

• 综述 •

## 自然杀伤 T 细胞抗感染作用的研究进展

林娜, 刘勇

蚌埠医学院微生物学教研室, 安徽省感染与免疫重点实验室, 蚌埠 233030

**摘要:** 自然杀伤 T 细胞(NKT 细胞)是一类与自然杀伤细胞具有共同表面标记的 T 细胞,可识别由 CD1d 呈递的糖脂类抗原。活化后的 NKT 细胞通过分泌多种细胞因子和趋化因子,增强树突细胞(DC)、T 细胞、B 细胞等多种免疫细胞的功能,在非特异与特异性免疫之间起桥梁作用。近年来研究发现,NKT 细胞不仅在抗细菌感染中发挥重要作用,在抗病毒及抗寄生虫感染中也发挥一定作用。

**关键词:** 自然杀伤 T 细胞;CD1d;抗感染免疫

## Research progress on natural killer T cells in anti-infection immunity

LIN Na, LIU Yong

*Department of Microbiology and Parasitology, Anhui Key Laboratory of Infection and Immunity, Bengbu Medical College, Bengbu 233030, China*

**Abstract:** Natural killer T (NKT) cells are a population of T cells that share some characteristics with natural killer (NK) cells, which can recognize glycolipids presented by CD1d molecules expressed on antigen-presenting cells through cell recognition pathway. Activated NKT cells modulate the activity of other cells including B and T cells, NK cells, granulocytes, and dendritic cells through secreting a vast array of cytokines and chemokines. NKT cells also play an important role in linking innate and adaptive immune responses. Studies have shown that NKT cells not only play an important role in anti-bacteria, but also in anti-virus and anti-parasite infection.

**Key words:** Natural killer T cell; CD1d; Anti-infection immunity

20 世纪 80 年代中后期,有研究发现在胸腺、骨髓和脾脏中存在一类既能表达 T 细胞表面标记——T 细胞受体(T cell receptor, TCR),又能表达自然杀伤细胞(natural killer, NK 细胞)表面标记(在人类为 CD161,在 C57BL/6 小鼠为 NK1.1,在其他品系小鼠为 DX5)的细胞。这类细胞被称为自然杀伤 T 细胞(natural killer T cell, NKT 细胞)<sup>[1]</sup>。NKT 细胞在 T 细胞存在的器官、组织中都可检测到,但其在不同器官、组织中所占成熟 T 细胞的比

例不同。在小鼠肝脏中 NKT 细胞比例为 30%~50%,在骨髓为 20%~30%,在胸腺中为成熟人血清白蛋白阴性 T 细胞的 10%~20%(占总胸腺细胞数的 0.3%~0.5%);在其他器官中也有少量存在,脾脏中占 3%,淋巴结中占 0.3%,外周血中占 4%,肺中占 7%<sup>[2]</sup>。有关 NKT 细胞功能的研究较多,本文就近年来有关 NKT 细胞在抗感染中作用的研究进展作一综述。

通信作者:刘勇

Corresponding author: LIU Yong, E-mail: liuyong960421@sohu.com

## 1 NKT 细胞的表面标记

### 1.1 NKT 细胞表达的 NK 细胞表面标记

NKT 细胞表面能表达 NK 细胞的多种标记,重要的标记有两类<sup>[3]</sup>。①活化性受体:主要是 NK 细胞受体蛋白 1(natural killer cell receptor protein 1, NKR-P1),在人类为 NKR-P1A,在小鼠则为 NKR-P1C。它们对寡糖有高亲和力,能与靶细胞上糖类配体结合,激活 NKT 细胞,并使其分泌细胞因子。②抑制性受体:1997 年 Davodeau 等用单克隆抗体确证了人类  $V\alpha 24^+ V\beta 11^+$  NKT 细胞可表达杀伤细胞免疫球蛋白样受体 2D(killer cell immunoglobulin-like receptor 2D, KIR2D)和 KIR3D,以及杀伤细胞凝集素样受体(killer cell lectin-like receptor, KLR) CD94/NKG2。小鼠 NKT 细胞表达的抑制性受体为 Ly49A 和 Ly49C。

### 1.2 NKT 细胞表达的 T 细胞表面标记

NKT 细胞表面表达的 T 细胞标记有两类。①TCR:大多数 NKT 细胞的 TCR 为  $\alpha\beta$ TCR,少数为  $\gamma\delta$ TCR。②CD4 及 CD8:大多数 NKT 细胞为  $CD4^- CD8^-$  双阴性 NKT 细胞(DNKT),其次为  $CD4^+$  NKT 细胞,少数为  $CD8^+$  NKT 细胞。

## 2 NKT 细胞的分群

根据其表达 TCR 的恒定与否,NKT 细胞分为 3 个亚群<sup>[4]</sup>: I 型 NKT 细胞,即恒定型 NKT 细胞(invariant NKT, iNKT)亚群,表达恒定的 TCR 受体 $[\alpha$  链:小鼠  $V\alpha 14-J\alpha 18$ (以前称  $V\alpha 14-J\alpha 281$ <sup>[1]</sup>),人  $V\alpha 24-J\alpha 18$ ( $V\alpha 24-J\alpha Q$ TCR<sup>[1]</sup>); $\beta$  链:小鼠  $V\beta 8, 2, V\beta 7$  或  $V\beta 2$ ,人  $V\beta 11$ ]。可结合 CD1d 分子所呈递的  $\alpha$ -半乳糖神经酰胺( $\alpha$ -galactosylceramide,  $\alpha$ -GalCer)类脂类抗原。II 型 NKT 细胞,也是 CD1d 依赖的 NKT 细胞亚群,但含有不同的非  $V\alpha 14$  TCR 亚基,可识别 CD1d 呈递的异于  $\alpha$ -GalCer 的配体及肝细胞的乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)表面抗原<sup>[5]</sup>。III 型 NKT 细胞,是 CD1d 不依赖的 NKT 细胞亚群,含有不同的 TCR 重排亚基,也称 NKT 样细胞,该细胞群体具有异质性,其 CD8 大部分为阳性。

## 3 NKT 细胞的功能

有研究表明,NKT 细胞可表达独立的 II 类主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC),但需 MHC I 类样分子(MHC

class I like molecule)CD1d 的参与。CD1d 是进化相对保守的  $\beta 2$  微球蛋白( $\beta 2$ -microglobulin,  $\beta 2$ -M)的相关蛋白<sup>[6]</sup>,在造血细胞来源的细胞中广泛表达<sup>[7]</sup>,如单核细胞、树突细胞(dendritic cell, DC)、B 细胞和 T 细胞;在非造血器官的组织细胞中也有表达,如胸腺上皮细胞、角质细胞和肝细胞。CD1d 可结合脂类抗原,如  $\alpha$ -GalCer。 $\alpha$ -GalCer 是一种由亲水性的糖部分与疏水性的酰基鞘胺醇部分通过  $\alpha$  链连接形成的糖脂,相对分子质量仅为 8 000 左右。在 CD1d 的介导下,极微量的  $\alpha$ -GalCer 能使 NKT 细胞大量增殖并活化<sup>[8]</sup>。活化后的 NKT 细胞迅速产生大量 Th1 型 $[\gamma$  干扰素(interferon  $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )、肿瘤坏死因子  $\alpha$ (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、Th2 型 $[\alpha$  白细胞介素 4(interleukin 4, IL-4)、IL-10]及 Th17 型(IL-17、IL-22)细胞因子。因此,NKT 细胞尽管在人体中的数量很少,但其在抗感染、抗肿瘤、抑制移植排斥反应、调节多种自身免疫性疾病和炎症性疾病中起重要作用<sup>[5]</sup>。

NKT 细胞的一个活化标志是分泌大量的细胞因子和趋化因子,包括 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、转化生长因子  $\beta$ (transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ )、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13、IL-17、IL-21、调节活化正常 T 细胞表达和分泌因子(regulated on activation, normal T cell expressed and secreted, RANTES)、嗜酸性粒细胞趋化因子(eosinophil chemotactic factor, Eotaxin)、巨噬细胞炎性蛋白 1 $\alpha$ (macrophage inflammatory protein 1 $\alpha$ , MIP-1 $\alpha$ )、MIP-1 $\beta$  等<sup>[9]</sup>。 $CD4^+$  iNKT 细胞可分泌 Th1 和 Th2 型细胞因子,而  $CD4^-$  iNKT 细胞只分泌 Th1 型细胞因子<sup>[10]</sup>。其他 iNKT 细胞可通过颗粒酶/穿孔素及 Fas/FasL 介导的细胞毒效应发挥免疫作用<sup>[9]</sup>。此外,NKT 细胞还具有调节和活化其他免疫细胞(如 NK 细胞、T 细胞、调节性 T 细胞及 B 细胞)的作用<sup>[11]</sup>。在人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染后可活化人 NKT 细胞,并使其分泌 IFN- $\gamma$ ,诱导 DC 活化和成熟;同时,成熟的 DC 分泌 IL-12,进一步诱导 iNKT 细胞产生 IFN- $\gamma$  和 IL-2,形成正反馈。IFN- $\gamma$ 、IL-2 及成熟 DC 来源的 IL-12 可活化 NK 细胞和巨噬细胞。iNKT 细胞活化后可表达 CD40L,活化的 iNKT 与可溶性 T 细胞抗原结合后,通过与抗原特异性的  $CD4^+$  和  $CD8^+$  T 细胞表面的 CD40 分子结

合,增强 T 细胞发挥的免疫作用<sup>[12]</sup>。Galli 等研究发现,在小鼠体内, $\alpha$ -GalCer 活化的 iNKT 细胞可促使 B 细胞分泌更多的 IgG,并能活化更多的记忆 B 细胞<sup>[13]</sup>。

NKT 细胞功能的可塑性及其激活和调节其他免疫细胞的功能,表明其在抗病原体感染免疫中发挥重要作用。

## 4 NKT 细胞的抗感染作用

### 4.1 NKT 细胞在抗细菌感染免疫中的作用

3 类 NKT 细胞中,Ⅰ型和Ⅱ型是 CD1d 依赖性 NKT 细胞,Ⅲ型为 CD1d 非依赖性 NKT 细胞。Ⅰ型和Ⅱ型 NKT 细胞在抗分枝杆菌感染免疫中发挥重要作用。NKT 细胞通过 CD1d 可直接识别结核分枝杆菌的磷脂酰肌醇和鞘氨醇,从而被活化<sup>[14]</sup>,活化的 NKT 细胞分泌 IFN- $\gamma$ 。IFN- $\gamma$  是抗结核分枝杆菌感染中的一个重要细胞因子,可促进 Th1 细胞成熟和活化巨噬细胞,活化的巨噬细胞可吞噬结核分枝杆菌。同时,结核分枝杆菌可与一些细胞因子如 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  共同作用,使巨噬细胞表面 CD1d 表达上调<sup>[15]</sup>,让更多 NKT 细胞活化,形成正反馈,更有效地发挥免疫作用。

Fischer 等研究发现,在产单核细胞李斯特菌 (*Listeria monocytogenes*, LM) 感染早期 NKT 细胞就发挥免疫功能,感染后第 1 天 NKT 细胞 CD69 表达上调。而且,不论是体内感染还是体外刺激,LM 都可使 DC 和巨噬细胞表面的 CD1d 表达上调,活化更多的 CD1d 依赖性 NKT 细胞<sup>[14]</sup>。虽然在 LM 感染后 NKT 细胞可快速发生反应,但在感染 3 d 后,脾脏中分泌 IL-4、IFN- $\gamma$  的 iNKT 细胞数量明显减少,同时血清中 IL-4、IFN- $\gamma$  水平降低。Cho 等研究发现,NKT 细胞可对 LM 再感染迅速产生免疫反应,但在至少 1 个月内对抗原免疫无能<sup>[16]</sup>。

### 4.2 NKT 细胞在抗病毒感染免疫中的作用

Rout 等<sup>[17]</sup>研究发现,猕猴感染猴免疫缺陷病毒 (simian immunodeficiency virus, SIV) 后,体内 CD4<sup>+</sup> NKT 细胞选择性减少,但循环系统中的 CD4<sup>+</sup> 记忆 T 细胞活化增强。狒狒和猕猴感染 SIV 后 NKT 细胞功能有差异,或许可解释两者对 HIV 敏感性的不同。同时,具有抗感染作用的 NKT 细胞减少,可增加已感染 SIV 的猕猴再感染其他病原体的概率。

Sandberg 等研究发现,在 HIV-1 阳性个体内, iNKT 细胞比例明显减低,相对于 CD4<sup>+</sup> iNKT 细

胞,CD4<sup>+</sup> iNKT 细胞降低更明显。由于 CD4<sup>+</sup> iNKT 表达 CC 趋化因子受体 5 (CC chemokine receptor 5, CCR5) 和 CXC 趋化因子受体 4 (CXC chemokine receptor 4, CXCR4), 所以 CD4<sup>+</sup> iNKT 细胞容易感染 HIV-1 R5 株和 X4 株。在体外感染这 2 种病毒株时,CD4<sup>+</sup> iNKT 细胞耗尽得更早<sup>[18]</sup>。NKT 细胞功能研究显示,NKT 细胞的减少,特别是 CD4<sup>+</sup> iNKT 细胞的消耗,会引起 HIV-1 感染者细胞免疫功能和体液免疫功能减弱。在 HIV 阳性感染个体中,NKT 细胞缺乏可导致机体处于自身免疫或类似于自身免疫状态,同时也会降低 NKT 细胞介导的抗肿瘤作用,这样会增加艾滋病患者发生卡波西肉瘤和非霍奇金淋巴瘤的机会<sup>[19]</sup>。HIV 感染还可导致 NKT 细胞功能障碍<sup>[20]</sup>,进而增加患者发生其他疾病的机会。

小鼠肝脏中存在较多 NKT 细胞。小鼠模型已证实,活化的 NKT 细胞在介导病毒性和刀豆蛋白 A (concanavalin A, ConA) 性肝炎导致的肝脏病理损伤中起重要的促进作用<sup>[21]</sup>。HBV 转基因小鼠模型证实,表达 HBV 的肝细胞可产生内质网相关的内源性抗原脂质 (包括溶血脂质),后者可活化 NKT 细胞<sup>[22]</sup>。活化的 iNKT 细胞通过分泌 IFN- $\alpha/\beta/\gamma$  和活化 NK 细胞来抑制 HBV 增殖。在 HBV 表面抗原刺激后,由  $\alpha$ -GalCer 活化的 V $\alpha$ 14 iNKT 细胞可增强 CD8<sup>+</sup> T 细胞对 HBV 的特异性细胞毒效应<sup>[23]</sup>。

### 4.3 NKT 细胞与寄生虫

伯氏疟原虫是一种可引起小鼠疟疾的寄生虫,小鼠感染该疟原虫可引起肝脏损伤。Adachi 等<sup>[24]</sup>研究发现,这种肝脏损伤不是由病原体侵入宿主肝脏引起的,而是由感染小鼠肝脏中 CD1d 非限制性的 DX5<sup>+</sup> NKT 细胞通过细胞毒作用杀死正常肝细胞引起的。在其他疟原虫 (如约氏疟原虫) 感染模型中,肝脏中的 CD4<sup>+</sup> NKT 数量明显减少,但 CD4<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> NKT 细胞数量增加,直接抑制了病原体的增殖。同时,NKT 细胞还可活化 B 细胞,使其产生更多的抗体,从而发挥更强的免疫作用<sup>[22]</sup>。

## 5 结语

NKT 细胞是重要的免疫细胞,在特异性免疫与非特异性免疫之间起桥梁作用。病原体侵入机体后,NKT 细胞在感染早期就可发挥免疫作用,还可调节其他免疫细胞 (如 NK 细胞、B 细胞等) 的功能,从而抗感染。因此,深入研究 NKT 细胞在不同病

原体感染中的作用机制,对研究感染性疾病的发生、发展和转归具有重要意义。

### 参考文献

- [1] Yang JQ, Wen X, Liu H, Folayan G, Dong X, Zhou M, Van Kaer L, Singh RR. Examining the role of CD1d and natural killer T cells in the development of nephritis in a genetically susceptible lupus model [J]. *Arthritis Rheum*, 2007, 56(4): 1219-1233.
- [2] Godfrey DI, Hammond KJ, Poulton LD, Smyth MJ, Baxter AG. NKT cells: facts, functions and fallacies [J]. *Immunol Today*, 2000, 21(11): 573-583.
- [3] 张艳,魏海涛,陈元鼎. 自然杀伤 T 细胞的研究进展 [J]. *生物技术通报*, 2009, 增刊: 10-14.
- [4] Bendelac S, Savage PB, Teyton L. The biology of NKT cells [J]. *Annu Rev Immunol*, 2007, 25: 297-336.
- [5] 张建明,石统东. NKT 细胞在 HBV 感染中的作用 [J]. *免疫学杂志*, 2010, 26(9): 827-829.
- [6] Porcelli SA, Modlin RL. The CD1 system: antigen-presenting molecules for T cell recognition of lipids and glycolipids [J]. *Annu Rev Immunol*, 1999, 17: 297-329.
- [7] Brossay L, Jullien D, Cardell S, Sydora BC, Burdin N, Modlin RL, Kronenberg M. Mouse CD1 is mainly expressed on hemopoietic-derived cells [J]. *J Immunol*, 1997, 159(3): 1216-1224.
- [8] Kawano T, Cui J, Koezuka Y, Toura I, Kaneko Y, Motoki K, Ueno H, Nakagawa R, Sato H, Kondo E, Koseki H, Taniguchi M. CD1d-restricted and TCR-mediated activation of V $\alpha$ 14 NKT cells by glycosylceramides [J]. *Science*, 1997, 278(5343): 1626-1629.
- [9] Juno JA, Keynan Y, Fowke KR. Invariant NKT cells: regulation and function during viral infection [J]. *PLoS Pathog*, 2012, 8(8): e1002838.
- [10] Gumperz JE, Miyake S, Yamamura T, Brenner MB. Functionally distinct subsets of CD1d-restricted natural killer T cells revealed by CD1d tetramer staining [J]. *J Exp Med*, 2002, 195(5): 625-636.
- [11] Hua J, Liang S, Ma X, Webb TJ, Potter JP, Li Z. The interaction between regulatory T cells and NKT cells in the liver: a CD1d bridge links innate and adaptive immunity [J]. *PLoS One*, 2011, 6(11): e27038.
- [12] Hermans IF, Silk JD, Gileadi U, Salio M, Mathew B, Ritter G, Schmidt R, Harris AL, Old L, Cerundolo V. NKT cells enhance CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cell responses to soluble antigen in vivo through direct interaction with dendritic cells [J]. *J Immunol*, 2003, 171(10): 5140-5147.
- [13] Galli G, Pittoni P, Tonti E, Malzone C, Uematsu Y, Tortoli M, Maione D, Volpini G, Finco O, Nuti S, Tavarini S, Dellabona P, Rappuoli R, Casorati G, Abrignani S. Invariant NKT cells sustain specific B cell responses and memory [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(10): 3984-3989.
- [14] Fischer K, Scotet E, Niemeyer M, Koebernick H, Zerrahn J, Maillet S, Hurwitz R, Kursar M, Bonneville M, Kaufmann SH, Schaible UE. Mycobacterial phosphatidylinositol mannoside is a natural antigen for CD1d-restricted T cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(29): 10685-10690.
- [15] Raghuraman G, Geng Y, Wang CR. IFN-beta-mediated up-regulation of CD1d in bacteria-infected APCs [J]. *J Immunol*, 2006, 177(11): 7841-7848.
- [16] Choi HJ, Xu H, Geng Y, Colmone A, Cho H, Wang CR. Bacterial infection alters the kinetics and function of iNKT cell responses [J]. *J Leukoc Biol*, 2008, 84(6): 1462-1471.
- [17] Rout N, Greene J, Yue S, O'Connor D, Johnson RP, Else JG, Exley MA, Kaur A. Loss of effector and anti-inflammatory natural killer T lymphocyte function in pathogenic simian immunodeficiency virus infection [J]. *PLoS Pathog*, 2012, 8(9): e1002928.
- [18] Sandberg JK, Fast NM, Palacios EH, Fennelly G, Dobroszycki J, Palumbo P, Wiznia A, Grant RM, Bhardwaj N, Rosenberg MG, Nixon DF. Selective loss of innate CD4<sup>+</sup> V alpha 24 natural killer T cells in human immunodeficiency virus infection [J]. *J Virol*, 2002, 76(15): 7528-7534.
- [19] 黄孝军,侯炜. NKT 细胞和 HIV 感染 [J]. *武汉大学学报(医学版)*, 2009, 51(4): 556-560.
- [20] Vasan S, Poles MA, Horowitz A, Siladji EE, Markowitz M, Tsuji M. Function of NKT cells, potential anti-HIV effector cells, are improved by beginning HAART during acute HIV-1 infection [J]. *Int Immunol*, 2007, 19(8): 943-951.
- [21] Biburger M, Tiegs G. Alpha-galactosylceramide-induced liver injury in mice is mediated by TNF-alpha but independent of Kupffer cells [J]. *J Immunol*, 2005, 175(3): 1540-1550.
- [22] Zeissig S, Murata K, Sweet L, Publicover J, Hu Z, Kaser A, Bosse E, Iqbal J, Hussain MM, Balschun K, Röcken C, Arlt A, Günther R, Hampe J, Schreiber S, Baron JL, Moody DB, Liang TJ, Blumberg RS. Hepatitis B virus-induced lipid alterations contribute to natural killer T cell-dependent protective immunity [J]. *Nat Med*, 2012, 18(7): 1060-1068.
- [23] Kakimi K, Lane TE, Chisari FV, Guidotti LG. Cutting edge: Inhibition of hepatitis B virus replication by activated NK T cells does not require inflammatory cell recruitment to the liver [J]. *J Immunol*, 2001, 167(12): 6701-6705.
- [24] Adachi K, Tsutsui H, Seki E, Nakano H, Takeda K, Okumura K, Van Kaer L, Nakanishi K. Contribution of CD1d-unrestricted hepatic DX5<sup>+</sup> NKT cells to liver injury in *Plasmodium berghei*-parasitized erythrocyte-injected mice [J]. *Int Immunol*, 2004, 16(6): 787-798.

(收稿日期: 2013-09-26)