

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.08.015

· 综述 ·

NKT细胞的生物特性及其在抗肿瘤免疫中的作用

Biological characteristics of NKT cells and their roles in anti-tumor immunity

郭伟春^{1,2}综述;梁俊青²,贾绍昌³审阅(1.内蒙古医科大学 研究生学院,内蒙古自治区 呼和浩特 010059; 2.内蒙古医科大学附属人民医院/内蒙古自治区肿瘤医院 科研部,内蒙古自治区 呼和浩特 010020; 3.东部战区总医院 全军肿瘤中心 生物治疗科,江苏 南京 210002)

[摘要] NKT细胞是一类特殊的T淋巴细胞亚群,既表达NK细胞受体,也表达T细胞的相关受体。NKT细胞在多种免疫应答的调节中发挥重要作用,包括感染、自身免疫性疾病、代谢性疾病和癌症,其通过连接固有免疫系统和适应性免疫系统显示出强大的抗肿瘤活性。NKT细胞不仅能杀伤肿瘤细胞,也可激活其他抗肿瘤免疫细胞间接地发挥抗肿瘤作用,还能在肿瘤微环境中激活衰竭的免疫细胞,在抗肿瘤免疫中发挥重要的作用。本文就NKT细胞的生物学特性及其在抗肿瘤免疫中的作用作一综述。

[关键词] NKT细胞;抗肿瘤;肿瘤免疫治疗

[中图分类号] R730.3; R392.12 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)08-0921-04

自然杀伤性T细胞(natural killer T cell, NKT cell)是一类特殊的T淋巴细胞亚群,既表达自然杀伤细胞(NK cell)受体也表达T细胞的相关受体(T cell receptor, TCR)^[1]。NKT细胞受体一般由恒定的TCR α 链和半恒定的TCR β 链组成,识别由非经典MHC I类分子CD1d提呈的脂质抗原。CD1d是一种结合自身和外来糖脂类的抗原提呈分子,在单核细胞、巨噬细胞、树突状细胞和B细胞等多种免疫细胞上均有表达。NKT细胞杀伤肿瘤的活性高,并且NKT细胞的激活还可以使衰竭的CD8⁺T细胞和NK细胞重新活化^[2]。本文综述了NKT细胞的生物学特性和抗肿瘤免疫作用,并提出了通过激活NKT细胞克服免疫细胞衰竭的新策略。

1 NKT细胞的生物学特性

NKT细胞在多种免疫应答的调节中发挥重要作用,包括感染、自身免疫性疾病、代谢性疾病和癌症。即使在稳定状态下,NKT细胞产生的细胞因子也可影响其他免疫细胞的基础状态和功能,如树突细胞和CD8⁺T细胞^[2]。与常规T细胞一样,NKT细胞经历胸腺发育和选择,具有T细胞受体(TCR)以识别抗原。然而,与常规T细胞不同,NKT细胞表达的TCR识别由非经典MHC I类分子CD1d提呈的糖脂类抗原。除TCR外,NKT细胞还具有细胞因子受体,如IL-12R、IL-18R、IL-25R和IL-23R^[3]。

1.1 I型NKT细胞

I型NKT细胞是最常见的NKT细胞类型,表达恒定的TCR链(在人体中为V α 24-J α 18和V β 11,在小鼠中为V α 14-J α 18和为V β 2、V β 7或V β 8.2),NKT细

胞的原型抗原是 α -半乳糖神经酰胺(α -galactosylceramide, α -GalCer或称KRN7000)^[4]。 α -GalCer是从海洋生物海绵提取物中得到的糖脂类物质,是I型NKT细胞的强效激活剂,诱导I型NKT细胞释放大量IFN- γ ,有助于CD8⁺T细胞和APC细胞的激活。CD1d缺陷小鼠(缺乏I型和II型NKT)或Ja18缺陷小鼠(仅缺乏I型NKT)模型是研究I型NKT细胞的功能的有效工具。I型NKT细胞在小鼠和人类的不同组织中都存在,但在小鼠中的比例更高^[5]。

NKT细胞在功能上与传统T细胞的Th1、Th2、Th17和TFH亚群相似,这些亚群表达传统T细胞相关的细胞因子、转录因子和表面标志物^[6]。多种转录因子调控I型NKT细胞的的生长,如早幼粒细胞白血病锌指蛋白(promyelocytic leukemia zinc finger, PLZF)是I型NKT细胞发育和激活记忆表型的关键调节因子之一。研究^[7]显示,PLZF缺陷型小鼠模型中严重缺乏I型NKT细胞,细胞因子产生减少。其他已知影响I型NKT细胞分化的转录因子包括c-Myc、ROR γ t、c-Myb、Elf-1和Runx1。除了转录因子,SLAM-相关蛋白(SLAM-associated protein, SAP)信号通路也可以选择性地控制I型NKT细胞的扩增和分化。I型NKT细胞对自身和外源 α 和 β 连接的鞘糖

[基金项目] 内蒙古科技厅科技计划基金资助项目(No. 201802151)。

Project supported by the Science and Technology Plan Foundation from Science and Technology Department of Inner Mongolia (No. 201802151)

[作者简介] 郭伟春(1992-),硕士研究生,主要从事肿瘤生物治疗方向相关研究,E-mail: 1583886187@qq.com

[通信作者] 梁俊青(LIANG Junqing, corresponding author),博士,主任医师,硕士研究生导师,主要从事乳腺疾病治疗及肿瘤生物治疗相关研究,E-mail: 826822745@qq.com

脂(glycosphingolipid, GSL)、神经酰胺和磷脂均有反应,主要增强对肿瘤的有效免疫反应^[8-10]。

1.2 II型NKT细胞

与I型NKT细胞相反,II型NKT细胞表达不同的TCR,被称为非经典NKT(non-classical NKT)细胞^[11]。尽管TCR链的重组形式多种多样,II型NKT细胞也以CD1d依赖的方式识别抗原,但是不识别 α -GalCer。II型NKT细胞是人体中的主要亚群,其比例高于I型NKT细胞。虽然整个II型NKT细胞群体在不同器官中的分布比例尚不清楚,但是II型NKT细胞在小鼠和人类肝脏中含量丰富。II型NKT细胞不仅可以识别脂类抗原,也能识别CD1d上的疏水结构^[6,12]。在肿瘤和自身免疫性疾病模型中,II型NKT细胞通常与免疫抑制有关。

1.3 III型NKT细胞

III型NKT细胞即NKT样细胞,是一组不依赖CD1d方式识别抗原且对糖脂类抗原无反应的T细胞亚群,表达不同类型的TCR和NK相关受体。由于相关研究较少,目前其特征和功能尚不明确^[8,13]。在3种NKT细胞中,目前研究较多的是I型NKT细胞,其抗肿瘤活性高于其他类型的NKT细胞。通常所说的NKT细胞多指I型NKT细胞,本文将重点介绍其生物学特性及其在抗肿瘤免疫中的作用。

2 NKT细胞的抗肿瘤免疫作用

I型NKT细胞在介导抗肿瘤保护性免疫反应中起着重要作用。不同类型癌症患者外周血中I型NKT细胞比例减少和功能受损,提示其在有效抗肿瘤免疫中作用的降低;癌症患者外周血中I型NKT细胞比例增高预示着良好的治疗效果。此外,研究发现,肿瘤浸润NKT的数量增加与更好的临床疗效有关联^[12]。I型NKT细胞可通过以下机制获得有效的抗肿瘤免疫:(1)直接溶解肿瘤细胞,作为抗肿瘤效应细胞直接发挥抗肿瘤作用;(2)通过启动Th1细胞因子级联反应来招募和激活其他固有和适应性免疫细胞,间接发挥抗肿瘤作用^[13]。

2.1 NKT细胞的直接抗肿瘤作用

NKT细胞具有强大抗肿瘤活性,可通过Fas/FasL途径、释放穿孔素、颗粒酶B和肿瘤坏死因子 α 相关的凋亡诱导配体等途径直接杀伤表达CD1d表达的肿瘤细胞^[14],表达CD1d的肿瘤细胞主要来源于髓鞘细胞和B细胞系。随着CD1d表达的升高,肿瘤细胞裂解率增加、转移率降低;而CD1d在肿瘤中的表达缺乏则导致肿瘤细胞逃避NKT细胞的识别及肿瘤的进展,推测CD1d在肿瘤表面的表达与NKT细胞介导的细胞毒性直接相关。研究假设CD1d表达的缺失

或下调有利于肿瘤细胞的存活,并允许肿瘤细胞从NKT细胞介导的免疫监视中逃逸。研究^[16]发现,乳腺癌和多发性骨髓瘤中CD1d的下调与转移潜能的增加以及疾病的进展有关,进一步强化了这一概念。同样,人乳头瘤病毒对感染宫颈上皮细胞表面CD1d的下调与其进展为宫颈癌有关^[17]。

2.2 NKT细胞的间接抗肿瘤作用

除了直接杀伤肿瘤外,NKT细胞激活后可分泌多种细胞因子,如IFN- γ 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13、IL-17、IL-21、IL-22、TNF- α 、TGF- β 和GM-CSF,激活大量的免疫细胞,包括树突状细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、NK细胞以及T和B细胞间接发挥抗肿瘤免疫作用^[18]。此外,活化的NKT细胞表达CD40L,并通过CD40-CD40L相互作用诱导树突状细胞的成熟^[19-20]。成熟的树突状细胞表达更高的共刺激分子,如CD40、CD8,产生更多的IL-12和IL-18,进而激活NKT细胞、NK细胞和CD8⁺T细胞分泌IFN- γ ,并加速这种正反馈^[15,20]。树突状细胞上调NKG2D配体和CD27的配体CD70的表达,促进NK细胞的活化^[21]。此外,NKT细胞和树突状细胞共同激活CD8⁺T细胞,分泌趋化因子CCL17促进抗肿瘤免疫^[22]。B细胞也在NKT细胞抗肿瘤免疫中发挥作用,通过上调IgG的产生介导抗体依赖性细胞毒性(ADCC)作用^[23]。因此,增强NKT细胞的抗肿瘤机制具有较大的研究意义。然而NKT细胞在抗肿瘤免疫中具有两面性,一方面,许多肿瘤模型中,在 α -GalCer和IL-12的共同刺激下,NKT细胞上调抗肿瘤免疫应答,从而抑制肿瘤的发生和转移;另一方面,NKT细胞下调机体的免疫监视功能,从而导致肿瘤的发生。因此,增强NKT细胞的抗肿瘤免疫应答以及抑制NKT细胞下调机体的免疫监视功能是未来利用NKT细胞进行抗肿瘤治疗时需要解决的问题。

2.3 通过激活NKT细胞恢复肿瘤微环境中的免疫衰竭

在肿瘤微环境中,往往由于T细胞和NK细胞功能低下而处于免疫衰竭状态,其特点是T细胞和NK细胞表面共抑制受体PD-1、Tim-3、LAG3等高表达^[3,24],这些T细胞和NK细胞在增殖和免疫效应功能方面存在缺陷。然而,最近发现 α -GalCer介导激活的NKT细胞可以有效逆转衰竭的免疫细胞的功能^[2,25]。进一步的研究表明, α -GalCer介导激活的NKT细胞不仅重新激活了NK细胞,也激活了CD8⁺T细胞。 α -GalCer具有强大的抗肿瘤活性,但重复注射 α -GalCer也可能诱导NKT细胞功能丧失^[26-27]。此外,PD-1可由 α -GalCer高度刺激诱导,理论上抗PD-1药物与 α -GalCer联合治疗晚期肿瘤可能是一种有效的

方法^[8,28-29]。这些结果表明,NKT细胞的激活在克服免疫衰竭中起着至关重要的作用,提示使用NKT细胞激活剂在肿瘤免疫治疗中具有极大的应用价值。

3 NKT细胞在临床抗肿瘤治疗中的应用

利用NKT细胞的临床试验正在进行。其中一个代表性的临床试验^[30]是将NKT细胞配体 α -GalCer用于激活癌症患者中NKT细胞的抗肿瘤作用,其I期临床研究中,向实体瘤患者慢速静脉内注射不同剂量的 α -GalCer,24名患者中的7名表现出稳定的疾病进展并且没有严重的副作用。NAGATO等^[31]还使用荷载 α -GalCer的APC细胞进行了临床研究,结果显示肿瘤浸润淋巴细胞中NKT细胞数量显著增加,肿瘤浸润淋巴细胞中IFN- γ 产生增加。癌症患者中iNKT细胞数量显著减少。为了补充肿瘤患者体内的NKT细胞,对晚期非小细胞肺癌患者进行了体外扩增NKT细胞的临床试验。EXLEY等^[32]用来源于外周血单个核细胞以及IL-2和CD3单抗扩增的自体NKT细胞回输到晚期黑色素瘤患者体内,结果显示患者体内癌组织中IFN- γ 产生增加。YAMASAKI等^[33]在头颈部鳞状细胞癌患者中,使用体外扩增的NKT细胞,用IL-2和 α -GalCer以及用APCs脉冲的 α -GalCer进行了II期临床研究,50%的患者表现出稳定的疾病进展。这些研究表明NKT细胞疗法具有应用于临床治疗肿瘤的潜力。

4 结 语

肿瘤免疫治疗是目前治疗肿瘤最有效的手段之一。NKT细胞的激活不仅可以直接发挥抗肿瘤免疫作用、间接激活多种免疫细胞,还可以激活衰竭的CD8⁺T细胞和NK细胞,从而快速而持久地增强抗肿瘤活性。因此,NKT细胞免疫治疗是目前对免疫治疗耐药癌症患者的一个良好的选择。在体外扩增I型NKT细胞再回输到患者体内的治疗方式则展现出了一定的临床疗效。然而NKT细胞疗法在临床试验仍处于研究的初级阶段,原因在于国内外开展的临床试验规模较小、受试者较少。临床效果取决于多重因素,包括体外扩增数量以及在注射剂量、频率、时相,诸多因素的干扰使得到的可行性数据较为局限,因此尚不能大规模应用于临床。NKT细胞可以调节其他免疫效应细胞发挥抗肿瘤作用,相信以NKT细胞为基础的免疫治疗将为肿瘤免疫治疗临床应用开辟新途径。

【参 考 文 献】

[1] TERABE M, BERZOFKY J A. Tissue-specific roles of NKT cells in tumor immunity[J/OL]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1838[2019-05-

- 11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6104122/>. DOI:10.3389/fimmu.2018.01838.
- [2] PAUKEN K E, WHERRY E J. Overcoming T cell exhaustion in infection and cancer[J]. *Trends Immunol*, 2015, 36(4): 265-276. DOI: 10.1016/j.it.2015.02.008.
- [3] JIANG F J, LIU H, LIU Z Y, et al. Deficient invariant natural killer T cells had impaired regulation on osteoclastogenesis in myeloma bone disease[J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(5): 2706-2716. DOI: 10.1111/jcmm.13554.
- [4] CHO J H. Immunotherapy for non-small-cell lung cancer: current status and future obstacles[J]. *Immune Netw*, 2017, 17(6): 378-391. DOI:10.4110/in.2017.17.6.378.
- [5] KRIJGSMAN D, HOKLAND M, KUPPEN P J K. The role of natural killer T cells in cancer-A phenotypical and functional approach [J/OL]. *Front Immunol*, 2018, 9: 367[2019-05-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5835336/>. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00367.
- [6] TANIGUCHI M, HARADA M, DASHTSOODOL N, et al. Discovery of NKT cells and development of NKT cell-targeted anti-tumor immunotherapy[J]. *Proc Jpn Acad, Ser B, Phys Biol Sci*, 2015, 91(7): 292-304. DOI:10.2183/pjab.91.292.
- [7] SEO H, JEON I, KIM B S, et al. IL-21-mediated reversal of NK cell exhaustion facilitates anti-tumour immunity in MHC class I-deficient tumours[J/OL]. *Nat Commun*, 2017, 8: 15776[2019-05-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5467212/>. DOI: 10.1038/ncomms15776.
- [8] CONSONNI M, DELLABONA P, CASORATI G. Potential advantages of CD1-restricted T cell immunotherapy in cancer[J]. *Mol Immunol*, 2018, 103(10): 200-208. DOI:10.1016/j.molimm.2018.09.025.
- [9] GAPIN L. Development of invariant natural killer T cells[J/OL]. *Curr Opin Immunol*, 2016, 39: 68-74[2019-05-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4801673/>. DOI: 10.1016/j.coi.2016.01.001.
- [10] ZHU S S, ZHANG H M, BAI L. NKT cells in liver diseases[J]. *Front Med*, 2018, 12(3): 249-261. DOI:10.1007/s11684-018-0622-3.
- [11] SINGH A K, TRIPATHI P, CARDELL S L. Type II NKT cells: an elusive population with immunoregulatory properties[J/OL]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1969[2019-05-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6120993/>. DOI:10.3389/fimmu.2018.01969.
- [12] CAMERON G, GODFREY D I. Differential surface phenotype and context-dependent reactivity of functionally diverse NKT cells[J]. *Immunol Cell Biol*, 2018, 96(7): 759-771. DOI: 10.1111/imcb.12034.
- [13] MAO A P, CONSTANTINIDES M G, MATHEW R, et al. Multiple layers of transcriptional regulation by PLZF in NKT-cell development[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(27): 7602-7607. DOI: 10.1073/pnas.1601504113.
- [14] SHEKHAR S, JOYEE A G, YANG X. Dynamics of NKT-cell responses to chlamydial infection[J/OL]. *Front Immunol*, 2015, 6: 233[2019-05-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4432794/>. DOI:10.3389/fimmu.2015.00233.
- [15] CUI J, SHIN T, KAWANO T, et al. Requirement for Valpha14 NKT cells in IL-12-mediated rejection of tumors[J]. *Science*, 1997, 278(5343): 1623-1626. DOI:10.1126/science.278.5343.1623.
- [16] MOTOHASHI S, NAKAYAMA T. Clinical applications of natural

- killer T cell-based immunotherapy for cancer[J]. *Cancer Sci*, 2008, 99(4): 638-645. DOI:10.1111/j.1349-7006.2008.00730.x.
- [17] LYNCH L, O'SHEA D, WINTER D C, et al. Invariant NKT cells and CD1d(+) cells amass in human omentum and are depleted in patients with cancer and obesity[J]. *Eur J Immunol*, 2009, 39(7): 1893-1901. DOI:10.1002/eji.200939349.
- [18] COQUET J M, KYPARISSOUDIS K, PELLICCI D G, et al. IL-21 is produced by NKT cells and modulates NKT cell activation and cytokine production[J]. *J Immunol*, 2007, 178(5): 2827-2834. DOI: 10.4049/jimmunol.178.5.2827.
- [19] COQUET J M, CHAKRAVARTI S, KYPARISSOUDIS K, et al. Diverse cytokine production by NKT cell subsets and identification of an IL-17-producing CD4-NK_{1.1}- NKT cell population[J/OL]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(32): 11287-11292. DOI: 10.1073/pnas.0801631105.
- [20] SINGH A K, GAUR P, DAS S N. Natural killer T cell anergy, co-stimulatory molecules and immunotherapeutic interventions[J]. *Hum Immunol*, 2014, 75(3): 250-260. DOI: 10.1016 / j. humimm.2013.12.004.
- [21] TARABAN V Y, MARTIN S, ATTFIELD K E, et al. Invariant NKT cells promote CD8⁺ cytotoxic T cell responses by inducing CD70 expression on dendritic cells[J]. *J Immunol*, 2008, 180(7): 4615-4620. DOI:10.4049/jimmunol.180.7.4615.
- [22] SEMMLING V, LUKACS-KORNEK V, THAISS C A, et al. Alternative cross-priming through CCL17-CCR4-mediated attraction of CTLs toward NKT cell-licensed DCs[J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(4): 313-320. DOI:10.1038/ni.1848.
- [23] GORINI F, AZZIMONTI L, DELFANTI G, et al. Invariant NKT cells contribute to chronic lymphocytic leukemia surveillance and prognosis[J]. *Blood*, 2017, 129(26): 3440-3451. DOI: 10.1182 / blood-2016-11-751065.
- [24] MOGNOL G P, SPREAFICO R, WONG V, et al. Exhaustion-associated regulatory regions in CD8⁺ tumor-infiltrating T cells[J/OL]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(13): E2776-E2785[2019-05-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5380094/>. DOI:10.1073/pnas.1620498114.
- [25] STOLK D, VAN DER VLIET H J, DE GRUIJL T D, et al. Positive & negative roles of innate effector cells in controlling cancer progression[J/OL]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1990[2019-05-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6161645/>. DOI:10.3389/fimmu.2018.01990.
- [26] PAREKH V V, WILSON M T, OLIVARES-VILLAGÓMEZ D, et al. Glycolipid antigen induces long-term natural killer T cell anergy in mice[J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(9): 2572-2583. DOI: 10.1172/JCI24762.
- [27] SULLIVAN B A, KRONENBERG M. Activation or anergy: NKT cells are stunned by alpha-galactosylceramide[J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(9): 2328-2329. DOI:10.1172/JCI26297.
- [28] CHANG W S, KIM J Y, KIM Y J, et al. Cutting edge: programmed death-1/programmed death ligand 1 interaction regulates the induction and maintenance of invariant NKT cell anergy[J]. *J Immunol*, 2008, 181(10): 6707-6710. DOI:10.4049/jimmunol.181.10.6707.
- [29] NAIR S, DHODAPKAR M V. Natural killer T cells in cancer immunotherapy[J/OL]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1178[2019-05-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5614937/>. DOI:10.3389/fimmu.2017.01178.
- [30] GIACCONE G, PUNT C J, ANDO Y, et al. A phase I study of the natural killer T-cell ligand alpha-galactosylceramide (KRN₇₀₀₀) in patients with solid tumors[J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8(12): 3702-3709.
- [31] NAGATO K, MOTOHASHI S, ISHIBASHI F, et al. Accumulation of activated invariant natural killer T cells in the tumor microenvironment after α -galactosylceramide-pulsed antigen presenting cells [J]. *J Clin Immunol*, 2012, 32(5): 1071-1081. DOI:10.1007/s10875-012-9697-9.
- [32] EXLEY M A, FRIEDLANDER P, ALATRAKCHI N, et al. Adoptive transfer of invariant NKT cells as immunotherapy for advanced melanoma: A phase I clinical trial[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(14): 3510-3519. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-16-0600.
- [33] YAMASAKI K, HORIGUCHI S, KUROSAKI M, et al. Induction of NKT cell-specific immune responses in cancer tissues after NKT cell-targeted adoptive immunotherapy[J]. *Clin Immunol*, 2011, 138(3): 255-265. DOI:10.1016/j.clim.2010.11.014.

[收稿日期] 2019-05-15

[修回日期] 2019-06-05

[本文编辑] 黄静怡