

自然杀伤细胞表面 NKp30 受体的研究进展

王玲 综述,徐燕颖 审校

(天津医科大学第二医院妇科,天津 300211)

摘要 自然杀伤细胞(NK cells)是机体的固有免疫细胞,参与了病毒感染细胞和肿瘤的清除。NK 细胞的活化受其表面活化性受体和抑制性受体的共同调控;而 NKp30 是其膜表面一类重要的活化性受体自然细胞毒性受体的一种。多项研究结果表明 NKp30 参与了自然杀伤细胞抗肿瘤及抗病毒感染的免疫过程,并在其中发挥了重要的作用。该文就自然杀伤细胞表面 NKp30 受体的研究进展进行综述。

关键词 自然杀伤细胞;NKp30 受体;肿瘤;病毒

中图分类号 R392

文献标志码 A

自然杀伤细胞(Natural killer cells, NK cells)是脊椎动物免疫系统中重要的核心成员,对肿瘤和病毒感染细胞能做出快速应答,迅速的清除恶性转化细胞及感染细胞^[1]。NK 细胞缺陷的病人更容易遭受反复的多系统甚至危及生命的感染,此外,外周血中 NK 细胞的高活性还与肿瘤发病率下降有关;同时,在一些肿瘤中 NK 细胞的浸润标志着疾病的预后较好^[2]。NK 细胞主要存在于外周血中,占外周血淋巴细胞总数的 5%~15%,也存在于人类的肝脏、脾脏、肺脏、骨髓、淋巴结以及子宫^[3-4]。与细胞毒性 T 淋巴细胞不同的是, NK 细胞通过细胞毒性颗粒(穿孔素、颗粒酶等)的极化释放发挥杀伤作用。

NK 细胞发挥作用主要依赖于其表面活化性受体和抑制性受体的动态平衡。其中,抑制性受体包括混杂免疫球蛋白样转录 ILT2 (immunoglobulin-like transcript 2)受体、杀伤细胞免疫球蛋白样 KIRs (the killer immunoglobulin-like receptors)受体和 CD94-NKG2A 受体。抑制性受体主要识别靶细胞上的 MHC I 类分子,以及一小部分非 MHC I 类分子配体,其中 KIRs 可识别 HLA-A、HLA-B 和大多数 HLA-C 分子的不同等位基因组,CD94-NKG2A 受体识别 HLA-E 分子^[5]。NK 细胞表面的活化性受体激发细胞毒性主要杀伤恶性转化细胞和病毒感染细胞,也可杀伤一些非应激的自身细胞如树突状细胞 dendritic cells (DCs)和胰腺 B 细胞 pancreatic b-cells;激活后的 NK 细胞能分泌 IFN γ 和 TNF α 等不同的细胞因子^[6]。人类 NK 细胞表面的活化性受体主要有以下几种,包括 NKG2D,活化的 KIRs, NKp80, CD94/NKG2C, DNAX 辅助分子(DNAM)-1 和 2B4,

以及一组非常重要的自然细胞毒性受体。其中自然细胞毒性受体(natural cytotoxicity receptors)包括 NKp30(又称为 NCR3、NCTR3 和 CD337)、NKp44(又称为 NCR2、NCTR2、CD336)和 NKp46(又称为 NCR1、NCTR1 和 CD335)。有研究发现急性髓系白血病患者体内 NK 细胞表面 NCR 表达减少导致白血病患者对 NK 细胞毒性的耐受证实了非同源 NCRs 对 NK 细胞激活的重要性^[7];此外,在体外实验中阻断 NCRs 的表达显著降低了恶性转化细胞和感染细胞的死亡率;NK 细胞杀死肿瘤细胞的能力被证明与 NCRs 的表达水平有关。本文主要就 NKp30 受体的研究进展作一综述。

1 NKp30 的发现及分子结构

1999 年 Pende 等^[8]发现了 NKp30 受体(NCR3; CD337),是由人类 6 号染色体 HLAI 区的 1C7 基因编码的一种大小为 30 kDa 的蛋白质,这种受体选择性的表达在所有的 NK 细胞表面,因此可以作为分离 NK 细胞的标记物。此外,与 IL-15 接触后, NKp30 还可在脐带血 T 细胞上表达,并且受到孕酮刺激后可表达在子宫内膜上皮细胞表面^[9]。NKp30 是免疫球蛋白超家族的一员,为 I 型跨膜糖蛋白,包含一个细胞外免疫球蛋白域,负责配体结合,一个带阳性电荷精氨酸残基的跨膜域以及一个没有附加信号域的胞内域^[10-11]。CD3 ζ 同质二聚体和 CD3 ζ /Fc γ 异质二聚体可与 NKp30 跨膜区的带电精氨酸结合,并介导 NK 细胞的活化。研究发现 NK 细胞表面有 6 种不同的 NKp30 剪切变异体,其中 NKp30a-c 的胞外区为 v 型样区,而另 3 个 NKp30d-f 的胞外区为 c 型 Ig 样区;基因表达时翻译外显子的不同导致了各种剪切变异体间胞内域的不同。其中 V 型样区的 NKp30 亚型占总体的大多数,并且各种剪切变

作者简介 王玲(1993-),女,硕士在读,研究方向:妇科肿瘤的综合治疗;通信作者:徐燕颖, E-mail: xuyy1116@163.com。

异体在不同组织间的分布亦表现不同^[12]。Delahaye 等^[13]通过研究转染了 3 种不同 V 型样区 NKp30 的 NKL 细胞发现不同亚型会导致 NK 细胞做出不同的应答;转染了 NKp30a 和 NKp30b 的细胞在与靶细胞结合或共培养后释放出大量的 IFN- γ ,而转染了 NKp30c 的细胞仅能产生 IL-10 和少量的 IFN- γ 。因此 NKp30a 和 NKp30b 代表免疫刺激亚型,能释放 TH1 细胞因子,而 NKp30c 代表免疫抑制亚型,通过分泌 IL-10 来传达免疫抑制信号;这种激活潜能的差异是由于与 NKp30a 和 NKp30b 相比, NKp30c 在交叉连接后与 CD3 ζ 的联系减少了。同时有研究发现在胃肠道间质瘤中,与表达其他几种 NKp30 亚型的患者相比,表达 NKp30c 亚型患者的预后更差,这种差异可能是由 NKp30c 亚型介导的 NK 细胞功能负面调节的后果。

2 NKp30 的相关配体

目前已发现的 NKp30 的配体有以下几种:其中抑制性配体包括:(1)牛痘病毒属的血凝素 hemagglutininHA^[14];(2)人巨细胞病毒(HCMV)间层蛋白 pp65,pp65 与 NKp30 结合后导致 NKp30 与 CD3 ζ 链分离,从而抑制 NKp30 介导的 NK 细胞活化^[15];(3)其他未知配体,如 MDSC 表面配体,通过 NKp30 抑制 NK 细胞的功能^[16]。活化性配体包括:(1)肿瘤细胞质膜表面的 B7-H6,特异性的表达在肿瘤细胞表面,目前尚未在健康细胞中发现过 B7-H6^[10];(2)肿瘤细胞配体:BCL2 相关永生基因 6 (BAG6,也称为 BAT3),表达在细胞核内、质膜表面以及外泌体中,NKp30 与未成熟树突状细胞(imature DCs)细胞膜表面的 BAG-6 结合后刺激 NK 细胞活化介导未成熟树突状细胞的死亡^[17];(3)恶性疟原虫红细胞膜蛋白 1 PfEMP1^[18];(4)细胞表面的肝素或硫酸肝素类蛋白聚糖,这些分子在肿瘤细胞中表达显著上调^[19]。

3 NKp30 抗肿瘤和病毒感染的作用

3.1 NKp30 抗肿瘤的作用 NKp30 在 NK 细胞抗肿瘤过程中发挥了重要的作用,目前已发现在多种肿瘤外周血或腹腔液中 NKp30 的表达下降,与此同时,NK 细胞的抗肿瘤活性随之下降;NKp30 的降低预示着 NK 细胞活性的下降,此外,NKp30 不同亚型对患者预后的影响不同,其中表达 NKp30a 和 NKp30b 亚型的患者预后较好,而表达了 NKp30c 的患者预后较差,复发风险增加。Nayeli 等^[20]通过比较 30 例未经过任何治疗的乳腺癌患者,10 例乳腺良性病变及 24 例健康对照者外周血 NK 细胞表面活化性受体的表达,最终发现与健康对照者相比,乳

腺癌患者和乳腺良性病变患者 NKp30 的表达显著下降,表明乳腺癌患者 NK 细胞的细胞毒性下降可能是乳腺癌免疫逃逸的一种新机制。来自墨西哥的一项研究发现宫颈癌及癌前病变患者外周血中 NKp30 显著下降,并且 NK 细胞的抗肿瘤及抗病毒感染作用也显著下降,可能与宫颈癌对 NK 细胞的免疫逃逸有关^[21]。Pesce 等^[22]通过分析一组选定的浆液性卵巢癌患者腹水中肿瘤相关 NK 细胞的表型及功能,发现与自身外周血 NK 细胞相比,超过一半的病人肿瘤相关 NK 细胞表面 NKp30 的表达显著降低,并且这种下降与它的一个配体 B7H6 有关,其存在于肿瘤细胞表面或细胞内,也可以可溶性分子的形式存在于腹水中。研究发现,表达了低 NKp30 表型的 NK 细胞在消灭表达 B7H6 的靶细胞时,干扰素 IFN- γ 的释放量减少且细胞毒性功能受到抑制。Semeraro 等^[23]通过观察 3 组表达了不同 NKp30 亚型的高危神经母细胞瘤独立队列患者的预后,发现免疫刺激亚型(NKp30a,NKp30b)与免疫抑制亚型(NKp30c)比值相同时,患者呈现出相似的预后;同时,诱导化疗后缓解的高危神经母细胞瘤患者外周血及骨髓中 NK 细胞若为 NKp30c 优势型,则患者复发的风险会增加。同时,他们还证实了神经母细胞瘤细胞表面的 B7-H6 配体可以从肿瘤细胞表面脱落,患者血清中可溶性 B7-H6 水平的升高,导致 NK 细胞表面 NKp30 下调,进而抑制了 NK 细胞的杀伤活性,并且可能与疾病的骨髓转移和产生抗药性相关。Fend 等^[24]证实了非小细胞肺癌(NSCLC)患者 NKp30/NCR3 表达缺失,此外低表达 NKp30 的患者无进展生存期较短且远期预后较差,表明 NK 细胞可能参与了非小细胞肺癌的免疫逃逸机制,同时可通过检测外周血中 NKp30 的表达量对患者进行分层。此外,Castriconi^[25]研究发现转化生长因子 β 1 (TGF β 1) 可从基因转录水平抑制 NKp30 以及 NKG2D 的表达,进而抑制 NK 细胞的杀伤活性。研究发现,NK 细胞还可能参与了原发性肝癌的发病,在原发性肝癌患者中,NKG2D、NKp30、NKp46 等活化性受体的表达在早中期患者中含量较高,越晚期患者含量越低,而抑制性受体如 CD158b、CD159a 则与之相反^[26]。

3.2 NKp30 抗病毒感染的作用 NKp30 不仅在 NK 细胞抗肿瘤过程中发挥了不可或缺的作用,也参与了活化的 NK 细胞抗病毒感染的过程;研究表明 HIV 感染会导致 NKp30 下调从而抑制 NK 细胞的免疫活性;而感染牛痘病毒则会导致 NKp30 的抑制性配体上调从而抑制 NK 细胞的免疫活性,另一方

面在某些病毒感染时(如 HBV-ACLF)NKp30 的上调反而促进了疾病的进一步进展。Zou 等^[27]证实乙型肝炎病毒相关急性慢性肝功能衰竭(HBV-ACLF)患者肝脏 NK 细胞的聚集和外周血中自然细胞毒性受体(NKp30 和 NKp46)的上调与疾病进展相关,并且 HBV-ACLF 患者肝细胞上 B7-H6 以及 IL-32 的表达均显著上调,他们进一步通过体外细胞毒性实验发现 NKp30-B7-H6 相互作用通过上调 HBV-ACLF 患者肝脏 IL-32 的表达,进而加重了肝细胞损伤,这些发现为自然细胞毒性受体和配体特异性识别在 HBV-ACLF 发病机制中的作用提供了新的见解。Mantovani 等^[28]证实 HCV 感染时 NKp30 各种亚型表达水平均下调,但 NKp30 a/c 比值显著增加,与此同时 NKp30 a/b 比值和 NKp30 b/c 比值与正常对照组相比却无明显变化;此外,他们还观察到 NKp30 免疫刺激亚型和肝硬化正相关,而免疫抑制亚型 NKp30c 和 FIB-4(计算肝纤维化程度的一种非侵入性方法)呈负相关,揭示了 NKp30 各种亚型在肝损伤及进一步的肝纤维化中可能发挥了重要的作用。与之相反的是,Jarashian^[14]研究证实牛痘病毒感染细胞表面 NKp30 和 NKp46 受体的配体表达上调,但 NKp44 和 NKG2D 配体的表达水平无明显改变;痘病毒属的牛痘病毒 VV 不仅可以用于人类牛痘疫苗的接种,还可用于溶瘤治疗;通过选择性的沉默细胞表面的 NCR,他们发现病毒感染细胞表面的 HA,亦可以重组可溶蛋白形式存在,能引起 NKp46 介导的细胞活化,同时阻断 NKp30 介导的细胞活化;由于 HA 能阻断 NKp30 的活化,牛痘病毒感染的细胞更容易逃脱 NK 细胞的杀伤,他们认为痘病毒属的 HA 是 NCR 的一个保守性配体,在病毒感染晚期通过阻断 NKp30 介导的细胞活化导致细胞的免疫逃逸,因此可以选用 HA 缺陷的牛痘病毒用于溶瘤治疗。

同时,De Maria 等^[29]证实感染 HIV 患者体内 NK 细胞表面 NKp30 和 NKp46 显著下调,并且这种下调与 NCR 介导的 NK 细胞杀伤肿瘤细胞能力的下调呈平行关系,提示感染 HIV 时 NK 细胞表面 NKp30 及其他 NCR 的下调可能是导致 NK 细胞杀伤功能下降的机制之一,这也解释了一部分未接受治疗的患者在发生严重的免疫抑制前,机会性肿瘤发生率较高的原因。

3.3 其他 NKp30 不仅能抗肿瘤及病毒感染,还能杀灭真菌;Li 等^[30]研究证实 NKp30 在 NK 细胞识别和杀伤真菌生物如隐球菌和假丝酵母菌时发挥了关键的作用,NKp30 参与了 NK 细胞和真菌的结合、PI3K 信号通路的激活以及干扰素的释放;已知 HIV

感染导致的 AIDS 晚期真菌感染是大多数患者最终死亡的原因,De Maria 等已经证实 HIV 感染会导致 NKp30 的下调,这可能是 AIDS 患者晚期易真菌感染的原因之一;更重要的是 Li 等发现 IL-12 能恢复 HIV 感染患者 NKp30 的表达以及 NK 细胞杀伤真菌的活性,因此可通过上调 IL-12 纠正由于 NKp30 表达量减少导致的 HIV 感染患者 NK 细胞抗真菌活性缺陷。此外,徐红等^[31]还发现盆腔子宫内膜异位症患者外周血及腹腔液中的 NKp30 表达水平均明显下调且腹腔液中下调更明显,由 NKp30 介导的 NK 细胞杀伤功能也随之下降,提示盆腔局部免疫功能的改变可能是导致盆腔子宫内膜异位症发病的原因。

NK 细胞在机体抗肿瘤、抗病毒感染等方面均发挥了至关重要的作用,而 NKp30 作为 NK 细胞的活化性受体,是 NK 细胞发挥杀伤活性的关键因素之一,目前的研究已经表明 NKp30 在多种肿瘤及病毒感染时表达水平失调,且可能参与了肿瘤及病毒的免疫逃逸,因此我们可将 NKp30 做为肿瘤免疫治疗的靶点,通过各种方式调控 NKp30 的表达水平或与其配体的结合来增强 NK 细胞的杀伤活性,但是 NKp30 具体的作用机制研究尚不够全面;相信随着对 NKp30 研究的深入,我们可能会开辟出肿瘤及病毒感染免疫治疗的一条新路,尽早的将 NKp30 应用于临床工作中。

参考文献:

- [1] Vivier E, Raulet D H, Moretta A, et al. Innate or adaptive immunity? The example of natural killer cells[J]. Science, 2011,331(6013):44
- [2] Vivier E, Ugolini S, Blaise D, et al. Targeting natural killer cells and natural killer T cells in cancer[J]. Nat Rev Immunol, 2012,12(4):239
- [3] Carrega P, Morandi B, Costa R, et al. Natural killer cells infiltrating human nonsmall-cell lung cancer are enriched in CD56 (Bright) CD16(-) cells and display an impaired capability to kill tumor cells[J]. Cancer, 2008,112(4):863
- [4] Bulmer J N, Morrison L, Longfellow M, et al. Granulated lymphocytes in human endometrium: histochemical and immunohistochemical studies [J]. Hum Reprod, 1991, 6: 791
- [5] Moretta L, Moretta A. Unravelling natural killer cell function: triggering and inhibitory human NK receptors[J]. EMBO J, 2004, 23(2):255
- [6] Koch J, Steinle A, Watzl C, et al. Activating natural cytotoxicity receptors of natural killer cells in cancer and infection[J]. Trends Immunol, 2013,34(4):182
- [7] Fauriat C, Just-Landi S, Mallet F A, et al. Deficient expression of NCR in NK cells from acute myeloid leukemia: evolution during leukemia treatment and impact of leukemia cells in NCRdull phenotype induction[J]. Blood, 2007, 109(1):323
- [8] Pende D, Parolini S, Pessino A, et al. Identification and molecular characterization of NKp30, a novel triggering receptor involved in natural cytotoxicity mediated by human natural killer cells[J]. J Exp Med, 1999, 190(10):1505

- [9] Ponnampalam A P, Gargett C E, Rogers P A. Identification and hormonal regulation of a novel form of NKp30 in human endometrial epithelium[J]. *Eur J Immunol*, 2008,38(1):216
- [10] Li Y, Wang Q, Mariuzza R. Structure of the human activating natural cytotoxicity receptor NKp30 bound to its tumor cell ligand B7-H6[J]. *J Exp Med*, 2011,208(4):703
- [11] Joyce M G, Tran P, Zhuravleva M A, et al. Crystal structure of human natural cytotoxicity receptor NKp30 and identification of its ligand binding site[J]. *Proc Natl AcadSci U S A*, 2011,108(15):6223
- [12] Neville M, Campbell R. A new member of the Ig superfamily and a V-ATPase G subunit are among the predicted products of novel genes close to the TNF locus in the human MHC[J]. *J Immunol*, 1999, 162(8):4745
- [13] Delahaye N F, Rusakiewicz S, Martins I, et al. Alternatively spliced NKp30 isoforms affect the prognosis of gastrointestinal stromal tumors[J]. *Nat Med*, 2011,17(6):700
- [14] Jarahian M, Fiedler M, Cohnen A, et al. Modulation of NKp30- and NKp46 -Mediated natural killer cell responses by poxviral hemagglutinin[J]. *PLoS Pathog*, 2011,7(8):e1002195
- [15] Arnon T I, Achdout H, Levi O, et al. Inhibition of the NKp30 activating receptor by pp65 of human cytomegalovirus[J]. *Nat Immunol*, 2005,6(5):515
- [16] Hoechst B, Voigtlaender T, Ormandy L A, et al. Myeloid derived suppressor cells inhibit natural killer cells in patients with hepatocellular carcinoma via the NKp30 receptor [J]. *Hepatology*, 2009,50(3):799
- [17] Simhadri V, Reiners K, Hansen H, et al. Dendritic cells release HLA-B-associated transcript-3 positive exosomes to regulate natural killer function[J]. *PLoS One*, 2008,3(10):e3377
- [18] Mavoungou E, Held J, Mewono L, et al. Duffy binding-like domain is involved in the NKp30-mediated recognition of plasmodium falciparum-parasitized erythrocytes by natural killer cells[J]. *J Infect Dis*, 2007,195(10):1521
- [19] Hecht M L, Rosental B, Horlacher T A, et al. Natural cytotoxicity receptors NKp30, NKp44 and NKp46 bind to different heparan sulfate/heparin sequences[J]. *J Proteome Res*, 2009,8(2, SI):712
- [20] Nieto-Velázquez N G, Torres-Ramos Y D, Muñoz-Sánchez J L, et al. Altered expression of natural cytotoxicity receptors and NKG2D on peripheral blood NK cell subsets in breast cancer patients[J]. *Transl Oncol*, 2016,9(5):384
- [21] Garcia-Iglesias T, Del Toro-Arreola A, Albarran-Somoza B, et al. Low NKp30, NKp46 and NKG2D expression and reduced cytotoxic activity on NK cells in cervical cancer and precursor lesions[J]. *BMC Cancer*, 2009,9:186
- [22] Pesce S, Tabellini G, Cantoni C, et al. B7-H6-mediated downregulation of NKp30 in NK cells contributes to ovarian carcinoma immune escape[J]. *Oncoimmunology*, 2015,4(4):e1001224
- [23] Semeraro M, Rusakiewicz S, Zitvogel L A. Natural killer cell mediated immunosurveillance of pediatric neuroblastoma[J]. *Oncoimmunology*, 2015,4(11):e1042202
- [24] Fend L, Rusakiewicz S, Adam J, et al. Prognostic impact of the expression of NCR1 and NCR3 NK cell receptors and PD-L1 on advanced non-small cell lung cancer[J]. *Oncoimmunology*, 2017,6(1):e1163456
- [25] Castriconi R, Cantoni C, Della C M, et al. Transforming growth factor beta 1 inhibits expression of NKp30 and NKG2D receptors: Consequences for the NK-mediated killing of dendritic cells[J]. *Proc Natl AcadSci U S A*, 2003,100(7):4120
- [26] 江金华,周智锋,李洁羽,等.原发性肝癌和癌旁组织中 NK 细胞受体表达及意义[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2012,28(5):529
- [27] Zou Y, Bao J J, Pan X F, et al. NKp30-B7-H6 interaction aggravates hepatocyte damage through Up-Regulation of interleukin-32 expression in hepatitis B Virus-Related Acute-On-Chronic liver failure[J]. *PLoS One*, 2015,10(8):e0134568
- [28] Mantovani S, Mele D, Oliviero B A, et al. NKp30 isoforms in patients with chronic hepatitis C virus infection[J]. *Immunology*, 2015,146(2):234
- [29] De Maria A, Fogli M, Costa P, et al. The impaired NK cell cytolytic function in viremic HIV-1 infection is associated with a reduced surface expression of natural cytotoxicity receptors (NKp46, NKp30 and NKp44)[J]. *Eur J Immunol*, 2003,33(9):2410
- [30] Li S S, Kyei S K, Timm-McCann M, et al. The NK receptor NKp30 mediates direct fungal recognition and killing and is diminished in NK cells from HIV-Infected patients[J]. *Cell Host Microbe*, 2013, 14(4):387
- [31] 徐红,程忠平,马庆良,等.盆腔子宫内膜异位症患者 NK 细胞表面自然细胞毒受体表达的研究[J]. *现代妇产科进展*, 2007,16(5):358

(2018-10-17 收稿)