARTIS D, COLONNA M, *et al.* Innate lymphoid cells—a proposal for uniform nomenclature[J]. *Nat Rev Immunol*, 2013, 13(2):145-149. DOI: 10. 1038/nri3365.
- [2] BJÖRKSTRÖM N K, STRUNZ B, LJUNGGREN H G. Natural killer cells in antiviral immunity[J]. *Nat Rev Immunol*, 2022, 22(2):112-123. DOI: 10. 1038/s41577-021-00558-3.
- [3] CHIOSSONE L, DUMAS P Y, 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.
- [4] WOLF N K, KISSIOV D U, RAULET D H. Roles of natural killer cells in immunity to cancer, and applications to immunotherapy[J]. *Nat Rev Immunol*, 2023, 23(2):90-105. DOI: 10. 1038/s41577-022-00732-1.
- [5] SUN J C, LANIER L L. NK cell development, homeostasis and function: Parallels with CD8<sup>+</sup>T cells[J]. *Nat Rev Immunol*, 2011, 11(10):645-657. DOI: 10. 1038/nri3044.
- [6] LONG E O, KIM H S, LIU D, *et al.* Controlling natural killer cell responses: Integration of signals for activation and inhibition[J]. *Annu Rev Immunol*, 2013, 31:227-258. DOI: 10. 1146/annurev-immunol-020711-075005.
- [7] BI J, WANG X. Molecular regulation of NK cell maturation[J]. *Front Immunol*, 2020, 11:1945. DOI: 10. 3389/fimmu. 2020. 01945.
- [8] BAI L, VIENNE M, TANG L, *et al.* Liver type 1 innate lymphoid cells develop locally via an interferon- $\gamma$ -dependent loop[J]. *Science*, 2021, 371(6536):eaba4177. DOI: 10. 1126/science. aba4177.
- [9] STABILE H, FIONDA C, SANTONI A, *et al.* Impact of bone marrow-derived signals on NK cell development and functional maturation[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2018, 42:13-19. DOI:10. 1016/j. cytogfr. 2018. 03. 008.
- [10] KEE B L, MORMAN R E, SUN M. Transcriptional regulation of natural killer cell development and maturation[J]. *Adv Immunol*, 2020, 146:1-28. DOI:10. 1016/bs. ai. 2020. 01. 001.
- [11] YU X, WANG Y, DENG M, *et al.* The basic leucine zipper transcription factor NFIL3 directs the development of a common innate lymphoid cell precursor[J]. *Elife*, 2014, 3:e04406. DOI: 10. 7554/eLife. 04406.
- [12] YANG Q, LI F, HARLY C, *et al.* TCF-1 upregulation identifies early innate lymphoid progenitors in the bone marrow[J]. *Nat Immunol*, 2015, 16(10):1044-1050. DOI: 10. 1038/ni. 3248.

- [13] HARLY C, KENNEY D, REN G, *et al.* The transcription factor TCF-1 enforces commitment to the innate lymphoid cell lineage[J]. *Nat Immunol*, 2019, 20(9): 1150-1160. DOI: 10.1038/s41590-019-0445-7.
- [14] VIVIER E, ARTIS D, COLONNA M, *et al.* Innate lymphoid cells: 10 years on[J]. *Cell*, 2018, 174(5): 1054-1066. DOI: 10.1016/j.cell.2018.07.017.
- [15] KLOSE C S N, FLACH M, MÖHLE L, *et al.* Differentiation of type 1 ILCs from a common progenitor to all helper-like innate lymphoid cell lineages[J]. *Cell*, 2014, 157(2): 340-356. DOI: 10.1016/j.cell.2014.03.030.
- [16] CONSTANTINIDES M G, MCDONALD B D, VERHOEF P A, *et al.* A committed precursor to innate lymphoid cells[J]. *Nature*, 2014, 508(7496): 397-401. DOI: 10.1038/nature13047.
- [17] YU Y, TSANG J C, WANG C, *et al.* Single-cell RNA-seq identifies a PD-1<sup>hi</sup> ILC progenitor and defines its development pathway[J]. *Nature*, 2016, 539(7627): 102-106. DOI: 10.1038/nature20105.
- [18] WALKER J A, CLARK P A, CRISP A, *et al.* Polychromic reporter mice reveal unappreciated innate lymphoid cell progenitor heterogeneity and elusive ILC3 progenitors in bone marrow[J]. *Immunity*, 2019, 51(1): 104-118. e7. DOI: 10.1016/j.immuni.2019.05.002.
- [19] XU W, CHERRIER D E, CHEA S, *et al.* An Id2<sup>REP</sup>-reporter mouse redefines innate lymphoid cell precursor potentials[J]. *Immunity*, 2019, 50(4): 1054-1068. e3. DOI: 10.1016/j.immuni.2019.02.022.
- [20] RAMIREZ K, KEE B L. Multiple hats for natural killers[J]. *Curr Opin Immunol*, 2010, 22(2): 193-198. DOI: 10.1016/j.coi.2010.02.002.
- [21] ROSMARAKI E E, DOUAGI I, ROTH C, *et al.* Identification of committed NK cell progenitors in adult murine bone marrow[J]. *Eur J Immunol*, 2001, 31(6): 1900-1909. DOI: 10.1002/1521-4141(200106)31:6<1900::aid-immu1900>3.0.co;2-m.
- [22] NOZAD CHAROUDEH H, TANG Y, CHENG M, *et al.* Identification of an NK/T cell-restricted progenitor in adult bone marrow contributing to bone marrow- and thymic-dependent NK cells[J]. *Blood*, 2010, 116(2): 183-192. DOI: 10.1182/blood-2009-10-247130.
- [23] CAROTTA S, PANG S H, NUTT S L, *et al.* Identification of the earliest NK-cell precursor in the mouse BM[J]. *Blood*, 2011, 117(20): 5449-5452. DOI: 10.1182/blood-2010-11-318956.
- [24] FATHMAN J W, BHATTACHARYA D, INLAY M A, *et al.* Identification of the earliest natural killer cell-committed progenitor in murine bone marrow[J]. *Blood*, 2011, 118(20): 5439-5454. DOI: 10.1182/blood-2011-04-348912.
- [25] RAN G H, LIN Y Q, TIAN L, *et al.* Natural killer cell homing and trafficking in tissues and tumors: From biology to application[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 205. DOI: 10.1038/s41392-022-01058-z.
- [26] CHIOSSONE L, CHAIX J, FUSERI N, *et al.* Maturation of mouse NK cells is a 4-stage developmental program[J]. *Blood*, 2009, 113(22): 5488-5496. DOI: 10.1182/blood-2008-10-187179.
- [27] HUNTINGTON N D, TABARIAS H, FAIRFAX K, *et al.* NK cell maturation and peripheral homeostasis is associated with KLRG1 up-regulation[J]. *J Immunol*, 2007, 178(8): 4764-4770. DOI: 10.4049/jimmunol.178.8.4764.
- [28] ABEL A M, YANG C, THAKAR M S, *et al.* Natural killer cells: Development, maturation, and clinical utilization[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1869. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01869.
- [29] SCOVILLE S D, FREUD A G, CALIGIURI M A. Modeling human natural killer cell development in the era of innate lymphoid cells[J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 360. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00360.
- [30] RENOUX V M, ZRIWIL A, PEITZSCH C, *et al.* Identification of a human natural killer cell lineage-restricted progenitor in fetal and adult tissues[J]. *Immunity*, 2015, 43(2): 394-407. DOI: 10.1016/j.immuni.2015.07.011.
- [31] SCOVILLE S D, FREUD A G, CALIGIURI M A. Cellular pathways in the development of human and murine innate lymphoid cells[J]. *Curr Opin Immunol*, 2019, 56: 100-106. DOI: 10.1016/j.coi.2018.11.003.
- [32] DI VITO C, MIKULAK J, MAVILIO D. On the way to become a natural killer cell[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 1812. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01812.
- [33] FREUD A G, KELLER K A, SCOVILLE S D, *et al.* NKp80 defines a critical step during human natural killer cell development[J]. *Cell Rep*, 2016, 16(2): 379-391. DOI: 10.1016/j.celrep.2016.05.095.
- [34] CICHOCKI F, GRZYWACZ B, MILLER J S. Human NK cell development: One road or many?[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2078. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02078.
- [35] MALE V, NISOLI I, KOSTRZEWSKI T, *et al.* The transcription factor E4bp4/Nfil3 controls commitment to the NK lineage and directly regulates Eomes and Id2 expression[J]. *J Exp Med*, 2014, 211(4): 635-642. DOI: 10.1084/jem.20132398.
- [36] KAMIZONO S, DUNCAN G S, SEIDEL M G, *et al.* Nfil3/E4bp4 is required for the development and maturation of NK cells in vivo[J]. *J Exp Med*, 2009, 206(13): 2977-2986. DOI: 10.1084/jem.20092176.
- [37] GASCOYNE D M, LONG E, VEIGA-FERNANDES H, *et al.* The basic leucine zipper transcription factor E4BP4 is essential for natural killer cell development[J]. *Nat Immunol*, 2009, 10(10): 1118-1124. DOI: 10.1038/ni.1787.
- [38] FIRTH M A, MADERA S, BEAULIEU A M, *et al.* Nfil3-independent lineage maintenance and antiviral response of natural killer cells[J]. *J Exp Med*, 2013, 210(13): 2981-2990. DOI: 10.1084/jem.20130417.
- [39] SEILLET C, HUNTINGTON N D, GANGATIRKAR P, *et al.* Differential requirement for Nfil3 during NK cell development[J]. *J Immunol*, 2014, 192(6): 2667-2676. DOI: 10.4049/jimmunol.1302605.
- [40] CROTTA S, GKIOKA A, MALE V, *et al.* The transcription factor E4BP4 is not required for extramedullary pathways of NK cell development[J]. *J Immunol*, 2014, 192(6): 2677-2688. DOI: 10.4049/jimmunol.1302765.
- [41] TANG L, PENG H, ZHOU J, *et al.* Differential phenotypic and functional properties of liver-resident NK cells and mucosal ILC1s[J]. *J Autoimmun*, 2016, 67: 29-35. DOI: 10.1016/j.jaut.2015.09.004.
- [42] SEILLET C, RANKIN L C, GROOM J R, *et al.* Nfil3 is required for the development of all innate lymphoid cell subsets[J]. *J Exp Med*, 2014, 211(9): 1733-1740. DOI: 10.1084/jem.20140145.

- [43] LIU J, WANG Z, HAO S, *et al.* Tcf1 sustains the expression of multiple regulators in promoting early natural killer cell development[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 791220. DOI: 10.3389/fimmu.2021.791220.
- [44] HELD W, CLEVERS H, GROSSCHEDL R. Redundant functions of TCF-1 and LEF-1 during T and NK cell development, but unique role of TCF-1 for Ly49 NK cell receptor acquisition [J]. *Eur J Immunol*, 2003, 33 (5) : 1393-1398. DOI: 10.1002/eji.200323840.
- [45] JEEVAN-RAJ B, GEHRIG J, CHARMOY M, *et al.* The Transcription factor Tcf1 contributes to normal NK cell development and function by limiting the expression of granzymes [J]. *Cell Rep*, 2017, 20 (3) : 613-626. DOI: 10.1016/j.celrep.2017.06.071.
- [46] YANG Q, LI F, HARLY C, *et al.* TCF-1 upregulation identifies early innate lymphoid progenitors in the bone marrow [J]. *Nat Immunol*, 2015, 16 (10) : 1044-1050. DOI: 10.1038/ni.3248.
- [47] BARTON K, MUTHUSAMY N, FISCHER C, *et al.* The Ets-1 transcription factor is required for the development of natural killer cells in mice [J]. *Immunity*, 1998, 9(4) : 555-563. DOI: 10.1016/s1074-7613(00)80638-x.
- [48] RAMIREZ K, CHANDLER K J, SPAULDING C, *et al.* Gene deregulation and chronic activation in natural killer cells deficient in the transcription factor ETS1 [J]. *Immunity*, 2012, 36 (6) : 921-932. DOI: 10.1016/j.immuni.2012.04.006.
- [49] TAVEIRNE S, WAHLEN S, VAN LOOCKE W, *et al.* The transcription factor ETS1 is an important regulator of human NK cell development and terminal differentiation [J]. *Blood*, 2020, 136(3) : 288-298. DOI: 10.1182/blood.2020005204.
- [50] COLUCCI F, SAMSON S I, DEKOTER R P, *et al.* Differential requirement for the transcription factor PU. 1 in the generation of natural killer cells versus B and T cells [J]. *Blood*, 2001, 97(9) : 2625-2632. DOI: 10.1182/blood.v97.9.2625.
- [51] MARÇAIS A, CHERFILS-VICINI J, VIANT C, *et al.* The metabolic checkpoint kinase mTOR is essential for IL-15 signaling during the development and activation of NK cells [J]. *Nat Immunol*, 2014, 15(8) : 749-757. DOI: 10.1038/ni.2936.
- [52] WANG X, ZHAO X Y. Transcription factors associated with IL-15 cytokine signaling during NK cell development [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 610789. DOI: 10.3389/fimmu.2021.610789.
- [53] LIN J X, DU N, LI P, *et al.* Critical functions for STAT5 tetramers in the maturation and survival of natural killer cells [J]. *Nat Commun*, 2017, 8 (1) : 1320. DOI: 10.1038/s41467-017-01477-5.
- [54] ECKELHART E, WARSCH W, ZEBEDIN E, *et al.* A novel Ncr1-Cre mouse reveals the essential role of STAT5 for NK-cell survival and development [J]. *Blood*, 2011, 117(5) : 1565-1573. DOI: 10.1182/blood-2010-06-291633.
- [55] GOTTHARDT D, PUTZ E M, GRUNDSCHÖBER E, *et al.* STAT5 is a key regulator in NK cells and acts as a molecular switch from tumor surveillance to tumor promotion [J]. *Cancer Discov*, 2016, 6(4) : 414-429. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-15-0732.
- [56] SATHE P, DELCONTE R B, SOUZA-FONSECA-GUIMARAES F, *et al.* Innate immunodeficiency following genetic ablation of Mc1l in natural killer cells [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 4539. DOI: 10.1038/ncomms5539.
- [57] VILLARINO A V, SCIUMÈ G, DAVIS F P, *et al.* Subset- and tissue-defined STAT5 thresholds control homeostasis and function of innate lymphoid cells [J]. *J Exp Med*, 2017, 214 (10) : 2999-3014. DOI: 10.1084/jem.20150907.
- [58] VARGAS-HERNÁNDEZ A, WITALISZ-SIEPRACKA A, PRCHAL-MURPHY M, *et al.* Human signal transducer and activator of transcription 5b (STAT5b) mutation causes dysregulated human natural killer cell maturation and impaired lytic function [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2020, 145(1) : 345-357. e9. DOI: 10.1016/j.jaci.2019.09.016.
- [59] IMADA K, BLOOM E T, NAKAJIMA H, *et al.* Stat5b is essential for natural killer cell-mediated proliferation and cytolytic activity [J]. *J Exp Med*, 1998, 188 (11) : 2067-2074. DOI: 10.1084/jem.188.11.2067.
- [60] CHEHBOUN S, LEIVA-TORRES G A, CHARBONNEAU B, *et al.* A point mutation in the linker domain of mouse STAT5A is associated with impaired NK-cell regulation [J]. *Genes Immun*, 2020, 21(2) : 136-141. DOI: 10.1038/s41435-019-0088-6.
- [61] YOKOTA Y, MANSOURI A, MORI S, *et al.* Development of peripheral lymphoid organs and natural killer cells depends on the helix-loop-helix inhibitor Id2 [J]. *Nature*, 1999, 397(6721) : 702-706. DOI: 10.1038/17812.
- [62] BOOS M D, YOKOTA Y, EBERL G, *et al.* Mature natural killer cell and lymphoid tissue-inducing cell development requires Id2-mediated suppression of E protein activity [J]. *J Exp Med*, 2007, 204(5) : 1119-1130. DOI: 10.1084/jem.20061959.
- [63] DELCONTE R B, SHI W, SATHE P, *et al.* The helix-loop-helix protein ID2 governs NK cell fate by tuning their sensitivity to interleukin-15 [J]. *Immunity*, 2016, 44 (1) : 103-115. DOI: 10.1016/j.immuni.2015.12.007.
- [64] ZOOK E C, LI Z Y, XU Y, *et al.* Transcription factor ID2 prevents E proteins from enforcing a naïve T lymphocyte gene program during NK cell development [J]. *Sci Immunol*, 2018, 3 (22) : eaao2139. DOI: 10.1126/sciimmunol.aao2139.
- [65] LI Z Y, MORMAN R E, HEGERMILLER E, *et al.* The transcriptional repressor ID2 supports natural killer cell maturation by controlling TCF1 amplitude [J]. *J Exp Med*, 2021, 218 (6) : e20202032. DOI: 10.1084/jem.20202032.
- [66] SATOH-TAKAYAMA N, LESJEAN-POTTIER S, VIEIRA P, *et al.* IL-7 and IL-15 independently program the differentiation of intestinal CD3<sup>-</sup>NKp46<sup>+</sup> cell subsets from Id2-dependent precursors [J]. *J Exp Med*, 2010, 207(2) : 273-280. DOI: 10.1084/jem.20092029.
- [67] MORO K, YAMADA T, TANABE M, *et al.* Innate production of T<sub>H</sub>2 cytokines by adipose tissue-associated c-Kit<sup>+</sup>Sca-1<sup>+</sup> lymphoid cells [J]. *Nature*, 2010, 463(7280) : 540-544. DOI: 10.1038/nature08636.
- [68] HAN J, WAN M, MA Z, *et al.* The TOX subfamily: All-round players in the immune system [J]. *Clin Exp Immunol*, 2022, 208 (3) : 268-280. DOI: 10.1093/cei/uxac037.
- [69] ALIAHMAD P, DE LA TORRE B, KAYE J. Shared dependence on the DNA-binding factor TOX for the development of lymphoid tissue-inducer cell and NK cell lineages [J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(10) : 945-952. DOI: 10.1038/ni.1930.
- [70] YUN S, LEE S H, YOON S R, *et al.* TOX regulates the differentiation of human natural killer cells from hematopoietic stem

- cells in vitro[J]. *Immunol Lett*, 2011, 136(1): 29-36. DOI: 10.1016/j.imlet.2010.11.008.
- [71] VONG Q P, LEUNG W H, HOUSTON J, *et al.* TOX2 regulates human natural killer cell development by controlling T-BET expression[J]. *Blood*, 2014, 124(26): 3905-3913. DOI: 10.1182/blood-2014-06-582965.
- [72] LUO L, FENG P, YANG Q, *et al.* Transcription factor TOX maintains the expression of Mst1 in controlling the early mouse NK cell development[J]. *Theranostics*, 2023, 13(7): 2072-2087. DOI:10.7150/thno.81198.
- [73] LUU T T, SØNDERGAARD J N, PEÑA-PÉREZ L, *et al.* FOXO1 and FOXO3 cooperatively regulate innate lymphoid cell development[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 854312. DOI: 10.3389/fimmu.2022.854312.
- [74] DENG Y, KERDILES Y, CHU J, *et al.* Transcription factor Foxo1 is a negative regulator of natural killer cell maturation and function[J]. *Immunity*, 2015, 42(3): 457-470. DOI: 10.1016/j.immuni.2015.02.006.
- [75] HUANG P, WANG F, YANG Y, *et al.* Hematopoietic-specific deletion of Foxo1 promotes NK cell specification and proliferation[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 1016. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01016.
- [76] WANG S, XIA P, HUANG G, *et al.* FoxO1-mediated autophagy is required for NK cell development and innate immunity[J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 11023. DOI: 10.1038/ncomms11023.
- [77] KONDO M, WEISSMAN I L, AKASHI K. Identification of clonogenic common lymphoid progenitors in mouse bone marrow[J]. *Cell*, 1997, 91(5): 661-672. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)80453-5
- [78] GORDON S M, CHAIX J, RUPP L J, *et al.* The transcription factors T-bet and Eomes control key checkpoints of natural killer cell maturation[J]. *Immunity*, 2012, 36(1): 55-67. DOI: 10.1016/j.immuni.2011.11.016.
- [79] PIKOVSKAYA O, CHAIX J, ROTHMAN N J, *et al.* Cutting edge: Eomesodermin is sufficient to direct type 1 innate lymphocyte development into the conventional NK lineage[J]. *J Immunol*, 2016, 196(4): 1449-1454. DOI: 10.4049/jimmunol.1502396.
- [80] WAGNER J A, WONG P, SCHAPPE T, *et al.* Stage-specific requirement for eomes in mature NK cell homeostasis and cytotoxicity[J]. *Cell Rep*, 2020, 31(9): 107720. DOI: 10.1016/j.celrep.2020.107720.
- [81] DAUSSY C, FAURE F, MAYOL K, *et al.* T-bet and Eomes instruct the development of two distinct natural killer cell lineages in the liver and in the bone marrow[J]. *J Exp Med*, 2014, 211(3): 563-577. DOI: 10.1084/jem.20131560.
- [82] ZHANG J, LE GRAS S, POUXVIELH K, *et al.* Sequential actions of EOMES and T-BET promote stepwise maturation of natural killer cells[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 5446. DOI: 10.1038/s41467-021-25758-2.
- [83] INTLEKOFER A M, TAKEMOTO N, WHERRY E J, *et al.* Effector and memory CD8<sup>+</sup>T cell fate coupled by T-bet and eomesodermin[J]. *Nat Immunol*, 2005, 6(12): 1236-1244. DOI: 10.1038/ni1268.
- [84] FANG D, CUI K, CAO Y, *et al.* Differential regulation of transcription factor T-bet induction during NK cell development and T helper-1 cell differentiation[J]. *Immunity*, 2022, 55(4): 639-655. e7. DOI: 10.1016/j.immuni.2022.03.005.
- [85] VAN HELDEN M J, GOOSSENS S, DAUSSY C, *et al.* Terminal NK cell maturation is controlled by concerted actions of T-bet and Zeb2 and is essential for melanoma rejection[J]. *J Exp Med*, 2015, 212(12): 2015-2025. DOI: 10.1084/jem.20150809.
- [86] KALLIES A, CAROTTA S, HUNTINGTON N D, *et al.* A role for Blimp1 in the transcriptional network controlling natural killer cell maturation[J]. *Blood*, 2011, 117(6): 1869-1879. DOI: 10.1182/blood-2010-08-303123.
- [87] YANG C, SIEBERT J R, BURNS R, *et al.* Single-cell transcriptome reveals the novel role of T-bet in suppressing the immature NK gene signature[J]. *Elife*, 2020, 9: e51339. DOI: 10.7554/eLife.51339.
- [88] JENNE C N, ENDERS A, RIVERA R, *et al.* T-bet-dependent SIP5 expression in NK cells promotes egress from lymph nodes and bone marrow[J]. *J Exp Med*, 2009, 206(11): 2469-2481. DOI: 10.1084/jem.20090525.
- [89] VAN HELDEN M J, GOOSSENS S, DAUSSY C, *et al.* Terminal NK cell maturation is controlled by concerted actions of T-bet and Zeb2 and is essential for melanoma rejection[J]. *J Exp Med*, 2015, 212(12): 2015-2025. DOI: 10.1084/jem.20150809.
- [90] EVANS T, REITMAN M, FELSENFELD G. An erythrocyte-specific DNA-binding factor recognizes a regulatory sequence common to all chicken globin genes[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1988, 85(16): 5976-5980. DOI: 10.1073/pnas.85.16.5976.
- [91] SAMSON S I, RICHARD O, TAVIAN M, *et al.* GATA-3 promotes maturation, IFN- $\gamma$  production, and liver-specific homing of NK cells[J]. *Immunity*, 2003, 19(5): 701-711. DOI: 10.1016/s1074-7613(03)00294-2.
- [92] YAGI R, ZHONG C, NORTHRUP D L, *et al.* The transcription factor GATA3 is critical for the development of all IL-7R $\alpha$ -expressing innate lymphoid cells[J]. *Immunity*, 2014, 40(3): 378-388. DOI: 10.1016/j.immuni.2014.01.012.
- [93] ALI A K, OH J S, VIVIER E, *et al.* NK cell-specific Gata3 ablation identifies the maturation program required for bone marrow exit and control of proliferation[J]. *J Immunol*, 2016, 196(4): 1753-1767. DOI: 10.4049/jimmunol.1501593.
- [94] LI S, BERN M D, MIAO B, *et al.* The transcription factor Bach2 negatively regulates murine natural killer cell maturation and function[J]. *Elife*, 2022, 11: e77294. DOI: 10.7554/eLife.77294.
- [95] IMIANOWSKI C J, WHITESIDE S K, LOZANO T, *et al.* BACH2 restricts NK cell maturation and function, limiting immunity to cancer metastasis[J]. *J Exp Med*, 2022, 219(12): e20211476. DOI: 10.1084/jem.20211476.
- [96] OHTEKI T, YOSHIDA H, MATSUYAMA T, *et al.* The transcription factor interferon regulatory factor 1 (IRF-1) is important during the maturation of natural killer 1.1<sup>+</sup>T cell receptor- $\alpha$ / $\beta$ <sup>+</sup> (NK1<sup>+</sup>T) cells, natural killer cells, and intestinal intraepithelial T cells[J]. *J Exp Med*, 1998, 187(6): 967-972. DOI: 10.1084/jem.187.6.967.
- [97] OGASAWARA K, HIDA S, AZIMI N, *et al.* Requirement for IRF-1 in the microenvironment supporting development of natural killer cells[J]. *Nature*, 1998, 391(6668): 700-703. DOI: 10.1038/35636.
- [98] LOHOFF M, DUNCAN G S, FERRICK D, *et al.* Deficiency in

- the transcription factor interferon regulatory factor (IRF) -2 leads to severely compromised development of natural killer and T helper type 1 cells [J]. *J Exp Med*, 2000, 192 (3) : 325-336. DOI: 10. 1084/jem. 192. 3. 325.
- [99] TAKI S, NAKAJIMA S, ICHIKAWA E, *et al.* IFN regulatory factor-2 deficiency revealed a novel checkpoint critical for the generation of peripheral NK cells [J]. *J Immunol*, 2005, 174 (10) : 6005-6012. DOI: 10. 4049/jimmunol. 174. 10. 6005.
- [100] LI M M, BOZZACCO L, HOFFMANN H H, *et al.* Interferon regulatory factor 2 protects mice from lethal viral neuroinvasion [J]. *J Exp Med*, 2016, 213 (13) : 2931-2947. DOI: 10. 1084/jem. 20160303.
- [101] PERSYN E, WAHLEN S, KIEKENS L, *et al.* IRF2 is required for development and functional maturation of human NK cells [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1038821. DOI: 10. 3389/fimmu. 2022. 1038821.
- [102] OKUBO Y, TOKUMARU S, YAMAMOTO Y, *et al.* Generation of a common innate lymphoid cell progenitor requires interferon regulatory factor 2 [J]. *Int Immunol*, 2019, 31 (8) : 489-498. DOI: 10. 1093/intimm/dxz019.
- [103] ADAMS N M, LAU C M, FAN X, *et al.* Transcription factor IRF8 orchestrates the adaptive natural killer cell response [J]. *Immunity*, 2018, 48 (6) : 1172-1182. e6. DOI: 10. 1016/j. immuni. 2018. 04. 018.
- [104] MACE E M, BIGLEY V, GUNESCH J T, *et al.* Biallelic mutations in IRF8 impair human NK cell maturation and function [J]. *J Clin Invest*, 2017, 127 (1) : 306-320. DOI: 10. 1172/JCI 86276.
- [105] LACORAZZA H D, MIYAZAKI Y, DI CRISTOFANO A, *et al.* The ETS protein MEF plays a critical role in perforin gene expression and the development of natural killer and NK-T cells [J]. *Immunity*, 2002, 17 (4) : 437-449. DOI: 10. 1016/s1074-7613(02)00422-3.
- [106] SALINAS S A, MACE E M, CONTE M I, *et al.* An ELF4 hypomorphic variant results in NK cell deficiency [J]. *JCI Insight*, 2022, 7(23) : e155481. DOI: 10. 1172/jci. insight. 155481.
- [107] TANG P M, ZHOU S, MENG X M, *et al.* Smad3 promotes cancer progression by inhibiting E4BP4-mediated NK cell development [J]. *Nat Commun*. 2017, 8: 14677. DOI: 10. 1038/ncomms14677.
- [108] WANG Q M, TANG P M, LIAN G Y, *et al.* Enhanced cancer immunotherapy with Smad3-silenced NK-92 cells [J]. *Cancer Immunol Res*, 2018, 6 (8) : 965-977. DOI: 10. 1158/2326-6066. CIR-17-0491.
- [109] WANG Y, CHU J, YI P, *et al.* SMAD4 promotes TGF- $\beta$ -independent NK cell homeostasis and maturation and antitumor immunity [J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(11) : 5123-5136. DOI: 10. 1172/JCI121227.
- [110] LEVANON D, NEGREANU V, LOTEM J, *et al.* Transcription factor Runx3 regulates interleukin-15-dependent natural killer cell activation [J]. *Mol Cell Biol*, 2014, 34 (6) : 1158-1169. DOI: 10. 1128/MCB. 01202-13.
- [111] OHNO S, SATO T, KOHU K, *et al.* Runx proteins are involved in regulation of CD122, Ly49 family and IFN- $\gamma$  expression during NK cell differentiation [J]. *Int Immunol*, 2008, 20 (1) : 71-79. DOI: 10. 1093/intimm/dxm120.
- [112] WAHLEN S, MATTHIJSSSENS F, VAN LOOCKE W, *et al.* The transcription factor RUNX2 drives the generation of human NK cells and promotes tissue residency [J]. *Elife*, 2022, 11: e80320. DOI: 10. 7554/eLife. 80320.
- [113] TAN S, GUO X, LI M, *et al.* Transcription factor Zfx2 restricts NK cell maturation and suppresses their antitumor immunity [J]. *J Exp Med*, 2021, 218(9) : e20210009. DOI: 10. 1084/jem. 20210009.
- [114] SCHNOEGL D, HOCHGERNER M, GOTTHARDT D, *et al.* Fra-2 is a dominant negative regulator of natural killer cell development [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 909270. DOI: 10. 3389/fimmu. 2022. 909270.
- [115] BOGGS S S, TREVISAN M, PATRENE K, *et al.* Lack of natural killer cell precursors in fetal liver of Ikaros knockout mutant mice [J]. *Nat Immun*, 1998, 16 (4) : 137-145. DOI: 10. 1159/000069438.
- [116] HOLMES M L, HUNTINGTON N D, THONG R P, *et al.* Peripheral natural killer cell maturation depends on the transcription factor Aiolos [J]. *EMBO J*, 2014, 33 (22) : 2721-2734. DOI: 10. 15252/embj. 201487900.
- [117] XU X, ZHOU Y, FU B, *et al.* PBX1 promotes development of natural killer cells by binding directly to the Nfil3 promoter [J]. *FASEB J*, 2020, 34 (5) : 6479-6492. DOI: 10. 1096/fj. 202000121R.
- [118] TESTONI M, CHUNG E Y, PRIEBE V, *et al.* The transcription factor ETS1 in lymphomas: Friend or foe? [J]. *Leuk Lymphoma*, 2015, 56 (7) : 1975-1980. DOI: 10. 3109/10428194. 2014. 981670.
- [119] SHIMASAKI N, JAIN A, CAMPANA D. NK cells for cancer immunotherapy [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19 (3) : 200-218. DOI: 10. 1038/s41573-019-0052-1.

[收稿 2023-11-30 修回 2023-12-13]

(编辑 周文瑜)