

# NK 细胞免疫识别及其调节机制与免疫相关性疾病

田志刚,魏海明,孙 沛

(中国科学技术大学生命科学学院免疫学研究所,安徽合肥 230027)

**摘要:**自然杀伤受体(NKR)和 Toll 样受体(TLR)是天然免疫系统最重要的二群天然免疫识别受体家族,位于机体抵抗外来侵袭的第一道防线。二者各自具有独特的识别外来或内源性的危险信号、区分自我和非我的识别机制,是启动固有免疫和适应性免疫应答的关键链接分子。NK 细胞是天然免疫系统的核心成员,具有早期识别和清除病毒感染和肿瘤细胞等功能,同时也是连接天然免疫和获得性免疫的桥梁。以 NK 细胞为载体将 TLRs/NKRs 连接起来,可以较好地反映机体内外环境变化或刺激时固有免疫对适应性免疫的调节作用,为有效控制感染、炎症、肿瘤及自身免疫性疾病提供崭新的治疗策略。

**关键词:** NK; TLR; NK 细胞; 天然免疫; 免疫调节

**中图分类号:** Q28      **文献标识码:** A

## Innate recognition and immune regulation of NK cells in immune-related diseases

TIAN Zhi-gang, WEI Hai-ming, SUN Rui

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

**Abstract:** Natural killer receptors (NKRs) and Toll-like receptors (TLRs) are the most important receptor supfamilies in innate immunity and act as first line of host defense against infection or transformed cells. These receptors exert peculiar recognition mechanisms to sense danger signals and distinguish infectious nonself from noninfectious self, and thereafter work as link molecules between innate and adaptive immunity. NK cells are the most important lymphocytes population, recognize infection and tumor at initial, and play a critical role in linking innate immunity with adaptive immunity. In this paper, we highlight the importance of recognition and interaction of those receptors via NK cells. The precise mechanisms can be harnessed to aid the rational design of therapy against infection, inflammation, cancer or autoimmune diseases.

**Key words:** NK; TLR; NK Cells; innate immunity; immune regulation

**收稿日期:**2008-06-20; **修回日期:**2008-07-02

**基金项目:**国家重点基础研究发展(973)计划(2007CB512405, 2007CB512807, 2006CB504300, 2004CB518807)和国家自然科学基金(30721002, 30730084, 30630059, 30671901, 30570819)资助。

**作者简介:**田志刚, 博士/教授, 国家杰出青年科学基金获得者, 中国科学院“百人计划”入选者, 国家基金委“天然免疫”创新研究群体学术带头人, 中国免疫学会副理事长, 中国免疫学会英文会刊《Cellular & Molecular Immunology》执行主编, 中国免疫学会肿瘤免疫与生物治疗分会会长。1982年山西医科大学(医学本科)、1985年山东省医科院(免疫学硕士)、1989年吉林大学白求恩医学院(免疫学博士)毕业。曾为山东省医科院基础医学研究所所长(1996~2003)、美国国立健康科学研究院(NIH)国立癌症研究所(NCI)访问学者(1994~1996; 2000~2001)和日本金泽大学国立癌症研究所访问教授(2001~2002)。主要从事 NK/NKT 细胞和天然免疫识别与各种肝脏疾病的免疫学机理和应用前景探索。以通讯作者在 Proc Natl Acad Sci USA, Hepatology, Journal of Immunology, Journal of Hepatology 等发表论文 70 余篇。E-mail: tzg@ustc.edu.cn

## 0 引言

免疫系统通过识别自我和非我保护机体免受外来病原体的侵袭,同时又通过对自身抗原的免疫耐受来防止自身免疫性疾病的发生.不适当的免疫应答(对自身抗原产生应答、对外来致病原产生免疫耐受或应答过强等)均会对机体造成严重损伤.为维持机体内环境的平衡,免疫系统在进化过程中形成了多方位、多层次的免疫调控体系(如细胞因子网络、抗体的独特型网络、免疫细胞间的网络调节等).外周抗原特异性 T 细胞耐受的诱导和维持是防止自身反应性免疫应答的关键,而获得性免疫的调节性 T 细胞在调控外周自身反应性 T 细胞中发挥重要作用.近年发现天然免疫细胞(NK、DC、 $\gamma\delta$ T、NKT 等)及其亚群亦参与机体的免疫调节,其中随着 NK 细胞表型和功能的深入研究,NK 细胞在免疫调节中的作用愈来愈引起人们的重视.

天然免疫系统是生物体固有的、对高危致病因子及时反应的“泛特异性”抵御外来侵袭的第一道防线.主要通过胚系编码的模式识别受体(pattern recognition receptors, PRR)识别病原微生物的保守的分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMP),实现对外来病原体的早期识别,进而启动天然免疫的效应机制.迄今为止,TOLL 样受体(Toll-like receptors, TLR)被认为是最重要的模式识别受体,其在天然免疫细胞的表达使机体能够及时感知感染等危险信号.TLR 表达于细胞表面或细胞内的内体,与相应的配体结合后,可启动快速的信号传递,引起转录因子 NF- $\kappa$ B 的活化或 I 型干扰素的产生<sup>[1~5]</sup>.天然免疫系统另一种重要的识别受体为 NK 细胞识别受体(NKR),包括活化性受体和抑制性受体,识别经典或非经典的 MHC I 类分子、应急诱导的 MHC I 类样分子或非 MHC 分子<sup>[6~8]</sup>.NK 细胞通过识别靶细胞上相应活化受体和抑制性受体的配体而区分正常和异常(受到感染或发生恶性转化)的细胞,发挥其免疫监视作用.NKR 不仅表达于 NK 细胞,而且亦表达于其他天然和获得性免疫细胞(如活化的巨噬细胞、 $\gamma\delta$ T 细胞、NKT 细胞、CD8<sup>+</sup> T 细胞等).因此,NKR 和 TLR 作为启动免疫应答的关键分子以及连接固有免疫和适应性免疫的桥梁,已引起极大关注.

## 1 自然杀伤受体区分自我与非我的识别模式

1990 年 Kärre 提出 NK 细胞识别自我与非我的“missing-self”识别模式,认为由 NK 细胞抑制性受体识别或监视靶细胞表面 MHC I 类分子的表达来区分自我和非我,进而启动或抑制 NK 细胞的杀伤或细胞因子分泌功能<sup>[9]</sup>.当细胞表达正常的 MHC I 类分子时,NK 细胞的抑制性受体识别 MHC I 类分子,不发挥杀伤功能.当靶细胞表面 MHC I 类分子表达降低、丢失或发生变异(如细胞发生恶性转化或病毒感染)时,NK 细胞才能活化并启动对靶细胞的杀伤.NK 细胞通过该识别机制与 CTL 特异性识别靶细胞的机制(只杀伤表面带有特异性抗原和相应组织相容性复合体的靶细胞)互补,共同完成机体的免疫监视任务.

随着活化受体 NKG2D 及其配体的发现和研究深入,发现 NK 细胞能够识别靶细胞表面压力(热休克、病毒或细菌感染、恶性转化或高剂量照射等)诱导下所表达的配体(MICA, MICB, ULBP1~4, RAE-1 等)而启动活化信号.这种活化可以不受 NK 细胞抑制性信号的控制,即 NKG2D 的单独活化足以刺激 NK 细胞的活化,并能克服抑制性受体的强势信号.这种被称为“压力诱导(induced-self)”的识别模式使 NK 细胞能够及时识别各种危险信号<sup>[10~12]</sup>.NKG2D 受体在 NK 活化中的独特作用取决于其独特的信号传递途径.NKG2D 不仅表达于所有的 NK 细胞,而且在 CD8<sup>+</sup> T 细胞、 $\gamma\delta$ T 细胞和活化的巨噬细胞均有表达,提示在其他免疫细胞的活化中也起重要作用.

Long 和 Michaëlsson 提出了另一种 NK 细胞识别模式(“modified-self”)<sup>[13, 14]</sup>.非经典的 HLA-E 为 CD94/NKG2A 或 CD94/NKG2C 的配体,其小鼠同源物为 Qa-1<sup>b</sup>.HLA-E 的表达依赖于经典 HLA I 类分子和 HLA-G 的表达及完整的加工递呈机制.应激蛋白 Hsp60 信号序列的肽段与 HLA-E 结合可正反馈上调 HLA-E 的表达,负载 Hsp60 肽段的 HLA-E 不能为 CD94/NKG2A 或 CD94/NKG2C 所识别,因而不能传递抑制性信号而启动 NK 细胞的活化.“modified-self”识别模式认为,在病毒或细菌感染、细胞发生恶性转化等应激状态下,细胞 HLA-E 与应激蛋白 Hsp60 来源肽段的结合降低了 NK 细胞活化的域值进而增强 NK 细胞的天然

免疫监视功能。

## 2 TLRs 区分自我与非我的识别模式

TLRs 是一类进化保守的胚系编码的模式识别受体 (PRR), 通过模式识别的方式识别并结合不同的细菌或病毒的分子结构, 启动机体的天然免疫和引起获得性免疫应答<sup>[1~3]</sup>。TLR1、2、4、5、6、10 表达于细胞表面, TLR7、8、9 位于内体, TLR3 可表达于细胞表面或内体。细胞表面的 TLRs 不仅可识别外源微生物的膜成分, 如革兰氏阴性菌的脂多糖 (LPS)、革兰氏阳性菌的肽聚糖、脂磷壁酸、磷壁酸及病毒的 RNA 等, 而且可感受损伤的组织或细胞释放的内源性配体, 诱导天然免疫应答<sup>[2, 3]</sup>。

同一细胞或不同细胞间 TLRs 各成员间的相互组合可对相对广泛的病原微生物进行特异性识别, 并通过胞质侧的 TIR 功能区 (Toll/IL-1 receptor homologous region), 以 MyD88 依赖或 TRIF (TIR-domain-containing adaptor protein inducing interferon- $\beta$ ) 依赖的方式向胞内传递信号, 引起一系列特异的天然免疫和获得性免疫反应, 以对抗微生物感染乃至慢性炎症 (如哮喘) 及自身免疫性疾病 (如关节炎等)。TLRs 的信号受到多种机制的严格控制, 一系列负调节因子可对 TLRs 的表达和信号进行控制, 以限制天然免疫和炎症应答, 防止过度的炎症反应<sup>[1~3]</sup>。如 SIGIRR、ST2L 和 RP105 可拮抗 TLR 的信号, Triad3 下调 TLR4 和 TLR9 的表达, IRAK-M、MyD88c、IRAK1c 和 IRAK2c/d 抑制 MyD88 的下游通路, SOCS1 和 TRAF1 分别下调 TIRAP 和 TRIF 的表达。TLRs 异常活化或在细胞内的定位错误会导致自身免疫性疾病 (如系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎等) 的发生。

## 3 NKR 与 TLR 之间的调节

尽管 TLR 和 NKR 的生物学特性逐渐露出端倪, 但贯穿几乎所有天然免疫细胞的这两套受体之间的关系尚不明确。目前已有研究表明 TLR 信号可诱导或上调单核/巨噬细胞或肌肉细胞 NK 细胞活化受体配体的表达<sup>[15, 16]</sup>, 但有关这两套受体在天然免疫细胞的分布特性, 两类受体的共表达特性, 两类受体的信号转导通路的分工与交叉, 两类受体对相应细胞的终末生物学功能比较等均为空白领域。

研究表明, NK 细胞表达 TLR2、TLR3、TLR7、TLR8 和 TLR9, 这些受体的刺激剂均可激发 NK

细胞的功能。本实验室的系列研究表明, 通过 NK 细胞的 TLR 可调节 NKR 或其配体的表达进而启动 NK 细胞的活化和功能。应用小鼠肝炎模型, 观察到足够剂量的 TLR3 配基 Poly(I:C) 可以有效活化小鼠肝脏的 NK 细胞, 从而诱发由 NK 细胞介导的小鼠爆发性肝炎<sup>[17]</sup>。有趣的是, 当先注射低剂量 ConA (活化 NKT 但不引起肝损伤), 再注射 Poly(I:C), 则会造成严重的肝损伤, ConA 对 Poly(I:C) 所致肝损伤的加重说明活化 NKT 细胞对 NK 细胞起正向的调节作用。反之, 若事先予小鼠注射低剂量 Poly(I:C), 使肝脏 NK 细胞活化但不引起肝损伤, 再注射 ConA, 小鼠却无肝损伤表现, 提示活化 NK 细胞对 NKT 细胞可能起负向的调节作用<sup>[18, 19]</sup>。进一步的研究发现, 低剂量 Poly(I:C) 通过活化 TLR3 下调肝脏 Kupffer 细胞 TLR4 的表达, 诱导 Kupffer 细胞对 LPS 的耐受, 进而预防或削弱由 LPS/甘露糖联合诱发的爆发性肝炎<sup>[20]</sup>。低剂量 Poly(I:C) 还可活化 NK 细胞, 上调 NK 细胞 NKG2D 受体和肝脏星状细胞 NKG2D 配体 RAE-1 的表达, 以 NKG2D 和 TRAIL 依赖的方式杀伤活化的星状细胞而削弱肝脏的纤维化<sup>[21]</sup>。而 HBV 转基因小鼠对 Poly(I:C) 诱导的肝损伤特别敏感完全依赖于肝脏 NK 细胞的活化及其分泌的 IFN- $\gamma$ <sup>[22]</sup>。Poly(I:C) 亦可以活化小鼠子宫 NK 细胞, 促进其分泌 TNF- $\alpha$  和 IFN- $\gamma$ , 进而影响子宫螺旋动脉的重建, 促进流产的发生<sup>[23, 24]</sup>。最近, 我们发现 TLR 信号可通过诱导 NK 细胞活化受体的异常表达而打破肠道的自身免疫耐受。Poly(I:C) 通过活化 TLR3 诱导小肠上皮细胞表达 NKG2D 的配体 RAE-1 和分泌 IL-15, IL-15 又可诱导小肠 CD8 $\alpha\alpha$  上皮内淋巴细胞 NKG2D 的表达, 导致上皮的破坏和粘膜的损伤<sup>[25, 26]</sup>。而 Poly(I:C) 处理的 NOD 小鼠糖尿病的发生率明显降低, 其原因为长期的 TLR3 信号刺激使 NK 细胞成为以分泌 TGF- $\beta$  为主的 NK3 样表型, 促进小鼠脾脏淋巴细胞呈现 Th2 优势状态, 从而发挥保护作用<sup>[27]</sup>。

以上结果提示 TLR 和 NKR 这两类天然免疫识别受体之间确实存在着 cross-talk, 二者间的相互调节参与了疾病的发生、免疫调节或免疫耐受<sup>[28]</sup>。我们认为, NKR 是机体对内环境的核心反应体系, 当外界环境出现变化时, TLR 可引起内环境变化并进而触发 NKR。NK 细胞可通过 TLR 直接感应环境变化 (突发或慢性刺激) 并由此出现 NKR 的变化, 藉此对后续固有免疫或适应免疫进行正或负调

节,从而参与或调控疾病过程;其他免疫细胞亦可通过 TLR 直接感应环境变化并由此出现 NKR 配基(如 MICA, RAE-1, H-60, Mult-1 等)的变化, NK 细胞可通过已有的 NKR 对后续固有免疫或适应免疫进行正或负调节。

## 4 NK 细胞的免疫学正向调节作用

NK 细胞是体内一类独特的淋巴细胞群体,是机体天然免疫系统的主要成员,占外周血淋巴细胞的 5%~15%,具有早期识别和清除病毒感染和肿瘤细胞等多种生物学功能。NK 细胞对刺激性因素产生应答的过程十分迅速,不需预先刺激即可对病毒感染或恶性转化细胞进行攻击,且一次可调动大多数细胞共同参与;除对肿瘤细胞和病毒感染细胞具有强大的细胞毒活性外, NK 细胞具有强大的分泌细胞因子(如 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、GM-CSF 和趋化因子等)的功能,不仅调节早期天然免疫应答,而且参与调节获得性免疫应答,是连接天然免疫和获得性免疫的桥梁<sup>[29, 30]</sup>。

### 4.1 NK 细胞对 DC 细胞的正向调节作用

天然免疫细胞间的相互调节以 NK 细胞与 DC 细胞间的 cross-talk 最为引人瞩目。淋巴结、炎症部位和肿瘤组织是 NK 细胞与 DC 细胞募集并进行 cross-talk 的主要地点<sup>[31, 32]</sup>。体内清除 NK 细胞可导致肿瘤浸润部位 DC 细胞数量大幅度下降,并进而消除 CTL 对肿瘤的免疫应答。活化的 NK 细胞促进 DC 细胞的活化,并继而激发更有效的 CTL 免疫应答。同时, NK 细胞分泌的 GM-CSF 能促进 DC 细胞的存活和单核前体细胞向 DC 的分化,此过程需要细胞间的接触。NK 细胞可裂解感染或肿瘤细胞,由此释放的细胞碎片或微生物产物可经 DC 细胞吞噬处理,增强内源性抗原的交叉递呈; NK 细胞通过对某些对外来抗原刺激无反应性的 iDC 的杀伤清除,有利于反应性成熟 DC 细胞的募集和增强抗原递呈的效率;活化的 NK 细胞通过产生 IFN- $\gamma$  促进抗原处理、递呈及抗原特异性 T 细胞向 Th1 方向极化; NK 细胞刺激 DC 细胞产生 IL-12,进一步增强 CD8<sup>+</sup> T 细胞应答的诱导; NK 细胞对 DC 的活化使 DC 进一步分化成熟而激发更有效的 CTL 应答<sup>[33~35]</sup>。

### 4.2 NK 细胞对抗原特异性 CTL 细胞活化的启动起必需的辅助作用

NK 细胞对抗原特异性 CTL 细胞的产生起重

要作用,去除 NK 细胞后,体内和体外 CTL 应答明显削弱。在 NKG2D 配体阳性的肿瘤模型中, NK 细胞可促进 CTL 细胞活化,若去除 NK 或 NK 活性丢失,则 CTL 细胞无法活化,肿瘤可继续生长<sup>[36]</sup>。NK 细胞可通过其表面的 CD27 与肿瘤细胞表面 CD70 相互作用促进 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞对肿瘤的排斥能力,此过程依赖于 IFN $\gamma$  的产生<sup>[37]</sup>。IL-2 和 IL-15 可诱导 NK 细胞表达 CD137,而 CD137 刺激的 NK 细胞在体外可诱导活化 T 细胞的扩增,体现了 NK 细胞对 CD8<sup>+</sup> CTL 的正向调节作用<sup>[38]</sup>。

### 4.3 NK 细胞通过分泌 IFN $\gamma$ 促进 Th1 细胞的分化

NK 细胞不仅可通过分泌多种细胞因子和趋化因子间接调节获得性免疫应答,也可通过细胞与细胞接触的形式直接与 T 细胞相互作用。NK 细胞可表达 MHC II 类分子并向 CD4<sup>+</sup> 细胞递呈抗原;天然细胞因子 IL-12 和 IL-15 活化的人 NK 细胞可表达 CD86 和 OX40L 等共刺激因子,从而增强 T 淋巴细胞的增殖和细胞因子产生<sup>[39, 40]</sup>;活化的 NK 细胞与 CD4<sup>+</sup> T 细胞相互作用可能发生于外周组织(如肝脏)和次级淋巴器官(如淋巴结),为人 CD4<sup>+</sup> T 细胞和 NK 细胞间的 cross-talk 提供了直接证据。应用蛋白质组学和流式细胞技术还发现,活化的 NK 细胞通过上调 MHC II 类分子和多种 TCR 共刺激分子(如 B7-H3 和 CD70 等)的表达而有效刺激 T 淋巴细胞; NK 细胞表面活化受体(NKp30、NKp46、NKG2D 和 CD16)与靶细胞配体的交联不仅能对靶细胞发挥裂解功能,而且是 NK 细胞捕捉、摄取抗原进而递呈给 T 淋巴细胞的独特机制;在发生炎症的扁桃腺中分离的 NK 细胞具有抗原递呈细胞的表面标志(HLA-DR, DP, DQ、CD86、CD70、OX40L 等)<sup>[41]</sup>。

### 4.4 NK 细胞对 $\gamma\delta$ T 细胞的正向调节作用

已发现结核病人同时存在 NK 细胞功能低下和  $\gamma\delta$ T 细胞丢失的现象,但 NK 细胞和  $\gamma\delta$ T 细胞之间是否存在因果关系尚不清楚。鉴于 NK 细胞可能具备免疫调节功能,我们推测 NK 细胞可能参与了对结核杆菌反应性  $\gamma\delta$ T 细胞的调节,或者  $\gamma\delta$ T 细胞功能低下或丢失可能是 NK 细胞功能降低的结果。从结核杆菌 H37Ra 菌株胞浆提取的耐热多肽抗原(*Mycobacterium tuberculosis* H37Ra, SHT *M. tb*)具有显著刺激人  $\gamma\delta$ T 细胞增殖的活性。以 SHT *M. tb* 为刺激剂,我们观察到  $\gamma\delta$ T 细胞对 SHT *M. tb* 刺激的增殖反应需要有 NK 细胞参与。继而发

现 *SHTM.tb* 能直接活化 NK 细胞,活化的 NK 细胞通过 CD54(以细胞间接触方式)和分泌可溶性细胞因子(TNF- $\alpha$ , GM-CSF and IL-12)而促进  $\gamma\delta$ T 细胞对 *SHTM.tb* 刺激的免疫应答.由此得出结论,NK 细胞对  $\gamma\delta$ T 细胞对结核杆菌抗原的反应性具有正向调节作用,为 NK 细胞对  $\gamma\delta$ T 细胞的免疫调节提供了依据<sup>[42]</sup>.

## 5 NK 细胞的免疫学负向调节作用

NK 细胞还可以通过细胞毒活性和分泌细胞因子而发挥负向的免疫学调节作用,从而维持免疫系统的自身稳定状态.最近发现,在淋巴结内 CD94/NKG2A<sup>+</sup>/KIR<sup>-</sup> 的 NK 细胞亚群可介导对某些成熟 DC 细胞的裂解,以限制 DC 细胞的成熟和过度活化<sup>[43]</sup>.活化的 NK 细胞与未成熟 DC 间的相互比例可控制这一过程.在 NK/DC 比例低(1:5)时,可促进 DC 细胞因子的产生和成熟,放大 DC 效应;在 NK/DC 比例高(5:1)时,NK 细胞对未成熟 DC 发挥裂解作用<sup>[34,37]</sup>.NK 细胞通过细胞间直接接触,还能上调 T 淋巴细胞细胞周期,抑制蛋白 p21 的表达,导致 G0/G1 期滞留,而抑制 T 淋巴细胞增殖<sup>[44]</sup>.

### 5.1 NK 细胞对 NKT 细胞所致爆发性肝脏免疫损伤的负调节作用

目前已在小鼠建立起多种肝炎模型,如静脉注射 T 细胞丝裂原 ConA 可引起 NKT 细胞依赖的爆发性肝炎<sup>[45]</sup>;LPS 诱导的肝损伤主要由巨噬细胞和肝脏枯否氏细胞(Kupffer)参与,可引起脓毒性肝炎.活化的 NKT 细胞和巨噬细胞对肝细胞具有直接细胞毒活性,还可通过释放炎症因子介导对肝细胞的损伤.但 NK 细胞在肝脏损伤中所起的作用尚不清楚.

本实验室在小鼠体内注射 Poly(I:C),发现肝脏存在 NK 细胞的募集和活化、血清转氨酶升高和轻度的肝损伤.细胞清除实验显示这种肝损伤是 NK 细胞依赖的<sup>[17]</sup>.此肝炎模型的建立,证明 NK 细胞可参与自身免疫性肝炎的发病.有趣的是,当先注射低剂量 ConA(活化 NKT 但不引起肝损伤),再予 Poly(I:C),则会造成严重的肝损伤,ConA 对 Poly(I:C)所致肝损伤的加重说明活化 NKT 细胞对 NK 细胞起正向的调节作用.反之,若事先予小鼠注射低剂量 Poly(I:C),使肝脏 NK 细胞活化但不引起肝损伤,再注射 ConA,小鼠却无肝损伤表现,

提示活化 NK 细胞对 NKT 细胞可能起负向的调节作用<sup>[18,19]</sup>.单纯注射低剂量 ConA 或低剂量 Poly(I:C)并不引起正常小鼠肝损伤,但引起 HBs 抗原转基因小鼠(已发现存在 NK 细胞缺陷)爆发性肝损伤,与转基因小鼠 NK 细胞 NKG2D 过度活化和 NK2 细胞亚群功能失常有关<sup>[22,46]</sup>,HBV 全基因转基因小鼠肝脏切除后再生能力下降与该小鼠 NKT 细胞过度识别 HBV-再生肝细胞的天然免疫抗原 CD1d 分子有关<sup>[47]</sup>,TLR-3 诱生的 IL-15 可以负调节 NKT 细胞并预防爆发性肝损伤<sup>[48]</sup>,应用体内 RNA 干扰技术阻断天然免疫受体 CX3CR1 活化可预防腺病毒介导的急性肝损伤<sup>[49]</sup>.这些研究结果进一步证实肝脏天然免疫细胞及其亚群在肝脏免疫损伤中扮演重要角色<sup>[50,51]</sup>.

### 5.2 NK 细胞在其他自身免疫性疾病中的作用

NK 细胞在自身免疫性疾病发病中的作用尚不明确,存在一些矛盾的结论.已发现,NK 细胞可通过抑制自身反应性 T 淋巴细胞而控制某些自身免疫性疾病的发生.如在实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)SJL/J 小鼠模型中观察到,用抗 NK1.1 单抗清除体内 NK 细胞后加重 EAE 的发病,NK 细胞对髓鞘蛋白脂质蛋白(PLP)特异的自身反应性 T 淋巴细胞具有直接的细胞毒活性<sup>[52]</sup>.用人源化 IL-2R 封闭性单抗治疗葡萄膜炎病人时,发现 CD56<sup>bright</sup> NK 细胞扩增 4~20 倍,该 CD56<sup>bright</sup> NK 细胞分泌大量 IL-10,提示 CD56<sup>bright</sup> NK 细胞可能对消除急性葡萄膜炎的自身免疫损伤有一定作用.对多发性硬化症病人亦发现 NK 细胞能抑制自身 MBP 特异的 T 细胞克隆的形成,对于控制多发性硬化症的发病、改善临床症状有重要作用<sup>[53]</sup>.

## 6 NK 细胞的调节性亚群及“NK-reg”假说的提出

NK 细胞为一异质性的群体,许多学者根据其表型和功能特点将其分为不同的亚群.如根据 NK 细胞表面 CD56 分子表达密度的不同,可将 NK 细胞分为 CD56<sup>bright</sup> 和 CD56<sup>dim</sup> 亚群;根据 NK 细胞分泌细胞因子的不同,可将其分为 NK1 和 NK2 亚群;根据在 IL-2 诱导下所表现出的黏附特点的不同,可分为黏附 NK(A-NK)和非黏附 NK(NA-NK)二亚群等.

### 6.1 CD56<sup>bright</sup> 和 CD56<sup>dim</sup> 亚群

大多数(~90%)人外周血 NK 细胞为 CD56<sup>dim</sup>,

表达高水平的 Fc $\gamma$ R III (CD16), 只有小部分 (~10%) 为 CD56<sup>bright</sup> CD16<sup>dim/neg</sup>. CD56<sup>bright</sup> NK 细胞表达高亲和力的 IL-2 受体、抑制性 CD94/NKG2A 受体、淋巴结归巢分子 L-选择素、CXCR3 和 CCR7, 但 KIR 受体表达水平较低. 而 CD56<sup>dim</sup> NK 细胞缺少高亲和力的 IL-2 受体, 表达多种 NK 细胞抑制性受体(包括 KIRs), 低表达 L-选择素和 CCR7. 功能研究表明, 静止的 CD56<sup>dim</sup> NK 细胞比 CD56<sup>bright</sup> NK 细胞具有更高的细胞毒活性, 而 CD56<sup>bright</sup> NK 细胞亚群以分泌多种细胞因子为主, 主要起免疫调节作用<sup>[54,55]</sup>. 关于二者的发育分化过程尚无定论. 我们以脐血为体外培养体系, 发现 IL-2 和 IL-15 在 NK 细胞的发育分化过程起着不同的作用. IL-15 对 CD56<sup>bright</sup> 和 CD56<sup>dim</sup> 二亚群均有促分化和维持存活的作用, 而 IL-2 仅刺激 CD56<sup>bright</sup> NK 细胞的增殖, 在随后的分裂周期中 CD56<sup>dim</sup> 细胞逐渐发生凋亡而丢失. 提示 IL-15 在保持 NK 前体细胞向 CD56<sup>dim</sup> 细胞的分化和存活中起重要作用<sup>[56]</sup>. 研究发现 AIDS 和部分癌症病人体内 CD56<sup>dim</sup> NK 细胞比例和 NK 细胞毒活性降低<sup>[57]</sup>, 在免疫耐受器官, 如子宫和肝脏, NK 细胞主要由 CD56<sup>bright</sup> 细胞组成, 而 CD56<sup>dim</sup> 细胞比例极少<sup>[58,59]</sup>, 提示 CD56<sup>dim</sup> NK 细胞在抗肿瘤和抗病毒天然免疫中发挥更为重要的作用, CD56<sup>bright</sup> NK 细胞主要起免疫调节作用.

## 6.2 NK1 和 NK2 亚群

我们曾分别检测外周血和 NK 细胞系 Th1 和 Th2 类细胞因子的表达状况, 并分别用 IFN- $\gamma$  和 IL-4 及其单抗进行促漂移研究, 发现 NK 细胞具有与 Th 细胞相似的表达细胞因子群谱特点. 在此研究基础上, 我们提出了“NK 细胞存在与 Th1 和 Th2 相似的 NK1/NK2 细胞亚群”这一假说<sup>[60,61]</sup>. 国外学者亦发现, 人外周血 NK 细胞在 IL-12 和 IL-4 诱导下可分化为类似于 Th1 和 Th2 的二亚群, 并命名为 NK1/NK2<sup>[62]</sup>. 在 IL-12 诱导下 NK 细胞可分泌 IL-10 和 IFN- $\gamma$ (NK1), 而在 IL-4 诱导下可分泌 IL-5 和 IL-13(NK2). 继而证实体内确实存在 NK1 和 NK2 亚群, 通过所分泌的不同细胞因子在免疫系统中发挥正向或负向的调节作用<sup>[63]</sup>. Loza 等提出, NK1 和 NK2 亚群代表 NK 细胞分化发育的不同阶段, 认为 NK1 为未成熟的 NK 细胞, 可在 IL-4 诱导下增殖分化为 NK0 细胞, 产生 IL-13 和 IFN- $\gamma$ , 最后分化为成熟的 NK 细胞, 分泌 IFN- $\gamma$ , 并获得细胞毒活性<sup>[64]</sup>.

Th2 细胞及其产生的细胞因子(IL-4、IL-5 等)在哮喘的发病过程中起关键作用, 被誉为过去 20 年哮喘研究的重大进展. 由于 Th2 类细胞因子的产生不仅限于 CD4<sup>+</sup> T 细胞, CD8<sup>+</sup> Tc 细胞、DC、NK 细胞(分别称为 Tc2、DC2、NK2)均可分泌, 其他细胞是否也参与了哮喘的病理过程尚缺乏相关研究. 本实验室用 FACS 技术对哮喘病人 NK 细胞胞内细胞因子表达和表面标志进行了分析, 发现 8 例哮喘病人外周血单个核细胞中 IL-4<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> NK2 细胞比例均明显高于健康对照组, 经有限稀释获得的 NK 细胞克隆 Th2 类细胞因子表达丰度明显高于对照组, 并观察到转录因子 Stat6(启动 Th2 类细胞因子的转录)的持续活化, 提示哮喘病人的 NK2 优势状态与 Stat6 过度活化有关. 用 IFN- $\gamma$ +抗 IL-4 单抗对哮喘病人新鲜分离的 NK 细胞进行体外培养, 可明显降低 IL-4<sup>+</sup> NK2 细胞的数量. 此部分结果不仅进一步证实了 NK1/NK2 亚群的存在, 而且证明 NK2 细胞参与了哮喘的发病, 而哮喘病人的这种 NK2 优势状态是可以逆转的. 同时观察到经红霉素治疗取得良好临床治疗效果后纯化 NK 细胞的 IL-4 mRNA 表达水平明显降低, 而 IFN- $\gamma$  mRNA 表达水平明显增高, 说明了哮喘病人 NK2 优势状态与疾病的进展的相关性<sup>[65]</sup>.

## 6.3 “NK-reg”假说的提出

越来越多的证据表明 NK 细胞通过分泌细胞因子和细胞间接触的形式发挥正向或负向的免疫学调节功能, 在机体内环境稳定方面起重要作用, 许多疾病(包括恶性肿瘤、自身免疫性疾病、感染、异常妊娠和病理性流产、移植排斥等)的发生可能与 NK 细胞调节功能异常或丢失有关. NK 细胞分泌细胞因子、免疫学调节功能、对机体内环境的稳定, 尤其是对自身免疫性疾病的调节特性与调节性 T 淋巴细胞具有许多相似之处, 因此, 我们提出, 机体可能存在“调节性 NK 细胞”(NK-reg)亚群, 对于天然和获得性免疫起重要的调节作用<sup>[66]</sup>. 本实验室正在努力对这一假说进行验证.

## 7 展望

除了 TLR 和 NKR 之外, 近年发现的其他天然免疫识别受体, 如 NOD (nucleotidebinding oligomerization domain) 蛋白家族 (Nod-like receptor, NLR)、RIG-I/MDA-5 家族、TREM (triggering receptors expressed on myeloid cells) 家

族、C 型凝集素家族等日渐受到关注。它们在识别外源病原微生物并启动天然免疫应答、区分自我与非我维持机体自身稳定中亦起重要作用。例如, NLR 属于胞浆型 PRR, 在识别胞内细菌的肽聚糖、鞭毛蛋白及细菌毒素方面发挥更为主要的作用; RIG-I MDA-5 属于胞浆的 RNA 解旋酶, 主要识别病毒的 RNA。尽管这些模式识别受体的亚细胞定位、在不同细胞亚群的表达、识别病原体的种类、方式及机制, 尤其是在宿主防御、炎症和疾病中的作用尚需深入探讨, 目前的研究结果显示, 这些不同的天然免疫识别受体(TLR 及其他 PRR 与 NKR)之间存在着交叉或互补的信号传导通路, 提示它们作为机体感受病原微生物的感受器, 感受危险信号、识别自我与非我, 相互协同或相互调节, 在天然免疫中发挥独特的功能。我们认为, 以 NK 细胞为载体将 TLRs/NKRs 连接起来, 阐明这两类重要的天然免疫受体间的识别和调节关系, 可以较好地反映机体内外部环境变化或刺激时固有免疫对适应性免疫的调节作用。进一步搞清上述天然免疫受体活化免疫细胞及机体区分自我和外来病原体的确切机制, 将为有效控制感染、炎症、肿瘤及自身免疫性疾病提供崭新的治疗策略。

#### 参考文献(References)

- [ 1 ] Trinchieri G, Sher A. Cooperation of Toll-like receptor signals in innate immune defence [J]. *Nat Rev Immunol*, 2007, 7(3):179-190.
- [ 2 ] Miyake K. Innate immune sensing of pathogens and danger signals by cell surface Toll-like receptors[J]. *Semin Immunol*, 2007, 19 (1):3-10.
- [ 3 ] Kawai T, Akira S. TLR signaling [J]. *Semin Immunol*, 2007, 19(1):24-32.
- [ 4 ] Moretta L, Bottino C, Pende D, et al. Surface NK receptors and their ligands on tumor cells[J]. *Semin Immunol*, 2006, 18(3):151-158.
- [ 5 ] Kabelitz D, Medzhitov R. Innate immunity: Cross-talk with adaptive immunity through pattern recognition receptors and cytokines [J]. *Curr Opin Immunol*, 2007, 19(1):1-3.
- [ 6 ] Moretta L, Moretta A. Unravelling natural killer cell function: Triggering and inhibitory human NK receptors[J]. *EMBO J*, 2004, 23(2): 255-259.
- [ 7 ] Zhang C, Zhang J, Wei H, et al. Imbalance of NKG2D and its inhibitory counterparts: How does tumor escape from innate immunity [J]. *Int Immunopharmacol*, 2005, 5(7-8):1 099-1 111.
- [ 8 ] Wu P, Wei H, Zhang C, et al. Regulation of NK cell activation by stimulatory and inhibitory receptors in tumor escape from innate immunity[J]. *Front Biosci*, 2005, 10;3 132-3 142.
- [ 9 ] Ljunggren H G, Kärre K. In search of the “missing self”: MHC molecules and NK cell recognition [J]. *Immunol Today*, 1990, 11(7):237-244.
- [ 10 ] Raulet D H. Roles of the NKG2D immunoreceptor and its ligands [J]. *Nat Rev Immunol*, 2003, 3 (10): 781-790.
- [ 11 ] Watzl C. The NKG2D receptor and its ligands-recognition beyond the “missing self” [J]. *Microbes and Infection*, 2003, 5(1):31-37.
- [ 12 ] 魏海明, 邬鹏, 田志刚. NK 细胞识别的新模式: 压力诱导模式 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2005, 12(2): 85-88.
- [ 13 ] Long E O, Rajagopalan S. Stress signals activate natural killer cells [J]. *J Exp Med*, 2002, 196 (11): 1 399-1 402.
- [ 14 ] Michaëlsson J, Teixeira de Matos C, Achour A, et al. A signal peptide derived from hsp60 binds HLA-E and interferes with CD94/NKG2A recognition [J]. *J Exp Med*, 2002, 196(11):1 403-1 414.
- [ 15 ] Hamerman J A, Ogasawara K, Lanier L L. Cutting edge: Toll-like receptor signaling in macrophages induces ligands for the NKG2D receptor [J]. *J Immunol*, 2004, 172(4): 2 001-2 005.
- [ 16 ] Schreiner B, Voss J, Wischhusen J, et al. Expression of toll-like receptors by human muscle cells in vitro and in vivo: TLR3 is highly expressed in inflammatory and HIV myopathies, mediates IL-8 release and up-regulation of NKG2D-ligands [J]. *FASEB J*, 2006, 20 (1):118-120.
- [ 17 ] Dong Z, Wei H, Sun R, et al. Involvement of natural killer cells in PolyI: C-induced liver injury [J]. *J Hepatol*, 2004, 41(6):966-973.
- [ 18 ] Wang J, Sun R, Wei H, et al. Pre-activation of T lymphocytes by low dose of concanavalin A aggravates toll-like receptor-3 ligand-induced NK cell-mediated liver injury [J]. *Int Immunopharmacol*, 2006, 6 (5): 800-807.
- [ 19 ] Wang J, Sun R, Wei H, et al. Poly I:C prevents T cell-mediated hepatitis via an NK-dependent mechanism [J]. *J Hepatol*, 2006, 44(3):446-454.
- [ 20 ] Jiang W, Sun R, Wei H, Tian Z. Toll-like receptor 3 ligand attenuates LPS-induced liver injury by down-regulation of toll-like receptor 4 expression on macrophages [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102 (47):17 077-17 082.
- [ 21 ] Radaeva S, Sun R, Jaruga B, et al. Natural killer cells

- ameliorate liver fibrosis by killing activated stellate cells in NKG2D-dependent and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-dependent manners [J]. *Gastroenterology*, 2006, 130(2):435-452.
- [22] Chen Y, Sun R, Jiang W, et al. Liver-specific HBsAg transgenic mice are over-sensitive to Poly(I,C)-induced liver injury in NK cell-and IFN-gamma-dependent manner[J]. *J Hepatol*, 2007, 47(2):183-190.
- [23] Zhang J, Sun R, Wei H, et al. Toll-like receptor 3 agonist enhances IFN-gamma and TNF-alpha production by murine uterine NK cells [J]. *Int Immunopharmacol*, 2007, 7(5):588-596.
- [24] Zhang J, Wei H, Wu D, Tian Z. Toll-like receptor 3 agonist induces impairment of uterine vascular remodeling and fetal losses in CBAxDBA/2 mice[J]. *J Reprod Immunol*, 2007, 74(1-2):61-67.
- [25] Zhou R, Wei H, Sun R, et al. NKG2D recognition mediates Toll-like receptor 3 signaling-induced breakdown of epithelial homeostasis in the small intestines of mice[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(18):7 512-7 515.
- [26] Zhou R, Wei H, Sun R, Tian Z. Recognition of double-stranded RNA by TLR3 induces severe small intestinal injury in mice[J]. *J Immunol*, 2007, 178(7): 4 548-4 556.
- [27] Zhou R, Wei H, Tian Z. NK3-like NK cells are involved in protective effect of polyinosinic-polycytidylic acid on type 1 diabetes in nonobese diabetic mice[J]. *J Immunol*, 2007, 178(4):2 141-2 147.
- [28] Hart OM, Athie-Morales V, O'Connor G M, et al. TLR7/8-mediated activation of human NK cells results in accessory cell-dependent IFN- $\gamma$  production [J]. *J Immunol*, 2005, 175(3):1 636-1 642.
- [29] Sawaki J, Tsutsui H, Hayashi N, et al. Type 1 cytokine/chemokine production by mouse NK cells following activation of their TLR/MyD88-mediated pathways[J]. *Int Immunol*, 2007, 19(3):311-320.
- [30] Newman K C, Riley E M. Whatever turns you on: Accessory-cell-dependent activation of NK cells by pathogens [J]. *Nat Rev Immunol*, 2007, 7(4): 279-291.
- [31] Cooper M A, Fehniger T A, Fuchs A, et al. NK cell and DC interactions[J]. *Trends Immunol*, 2004, 25(1):47-52.
- [32] Moretta A. Natural killer cells and dendritic cells: Rendezvous in abused tissues[J]. *Nat Rev Immunol*, 2002, 2:957-963.
- [33] Raulet D. Interplay of natural killer cells and their receptors with the adaptive immune responses[J]. *Nat Immunol*, 2004, 5(10): 996-1 002.
- [34] Zitvogel L. Dendritic and Natural killer cells cooperate in the control/switch of innate immunity [J]. *J Exp Med*, 2002, 195(3):F9-F14.
- [35] Moretta L, Ferlazzo G, Mingari M C, et al. Human natural killer cell function and their interactions with dendritic cells[J]. *Vaccine*, 2003, 21 Suppl 2:S38-42.
- [36] Geldhof A B, Van Ginderachter J A, Liu Y, et al. Antagonistic effect of NK cells on alternatively activated monocytes: a contribution of NK cells to CTL generation[J]. *Blood*, 2002, 100: 4 049-4 058.
- [37] Kelly J M, Darcy P K, Markby J L, et al. Induction of tumor-specific T cell memory by NK cell-mediated tumor rejection[J]. *Nat Immunol*, 2002, 3(1):83-90.
- [38] Wilcox R A, Tamada K, Strome S E, et al. Signaling through NK cell-associated CD137 promotes both helper function for CD8<sup>+</sup> cytolytic T cells and responsiveness to IL-2 but not cytolytic activity[J]. *J Immunol*, 2002, 169(8):4 230-4 236.
- [39] Assarsson E, Kambayashi T, Schatzle J D, et al. NK cells stimulate proliferation of T and NK cells through 2B4/CD48 interactions[J]. *J Immunol*, 2004, 173:174-180.
- [40] Zingoni A, Sornasse T, Cocks B G, et al. NK cell regulation of T cell-mediated responses [J]. *Mol Immunol*, 2005, 42:451-454.
- [41] Hanna J, Gonen-Gross T, Fitchett J, et al. Novel APC-like properties of human NK cells directly regulate T cell activation[J]. *J Clin Invest*, 2004, 114: 1 612-1 623.
- [42] Zhang R, Zheng X, Li B, et al. Human NK cells positively regulate gammadelta T cells in response to *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *J Immunol*, 2006, 176(4):2 610-2 616.
- [43] Della Chiesa M, Vitale M, Carlomagno S, et al. The natural killer cell-mediated killing of autologous dendritic cells is confined to a cell subset expressing CD94/NKG2A, but lacking inhibitory killer Ig-like receptors[J]. *Eur J Immunol*, 2003, 33: 1 657-1 666.
- [44] Trivedi P P, Roberts P C, Wolf N A, et al. NK cells inhibit T cell proliferation via p21-mediated cell cycle arrest[J]. *J Immunol*, 2005, 174(8):4 590-4 597.
- [45] Takeda K, Hayakawa Y, Van Kaer L, et al. Critical contribution of liver natural killer T cells to a murine model of hepatitis[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 97(10):5 498-5 503.
- [46] 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[J]. *Hepatology*, 2007, 46(3):706-715.



- [47] Dong Z, Zhang J, Sun R, et al. Impairment of liver regeneration correlates with activated hepatic NKT cells in HBV transgenic mice[J]. *Hepatology*, 2007, 45(6):1 400-1 412.
- [48] Li B, Sun R, Wei H, et al. Interleukin-15 prevents concanavalin A-induced liver injury in mice via NKT cell-dependent mechanism[J]. *Hepatology*, 2006, 43(6):1 211-1 219.
- [49] Chen Q, Wei H, Sun R, et al. Therapeutic RNA silencing of Cys-X3-Cys chemokine ligand 1 gene prevents mice from adenovirus vector-induced acute liver injury[J]. *Hepatology*, 2008, 47(2):648-658.
- [50] Gao B, Jeong W I, Tian Z. Liver: An organ with predominant innate immunity[J]. *Hepatology*, 2008, 47(2):729-736.
- [51] Dong Z, Wei H, Sun R, Tian Z. The roles of innate immune cells in liver injury and regeneration[J]. *Cell Mol Immunol*, 2007, 4(4):241-252.
- [52] Xu W, Fazekas G, Hara H, et al. Mechanism of natural killer (NK) cell regulatory role in experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *J Neuroimmunol*, 2005, 163(1-2):24-30.
- [53] Takahashi K, Aranami T, Endoh M, et al. The regulatory role of natural killer cells in multiple sclerosis[J]. *Brain*, 2004, 127(Pt 9):1 917-1 927.
- [54] Cooper M A, Fehniger T A, Caligiuri M A, et al. The biology of human natural killer-cell subsets[J]. *Trends Immunol*, 2001, 22: 633-640.
- [55] Jacobs R, Hintzen G, Kemper A, et al. CD56<sup>bright</sup> cells differ in their KIR repertoire and cytotoxic features from CD56<sup>dim</sup> NK cells[J]. *Eur J Immunol*, 2001, 31: 3 121-3 126.
- [56] Zheng X, Wang Y, Wei H, et al. Bcl-xL is associated with the anti-apoptotic effect of IL-15 on the survival of CD56<sup>dim</sup> natural killer cells[J]. *Mol Immunol* 2008(in press).
- [57] Bauernhofer T, Kuss I, Henderson B, et al. Preferential apoptosis of CD56<sup>dim</sup> natural killer cell subset in patients with cancer[J]. *Eur J Immunol*, 2003, 33:119-124.
- [58] Koopman L A, Kopcow H D, Rybalov B, et al. Human decidual natural killer cells are a unique NK cell subset with immunomodulatory potential[J]. *J Exp Med*, 2003, 198(8):1 201-1 212.
- [59] Eidukaite A, Siaurys A, Tamosiunas V. Differential expression of KIR/NKAT2 and CD94 molecules on decidual and peripheral blood CD56<sup>bright</sup> and CD56<sup>dim</sup> natural killer cell subsets[J]. *Fertility and Sterility*, 2004, 81(suppl. 1):863-868.
- [60] 田志刚,孙沛. NK 细胞的免疫学调节功能[J]. *国外医学肿瘤学分册*, 1997, 24(3):136-138.
- [61] 田志刚. NK 细胞的免疫学调节功能:“NKh1/NKh2 假说”的提出[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2000, 16(5): 371.
- [62] Peritt D, Robertson S, Gri G, et al. Cutting Edge: Differentiation of human NK cells into NK1 and NK2 subsets[J]. *J Immunol*, 1998, 161:5 821-5 824.
- [63] Deniz G, Akdis M, Aktas E, et al. Human NK1 and NK2 subsets determined by purification of IFN- $\gamma$ -secreting and IFN- $\gamma$ -nonsecreting NK cells[J]. *Eur J Immunol*, 2002, 32: 879-884.
- [64] Loza M J, Perussia B. Final steps of natural killer cell maturation: A model for type1-type2 differentiation [J]. *Nat Immunol*, 2001, 2:917-921.
- [65] Wei H, Zhang J, Xiao W, et al. Involvement of human natural killer cells in asthma pathogenesis: Natural killer cell 2 cells in type 2 cytokine predominance[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2005, 115(4):841-847.
- [66] Zhang C, Zhang J, Tian Z. The regulatory effect of natural killer cells: Do “NK-reg cells” exist? [J]. *Cell Mol Immunol*, 2006, 3(4):241-254.