

## • 综 述 •

## NKT 细胞的生物特性及其在多发性骨髓瘤中应用的研究进展\*

姜凤娟 综述 付蓉 审校

**摘要** NKT细胞是一种特殊的T淋巴细胞亚群,其表面既有T细胞受体,又有NK细胞受体。NKT细胞在肿瘤、自身免疫性疾病和微生物感染中起到调节免疫应答的作用,是联系固有免疫和获得性免疫的“桥梁”之一。多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是一种浆细胞异常增殖的恶性血液系统疾病。MM细胞表达CD1d分子并且可被具有CD1d限制性的NKT细胞杀伤。近些年,NKT细胞的抗MM作用成为研究热点,本文就NKT细胞生物特性及其在MM治疗中的应用进行综述。

**关键词** NKT细胞 多发性骨髓瘤 应用 治疗

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.2018.17.747

**Biological properties of natural killer T cell and its applications in multiple myeloma**

Fengjuan Jiang, Rong Fu

Correspondence to: Rong Fu; E-mail: florai@sina.com

Department of Hematology, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China

This work was supported by the Anticancer Major Special Project of Tianjin (No. 12ZCDZSY18000), Tianjin Health and Family Planning Commission (No. 15KG150)

**Abstract** Natural killer T (NKT) cells constitute a distinct subpopulation of T cells that express T-cell receptors and NKT cell markers. NKT cells are one of the bridges that link the innate and adaptive immune systems and play a vital role in regulating immune responses in tumors, autoimmune diseases, and microbial infection. Multiple myeloma is a hematologic malignancy due to the uncontrolled proliferation of plasma cells. Multiple myeloma cells express CD1d and are sensitive to lysis by CD1d-restricted natural killer T cells. In recent years, the antitumor effects of NKT cells in multiple myeloma have become a hot research topic. Here, we reviewed the biological characteristics of NKT cells and their applications in multiple myeloma.

**Keywords:** natural killer T (NKT) cells, multiple myeloma, application, therapy

## 1 NKT 细胞的生物特性

NKT细胞根据其T细胞受体(T cell receptor, TCR)表达类型、对脂类抗原的反应及发育过程中是否具有CD1d依赖性,分为3种类型:I型、II型和III型NKT细胞<sup>[1]</sup>。

I型NKT细胞又称为iNKT细胞(invariant NKT),表达恒定的TCR $\alpha$ 链(在鼠中为V $\alpha$ 14-J $\alpha$ 18,在人体中为V $\alpha$ 24-J $\alpha$ 18),同时共表达V $\beta$ 链(在鼠中为V $\beta$ 8.2、V $\beta$ 7或V $\beta$ 2,在人体中为V $\beta$ 11),并同时能被CD1d分子所提呈的 $\alpha$ -半乳糖神经酰胺( $\alpha$ -galactosylceramide,  $\alpha$ -GalCer)激活,为利用 $\alpha$ -GalCer-CD1d四聚体来检测iNKT细胞提供理论依据。根据CD4和CD8分子的表达情况,人体中iNKT细胞可再分为CD4<sup>+</sup>(12%~36%)、CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>(DN; 60%~85%)、CD4<sup>+</sup>CD8 $\alpha$ <sup>+</sup>(1%~5%)iNKT细胞<sup>[1]</sup>。DN和CD8 $\alpha$ <sup>+</sup>亚群在表型和功能上类似,CD4<sup>+</sup>亚群是一组在

细胞因子产生和受体表达方面与其他显著不同的细胞群。CD4<sup>+</sup>NKT细胞分泌的主要是Th1细胞因子如IFN- $\gamma$ 、TNF,而CD4<sup>+</sup>NKT细胞产生的是Th1和Th2细胞因子(IFN- $\gamma$ 、IL-4、IL-5、TNF、IL-10、IL-13),其中,发挥抗肿瘤作用主要是CD4<sup>+</sup>NKT细胞。然而,在鼠中iNKT细胞可分为CD4<sup>+</sup>(60%~80%)和DN亚群,而CD8<sup>+</sup>NKT细胞亚群并不存在<sup>[1]</sup>。

II型NKT细胞虽然有CD1d依赖性但不能识别 $\alpha$ -GalCer,且TCR链表达不恒定,是一组更为多样的细胞亚群<sup>[2]</sup>,其在人体中所占比例超过鼠<sup>[3]</sup>。II型NKT细胞中有一组最具特征性的亚群,其表达的TCR能识别与CD1d结合的硫酸苷脂(sulfatide; 3-硫酸半乳糖基神经酰胺),且TCR $\alpha$ 链和V $\beta$ 链限制性表达(V $\alpha$ 3/V $\alpha$ 1和V $\beta$ 8.1/V $\beta$ 3.1)<sup>[2,4]</sup>。目前,可应用结合荧光的sulfatide/CD1d四聚体来标记此类细胞,研究其特性与功能<sup>[5]</sup>。近期,其他的脂类抗原分子,包括 $\beta$ -

作者单位:天津医科大学总医院血液科(天津市300052)

\*本文课题受天津市抗癌重大专项攻关计划项目(编号:12ZCDZSY18000)和天津市卫生局重大攻关项目(编号:15KG150)资助

通信作者:付蓉 florai@sina.com

D-glucopyranosyl ceramide ( $\beta$ -GlcCer)、 $\beta$ -GalCer、溶血磷脂酰乙醇胺 (lysophosphatidyl ethanolamine, LPE)、溶血磷脂甘油三酯 (lysophosphatidic triglyceride, LPG)、溶血磷脂酰胆碱 (lysophosphatidylcholine, LPC) 已被证明参与肝脏疾病中 II 型 NKT 细胞的活化<sup>[4]</sup>。此外,据报道 LPC 在肝炎、淋巴瘤和多发性骨髓瘤 (multiple myeloma, MM) 中能激活 II 型 NKT 细胞,并且 LPC/CD1d 四聚体可作为检测 II 型 NKT 细胞的标记,为研究 MM 等疾病的免疫机制提供依据<sup>[6]</sup>。

III 型 NKT 细胞又名 NKT 样 T 细胞,是一组不依赖 CD1d 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 标记分子。由于研究较少,其特征和功能不明确<sup>[7]</sup>。

## 2 NKT 细胞在肿瘤免疫中的作用

有研究证实, I 型 NKT 细胞在抗肿瘤免疫中发挥重要的免疫调节作用。在肿瘤免疫监控系统中该类细胞主要通过直接杀死肿瘤细胞或经与肿瘤细胞接触后激活其他免疫细胞,如 NK 细胞、DC 细胞、T 细胞和 B 细胞,发挥抗肿瘤免疫效应<sup>[8]</sup>。其中,直接途径主要为通过直接识别表达 CD1d 分子的肿瘤细胞并分泌穿孔素、颗粒酶或经 Fas-FasL 发挥杀伤效应(如神经母细胞瘤、白血病细胞和骨髓瘤细胞)<sup>[9]</sup>。另一种途径是 NKT 细胞表面的 TCR 识别 CD1d 分子提呈的糖脂类抗原,激活 I 型 NKT 细胞分泌 Th1 和 Th2 型细胞因子并诱导 NK 细胞增殖和细胞毒性作用。细胞因子的活化使 NKT 细胞可通过 CD40L 与 CD40 的相互作用促进 DC 的成熟和活化。其中,分泌的 IFN- $\gamma$  也可以直接激活 CD8<sup>+</sup>T 细胞和 DC 细胞,并能抑制肿瘤血管生成<sup>[10]</sup>。活化的 DC 可分泌 IL-12 和 IL-18,快速促进 I 型 NKT 细胞合成并分泌 IFN- $\gamma$  和 IL-2。IFN- $\gamma$ 、IL-2 以及成熟 DC 来源的 IL-12 又可以活化 NK 细胞、CD8<sup>+</sup>T 细胞及 B 细胞。活化的 NK 细胞和 CD8<sup>+</sup>T 细胞通过分泌穿孔素、颗粒酶以及表达 FasL 来杀伤肿瘤细胞<sup>[11]</sup>。该途径提示 NKT 细胞是联系固有免疫和获得性免疫的“桥梁”之一。此外, I 型 NKT 细胞还可以通过抑制骨髓来源的抑制性细胞 (myeloid-derived suppressor cells, MDSCs) 来诱发抗肿瘤效应<sup>[12]</sup>。

目前,对于 II 型 NKT 细胞在抗肿瘤免疫中的作用一致认为是负性免疫调节作用。在大量的小鼠模型研究中表明, II 型 NKT 细胞发挥抑制抗肿瘤免疫主要依赖于分泌产生 Th2 细胞因子 IL-13 和 IL-4。IL-13 通过 IL-4R-STAT6 途径并且与 TNF- $\alpha$  联合诱导 CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup>髓样细胞来促进 TGF- $\beta$  的表达<sup>[13-14]</sup>。TGF- $\beta$  是一种有 3 个亚型的多效能细胞因子,其中 TGF- $\beta$ 1 可以抑制 CD8<sup>+</sup>T 细胞的活化,从而下调细胞毒性 T 细胞 (cytotoxic T cells, CTL), 发挥抑制抗肿瘤效应。此外, IL-13 也可以通过诱导 M2 型

巨噬细胞来抑制 CD8<sup>+</sup>T 细胞的功能。应用 IL-13 抑制剂,如可溶性的 IL-13R $\alpha$ 2、抗 TGF- $\beta$  的抗体或减少 MDSCs 均可以恢复 CD8<sup>+</sup>T 细胞的抗肿瘤活性<sup>[15]</sup>。

在肿瘤免疫方面表现出相反作用的 I、II 型 NKT 细胞间也存在相互调节。Ambrosino 等<sup>[16]</sup>研究发现,经 sulfatide 活化的 II 型 NKT 细胞会抑制  $\alpha$ -GalCer 激活 iNKT 细胞时介导的细胞增殖及分泌细胞因子效应。将  $\alpha$ -GalCer 和 sul-fatide 同时应用到 I、II 型 NKT 细胞的共培养体系中时, sulfatide 部分减弱  $\alpha$ -Galcer 的激活作用;同时,  $\alpha$ -Galcer 也减弱 sulfatide 的抑制作用。因此,增强 I 型 NKT 细胞作用同时抑制 II 型 NKT 细胞成为未来抗肿瘤治疗的潜在策略<sup>[17]</sup>。

## 3 NKT 细胞在 MM 中的作用

MM 是以分泌单克隆免疫球蛋白的浆细胞在骨髓内大量增殖为特征的血液系统恶性肿瘤。目前, MM 是研究 NKT 细胞调节抗肿瘤免疫机制的目标肿瘤之一<sup>[18]</sup>。有研究证实<sup>[19-21]</sup>, MM 患者的 I 型 NKT 细胞数量及功能上均存在缺陷,使其抗肿瘤免疫受损。Dhodapkar 等<sup>[21]</sup>对意义未明的单克隆免疫球蛋白血症 (monoclonal gammopathy of undetermined significance, MGUS)、非进展期/进展期 MM 患者及正常对照外周血和骨髓中 iNKT 细胞的分析发现,患者疾病的进展程度与 iNKT 分泌 IFN- $\gamma$  缺陷程度存在明显关联,并且该功能缺陷可以通过体外 DC 细胞联合  $\alpha$ -GalCer 来逆转,间接验证了 NKT 细胞可通过活化 DC 细胞来发挥抗肿瘤作用。对 NKT 细胞的功能进行评估可以用来判断 MM 患者的预后,具有较大研究意义和潜在的临床应用价值<sup>[22]</sup>。

MM 患者的肿瘤细胞主要生长在骨髓,而骨髓中多数 T 细胞发挥免疫作用时具有 CD1d 依赖性,表达 CD1d 分子的 MM 细胞可直接被 NKT 细胞杀灭<sup>[22]</sup>。Spanoudakis 等<sup>[23]</sup>研究发现, MGUS 和初诊 MM 患者其 MM 细胞均高表达 CD1d 分子,而进展期 MM 患者的肿瘤细胞 CD1d 分子表达下调甚至不表达。并且,在 MM 细胞系中发现 CD1d 分子的表达降低了骨髓瘤细胞的存活。因此, CD1d 分子可作为 MM 治疗的切入点。

此外,激活的 iNKT 细胞还可以通过抗血管生成来激活 NK 细胞和 CD8<sup>+</sup>T 细胞介导的抗骨髓瘤免疫效应<sup>[23-24]</sup>。在 Favreau 等<sup>[25]</sup>的最新研究中发现,利用脂肪因子瘦素受体拮抗剂可以增强 iNKT 细胞的抗骨髓瘤细胞效应,为 MM 患者的治疗提供新思路。在该研究中,骨髓瘤骨病 (myeloma bone disease, MBD) 中破骨细胞的激活可能与其 iNKT 细胞数量和功能的缺陷有关<sup>[26]</sup>,而 Spanoudakis 等<sup>[27]</sup>研究发现,骨髓瘤患者的骨髓及外周血中 iNKT 细胞表达高水平的 RANKL,表明 iNKT 细胞可能与破骨细胞的激活有关。同时, Hu

等<sup>[28]</sup>利用iNKT细胞缺陷及野生型小鼠发现,iNKT细胞可以增强破骨细胞前体细胞的生长发育,iNKT细胞对MBD到底起到何种作用还有待于更多的研究。

Chang等<sup>[29]</sup>将LPC和CD1d四聚体结合作为标记来检测骨髓瘤患者及健康者外周血中的Ⅱ型NKT细胞,在骨髓瘤患者中此类细胞高表达,同时高分泌TH2细胞因子,特别是IL-13,验证了Ⅱ型NKT细胞在抗骨髓瘤免疫中发挥抑制性作用,并且推断检测Ⅱ型NKT细胞升高的水平与MM的发病存在直接联系。

#### 4 NKT细胞在MM治疗中的作用

由于目前对于Ⅱ型NKT细胞的生物学特性研究仍处于初级阶段,并且对于MM治疗的研究报道甚少,本文主要对Ⅰ型NKT细胞在MM患者治疗中的作用进行论述。鉴于肿瘤细胞及微环境之间复杂的相互作用,体内iNKT细胞的激活不能充分地发挥抗肿瘤作用。因此,应用联合治疗才能获得最大抗肿瘤免疫治疗的效果。既往研究发现<sup>[19]</sup>,免疫调节药物(immunomodulating agents,IMiDs)沙利度胺及其衍生物来那度胺(lenalidomide,LEN)、泊马度胺(pomalidomide)在临床上的应用明显提高了MM患者的治疗疗效及预后。这类药物的重要作用在于可以在人T细胞包括NKT细胞抗原选择发育过程中提供共刺激信号,并可以通过直接细胞毒作用或间接靶向干扰肿瘤细胞与骨髓微环境之间的相互作用来发挥抗炎、抗血管生成和免疫性调节的作用。Dhodapkar等<sup>[22]</sup>研究表明,LEN可以上调健康人群和MM患者在配体依赖性扩增iNKT细胞时对 $\alpha$ -GalCer的反应能力。并且,在有LEN的基础上,由 $\alpha$ -GalCer联合DCs激活的iNKT细胞有着更强分泌IFN- $\gamma$ 的能力。应用IMiDs如沙利度胺及其衍生物联合地塞米松、硼替佐米、环磷酰胺和阿霉素等化疗药物是目前治疗MM的趋势,并且已在临床上取得了较好的疗效。

目前,利用肿瘤细胞作为肿瘤抗原来研制癌症疫苗已成为研究热点,但其免疫原性低,将肿瘤抗原结合各种佐剂可增强癌症疫苗的免疫原性。已有报道,iNKT细胞的配体 $\alpha$ -GalCer已作为一种强大的佐剂来治疗实体瘤和血液系统恶性肿瘤,包括淋巴瘤和MM<sup>[30]</sup>。Richter等<sup>[20]</sup>对6例无症状的MM患者进行了3个周期的 $\alpha$ -GalCer联合DCs和低剂量的LEN治疗,均取得了良好的治疗效果,患者的M蛋白明显下降,提示LEN对iNKT细胞的促进作用可能具有配体依赖性,联合iNKT细胞的佐剂治疗可能对人类预防及治疗癌症提供新思路。Hong等<sup>[31]</sup>将 $\alpha$ -GalCer联合MOPC315BM骨髓瘤细胞疫苗应用到MM小鼠模型

中,有效地抑制肿瘤生长、诱导已形成的肿瘤消除和阻止幸存小鼠的肿瘤复发。该研究结果表明, $\alpha$ -GalCer联合骨髓瘤细胞疫苗有效地促进了小鼠模型中iNKT依赖的抗肿瘤免疫,并对MM及其他表达CD1d分子的肿瘤提高了以肿瘤细胞为基础的免疫治疗疗效。

#### 5 NKT细胞在治疗MM中的挑战与展望

尽管大量的数据已表明NKT细胞在不同的疾病(包括肿瘤)状态下起到重要的调节作用,但是利用这些细胞特性并在临床实践中获益仍处于起步阶段。原因在于有关NKT细胞治疗的研究多数以小鼠模型或极少例患者为研究对象,并且人和小鼠体内NKT细胞所占的比例不同:小鼠体内的iNKT细胞比例要明显多于人类,而Ⅱ型NKT细胞比例要明显少于人类,NKT细胞在小鼠和人体内产生的生物作用存在较大差别。因此,就目前所提供的可行性数据得出其对临床有影响的任何结论均有较大的局限性。然而,要提高NKT细胞的靶向治疗疗效仍需对NKT细胞配体有更多的了解,并且找到Ⅰ、Ⅱ型NKT细胞在人体中的平衡点。随着对人类NKT细胞的生物学特性研究的不断深入,相信在MM患者中以NKT细胞为靶点的治疗将会获得更多的临床效益。

#### 参考文献

- [1] Godfrey DI, Stankovic S, Baxter AG. Raising the NKT cell family[J]. Nat Immunol, 2010, 11(3):197-206.
- [2] Patel O, Pellicci DG, Gras S, et al. Recognition of CD1d-sulfatide mediated by a type II natural killer T cell antigen receptor[J]. Nat Immunol, 2012, 13(9):857-863.
- [3] Marrero I, Ware R, Kumar V. Type II NKT cells in inflammation, autoimmunity, microbial immunity, and cancer[J]. Front Immunol, 2015, (6):316.
- [4] Nair S, Boddupalli CS, Verma R, et al. Type II NKT-TFH cells against gaucher lipids regulate B- cell immunity and inflammation[J]. Blood, 2015, 125(8):1256-1271.
- [5] Girardi E, Maricic I, Wang J, et al. Type II natural killer T cells use features of both innate-like and conventional T cells to recognize sulfatide self antigens[J]. Nat Immunol, 2012, 13(9):851-856.
- [6] Kumar V, Delovitch TL. Different subsets of natural killer T cells may vary in their roles in health and disease[J]. Immunol, 2014, 142(3):321-336.
- [7] Favreau M, Vanderkerken K, Elewaut D, et al. Does an NKT-cell-based immunotherapeutic approach have a future in multiple myeloma[J]? Oncotarget, 2016, 7(17):23128-23140.
- [8] Robertson FC, Berzofsky JA, Terabe M. NKT cell networks in the regulation of tumor immunity[J]. Front Immunol, 2014, (5):543.
- [9] Fallarini S, Paoletti T, Orsi BN, et al. Invariant NKT cells increase drug-induced osteosarcoma cell death[J]. Br J Pharmacol, 2012, 167(7):1533-1549.
- [10] Macho-Fernandez E, Brigl M. The extended family of CD1d-restricted NKT cells: sifting through a mixed bag of TCRs, antigens, and



- functions[J]. *Front Immunol*, 2015, (6):362.
- [11] Zajonc DM, Girardi E. Recognition of microbial glycolipids by natural killer T cells[J]. *Front Immunol*, 2015, (6):400.
- [12] Robertson FC, Berzofsky JA, Terabe M. NKT cell networks in the regulation of tumor immunity[J]. *Frontiers in Immunol*, 2014, (5):543.
- [13] Masaki T, So M, Jong-Myun P, et al. Transforming growth factor- $\beta$  production and myeloid cells are an effector mechanism through which CD1d-restricted T cells block cytotoxic T lymphocyte-mediated tumor immunosurveillance: abrogation prevents tumor recurrence[J]. *J Exp Med*, 2003, 198(11):1741-1752.
- [14] 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]. 2000, 1(6):515-520.
- [15] Renukaradhya GJ, Khan MA, Vieira M, et al. Type I NKT cells protect (and type II NKT cells suppress) the host's innate antitumor immune response to a B-cell lymphoma[J]. *Blood*, 2008, 111(12):5637-5645.
- [16] Ambrosino E, Terabe M, Halder RC, et al. Cross-regulation between type I and type II NKT cells in regulating tumor immunity: a new immunoregulatory axis[J]. *J Immunol*, 2007, 179(8):5126-5136.
- [17] Terabe M, Berzofsky JA. The immunoregulatory role of type I and type II NKT cells in cancer and other diseases[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2014, 63(3):199-213.
- [18] Tamura H. Immunopathogenesis and immunotherapy of multiple myeloma[J]. *Int J Hematol*, 2018, 107(3):278-285.
- [19] Chan AC, Neeson P, Leeansyah E, et al. Natural killer T cell defects in multiple myeloma and the impact of lenalidomide therapy[J]. *Clin Exp Immunol*, 2014, 175(1):49-58.
- [20] Richter J, Neparidze N, Zhang L, et al. Clinical regressions and broad immune activation following combination therapy targeting human NKT cells in myeloma[J]. *Blood*, 2013, 121(3):423-430.
- [21] Dhodapkar MV, Geller MD, Chang DH, et al. A reversible defect in natural killer T cell function characterizes the progression of premalignant to malignant multiple myeloma[J]. *J Exp Med*, 2003, 197(12):1667-1676.
- [22] Dhodapkar MV, Richter J. Harnessing natural killer T (NKT) cells in human myeloma: progress and challenges[J]. *Clin Immunol*, 2011, 140(2):160-166.
- [23] Spanoudakis E, Hu M, Naresh K, et al. Regulation of multiple myeloma survival and progression by CD1d[J]. *Blood*, 2009, 113(11):2498-2507.
- [24] Hayakawa Y, Takeda K, Yagita H, et al. IFN- $\gamma$ -mediated inhibition of tumor angiogenesis by natural killer T-cell ligand,  $\alpha$ -galactosylceramide[J]. *Blood*, 2002, 100(5):1728-1733.
- [25] Favreau M, Menu E, Gaublomme D, et al. Leptin receptor antagonism of iNKT cell function: a novel strategy to combat multiple myeloma[J]. *Leukemia*, 2017, 31(12):2678-2685.
- [26] Jiang F, Liu H, Liu Z, 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.
- [27] Spanoudakis E, Papoutselis M, Terpos E, et al. Overexpression of RANKL by invariant NKT cells enriched in the bone marrow of patients with multiple myeloma[J]. *Blood Cancer J*, 2016, 6(11):e500.
- [28] Hu M, Bassett JH, Danks L, et al. Activated invariant NKT cells regulate osteoclast development and function[J]. *J Immunol*, 2011, 186(5):2910-2917.
- [29] Chang DH, Deng H, Matthews P, et al. Inflammation-associated lysophospholipids as ligands for CD1d-restricted T cells in human cancer[J]. *Blood*, 2008, 112(4):1308-1316.
- [30] Mattarollo SR, West AC, Steegh K, et al. NKT cell adjuvant-based tumor vaccine for treatment of myc oncogene-driven mouse B-cell lymphoma[J]. *Blood*, 2012, 120(15):3019-3029.
- [31] Hong S, Lee H, Jung K, et al. Tumor cells loaded with  $\alpha$ -galactosylceramide promote therapeutic NKT-dependent anti-tumor immunity in multiple myeloma[J]. *Immunol Lett*, 2013, 156(1-2):132-139.

(2018-07-17 收稿)

(2018-08-29 修回)

(编辑:孙喜佳 校对:武斌)



# 作者简介

姜凤娟 专业方向为多发性骨髓瘤的诊治与研究。  
E-mail:jiangfengjuanyi@163.com