

## 参 考 文 献

- [1] Bostock, C. J. and A. T. Summer, 1978. "The eukaryotic chromosome." 13—66, 233—264.
- [2] D'Amato, F., 1977. "Nuclear cytology in relation to development." 111—202.
- [3] Nagl, W., 1977. "Endopolyploid and polytenty in differentiation and evolution." 1—283.
- [4] Ayala, F. J., 1976. "Molecular, evolution." 179—199.
- [5] Cullis, C. A., 1975. in Markham, R., D. R. Davies, D. A. Hopwood and R. W. Horne, "Modification of information content of plant cell." 27—36.
- [6] Ritossa, F. M., 1968. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 60: 509—516.
- [7] Brown, D. D. and I. B. Dawid, 1976. in Fulton, C. and A. O. Klein, "Explorations in developmental biology." 165—173.
- [8] Cave, M. D., 1979. *Chromosoma*, 71: 15—27.
- [9] Roth, G. E., 1979. *Chromosoma*, 74: 355—371.
- [10] Sager, R. and R. Kitchin, 1975. *Science* 189: 426—433.
- [11] Winter, C. E., A. G. de Bianchi, W. R. Ierra and F. T. S. Lara, 1977. *Chromosoma*, 61: 193—206.
- [12] Strom, C. M., Moscona, M. and A. Dorfman, 1978. *P. N. A. S.*, 75: 4451—4454.
- [13] Schimke, R. T., 1980. "7th international Chromosome Conference Oxford," 6.
- [14] Metzler, D. E., 1977. "Biochemistry." 1000—1045.
- [15] Brack, C., Hiramama, M., Lenhard-Schuller, R. and S. Tonegawa, 1978. *Cell*, 15: 1—14.
- [16] 陈汉源、朱季美, 1965. *实验生物学报*, 10: 205—214.
- [17] 陈汉源、张昂、王根凤, 1980. *实验生物学报*, 13: 167—183.
- [18] Kessler, B. and S. Recles, 1977. in DeLachapelle, A. and M. Sorsa, "Chromosome today." 6: 227—246.
- [19] Wardell, M. L., 1976. *Plant physiol.*, 57: 835—861.
- [20] Halliday, R. and J. E. Pugh, 1975. *Science*, 187: 226—232.

## 天然杀伤(NK)细胞的研究进展\*

叶 庆 炜

(中国科学院上海细胞生物学研究所)

细胞免疫生物学领域中的又一最新发展,是在研究特异性细胞毒性效应中,发现了另一种与特异性免疫作用无关的天然细胞毒性机制。介导这种天然细胞毒性反应的效应细胞,在表面特性和功能上显然不同于T、B淋巴细胞和巨噬细胞。它来自正常动物或人体的脾脏、淋巴结、周围血液、骨髓和肺脏中。这种细胞的天然细胞毒活性不依赖于抗体或补体,能够在体外溶解或破坏各种靶细胞(包括肿瘤细胞、造血干细胞、被细菌或病毒感染的细胞等),因此被称为天然杀伤细胞(Natural Killer Cell,简称NK细胞)。鉴于这种NK细胞不仅是机体抗御肿瘤监管机制中的重要效应细胞之一,

而且在调节正常干细胞增殖和分化,维持自身稳定中起着重要作用。因此,NK细胞具有颇为广泛的生物学意义。

## 一、NK细胞的表面特性

对于NK细胞的特征有着不同的描述,但啮齿动物和人类的NK细胞也存在着许多共同的性质。已经发现,先天性无胸腺小鼠中的NK细胞往往具有较高活性,这显示了NK细胞的非T细胞性质。通常,在抗Thy-1血

\* 本文承姚鑫教授审阅,葛锡锐同志提出宝贵意见,谨致谢意。

清和补体作用下, T淋巴细胞易被杀伤, 而NK细胞则不然。但是, 用高浓度的抗Thy-1血清和补体反复处理NK细胞也能使其丧失活性<sup>[1]</sup>。因此, 小鼠NK细胞表面可能存在着极少量的Thy-1抗原。而且在先天性无胸腺小鼠中, 也找到了这种低密度Thy<sub>1</sub>阳性的细胞。另外, 特异的抗人体T细胞血清加补体也能使人体NK细胞失活<sup>[2]</sup>, 在适当的条件下, 人类和小鼠的NK细胞都表现有对于羊红细胞(SRBC)低亲和性的受体<sup>[3]</sup>, 能与SRBC形成低水平的玫瑰花结。这些都表明, NK细胞虽然缺乏成熟T淋巴细胞的特征, 但它们可能属于T细胞系, 是未成熟的前期T细胞(Pre-T细胞)。若将小鼠或人体淋巴细胞与胸腺素温育2小时, 促使其向T细胞分化, 则能导致NK活性的下降<sup>[4]</sup>。同样, 在纯系小鼠NK细胞的免疫遗传学分析中, 用抗H-2抗体加补体的细胞毒性试验可以发现, NK细胞表面带有正常H-2K和H-2D位点的分子, 可是未能检出Ia抗原的存在<sup>[5]</sup>。最近的研究也表明, 特异性的抗H-2血清对NK活性有显著的抑制作用<sup>[6]</sup>。另外, 用抗Ly5.1或抗Ly5.2的抗血清分别处理各种纯系小鼠的脾脏细胞, 也可以反映不同小鼠的NK细胞表面, 表现了Ly5位点上两个不同等位基因的产物<sup>[7]</sup>。抗Ly5.1抗血清加补体只能使B<sub>6</sub>小鼠(Ly表型为1.2, 2.2, 3.2, 5.1)的NK细胞失活, 而不影响B<sub>6</sub>-Ly5.2小鼠(Ly表型为1.2, 2.2, 3.2, 5.2)的NK活性; 反之亦然, 抗Ly5.2抗血清加补体也只能使B<sub>6</sub>-Ly5.2小鼠的NK活性丧失, 对B<sub>6</sub>小鼠无影响。吸收试验也证实了Ly5反应的特异性。抗Ly5.1抗体抑制CBA/J(Ly5.1<sup>+</sup>)小鼠脾细胞NK活性的能力可以用B<sub>6</sub>(Ly5.1<sup>+</sup>)的细胞吸收而消失, 而抗Ly5.2抗血清抑制STS/A(Ly5.2<sup>+</sup>)小鼠脾脏细胞NK活性的能力可以用B<sub>6</sub>-Ly5.2的细胞吸收而排除。因此, 小鼠的NK细胞属于Ly5<sup>+</sup>干细胞群, 可能进一步分化为T淋巴细胞。大多数NK细胞还表现出具有对于IgG分子Fc部分的受体。但

是, 鼠类NK细胞表面Fc受体的亲和性较低, 往往难以检出, 而对抗K-562骨髓细胞和其他靶细胞的人体NK细胞表面却较为容易检出Fc的受体。此外, 几乎所有鼠类和人类的NK细胞都没有表面膜上的免疫球蛋白和对于补体C3的受体, 它们也都不具有粘附性或吞噬性。虽然某种小鼠抗胸腺细胞的同种异体抗血清能专一性地与NK细胞反应而不与其他淋巴细胞反应, 这种被称之为“抗NK”血清的反应性很弱, 在补体存在下仅能引起NK活性的部份下降。综上所述, 对于NK细胞所真正特有的细胞表面抗原迄今尚未被发现。

## 二、NK细胞的免疫生物学效应

NK细胞对各种靶细胞有着广泛的反应性。它不局限于各种组织类型的肿瘤细胞, 而且病毒或细菌感染的细胞、病毒转化细胞、体外培养的纤维母细胞等类型的正常细胞、甚至原生动物的都是对NK活性敏感的靶细胞。小鼠NK细胞对体外培养的巨噬细胞、骨髓细胞和胸腺细胞都具有一定的反应性。NK细胞在小鼠体内也对移植的造血干细胞表现出显著的细胞毒性和细胞静止效应。由于小鼠NK细胞在体外对肿瘤靶细胞的反应性和在体内介导对骨髓细胞的天然抗御性有许多方面是非常相似的, 所以NK细胞可能专一地识别骨髓细胞和肿瘤细胞表面由遗传决定的Hh组织相容性抗原<sup>[8]</sup>。人类的NK细胞对用PHA刺激后的胸腺细胞和骨髓细胞也有不同程度的反应。但是, 对于其他正常细胞, 包括用PHA刺激的周围血淋巴细胞却未见明显的反应。NK细胞的反应还不只局限于同种动物的靶细胞, 小鼠、大鼠、豚鼠的NK细胞对某些人体细胞株也具有溶解活性<sup>[9]</sup>。然而, 人体NK细胞对鼠类靶细胞的反应性还很少见。应用冷靶抑制试验(Cold target inhibition assay)可见, 当在NK效应细胞和<sup>51</sup>Cr标记的靶细胞反应系统中, 加入各种未标记的靶细胞时, 由于未标记的靶细胞与NK细胞相互作用而竞争性地抑

制原系统中标记靶细胞的溶解和 $^{51}\text{Cr}$ 的释放<sup>[10]</sup>。实验还表明,能够显著地竞争抑制一种靶细胞的某些细胞,却不能抑制其他靶细胞;与标记靶细胞相同的细胞则产生最大的竞争抑制作用。另外,不同品系小鼠对同一靶细胞的NK活性也有很大差异。这些结果说明,NK细胞的广泛反应性可能是由于这种细胞有着识别多种抗原的特异性,它们的细胞表面带有对各种靶细胞表面不同抗原的专一性受体。NK细胞也与其他淋巴样细胞一样,可能存在着不同反应性的各种亚群。

NK细胞的发现对免疫监管理论无疑是一种刺激。缺乏T细胞系统的小鼠其自发的肿瘤发病率并不比正常动物高,先天性无胸腺小鼠往往显示较正常小鼠更高的NK活性。同时,某些实验还表明,在体内抗御肿瘤中,T淋巴细胞并未显示其对机体的保护作用,而NK细胞却在对抗移植的或自身的肿瘤中起着监管作用<sup>[11]</sup>。在NK细胞的各种靶细胞中,恶性细胞对NK活性的敏感性尤为显著。特别是,对于自发性肿瘤相关移植抗原是难以检出的,小鼠对于原发性AKR胸腺瘤移植抗原的免疫性也无法检测。但是,这种瘤细胞对由NK细胞引起的溶解作用却十分敏感,而且还能够在竞争抑制试验中显示其对其他敏感细胞的竞争抑制作用<sup>[10]</sup>。同样,某些自发的人体肿瘤也具有抑制敏感靶细胞溶解的作用。最近报告指出,肿瘤患者的NK活性与其肿瘤的生长和发展情况有关<sup>[12]</sup>。在抽烟的正常人或肿瘤病人中,NK细胞的活性显著低下,且抽烟者的肿瘤发生率或肿瘤复发和转移率均较不抽烟者高。这些也提示了NK细胞与机体免疫状态及免疫监管机制可能有联系。

更具有免疫生物学意义的是,NK活性和各种天然抵抗力(Natural Resistance,简称NR)之间的多重相似性。将NK细胞在体外对YAC-1淋巴瘤靶细胞的反应,体内对抗亲代造血细胞移植物的天然抵抗力,或体外杂种第一代抗亲代细胞介导的淋巴细胞溶解作用

( $F_1$  anti-P Cell-mediated lympholysis,简称 $F_1$  anti-P CML)来进行比较<sup>[13]</sup>,可以发现:幼鼠中NK活性和NR的发生,明显地较抗体形成或同种异体移植反应能力的发生迟晚,它们都在出生三周左右才出现;NK和NR效应细胞在体内对照射有一定的抗御力,小鼠、大鼠、仓鼠经600-1100R全身照射未发现对其活性有明显影响。对于巨噬细胞的拮抗剂硅颗粒、爱蓝苔(carrageenan)等以及抗小鼠骨髓或胸腺细胞血清,虽然在体外对NK细胞并无直接的毒性,但是,注射于小鼠体内后几天,NK和NR活性就会被抑制。NK细胞和NR效应细胞可能均来源于骨髓,所以NK和NR的反应性对 $^{89}\text{Sr}$ 的作用十分敏感,当体内注入100-200 $\mu\text{Ci}^{89}\text{Sr}$ 后,能使两者都失去反应的能力。特别引起重视的是,通过在 $F_1$ 杂种中诱发对于亲代骨髓移植物的无反应性的同时,也能够使NK活性丧失。实验表明,NR效应细胞反应的特异性是由Hh-1基因产物——靶“抗原”决定的。当给予成年 $F_1$ 小鼠多次注射亲代的脾细胞,则引起对于Hh-1阳性细胞的特异反应性消失,在( $A \times B_6$ ) $F_1$ 小鼠中多次注射亲代A或亲代 $B_6$ 的脾细胞后,可以发现,用A细胞处理的 $F_1$ 杂种小鼠NK细胞对YAC-1(YAC-1是A系小鼠起源的)靶细胞的反应性显著下降。而用 $B_6$ 或者其他第三者脾细胞处理 $F_1$ 杂种,则对其NK活性毫无影响。由此可见,NK和NR效应细胞来自共同的细胞谱系,从某种程度说,它们之间类似于具有不同特异性的B或T细胞的克隆。因此,不同品系小鼠的不同NK活性,以及不同形式的NR反应,可能反映出选择性地针对不同靶细胞表面抗原的各种NK细胞亚群的存在。总之,NK活性和各种天然防御现象之间的密切关系,特别是业已证明,NK细胞还不只局限于脊椎动物中,在蚯蚓的体腔细胞<sup>[14]</sup>和星虫(sipunculid)的白细胞<sup>[15]</sup>中也发现类似的NK活性,NK细胞显然具有更加广泛范围的生物学意义。NK细胞在维持自身稳定方面可能的

参与及其对于识别作用的分子基础是值得深入探索的课题。

### 三、NK活性的调节控制

NK活性可能是由遗传因子所控制的。各种小鼠按其NK活性的高低,大致可分为高反应品系(CBA/J、C3H/J、C3H/strong等)、中等反应品系(C57BL/6、DBA/2、C3H/HeJ等)和低反应品系(A、AKR、129/J等)。一般说,NK活性是显性遗传的。低反应性A系小鼠与其他高反应品系杂交后, $F_1$ 显示出高反应性亲代的反应能力;然而,C57BL $\times$ DBA/2杂种 $F_1$ 的反应性却超过其两个亲代。这说明不只是简单的高反应显性,而是包含了某种类型的遗传互补现象。通过各种高反应性 $F_1$ 杂种与低反应亲代的回交子代分析,可以发现小鼠的NK活性是由H-2区有关的基因控制的<sup>[6]</sup>。在人类中也已经发现NK活性与人体主要组织相容性复合体(MHC)HLA区的基因有关,带有HLA-A3·B7单型的正常人周围血的NK细胞活性明显低下。Rh<sup>-</sup>的正常人或黑色素瘤病人的NK活性较Rh<sup>+</sup>者为高,这种差异并非由于对靶细胞表面Rh抗原的敏感性不同所致,而也是反映了NK细胞的活性与基因控制的Rh抗原表达有关<sup>[16]</sup>。最近还有报告,小鼠对白血病细胞移植物的抵抗与H-2的不一致有关,经照射后的C57BL小鼠对白血病细胞移植物的抗御力依赖于宿主和移植物之间Hh-1(H-2D)的不相容性<sup>[17]</sup>。这又一次表明,天然杀伤活性以及骨髓移植的排斥可能是非获得性(non-adaptive)的排斥机制。

此外,NK细胞的反应性还被认为是由抑制细胞所调节的<sup>[13]</sup>,这种抑制细胞不依赖胸腺、能够对抗2000 Rads  $\gamma$ 线的体外照射,它们的活性不受MHC的限制。主要可分为两种类型:一种是可以由爱蓝苔、氢化可的松等巨噬细胞拮抗剂诱发的,具有粘附性和吞噬活性的巨噬细胞样(macrophagelike)细胞,这种细胞在天然防御系统或 $F_1$ anti-PCML中作为辅

助或抑制细胞起着重要作用,由细菌、病毒、激素等因子对巨噬细胞样细胞的诱发、激活或失活作用,反映了NK细胞系统多方面调节作用的细胞基础。巨噬细胞样抑制细胞可能是通过释放某些刺激或抑制因子,例如,干扰素和前列腺素等,来调节NK细胞的分化、成熟和功能。干扰素和前列腺素分别起增强或抑制NK活性的作用。另一种类型的抑制细胞是非粘附性的细胞,它主要存在于幼鼠或照射后的成年小鼠脾脏中,可能是一种未成熟的前期NK(Pre-NK)细胞。它具有能够识别和结合靶细胞的受体,但不能溶解靶细胞。这种细胞可以因竞争性地抑制成熟NK细胞对靶细胞的溶解作用而封阻NK活性。因此,NK活性水平可能反映着Pre-NK和NK细胞之间的动态平衡(Pre-NK $\rightleftharpoons$ NK)。在新生鼠或处于再生状态的脾脏中,这种平衡显然将朝Pre-NK方向变化。干扰素和前列腺素也能够影响这种平衡,干扰素有利于朝NK方向改变,正如大量实验表明,各种干扰素诱导剂或干扰素具有显著增强NK活性的效能<sup>[18]</sup>;而前列腺素则使平衡朝Pre-NK方向改变,起抑制NK活性的作用。

### 参 考 文 献

- [1] Herberman, R. B., et al., 1978. *J. Immunol.*, 121: 304-309.
- [2] Kaplan, J., et al., 1978. *J. Natl. Cancer Inst.*, 60: 961-964.
- [3] West, W. H., et al., 1978. *J. Immunol.*, 120: 90-95.
- [4] Yakir, Y., et al., 1978. *J. Exp. Med.*, 148: 71-83.
- [5] Kiessling, R., 1979. *Immunological Rev.*, 44: 165-208.
- [6] Chang, K. S. S., et al., 1980. *Int. J. Cancer*, 25: 405-416.
- [7] Cantor, H., et al., 1979. *Immunological Rev.*, 44: 3-12.
- [8] Riccardi, C., et al., 1978. *J. Natl. Cancer Inst.*, 60: 1083-1090.
- [9] Arnaud-Battandier, F., et al., 1978. *Eur. J. Immunol.*, 8: 400-406.