DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.05.034
第25卷第5期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 5
2003年3月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Mar. 2003

文章编号:1000-5404(2003)05-0449-03

综述

NKT细胞与肿瘤免疫

Natural killer T cells and tumor immunity

唐春兰 综述,杨和平 审校 (第三军医大学附属西南医院呼吸内科,重庆 400038)

1 概述

自然杀伤T细胞(NKT细胞)是由Budd等在1987年首先报道的,以后有大量的研究表明这类细胞是不同于传统T细胞的新一类T细胞,在发育、表型及免疫功能等方面有其自身的特殊性。

NKT细胞具有广泛的特性区别于传统的T细胞和NK细胞。典型的NKT细胞在小鼠中定义为$NK1.1^{+}\alpha\beta TCR^{+}$细胞,它们受CD1d限制而不依赖于MHC,具有高度偏向的TCR库,其α链为单一恒定的链,由Vα14和Jα281基因片段编码,与之相连的β链常为Vβ8、Vβ2或Vβ7;而人类为Vα24与JαQ基因编码,与之相连的β链为Vβ11和Vβ13[1]。

一旦受到刺激,NKT细胞具有强大的能力产生免疫调节因子,包括IL-4、IL-10、IL-13和IFN-γ[2,3],强有力的影响获得性免疫应答的性质。NKT细胞也表达广泛的细胞死亡效应分子,并已证实可在体外杀伤肿瘤靶细胞。

2 NKT细胞配基

NKT细胞可表达CD3/αβTCR表明它们需要TCR特异性的识别才能被活化。小鼠和人NKT细胞高度偏向的TCR基因重排,也可能反映了NKT细胞的发育以及活化受CD1d限制[2]。大多数NKT细胞看起来可识别与CD1d结合的疏水配基(可能是糖脂类),但这些配基的确切性质仍不清楚。糖基磷脂酰肌醇和磷酸肌醇甘露糖可能是天然配基家族成员之一。NKT细胞在CD1d存在情况下可与肿瘤来源的脂类提取物(包括磷脂类)发生反应,表明它们也可能是天然脂类配基。

α-半乳糖基神经酰胺(α-Galactosylceramide,α-GalCer)是一种从海绵中分离的鞘糖脂,能够清除小鼠中的肿瘤。α-GalCer是鼠NKT细胞的强有力刺激剂,α-GalCer和它的人工合成等价物,KRN7000,能够与小鼠和人类的CD1d分子结合,并刺激NKT细胞[4]。这个免疫识别系统的高度保守性引起人们以极大热情应用α-GalCer治疗和防止人类疾病。研究NKT TCR和CD1d与α-GalCer的相互作用表明,α-GalCer的碳氢化合物部分既可与CD1d相互作用,又可被恒定的TCR识别。尽管GalCer是某些哺乳类组织中的主要组成成分,特别是中枢神经系统,但由于哺乳类动物以及许多其它有机体不能合成α-鞘糖脂,因此大部分是β-GalCer,而不是α-GalCer。NKT细胞能够区别与脂类相连的碳氢化合物的差别,β-GalCer虽能结合CD1d,但不能激活NKT细胞。α-GalCer并不是NKT细胞的生理上的配基,但是,α-GalCer可以模拟自身抗原被NKT细胞识别。α-GalCer已被广泛应用于在体研究NKT细胞的活化对多种免疫应答的作用。

3 NKT细胞在抗肿瘤免疫中的作用

过去的几年,许多研究表明NKT细胞在促进肿瘤排斥中发挥重要作用,特别是在肿瘤免疫治疗的实验模型中,如IL-12或α-GalCer治疗等。

NKT细胞可在体内外介导抗肿瘤细胞的细胞毒效应,提示其在肿瘤免疫中起重要作用。一些研究显示,小鼠NKT细胞可被诱导参与抗肿瘤反应,但并不意味着这就是此类细胞的天然功能。尽管体外试验支持NKT细胞可直接作为抗肿瘤效应细胞而发挥作用,但不排除NKT细胞的主要功能是通过激活其它免疫效应细胞,如NK细胞来实现的可能。与此同时,大量的研究认为NKT细胞的抗肿瘤作用与IL-12密切相关。以往认为IL-12主要是通过作用于NK细胞和T细胞而发挥其抗肿瘤作用,而最近的研究证实NKT细胞是IL-12抗肿瘤作用的主要效应细胞,而且IL-12依赖于NKT细胞介导肿瘤排斥可能是模型和剂量依赖的[5,6]。α-GalCer治疗的小鼠也可诱导CD1d限制NKT细胞依赖的肿瘤排斥。

大量的研究表明NKT的重要生理功能之一是抗肿瘤和抗肿瘤转移,并且主要是通过穿孔蛋白途径发挥其作用。Cui和Kawano等用抗-Fas/FasL、抗-NK1.1、抗-Vβ8、抗-IFN-γ、抗-CD1d等均不能阻断NKT细胞介导的抗肿瘤细胞毒作用;但抑制穿孔蛋白活性,就能阻断该细胞毒作用。

3.1 IL-12在NKT细胞抗肿瘤免疫中的作用

IL-12除了具有不依赖于免疫细胞的抗血管生成作用外,还行使多种抗肿瘤效应,包括激活NK细胞、NKT细胞以及T细胞[1]。IL-12通过多种机制发挥它的抗肿瘤效应,包括以剂量和肿瘤依赖的方式活化NKT细胞和NK细胞,并且NK细胞的活化位于NKT细胞活化之后。Taniguchi和他的同事证实IL-12对黑色素瘤的抗肿瘤作用仅仅依赖于NKT细胞[7]。若荷瘤小鼠的Jα281基因缺陷(无NKT细胞),则不能控制B16黑色素瘤的生长和转移,而野生型小鼠则可以控制。最近研究发现[5,6],给予外源性细胞因子的剂量可决定何种效应细胞介导抗肿瘤活性。NKT细胞介导肿瘤排斥需要内源性IL-12的产生(如甲基胆蒽诱导的肿瘤),给予荷瘤小鼠低剂量外源性IL-12主要通过NKT细胞介导抗肿瘤转移活性,而高剂量的IL-12主要是通过NK细胞介导。NKT细胞和NK细胞介导IL-12诱导的抗肿

作者简介:唐春兰(1972—),女,四川省华莹市人,硕士研究生,主治医师,主要从事肺癌的诊断和治疗方面的研究。电话:(023)68752963

收稿日期:2002-11-18;修回日期:2003-01-10

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

瘤活性的效应分子可能是不同的。这些研究表明这两种细胞毒性效应细胞群体在肿瘤监视中有独特的作用。大体上说,IL-12在抗肿瘤免疫中的最显著效应是有能力诱导NKT细胞的抗肿瘤转移功能[8]。在B16黑色素瘤、甲基胆蒽诱导或自发性肉瘤模型中,IL-12刺激的NKT细胞可显著减少肿瘤向肝脏/肺脏转移的数量。NKT细胞也可在诱导产生获得性抗肿瘤CTL活性或其它抗肿瘤反应中发挥重要的间接作用。例如,α-GalCer刺激的NKT细胞可增强抗肿瘤CTL的产生,而且也可以IL-12依赖的方式诱导记忆T细胞的旁路增殖。

3.2 α-GalCer在NKT细胞抗肿瘤免疫中的作用

α-GalCer具有显著的能力治疗多种实验性肿瘤。α-GalCer活化的NKT细胞可迅速分泌IFN-γ和诱导DC产生IL-12。这些细胞因子是NK细胞的强力活化剂,增强IFN-γ的分泌以及细胞毒性[9]。也有证据表明α-GalCer诱导的IFN-γ可增强肿瘤特异性CD8+细胞毒T细胞的产生,也有助于α-GalCer的抗肿瘤转移活性。这样α-GalCer通过刺激活化NKT细胞,既可增强天然免疫系统的抗肿瘤细胞毒性,也可增强获得性免疫系统的抗肿瘤细胞毒性。在缺乏α-GalCer刺激的情况下,较少证据支持NKT细胞参与肿瘤监视。但是,在甲基胆蒽诱导的纤维肉瘤模型中发现,即使缺乏外源性α-GalCer的刺激,NKT细胞也可发挥抗肿瘤功能,阻碍纤维肉瘤的发生。

然而,尽管α-GalCer活化的NKT细胞在体外能够杀伤多种肿瘤靶细胞,但越来越多的证据表明体内的其它细胞是主要的效应细胞[4]。因为给予α-GalCer可导致NKT细胞在数小时内大量丧失,不能有效的溶解肿瘤细胞。研究显示,通过α-GalCer在体内清除肿瘤细胞并不需要肿瘤细胞表达CD1d,也说明存在另外的效应群体。最近发现对于α-GalCer的抗肿瘤转移活性,NK细胞是主要的效应细胞。

3.3 NKT细胞在抗肿瘤免疫中的天然作用

尽管外源性细胞因子或配基活化的NKT细胞可明确介导抗肿瘤活性,但最近证实NKT细胞在抗肿瘤免疫中具有天然作用。如产生IL-4的NK1.1+CD4-CD8-T细胞能够排斥MHC阴性F9胚胎瘤细胞;特别是在TCR Jα281基因缺陷(NKT细胞缺陷)的小鼠中证实NKT细胞在保护甲基胆蒽诱导的自发性肿瘤中发挥极其关键的作用[10,11]。进一步评价甲基胆蒽诱导的肿瘤,结合NKT细胞转移实验,证实除了NK细胞、CD8+T细胞、APC、穿孔素以及IFN-γ之外,NKT细胞在阻止肿瘤生长中起重要作用[11]。是否某些肿瘤细胞表达糖脂配基刺激NKT细胞活性或在NKT细胞缺陷的小鼠中易于发生自发性肿瘤尚需进一步证明。

4 NKT细胞介导抑制抗肿瘤免疫反应

大多数研究均支持NKT细胞在抑制肿瘤生长或转移中起直接或间接的作用。但也有研究表明NKT细胞有能力负向影响特异性的抗肿瘤免疫反应。在B16黑色素瘤模型中,从肿瘤浸润淋巴细胞中分离的NKT细胞克隆能够产生TGF-β抑制抗肿瘤CTL的产生。Moodycliffe等[12]研究表明,NKT细胞($CD3^+$,$DX5^+$)可介导UV诱导的免疫抑制,导致增加对皮肤癌的易感性。尽管这篇文章把这些DX5+的细胞作为NKT细胞,但它们不同于典型的Vα14+Jα281+CD1d限制的NKT细胞。Terabe等[13]也证实NKT细胞可抑制CTL细胞介导的抗肿瘤功能,可能是通过NKT细胞产生的IL-13经IL-4R-STAT6途径下调免疫监视功能。

由于NKT细胞可快速产生多种具有完全不同免疫调节作用的细胞因子,其对免疫反应的作用是促进,还是抑制,尚难以定论。近来的报道显示,其在肿瘤的控制与防止复发的过程中,免疫抑制功能可能起一定的作用。

5 NKT细胞在人类肿瘤免疫治疗中的应用前景

由于在哺乳类动物中,CD1d/NKT细胞系统是高度保守的,人CD1d结合α-GalCer的复合物可刺激人NKT细胞产生细胞因子和细胞毒性。因此,有可能操纵NKT细胞用于人类肿瘤的免疫治疗,但还面临许多障碍需要解决。

一个最明显的障碍是人类的NKT细胞的比例显著低于小鼠,因此在小鼠中成功的治疗方案应用于人体未必有效。但是人NKT细胞可在体外扩增,过继转移实验表明小量的NKT细胞和NK细胞可协同抑制肿瘤转移。因此有望通过过继转移细胞因子和/或α-GalCer激活的NKT细胞来达到抗肿瘤的作用。另一需要考虑的问题是在小鼠中α-GalCer的治疗并不是没有副作用。α-GalCer对小鼠的肝脏有显著的毒性,大剂量时可引起小鼠死亡。此外,α-GalCer还可以引起孕鼠流产。但在应用α-GalCer治疗人肿瘤的过程中未观察到明显的副作用,可能与人NKT细胞数量较少有关。此外,NKT细胞的功能既具有攻击性又具有抑制性,对其在肿瘤治疗中的应用要十分慎重。

总之,随着对NKT细胞认识的不断深入,利用NKT细胞进行肿瘤的免疫治疗相信不久将应用于临床,这将为肿瘤以及肿瘤转移的治疗和预防开辟一条新的途径。

关键词:自然杀伤T细胞(NKT细胞);肿瘤;免疫治疗
中图法分类号:R392.12;R730.51 文献标识码:A

参考文献:

[1] Smyth M J, Crowe N Y, Hayakawa Y, *et al*. NKT cells - conductors of tumor immunity[J]. Curr Opin Immunol, 2002, 14(2): 165-171.

[2] Godfrey D I, Hammond K J, Poulton L D, *et al*. NKT cells: facts, functions and fallacies[J]. Immunol Today, 2000, 21(11): 573-583.

[3] Smyth M J, Godfrey D I. NKT cells and tumor immunity-a double-edged sword[J]. Nat Immunol, 2000, 1(6): 459-460.

[4] Wilson M T, Singh A K, Van Kaer L. Immunotherapy with ligands of natural killer T cells[J]. Trends Mol Med, 2002, 8(5): 225-231.

[5] Takeda K, Hayakawa Y, Atsuta M, *et al*. Relative contribution of NK and NKT cells to the anti-metastatic activities of IL-12[J]. Int Immunol, 2000, 12(6): 909-914

[6] Smyth M J, Taniguchi M, Street S E. The anti-tumor activity of IL-12: mechanisms of innate immunity that are model and dose dependent[J]. J Immunol, 2000, 165(5): 2665-2670.

[7] Cui J, Shin T, Taniguchi M, *et al*. Requirement for Valpha14 NKT cells in IL-12-mediated rejection of tumors[J]. Science, 1997, 278(5343): 1623-1626.

[8] Brutkiewicz R R, Sriram V. Natural killer T (NKT) cells and their role in antitumor immunity[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2002, 41(3): 287-298.

[9] Hayakawa Y, Takeda K, Yagita H, *et al*. Critical contribution of IFN-

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

gamma and NK cells, but not perforin-mediated cytotoxicity, to anti-metastatic effect of alpha-galactosylceramide[J]. Eur J Immunol, 2001, 31(6): 1720—1727.

[10] Smyth M J, Thia K Y, Street S E, *et al*. Differential tumor surveillance by natural killer (NK) and NKT cells[J]. J Exp Med, 2000, 191(4): 661—668.

[11] Smyth M J, Crowe N Y, Godfrey D I. NK cells and NKT cells collaborate in host protection from methylcholanthrene-induced fibrosarcoma[J]. Int Immunol, 2001, 13(4): 459—463.

[12] Moodycliffe A M, Nghiem D, Clydesdale G, *et al*. Immune suppression and skin cancer development: regulation by NKT cells[J]. Nat Immunol, 2000, 1(6): 521—525.

[13] Terabe M, Matsui S, Noben-Trauth N, *et al*. NKT cell-mediated repression of tumor immunosurveillance by IL-13 and the IL-4R-STAT6 pathway[J]. Nat Immunol, 2000, 1(6): 515—520.

（编辑 薛国文）

文章编号：1000-5404(2003)05-0451-03

综述

“难治性哮喘”的特点及机制

The characteristics and mechanisms of difficult asthma

林科雄，王长征 （第三军医大学附属新桥医院全军呼吸内科研究所，重庆 400037）

通过吸入激素(ICS)和吸入β_2受体激动剂治疗后，大多数哮喘患者能达到有效控制，但是仍有少数患者通过充分的哮喘治疗包括使用全身性激素治疗后仍不能有效控制，临床上通常称为“难治性哮喘”(Difficult asthma)。这部分患者需要经常急诊就诊和住院治疗，是导致哮喘治疗费用增加的主要原因。现将就难治性哮喘的特点及机制进行综述。

1 定义和诊断

1.1 定义

过去用于描述“难治性哮喘”的术语很多[1,2]，如：急性困难的(Difficult acute)、慢性困难的(Difficult chronic)、慢性重症(Chronic severe)、急性重症(Acute severve)、治疗抵抗(Therapy resistant)，难控制的(Difficult to control)、糖皮质激素抵抗(Corticosteroid resistant)或糖皮质激素依赖(Corticosteroid dependent)、症状持续的(Symptomatic)、威胁生命的(Lifethreatening)和致命的(Fatal)等，说明难治性哮喘临床表现的多样性。由于临床术语应用混乱，常常导致对难治性哮喘的研究缺乏可比性。

最近，美国胸科协会(ATS)使用“顽固性哮喘”(Refactory asthma)来描述这类治疗困难的哮喘，其定义为[3]：在排除其他诊断，导致哮喘加重的因素得到治疗，患者治疗依从性较好，患者仍具有下列一个或两个主要特点同时具有两个次要特点的哮喘。

主要特点：要达到轻—中度哮喘控制的水平：①需要持续应用或接近持续应用(1 年中超过 50%的时间)口服糖皮质激素治疗。②需要应用大剂量吸入激素(ICS)治疗。大剂量 ICS 的标准为：二丙酸倍氯米松(BDP)＞ 1 260 μg/d；布地耐得(BUD)≥ 1 200 μg/d；氟尼缩松(FLU)和曲安奈德(TAA)＞ 2 000 μg/d 和丙酸氟替卡松(FP)＞880 μg/d。

次要特点：①除每天需要应用 ICS 治疗外，还需要使用长效β_2-激动剂、茶碱或抗白三烯药治疗。②每天或接近每天均需要使用短效β_2-激动剂缓解哮喘症状。③持续的气流阻塞(FEV1＜ 80% 预计值；PEF 日内变异率＞ 20%)。④每年急诊就诊次数超过 1 次。⑤每年需要使用 3 次以上口服糖皮质激素治疗。⑥口服激素或 ICS 减量≤25%即导致哮喘恶化。⑦过去有过濒死(Near fatal)的哮喘发作。

在吸入激素已广泛应用于哮喘治疗的今天，该定义将患者对大剂量吸入激素反应性作为最重要的诊断标准，临床上对于判定患者哮喘是否“难治”具有重要的指导意义。

1.2 哮喘的诊断

哮喘诊断的准确无误是诊断难治性哮喘的基础。哮喘诊断依赖于病史和可变的可逆性气流阻塞的证据。由于能导致同气流阻塞相关的喘息的原因较多，因此，对于诊断为哮喘但对哮喘治疗反应较差的患者，应当仔细分析其它可能的诊断，包括：囊性纤维化、支气管扩张、吸入异物、气管支气管软化、COPD、充血性心力衰竭、中央气道肿瘤或肿瘤压迫中央气道、阻塞性支气管炎、声带功能异常、支气管淀粉样变、过敏性支气管肺曲霉菌病和肺部嗜酸性细胞(EOS)疾病(如肺 EOS 炎或 Chug-Strauss 综合征)等[3-5]。这些表面上类似于哮喘的疾病对于抗哮喘治疗反应较差，有的可以与哮喘并存，但这些疾病对哮喘严重程度和控制的影响尚不清楚。

1.3 哮喘治疗的评估

由于判定患者对 ICS 的治疗反应是难治性哮喘定义的一部分，因此难治性哮喘患者的识别必须建立在经过一段时间治疗尤其是使用 ICS 治疗后。首先应当确定患者使用 ICS 的量已达到定义中的 ICS 剂量水平，只有在患者经大剂量 ICS 治疗后哮喘仍未达到控制才有可能是难治性哮喘。

2 难治性哮喘的机制

2.1 气道炎症持续存在

难治性哮喘的病理生理学特点之一是过度的气道狭窄，这种严重的气道狭窄可能与气道平滑肌的数量增加、气道壁的炎

作者简介：林科雄(1969—)，男，贵州省织金县人，博士，主治医师，讲师，主要从事哮喘发病机制及治疗方面的研究，发表论文 9 篇。电话：(023)68753781

收稿日期：2002-10-08；修回日期：2002-12-20

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net