肝脏特有NK细胞的发现、验证与功能

彭慧, 田志刚*

中国科学技术大学生命科学学院免疫学研究所, 合肥 230027

联系人, E-mail: tzg@ustc.edu.cn

收稿日期: 2016-09-15; 接受日期: 2016-10-30; 网络发表日期: 2017-01-19

国家重点基础研究发展计划(批准号: 2013CB944902)和国家自然科学基金(批准号: 81361120388, 81571522, 31300727, 91542114, 91442112)资助

摘要 自然杀伤(NK)细胞是固有免疫系统重要成员之一, 人们对于NK细胞的认知主要源于在体内广泛分布的经典NK细胞的研究. 肝脏作为天然免疫优势器官, 含有数量丰富且具异质性的NK细胞. 与经典NK相比, 肝脏特有NK细胞具有独特表型特征和肝组织驻留特性, 能介导接触性超敏反应, 发育过程受不同的转录因子调控. 该发现推动了对不同于经典NK细胞的、组织器官特异性NK细胞亚群的研究. 本文简要综述了肝脏特有NK细胞的研究背景、发现过程、发育分化以及功能特征.

关键词 肝脏特有NK细胞, 经典NK细胞, 组织驻留, 接触性超敏反应

自然杀伤(nature killer, NK)细胞是机体重要的免疫细胞, 也是固有淋巴细胞(innate lymphoid cell, ILC)家族的核心成员^[1]. NK细胞不仅具有强大的杀伤功能, 还能分泌多种细胞因子和趋化因子, 在抵抗病毒感染、清除肿瘤细胞、维持机体稳态平衡等过程中发挥重要作用^[2]. 然而, 过去对NK细胞的研究往往以小鼠(*Mus musculus*)脾脏和人类外周血NK细胞为研究对象; 近年来, 随着区域免疫体系研究的兴起和深入, 人们认识到NK细胞不是单一表型和功能的群体, 而是异质性的细胞群体; 肝脏作为天然免疫优势器官, 含有高比例的NK细胞, 肝脏NK细胞因其表型和功能特殊性而受到学界关注; 最近研究揭示, CD49a分子联合DX5将小鼠肝脏NK细胞划分成两个截然不同的细胞亚群: CD49a⁻DX5⁺ NK细胞亚群能随血液循环流动至全身各部位, 各方面特征与脾脏NK细胞相似, 即为经

典NK细胞; 另一群表型为CD49a⁺DX5⁻, 该亚群为肝脏特有NK细胞, 其表型、基因表达特征谱、功能以及发育分化方面与经典NK细胞均存在显著差异^[3]. 肝脏特有NK细胞的发现拉开了组织器官驻留NK细胞研究的序幕^[4,5].

1 NK细胞基本特征

20世纪70年代, Herberman等人^[6]和Kiessling等人^[7]分别报道了人和小鼠体内均存在一群无需致敏就可对肿瘤细胞直接杀伤的淋巴细胞, 即NK细胞. 由于这群细胞胞浆丰富, 内含较大的嗜天青颗粒, 故又被称为大颗粒淋巴细胞. NK细胞自发现以来就备受关注, 随着后续研究的不断深入, 人们对于NK细胞的表型、发育、功能及其在天然免疫中的地位有了

引用格式: 彭慧, 田志刚. 肝脏特有NK细胞的发现、验证与功能. 中国科学: 生命科学, 2017, 47: 43–51

Peng H, Tian Z G. Liver-specific natural killer cells: discovery, validation, and functions. Sci Sin Vitae, 2017, 47: 43–51, doi: [10.1360/N052016-00337](https://doi.org/10.1360/N052016-00337)

更全面的认识。

1.1 NK细胞的表型及发育分化

目前, 通常联合多个表面标志对人和小鼠的NK细胞进行鉴定。人类NK细胞主要通过CD56⁺CD3⁻表型来与其他免疫细胞区分, 根据CD56在细胞表面表达密度的不同, 人NK细胞可进一步划分成CD56^{bright}和CD56^{dim}两个亚群^[8]。而小鼠NK细胞不表达CD56同源物, 通常以NK1.1⁺CD3⁻表型来鉴定, 对于不表达NK1.1品系的小鼠, 则用CD49b(DX5)代替NK1.1进行检测; 近年来, 研究者发现NKp46在常用品系的各实验小鼠NK细胞上均特异性表达, 而NKT细胞几乎不表达NKp46^[9], 因此, 可通过单独标记NKp46对小鼠组织切片的NK细胞进行原位观察。

机体出生后, NK细胞发育分化的主要场所是骨髓。造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)是NK细胞产生的源头, HSC经由共同淋巴样前体细胞(common lymphoid progenitor, CLP)阶段发育形成NK前体细胞(NK cell precursor, NKP)^[10]。CD122是IL-2/IL-15受体β链, 也是NKP的重要标志, 使NKP获得对IL-15信号应答的能力, IL-15是NK细胞的发育成熟过程中起关键作用的细胞因子, 在骨髓中主要由骨髓基质细胞分泌。NKP获得NK1.1的表达后进入不成熟NK细胞阶段, 随后表达Ly49受体和DX5, 进入扩增阶段, 进一步上调表达CD11b, CD43, 增殖能力下降, 成为具有强大效应功能的成熟NK细胞^[11]。

1.2 NK细胞的识别和活化

NK细胞表面表达一系列抑制性受体和活化性受体, 这些受体是NK细胞识别靶细胞和发挥效应功能的物质基础^[12]。NK细胞通过表面受体与靶细胞上相应配体结合, 并进一步传递和整合信号, 抑制性信号与活化性信号之间的平衡决定了NK细胞的反应性。NK细胞抑制性受体胞外区能识别表达于自身组织细胞胞膜的MHC I类分子, 其胞浆区能介导抑制信号产生, 主要包括杀伤细胞免疫球蛋白样受体分子(killer-cell immunoglobulin-like receptor, KIR)和NKG2A等。杀伤活化受体(killer activation receptor, KAR)能广泛识别结合分布于自身组织细胞、病毒感染细胞和某些肿瘤细胞表面的糖类配体, 其胞浆区可转导活化信号, 使NK细胞活化产生杀伤作用。正常情况下, 组织细胞表

面自身MHC I类分子与NK细胞抑制性受体结合, 传递的抑制信号使正常细胞免受NK细胞攻击; 病理情况下, 如病毒感染、肿瘤发生时, 靶细胞表面MHC I类分子表达下调, 或活化性受体(如NKG2D)的配体分子MICA/B, Rae-1, H60, ULBP等表达上调, 此时NK细胞的活化性信号“战胜”抑制性信号, 使NK细胞活化从而杀伤靶细胞^[13]。

NK细胞的杀伤效应可通过以下机制来实现: (i) NK细胞释放穿孔素和颗粒酶使靶细胞凋亡, 该过程依赖于NK细胞识别受体与靶细胞的直接接触; (ii) 通过表达膜TNF家族分子(FasL, TRAIL, mTNF等), 与靶细胞表面相应配体结合导致靶细胞凋亡; (iii) 通过抗体依赖的细胞介导的细胞毒作用(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)杀伤靶细胞^[14]。

本研究组在过去创建小鼠急性肝炎模型过程中, 发现NK细胞的识别活化对疾病发生发展起到关键作用, 例如, HBV转基因小鼠对刀豆蛋白A(concanavalin A, Con A)诱导的肝损伤加重, 该过程依赖于NK细胞表面NKG2D与肝细胞的NKG2D配体相互作用^[15]; 在poly I:C联合D-半乳糖苷(D-galactosamine, D-GalN)注射引起的爆发性肝损伤模型中, NK细胞和枯否(Kupffer)细胞通过NKG2D和Rae-1的识别起到了促进损伤的作用^[16]; 通过构建NKG2D配体多靶点RNA干扰载体能有效抑制肝内NKG2D配体的表达, 从而减轻poly I:C/D-GalN或Con A诱导的急性肝脏损伤; 说明NK细胞识别机制的研究能为疾病干预提供潜在的分子靶点^[17]。

1.3 NK细胞的功能

NK细胞主要通过直接杀伤和分泌细胞因子来行使效应功能。基于其快速而强大的杀伤功能, NK细胞在疾病治疗尤其是肿瘤领域中的应用价值已逐渐显现, 过继转输NK细胞疗法或其他基于NK细胞的免疫治疗临床试验得以广泛开展^[18,19]。

近年来, NK细胞与其他免疫细胞间的相互作用关系及其机制也受到学界关注^[20]。以T细胞应答为例, NK细胞既能通过分泌IFN γ 促进CD4⁺T细胞向Th1极化^[21,22], 也可以通过分泌TNF和IFN γ 促进树突状细胞成熟, 从而间接影响后续T细胞应答^[23,24]; NK细胞还能通过直接杀伤T细胞来抑制适应性免疫应答, 例如, 在小鼠巨细胞病毒(mouse cytomegalovirus, MCMV)感

染模型中, 唾液腺NK细胞以TRAIL依赖的方式杀伤CD4⁺T细胞从而负调T细胞抗病毒免疫^[25].

此外, NK细胞还具有适应性免疫细胞的特征, 即能够介导免疫记忆反应. NK细胞的记忆特征最初是在接触性超敏反应(contact hypersensitivity, CHS)模型中被揭示^[26,27], 经半抗原致敏的肝脏NK细胞在相同抗原再次刺激时介导超敏反应, 但脾脏NK细胞在该模型中不具有记忆性; 在MCMV感染模型中, NK细胞的活化受体Ly49H识别MCMV病毒糖蛋白m157, Ly49H⁺ NK细胞在MCMV感染后经历扩增期、收缩期、记忆维持及记忆应答4个阶段, 与记忆性T细胞的动力学变化类似^[28]; 除上述模型外, NK细胞还能对细胞因子的再次刺激产生记忆反应, IL-12和IL-18联合预活化的NK细胞再次受到相同刺激可以产生更强烈的应答反应, 该过程不需要抗原参与, 揭示促炎性细胞因子能调控NK细胞的再次活化和应答^[29].

1.4 NK细胞组织分布

NK细胞广泛分布于全身各组织器官和循环系统, 尽管骨髓是NK细胞发育的主要场所, 但在不同组织局部, 如胸腺、肝脏、淋巴结、子宫等, 组织微环境的差异塑造出表型和功能多样的NK细胞亚群.

人外周血NK细胞约90%为CD56^{dim}亚群, 高表达

CD16、杀伤细胞免疫球蛋白样受体(killer immunoglobulin-like receptor, KIR), 低表达CD94/NKG2A, 以杀伤功能为主; 而人淋巴结和扁桃体中NK细胞以CD56^{bright}亚群为主, 高表达CD94/NKG2A, 低表达CD16, KIR, 缺乏穿孔素, 功能上以分泌IFN γ , TNF等细胞因子为主, 细胞毒活性较低^[10].

小鼠NK细胞可根据CD11b和CD27的表达情况划分成4个亚群: CD11b^{lo}CD27^{lo}, CD11b^{lo}CD27^{hi}, CD11b^{hi}CD27^{hi}和CD11b^{hi}CD27^{lo}, 这4个亚群正好处于NK细胞连续发育阶段的4个阶段^[30]. 这些NK细胞亚群不仅在表型、功能和发育阶段上显著不同, 其分布也具有组织差异性(图1). 骨髓和淋巴结NK细胞以CD11b^{lo}CD27^{hi}和CD11b^{hi}CD27^{hi}两群为主; 脾脏中占主导地位的是处于终末分化阶段的CD11b^{hi}CD27^{lo}亚群, 约占脾脏NK细胞的80%~90%; 肝脏中占主导地位的是处于终末分化阶段的CD11b^{hi}CD27^{lo}亚群, 约占脾脏NK细胞的80%~90%; CD11b^{lo}CD27^{lo}亚群主要分布于肝脏内, 在其他脏器NK细胞中占据的比例非常低^[31]. 近年来对胸腺NK细胞的研究发现, 它们表达IL-7R α 但不表达Ly49家族受体和CD16, 杀伤功能很弱但具有强大的IFN γ 分泌能力, 胸腺IL-7R α ⁺ NK细胞能够选择性迁移到淋巴结中^[32], 并可能在淋巴结中促进Th1反应. 总之, 这些独特的NK细胞亚群分布于不同组织器官中, 暗示它们在局部有着特殊的生物学使命.

图1 CD11b和CD27划分的NK细胞亚群的组织分布

2 肝脏特有NK细胞

2.1 天然免疫优势器官——肝脏

肝脏是一个特殊的天然免疫优势器官. 与其他组织器官不同, 肝脏具有独特的双重血液供应机制, 入肝血管包括门静脉和肝动脉, 门静脉供血量占到肝脏总血液的75%~80%, 且携带大量来自胃肠道的食物抗原、微生物代谢物、病毒、毒素等物质^[33], 门静脉和肝动脉的血液在肝窦中汇合, 肝窦是一个具有高度窗孔结构的低压血管系统, 内径狭窄, 血液在其间的流速缓慢, 使得血流中的外来淋巴细胞及抗原与肝脏居留的各种细胞之间能够充分接触^[34,35], 肝脏独具特色的血液供应和生理结构使得免疫系统需要精细调节才能维持肝脏及机体稳态, 肝脏的天然免疫细胞在该过程中发挥着重要作用; 肝脏天然免疫细胞的含量十分丰富, 包括NK、NKT和 $\gamma\delta$ T细胞在内的天然免疫淋巴细胞占到肝脏总淋巴细胞的60%以上, 此外, 肝脏驻留的巨噬细胞——枯否细胞占全身巨噬细胞约1/2, 提示肝脏的天然免疫特性^[36,37]. 尽管以往大量研究已证实肝脏各类天然免疫细胞在抵抗病原体入侵、连接适应性免疫应答中起重要作用, 然而目前对于肝脏免疫优势状态形成的机理尚不清楚.

2.2 肝脏NK细胞的早期研究

肝脏NK细胞的特殊性不仅体现在其比例远高于脾脏等外周脏器, 更表现在独特的表型和功能上. 在胚胎时期, 肝脏是重要的造血场所, 也是NK细胞的早期发源地, 这时期的肝脏NK细胞尽管表达NK1.1、NKp46等NK细胞特有标志, 但与成年阶段的脾脏NK细胞(即经典NK细胞)有显著差异^[38]. 胚胎和新生鼠肝脏NK细胞表面缺乏与NK细胞成熟有关的分子的表达, 如CD11b、Ly49受体、DX5和胞内的转录因子Eomes, 但是高表达效应分子TRAIL, 同时期的其他脏器如脾脏NK细胞也有类似特点; 然而随着年龄的增长, 这群NK细胞数量减少, 在脾脏中逐渐被表型和功能成熟的NK细胞所取代, 但肝脏的这群特殊NK细胞却保留下来, 即使进入成年阶段, 仍然有1/2左右的肝脏NK细胞为TRAIL⁺DX5⁻CD11b^{lo}的表型^[38]. 与小鼠情况类似, 人类肝脏NK细胞与外周血NK细胞相比也存在差异, 人肝脏NK细胞相对高表达CD56、CD69, 低

表达CD16、KIR, 对肿瘤细胞K562的杀伤能力弱于外周血NK细胞^[39], 提示小鼠和人的肝脏中都存在一群特殊的NK细胞亚群.

在功能方面, 过去对肝脏NK细胞的研究往往将其作为一个整体, 未将其分成不同亚群分别进行研究. 肝脏是多种病毒感染机体后进行复制的主要或者唯一场所, 大量已有研究表明肝脏NK细胞在抵御病毒感染肝脏中的重要作用. 急性病毒感染后, NK细胞在肝脏大量聚集, 肝脏NK细胞的数量和活化程度在短时间都显著性上升, 在发挥抗病毒感染的效应的同时也会加重肝脏局部的炎症反应^[40]. 例如, NK细胞在早期抗MCMV感染过程中是主要效应细胞, 能分泌IFN γ 来抵抗MCMV感染肝脏^[41]; 另一方面, MCMV感染引发严重的肝脏炎症, 在炎症病灶区伴随着大量NK细胞的浸润, 而清除NK细胞则能抑制炎症发生^[42]. 在嗜肝性病毒慢性感染过程中, 疾病的发生发展往往伴随着NK细胞抑制性分子表达上调、活化性分子表达下调及效应功能下降. 本研究组与魏海明研究组^[43]共同发现, HBV慢性感染患者NK细胞上抑制性受体NKG2A的表达显著高于正常人, 阻断NKG2A能提高HBV患者NK细胞的杀伤功能, 对HBV携带小鼠阻断NKG2A则能促进机体对HBV的清除; 另外, 还发现HBV持续感染患者体内NK细胞的活化性信号NKG2D/DAP10和2B4/SAP明显下调, 杀伤功能缺陷, 该过程依赖于患者体内大量存在的免疫抑制因子——TGF- β ^[44]. 总之, 不论急性或慢性病毒感染, NK细胞在抵抗病毒感染肝脏、维持肝脏及机体稳态方面均有重要作用.

此外, 肝脏NK细胞还能介导抗原特异性记忆应答^[45]. 2006年O'Leary等人^[26]利用半抗原诱发的接触性超敏反应模型发现, 缺乏T、B细胞的Rag-2缺陷小鼠或SCID小鼠仍能发生超敏反应, 而T、B、NK细胞均缺失的Rag2^{-/-} γ c^{-/-}小鼠则不能诱发超敏反应, 提示NK细胞介导对半抗原的记忆反应; 纯化半抗原致敏后的不同脏器NK细胞并转输给naïve小鼠, 发现只有肝脏来源的NK细胞在受者鼠遇到相同半抗原刺激时产生超敏反应, 进一步研究揭示肝脏NK细胞的记忆功能依赖于表面趋化因子受体CXCR6^[27]. 尽管目前对肝脏NK细胞在识别半抗原的机制方面仍不明了, 但肝脏NK细胞的这一特殊功能为后续肝脏特有NK细胞亚群的发现提供了重要线索.

2.3 肝脏特有NK细胞的发现

在前人的研究基础上, 本研究组对肝脏NK细胞群体进行了更深入更全面的解析^[3]. 首先, 通过流式检测进一步验证了成年小鼠肝脏存在高比例的DX5⁻ NK细胞, 而脾脏、骨髓等脏器中90%以上的NK细胞为DX5⁺阳性; 对不同脏器DX5⁻和DX5⁺ NK细胞表型分析发现, 肝脏中的DX5⁻ NK细胞与其他脏器少量存在的DX5⁻ NK相比, 表型上有一定差异, 而肝脏与脾脏DX5⁺ NK在表型上没有明显区别, 提示过去报道的肝脏NK细胞表型特殊性主要归因于肝脏中DX5⁻ NK细胞的存在; 全基因组芯片分析发现, 肝脏DX5⁻和DX5⁺ NK细胞在基因表达谱方面存在广泛差异, 差异表达的基因包括活化性/抑制性受体、细胞因子及受体、趋化因子及受体、黏附分子、杀伤功能效应分子和转录因子等, 其中编码整合素CD49a的*Itga1*基因在DX5⁻ NK细胞上的表达丰度比DX5⁺ NK细胞上的高出20多倍, 在蛋白表达水平上, CD49a也仅在肝脏的DX5⁻ NK细胞上高表达, 而在肝脏DX5⁺ NK细胞和脾脏NK细胞上几乎不表达, 因此CD49a可以作为肝脏特有DX5⁻ NK细胞的特异性标志.

肝脏特有CD49a⁺DX5⁻ NK细胞具有组织驻留特性: 对肝脏各部位的血液进行收集检测, 发现CD49a⁺DX5⁻ NK细胞在进出肝脏的血液中均不存在, 但存在于肝窦血中; 对CD45.1和CD45.2小鼠进行连体手术, 使两

者的血液循环联通, 发现CD49a⁺DX5⁺经典NK细胞能够在两者间循环流动, 而CD49a⁺DX5⁻ NK细胞不参与血液循环^[3,46]; 肝脏DX5⁻ NK细胞在过继转输后会选择性驻留于受者鼠肝脏, 且维持原有CD49a⁺DX5⁻的表型, 而DX5⁺ NK细胞在转输后则广泛迁移至受者鼠各脏器中^[3,4]. 因此, 肝脏特有CD49a⁺DX5⁻ NK细胞也被称为肝脏驻留NK细胞, CD49a⁻DX5⁺ NK细胞则被称为经典NK细胞(图2).

由于接触性超敏反应模型中的记忆性NK细胞驻留于肝脏且依赖于CXCR6, 肝脏特有NK细胞恰好高表达CXCR6, 提示肝脏特有的NK细胞具有记忆潜能. 通过分别纯化半抗原致敏小鼠的肝脏特有NK细胞和经典NK细胞亚群, 并转输至正常小鼠, 1个月后对受者鼠的耳部进行半抗原免疫, 发现只有转输了肝脏特有NK细胞的受者鼠能产生明显的肿胀, 因而证实了肝脏特有NK细胞能够介导抗原特异性记忆反应, 进一步体现出其独特性^[3].

肝脏特有NK细胞的发现引发免疫学界关注, 研究者开始探寻其他脏器是否存在组织驻留NK细胞. 最新研究发现, CD49a⁺DX5⁻ NK细胞也存在于肝脏以外的其他特殊部位, 如子宫、皮肤、肠道、脂肪、肾脏, 而且这些部位的CD49a⁺DX5⁻ NK细胞也同样具有组织驻留特性^[4,46-49]. 尽管与经典NK细胞相比, 不同部位的组织驻留NK细胞之间的表型和功能更相似, 但它们之间也存在差异. 以肠道固有层组织驻留NK细

图2 肝脏NK细胞亚群的基本特性

肝脏NK细胞由经典NK细胞(cNK)和组织驻留NK细胞(trNK, 即肝脏特有NK细胞)组成

胞(也称为ILC1)为例,其杀伤功能明显弱于肝脏特有NK细胞^[50];子宫CD49a⁺DX5⁻ NK细胞与肝脏特有NK细胞在发育方面受不同的转录因子调控^[4],提示两者有着不同的发育分化路径。

2.4 肝脏特有NK细胞的转录调控

近两年围绕肝脏特有NK细胞发育分化过程中的转录调控取得了一系列重要进展。目前,已有文献报道转录因子NFIL3, Eomes, T-bet和PLZF在肝脏特有NK细胞和经典NK细胞发育分化过程中发挥不同作用:(i) NFIL3缺陷导致经典NK细胞几乎全部缺失,而肝脏特有NK细胞仍有少量残留,说明NFIL3对肝脏特有NK细胞的影响不及经典NK细胞显著,即存在NFIL3非依赖的肝脏特有NK细胞^[4,50];最近研究发现,NFIL3能直接结合到转录因子Eomes和Id2上,并促进其表达,从而调控NK细胞发育^[51];(ii) Eomes在肝脏特有NK细胞和肠道ILC1上低表达,但高表达于经典NK细胞,Eomes缺失仅影响经典NK细胞发育,对肝脏特有NK细胞和肠道ILC1无影响^[47,52];(iii) T-bet在NK细胞亚群上均高表达,但T-bet^{-/-}小鼠缺乏肝脏特有NK细胞以及肠道ILC1,而经典NK细胞所受影响较小;利用NKp46⁺细胞条件性缺失T-bet的小鼠模型发现,该小鼠肝脏特有NK细胞数量与野生型小鼠相比无明显变化,说明T-bet对肝脏特有NK细胞发育的早期阶段起作用^[4,53];(iv) Id2⁺或PLZF⁺造血前体细胞能发育成肝脏特有NK细胞及其他ILC群体,但不能分化成经典NK细胞^[47,54];此外,Hobit和AhR也选择性对肝脏特有NK细胞的发育起作用^[55,56]。以上研究提示肝脏特有NK细胞和经典NK细胞有着独立的发育分化路径。

3 总结与展望

NK细胞的研究已有40年历史,围绕NK细胞的表型、功能、识别和发育等领域取得了一系列重要进展,然而已有的理论和假说主要源自对小鼠脾脏NK细胞和人类外周血NK细胞的研究。直到近10年来,人们才逐渐意识到NK细胞的异质性与组织分布密切相关。随着肝脏免疫学研究的深入,肝脏NK细胞的基本特性和功能受到关注,本研究组近年来发现肝脏存在两种截然不同的NK细胞亚群,即肝脏特有NK细胞和经典NK细胞。肝脏特有NK细胞具有组织驻留特性,在接触性超敏反应中具有记忆潜能,其基因表达谱与经典NK细胞相比有显著差异,且具有独立的发育分化路径,肝脏特有NK细胞的发现极大地推动了NK细胞的组织区域特性研究,机体其他组织如子宫、皮肤、肾脏和唾液腺中的组织驻留NK细胞亚群相继被揭示。

尽管肝脏NK细胞研究领域已取得突破性进展,然而新发现的肝脏特有NK细胞亚群的研究仍处于起步阶段,存在许多悬而未决的科学问题。尽管目前对于肝脏特有NK细胞的内源调控因素已初见端倪,但外源性因素即组织微环境对肝脏特有NK细胞的影响却尚无报道。例如,肝脏特有NK细胞的组织驻留特性所依赖的微环境因素和分子机制是什么?成年机体肝脏特有NK细胞是否起源于骨髓?抑或由肝内造血前体细胞发育而来?肝脏特有NK细胞肝脏炎症疾病和免疫耐受中发挥什么作用?与经典NK细胞是否存在功能分工?上述问题的解决不仅可以使人们深入了解肝脏NK细胞亚群,也为其他脏器NK细胞亚群研究提供重要借鉴,为肝脏乃至全身相关疾病的治疗和肝脏免疫学提供新线索。

参考文献

- 1 Serafini N, Voshchenrich C A J, Di Santo J P. Transcriptional regulation of innate lymphoid cell fate. *Nat Rev Immunol*, 2015, 15: 415–428
- 2 Spits H, Bernink J H, Lanier L. NK cells and type 1 innate lymphoid cells: partners in host defense. *Nat Immunol*, 2016, 17: 758–764
- 3 Peng H, Jiang X, Chen Y, et al. Liver-resident NK cells confer adaptive immunity in skin-contact inflammation. *J Clin Invest*, 2013, 123: 1444–1456
- 4 Sojka D K, Plougastel-Douglas B, Yang L, et al. Tissue-resident natural killer (NK) cells are cell lineages distinct from thymic and conventional splenic NK cells. *eLife*, 2014, 3: e01659
- 5 Erick T K, Brossay L. Phenotype and functions of conventional and non-conventional NK cells. *Curr Opin Immunol*, 2016, 38: 67–74
- 6 Herberman R B, Nunn M E, Lavrin D H. Natural cytotoxic reactivity of mouse lymphoid cells against syngeneic and allogeneic tumors. I. Distribution of reactivity and specificity. *Int J Cancer*, 1975, 16: 216–229

- 7 Kiessling R, Klein E, Wigzell H. "Natural" killer cells in the mouse. I. Cytotoxic cells with specificity for mouse Moloney leukemia cells. Specificity and distribution according to genotype. *Eur J Immunol*, 1975, 5: 112–117
- 8 Björkström N K, Ljunggren H G, Michaëlsson J. Emerging insights into natural killer cells in human peripheral tissues. *Nat Rev Immunol*, 2016, 16: 310–320
- 9 Walzer T, Bléry M, Chaix J, et al. Identification, activation, and selective *in vivo* ablation of mouse NK cells via Nkp46. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 3384–3389
- 10 Yu J, Freud A G, Caligiuri M A. Location and cellular stages of natural killer cell development. *Trends Immunol*, 2013, 34: 573–582
- 11 Kim S, Iizuka K, Kang H S P, et al. *In vivo* developmental stages in murine natural killer cell maturation. *Nat Immunol*, 2002, 3: 523–528
- 12 Pegram H J, Andrews D M, Smyth M J, et al. Activating and inhibitory receptors of natural killer cells. *Immunol Cell Biol*, 2011, 89: 216–224
- 13 Narni-Mancinelli E, Ugolini S, Vivier E. Tuning the threshold of natural killer cell responses. *Curr Opin Immunol*, 2013, 25: 53–58
- 14 Chester C, Fritsch K, Kohrt H E. Natural killer cell immunomodulation: targeting activating, inhibitory, and co-stimulatory receptor signaling for cancer immunotherapy. *Front Immunol*, 2015, 6: 601
- 15 Chen Y, Wei H, Sun R, et al. Increased susceptibility to liver injury in hepatitis B virus transgenic mice involves NKG2D-ligand interaction and natural killer cells. *Hepatology*, 2007, 46: 706–715
- 16 Hou X, Zhou R, Wei H, et al. NKG2D-retinoic acid early inducible-1 recognition between natural killer cells and Kupffer cells in a novel murine natural killer cell-dependent fulminant hepatitis. *Hepatology*, 2009, 49: 940–949
- 17 Huang M, Sun R, Wei H, et al. Simultaneous knockdown of multiple ligands of innate receptor NKG2D prevents natural killer cell-mediated fulminant hepatitis in mice. *Hepatology*, 2013, 57: 277–288
- 18 Cheng M, Chen Y, Xiao W, et al. NK cell-based immunotherapy for malignant diseases. *Cell Mol Immunol*, 2013, 10: 230–252
- 19 Li Y, Yin J, Li T, et al. NK cell-based cancer immunotherapy: from basic biology to clinical application. *Sci China Life Sci*, 2015, 58: 1233–1245
- 20 Crouse J, Xu H C, Lang P A, et al. NK cells regulating T cell responses: mechanisms and outcome. *Trends Immunol*, 2015, 36: 49–58
- 21 Laouar Y, Sutterwala F S, Gorelik L, et al. Transforming growth factor- β controls T helper type 1 cell development through regulation of natural killer cell interferon- γ . *Nat Immunol*, 2005, 6: 600–607
- 22 Morandi B, Bougras G, Muller W A, et al. NK cells of human secondary lymphoid tissues enhance T cell polarization via IFN- γ secretion. *Eur J Immunol*, 2006, 36: 2394–2400
- 23 Gerosa F, Baldani-Guerra B, Nisii C, et al. Reciprocal activating interaction between natural killer cells and dendritic cells. *J Exp Med*, 2002, 195: 327–333
- 24 Adam C, King S, Allgeier T, et al. DC-NK cell cross talk as a novel CD4⁺ T-cell-independent pathway for antitumor CTL induction. *Blood*, 2005, 106: 338–344
- 25 Schuster I S, Wikstrom M E, Brizard G, et al. TRAIL⁺ NK cells control CD4⁺ T cell responses during chronic viral infection to limit autoimmunity. *Immunity*, 2014, 41: 646–656
- 26 O'Leary J G, Goodarzi M, Drayton D L, et al. T cell- and B cell-independent adaptive immunity mediated by natural killer cells. *Nat Immunol*, 2006, 7: 507–516
- 27 Paust S, Gill H S, Wang B Z, et al. Critical role for the chemokine receptor CXCR6 in NK cell-mediated antigen-specific memory of haptens and viruses. *Nat Immunol*, 2010, 11: 1127–1135
- 28 Sun J C, Beilke J N, Lanier L L. Adaptive immune features of natural killer cells. *Nature*, 2009, 457: 557–561
- 29 Cooper M A, Elliott J M, Keyel P A, et al. Cytokine-induced memory-like natural killer cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 1915–1919
- 30 Chiossone L, Chaix J, Fuseri N, et al. Maturation of mouse NK cells is a 4-stage developmental program. *Blood*, 2009, 113: 5488–5496
- 31 Hayakawa Y, Smyth M J. CD27 dissects mature NK cells into two subsets with distinct responsiveness and migratory capacity. *J Immunol*, 2006, 176: 1517–1524
- 32 Vosshenrich C A J, Garcia-Ojeda M E, Samson-Villéger S I, et al. A thymic pathway of mouse natural killer cell development characterized by expression of GATA-3 and CD127. *Nat Immunol*, 2006, 7: 1217–1224
- 33 Jenne C N, Kubes P. Immune surveillance by the liver. *Nat Immunol*, 2013, 14: 996–1006
- 34 Adams D H, Eksteen B. Aberrant homing of mucosal T cells and extra-intestinal manifestations of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol*, 2006, 6: 244–251
- 35 MacPhee P J, Schmidt E E, Groom A C. Intermittence of blood flow in liver sinusoids, studied by high-resolution *in vivo* microscopy. *Am J Physiol*, 1995, 269: G692–G698
- 36 Racanelli V, Rehmann B. The liver as an immunological organ. *Hepatology*, 2006, 43: S54–S62
- 37 Gao B, Jeong W I, Tian Z. Liver: an organ with predominant innate immunity. *Hepatology*, 2007, 47: 729–736

- 38 Takeda K, Cretney E, Hayakawa Y, et al. TRAIL identifies immature natural killer cells in newborn mice and adult mouse liver. [Blood](#), 2005, 105: 2082–2089
- 39 Burt B M, Plitas G, Zhao Z, et al. The lytic potential of human liver NK cells is restricted by their limited expression of inhibitory killer Ig-like receptors. [J Immunol](#), 2009, 183: 1789–1796
- 40 Peng H, Sun R, Tang L, et al. CD62L is critical for maturation and accumulation of murine hepatic NK cells in response to viral infection. [J Immunol](#), 2013, 190: 4255–4262
- 41 Orange J S, Wang B, Terhorst C, et al. Requirement for natural killer cell-produced interferon gamma in defense against murine cytomegalovirus infection and enhancement of this defense pathway by interleukin 12 administration. [J Exp Med](#), 1995, 182: 1045–1056
- 42 Salazar-Mather T P, Orange J S, Biron C A. Early murine cytomegalovirus (MCMV) infection induces liver natural killer (NK) cell inflammation and protection through macrophage inflammatory protein 1 α (MIP-1 α)-dependent pathways. [J Exp Med](#), 1998, 187: 1–14
- 43 Li F, Wei H, Wei H, et al. Blocking the natural killer cell inhibitory receptor NKG2A increases activity of human natural killer cells and clears hepatitis B virus infection in mice. [Gastroenterology](#), 2013, 144: 392–401
- 44 Sun C, Fu B, Gao Y, et al. TGF- β 1 down-regulation of NKG2D/DAP10 and 2B4/SAP expression on human NK cells contributes to HBV persistence. [PLoS Pathog](#), 2012, 8: e1002594
- 45 O’Sullivan T E, Sun J C, Lanier L L. Natural killer cell memory. [Immunity](#), 2015, 43: 634–645
- 46 Gasteiger G, Fan X, Dikiy S, et al. Tissue residency of innate lymphoid cells in lymphoid and nonlymphoid organs. [Science](#), 2015, 350: 981–985
- 47 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. [Cell](#), 2014, 157: 340–356
- 48 O’Sullivan T E, Rapp M, Fan X, et al. Adipose-resident group 1 innate lymphoid cells promote obesity-associated insulin resistance. [Immunity](#), 2016, 45: 428–441
- 49 Victorino F, Sojka D K, Brodsky K S, et al. Tissue-resident NK cells mediate ischemic kidney injury and are not depleted by anti-asialo-GM1 antibody. [J Immunol](#), 2015, 195: 4973–4985
- 50 Tang L, Peng H, Zhou J, et al. Differential phenotypic and functional properties of liver-resident NK cells and mucosal ILC1s. [J Autoimmun](#), 2016, 67: 29–35
- 51 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 Exp Med](#), 2014, 211: 635–642
- 52 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. [Immunity](#), 2012, 36: 55–67
- 53 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 Immunol](#), 2016, 196: 1449–1454
- 54 Constantinides M G, McDonald B D, Verhoef P A, et al. A committed precursor to innate lymphoid cells. [Nature](#), 2014, 508: 397–401
- 55 Mackay L K, Minnich M, Kragten N A M, et al. Hobit and Blimp1 instruct a universal transcriptional program of tissue residency in lymphocytes. [Science](#), 2016, 352: 459–463
- 56 Zhang L H, Shin J H, Haggadone M D, et al. The aryl hydrocarbon receptor is required for the maintenance of liver-resident natural killer cells. [J Exp Med](#), 2016, 213: 2249–2257

Liver-specific natural killer cells: discovery, validation, and functions

PENG Hui & TIAN ZhiGang

Institute of Immunology, School of Life Sciences, University of Science and Technology of China, Hefei 230027, China

Nature killer (NK) cells are an important component of the innate immune system. Most of our current knowledge about NK cells is derived from previous studies of conventional NK cells that are circulating and widely distributed. With predominant functions in innate immunity, the liver contains abundant NK cells with phenotypic and functional heterogeneity. As compared with conventional NK cells, liver-specific NK cells exhibit unique phenotypic features and require different transcription factors for their development. Moreover, liver-specific NK cells are tissue-resident cells and have the ability to mount contact hypersensitivity responses. These findings have greatly motivated the study of tissue-specific NK cell subsets that are distinct from conventional NK cells. In this review, we summarize the research background and discovery of liver-specific NK cells and discuss their developmental requirements and functional properties.

liver-specific natural killer cells, conventional natural killer cells, tissue-resident, contact hypersensitivity responses

doi: [10.1360/N052016-00337](https://engine.scichina.com/doi/10.1360/N052016-00337)