

NKT 细胞在 HIV 感染中的研究进展

马秀兰, 马建萍^{*}, 艾合买提·阿不都热依木, 张颖, 李静茹, 曾琳
(新疆医科大学附属中医医院, 新疆乌鲁木齐 830000)

NKT 细胞是一类独特的 T 细胞亚群, 新近研究发现在人类免疫缺陷病毒 (HIV) 感染过程中, NKT 细胞是靶细胞之一。本文就 NKT 细胞在 HIV 感染中的研究情况做一综述如下。

1 NKT 细胞

自然杀伤细胞 (Natural killer T cell, NKT) 是一群细胞表面既表达 T 细胞受体, 又表达 NK 细胞受体的 T 细胞亚群^[1], 具有 T 细胞和 NK 细胞两方面的性质^[2], 被认为是继 T 细胞、B 细胞、NK 细胞之外的第四类淋巴细胞^[3,4]。NKT 细胞是 T 细胞中一个独立的亚群, 数量稀少, 约占人外周血单核细胞的 0.01%~2%, 小鼠脾细胞的 1%~2%。

NKT 细胞在胸腺发育主要分为三个阶段, 初始阶段 NKT 细胞表现为 CD₄₄NK1.1(stage1), 此后, 随着 NKT 细胞的逐渐发育、成熟, CD₄₄ 表达增加, 表现为 CD₄₄⁺ NK1.1⁻(stage2), 成熟阶段的 NKT 细胞表达 NK1.1, 表现为 CD₄₄⁺ NK1.1⁺(stage3)^[5]。

NKT 细胞以 T 细胞受体 (TCR) 抗原特异性的方式产生应答, 根据 TCR 表达的恒定性, 可将 NKT 细胞分为 I 型、II 型和 III 型 NKT 细胞, II 型和 III 型 NKT 细胞缺乏恒定的 TCR, I 型 NKT 细胞由于 TCR 的 α 链恒定不变, 又称 invariant NKT 细胞 (iNKT 细胞), 是目前研究得最多和最深入的细胞类型, 通常所说的 NKT 细胞多指 I 型 NKT 细胞^[6,7]。

目前对 NKT 细胞的研究已深入到 microRNA 层面。在一项对 NKT 细胞发育、成熟的研究中发现, NKT 细胞发育、成熟过程中伴随大量特异 microRNAs 的不同表达变化, 认为特异 microRNA 能够调控 NKT 细胞的发育和功能^[8]。NKT 细胞发育、成熟过程中, 共有 92 个 microRNAs 表达发生显著变化。表达显著增加的 microRNAs 有 71 个, 其中有 36 个表达持续增加; 而表达显著降低的 microRNAs 有 21 个, 其中有 12 个表达持续降低。选取 Let-7f、miR-150、miR-155、miR-223、miR-24 和 miR-29 进行 real-time PCR, 发现 Let-7f、miR-150、miR-24、miR-29 在 NKT 细胞发育、成熟过程中表达增加, 而 miR-223 和 miR-155 表达降低, 其表达变化趋势与表达谱分析一致。

microRNA-150 缺失对小鼠 Treg 和 $\gamma\delta$ T 细胞的产生和发育不发挥明显作用, 但导致 NK 和胸腺 NKT 细胞数量显著降低, 而且, microRNA-150 缺失导致小鼠 NK 及 NKT 细胞中 CD₁₂₂ 的表达显著降低, 细胞发育受阻, 凋亡增加, 同时 NK 细胞的增殖能力也显著降低。microRNA-150 调控小鼠 NK 和 NKT 细胞的发育和自稳, CD₁₂₂ 可能在以上调控过程中发挥重要作用^[9]。

2 NKT 细胞的活化

NKT 细胞作为天然免疫和固有免疫之间的桥梁^[10-11], 具有 T 细胞受体表达的恒定性, 特异性识别类似 MHC I 分子的 CD1d 递呈的糖脂类抗原, 活化后迅速分泌大量细胞因子如 IL-4、IFN- γ 等, 直接或间接参与机体免疫应答^[12], 在感染性疾病、自身免疫疾病和肿瘤的发病及治疗中发挥重要作用^[13-19]。

NKT 细胞的活化有 2 条途径: 一方面通过 TCR 激活, NKT 细胞表面 TCR 识别抗原提呈细胞 (antigen presenting cell, APC) 表面 CD1d 分子提呈的糖脂抗原, 三者形成复合体激活 NKT

^{*}艾滋病脏腑虚损程度与疾病进展及 NKT 细胞的相关性研究 (NO: 2017D01C168), 新疆维吾尔自治区自然科学基金, 主持人: 马秀兰
通讯作者: 马建萍, 主任医师, 主要研究方向: 艾滋病的中医药防治研究, Tel: 0991-5812438,
E-mail: majianpingm@163.com

细胞,合成分泌大量Th1和Th2类细胞因子并诱导NK细胞增殖和细胞毒性,增强淋巴细胞活化信号的表达,调节先天性和获得性免疫应答;另一方面是通过细胞因子的活化作用,NKT细胞表面分子CD₂₈、CD_{40L}等与抗原提呈细胞树突状细胞(dendritic cell, DC)表面CD₈₀/CD₈₆、CD₄₀相互作用,激活DC分泌细胞因子IL-12、IL-18,并上调NKT细胞表面的L-12R、IL-18R。IL-12、IL-18为NKT细胞强有力的活化剂和扩增剂,IL-12促进NKT细胞合成和分泌大量Th1类细胞因子IFN- γ 等,而IL-18可以促进NKT细胞释放Th2类细胞因子,促进Th0细胞由Th1细胞向Th2细胞分化,维持机体免疫反应平衡^[20]。

活化的NKT细胞能够调节DC和NK细胞活性。当NKT细胞TCR识别DC表面CD1d递呈的抗原后,NKT细胞表面CD_{40L}上调,与DC的CD₄₀受体结合后促进DC活化。活化的DC既辅助Tc细胞的分化又分泌IL-12促进Th1分化。同时,在IL-12的作用下,NKT细胞分泌大量的IFN- γ ,进一步促进Th1的分化和NK细胞的活化。在各种效应细胞的协同作用下,机体才能有效抵抗外缘的感染,以及肿瘤的生成和转移。体外实验表明NKT细胞可以通过FasL或穿孔素/颗粒酶的方式介导靶细胞(如感染和肿瘤细胞)凋亡,但是体内NKT细胞是否具有确切的细胞毒性尚不清楚^[21]。

3 NKT细胞在HIV感染中的应用

HIV病毒本身并不会引发任何疾病,而是将人体免疫系统最重要的T淋巴细胞作为攻击目标,对其大量破坏,当人体免疫系统被HIV病毒破坏后,由于抵抗能力过低,丧失复制免疫细胞的机会,从而感染其他的疾病导致各种复合感染而死亡。T淋巴细胞表面的CD₄分子是HIV感染的天然受体,也是HIV攻击的最主要靶细胞,而且CD₄⁺T淋巴细胞在机体免疫系统中发挥着重要的中枢指挥作用,因此对CD₄⁺T淋巴细胞损伤的研究是最多的。HIV感染不仅造成外周血CD₄⁺T淋巴细胞数量的减少,而且导致其功能障碍,是HIV/AIDS的主要免疫病理改变之一^[22]。由于NKT细胞亚群表达CD₄同时高表达CCR5,所以NKT细胞是HIV-1感染的靶点。

在HIV感染初期,NKT细胞数量减少^[23,24],提示NKT细胞在HIV疾病进展过程中发挥的抑制HIV病毒复制和杀伤病毒感染细胞的作用减弱。同时增殖能力下降,而其活化及凋亡能力增加^[25],表明HIV感染者的NKT细胞功能受到了损害^[26]。而其增殖能力的降低也可能是其感染HIV后数量减少的原因之一。尽管HIV感染后NKT细胞数量减少了,但其仍能够发挥部分抗HIV感染作用,活化后分泌IFN- γ 对抗病毒感染,且NKT细胞活化程度与CD₄⁺T细胞数量成反比。另有研究表明,HIV感染后IFN- γ 的分泌、CD_{107a}分子的表达均降低,提示NKT细胞分泌细胞因子及细胞毒性功能均处于较强的免疫抑制状态,但其具体的作用机制尚不明确^[27]。

在对进行抗病毒治疗(HAART)的患者进行研究发现:HAART治疗前NKT细胞百分数明显低于健康对照组($P < 0.01$),而HAART治疗后NKT细胞百分数可以恢复到正常水平($P < 0.05$)^[28],说明对HIV感染者进行早期治疗是非常有必要的^[29],不仅可以延缓疾病进展,还有机会使得NKT细胞恢复到正常水平。

对NKT细胞及其表面NKG2A受体的研究发现,NKT细胞数量以及其表面的表达可作为HIV疾病进程的预测指标之一^[30]。NKT细胞的活化程度是决定HIV病毒调定点的原因,而不是NKT细胞的数量。NKG2A是抑制受体,表达增加会抑制细胞的功能。在病毒调定点低组,NKT样细胞所受抑制较少,对抗HIV感染的免疫调节能力较强,很好地抑制了HIV病毒的复制,是病毒调定点低组病毒载量较低的关键。而对HIV原发感染者体内NKT细胞与HIV感染相关性的分析中也显示,NKG2A+NKT细胞百分率与病毒载量呈显著正相关。进一步证明了NKT细胞的活化对HIV感染的抑制作用。

研究结果表明^[31],NKT细胞可以分泌TGF- β 和IL-10,且HIV感染者分泌TGF- β 水平较未感染者分泌的高。研究表明在HIV感染中NKT细胞不仅通过分泌IFN- γ 发挥着调节作

用,而且还通过分泌抑制性细胞因子 TGF- β 和 IL-10 发挥着免疫抑制作用。体外实验表明, rIL-10、 rTGF- β 对 NKT 细胞 CD_{107a}、 IFN- γ 的表达起到抑制作用,进一步阐明了 HIV 患者 NKT 细胞功能受损的机制。

4 前景及展望

近年来大量研究成果表明NKT细胞在HIV-1感染过程中可能起到重要的免疫调节作用。但是NKT细胞具有两种完全相反的双重细胞学作用,导致的双重免疫调节模式,这种调节机制的多样性及特殊性也是迄今研究的难点^[32]。同时目前对NKT细胞的认识还存在许多争议,尤其是对NKT细胞功能的认识还很局限,仍有许多问题有待解决,如NKT细胞的来源;表达不同共受体的NKT细胞、胸腺NKT细胞与外周NKT细胞功能的差别;NKT细胞对T细胞发育分化及免疫应答调节的具体方式以及调节自身免疫的具体方式等。对HIV感染者NKT细胞的深入研究,可以为疫苗研发、疾病进展监测等提供更有有力依据。

参考文献

- [1] Bendelac A, Savage PB, Teyton L. The biology of NKT cells[J]. *Annu Rev Immunol*, 2007, 25(1): 297-236.
- [2] Li XM. Peripheral blood invariant natural killer T cells of pigtailed macaques[J]. *PLoS One*, 2012, 7(10): e48166.
- [3] Shissler S C, Bollino D R, Tiper I V, et al. Immunotherapeutic strategies targeting natural killer T cell responses in cancer[J]. *Immunogenetics*, 2016, 68(8): 623-638.
- [4] Ahn S, Jeong D, Oh S J, et al. GM-CSF and IL-4 produced by NKT cells inversely regulate IL-1 β production by macrophages[J]. *Immunol Lett*, 2017, 182: 50-56.
- [5] Godfrey DI, Stankovic S, Baxter AG. Raising the NKT cell family[J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(3): 197-206.
- [6] Kumar V, Delovitch TL. Different subsets of natural killer T cells may vary in their roles in health and disease[J]. *Immunology*, 2014, 142(3): 321-336.
- [7] Macho Fernandez E, Brigl M. The extended family of CD1d-restricted NKT cells: sifting through a mixed bag of TCRs, antigens, and functions[J]. *Front Immunol*, 2015, 6: 362.
- [8] 王姗, 郑全辉, 田枫, 等. NKT 细胞发育过程中 microRNA 表达谱变化[J]. *中国免疫学杂志*, 2017, 33 (7) : 979-984.
- [9] 张爱红, 郑全辉, 郑建新, 等. MicroRNA-150 通过降低 CD122 的表达调控 NK 及 NKT 细胞的分化[J]. *中国免疫学杂志*, 2014, 30(8): 1009-1014.
- [10] Padte NN, Li X, Tsuji M, et al. Clinical development of a novel CD1d-binding NKT cell ligand as a vaccine adjuvant[J]. *Clin Immunol*, 2011, 140(2): 142-151.
- [11] Carvalho KI, Bruno FR, Snyder-Cappione JE, et al. Lower numbers of natural killer T cells in HIV1 and Mycobacterium leprae coinfecting patients[J]. *Immunology*, 2012, 136(1): 96-102.
- [12] Bojarska Junak A, Tabarkiewicz J, Rolinski J. NKT cells: their development, mechanisms and effects of action[J]. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*, 2013, 67: 65-78.
- [13] McEwen-Smith RM, Salio M, Cerundolo V. The regulatory role of invariant NKT cells in tumor immunity[J]. *Cancer Immunol Res*, 2015, 3(5): 425-435.
- [14] 陈旭菲, 梁逸仙, 林春明, 等. 原因不明性复发性流产孕妇外周血 NKT 亚型及血清 IFN- γ 、IL-4 表达变化[J]. *贵州医科大学学报*, 2017, 42(2): 223-225.
- [15] 韩冰, 王君利, 张丹丹, 等. T 细胞及 NKT 细胞在类风湿性关节炎相关性间质性肺病的表达[J]. *哈尔滨医科大学学报*, 2016, 50(6): 562-564.
- [16] 曹倩文, 田雨, 宋天姣, 等. 小鼠肺肿瘤发展过程中外周血 NKT 和 MDSC 细胞变化[J]. *中国免疫学杂志*, 2016, 32(9): 1272-1275.
- [17] 王阿梅, 王艳. 肺结核患者 T 辅助细胞 NKT 细胞水平与疾病发展的关系研究[J]. *安徽医学*, 2016, 37(9): 1118-1120.

- [18]吴韶飞,李曼,孙学华,等.NK 细胞和 NKT 细胞在慢性乙型肝炎中的表型和功能特征[J].细胞与分子免疫学杂志,2015,31(6):821-825.
- [19]柯岩.原发性干燥综合征患者躯体症状及外周血 NKT 细胞调节机制研究[D].北京协和医学院,2015.
- [20]Leite De Moraes MC, Hameg A, Pacilio M, et al. IL-18 enhances IL-4 production by ligand-activated NKT lymphocytes: a pro-Th2 effect of IL-18 exerted through NKT cells[J]. J Immunol, 2001, 166(2):945-951.
- [21]塔克·马克,玛丽·桑德斯著,吴玉章等译.免疫应答导论,科学出版社,北京,2012.
- [22]谢静,李太生. HIV 感染 CD4⁺T 淋巴细胞损伤机制. 中国病毒学杂志, 2011, 1(3):167-170.
- [23]Parasa VR, Selvaraj A, Sikhamani, et al. Interleukins 15 and 12 in combination expand the selective loss of natural killer T cells in HIV infection in vitro[J]. Clin Exp Med, 2015, 15(2):205-213.
- [24]Fernandez CS, Kelleher AD, Finlayson R, et al. NKT cell depletion in humans during early HIV infection[J]. Immunol Cell Biol, 2014, 92(7):578-590.
- [25]刘婷婷,赵雪,张子宁,等.未治疗 HIV 感染者 NKT 样细胞活化、凋亡和增殖的相关研究[J]. 中国免疫学杂志, 2016, 12:1797-1800.
- [26]Moll M, Kuylensstierna C, Gonzalez VD, et al. Severe functional impairment and elevated PD-1 expression in CD1d-restricted NKT cells retained during chronic HIV-1 infection[J]. Eur J Immunol, 2009, 39(3):902-911.
- [27]张剑,崔小健,李金程,等. HIV 原发感染者 NKT 细胞基线功能变化研究[J]. 中国实验诊断学, 2013, 17(12):2213-2214.
- [28]赵雪,刘婷婷,张子宁,等.抗病毒治疗后 HIV 感染者 NKT 样细胞衰老和体外增殖研究[J]. 中国免疫学杂志, 2016, 32 (9) :1354-1356.
- [29]Omi K, Shimizu M, Watanabe E, et al. Inhibition of R5tropic HIV type1 replication in CD4(+) natural killer T cells by gammadelta T lymphocytes[J]. Immunol, 2014, 141(4):596-608.
- [30]张剑,姜拥军,崔小健,等. HIV 原发感染者自然杀伤样 T 细胞 NKG2A/NKG2D 变化的研究[J]. 免疫学杂志, 2012, 28(6):519-522.
- [31]孙晓娟,杨梅,张子宁,等. HIV 感染者自然杀伤样 T 细胞分泌的 TGF- β 和 IL-10 水平[J]. 免疫学杂志, 2016, 32(11):961-965.
- [32]李娟. NK 细胞研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2015, 31(5):700-703.