

DOI: 10.13376/j.cblls/2015054

文章编号: 1004-0374(2015)04-0417-08

· 评述与综述 ·

固有淋巴细胞的发育与功能

马若愚, 郭 婧, 汪 浏*

(浙江大学医学部免疫学研究所, 杭州 310058)

摘 要: 固有淋巴细胞 (innate lymphoid cells, ILC) 是一种新近发现的具有获得性免疫功能的免疫细胞, 它作为辅助性 T 细胞的“镜像细胞”而受到广泛关注。根据分泌细胞因子的不同, ILC 被分为三个亚群, 这些亚群在不同组织的免疫反应中分别发挥重要作用, 并与疾病起始和进程相关。就 ILC 的命名分类、不同亚群的功能和相关疾病以及其发育分化过程分别进行综述。

关键词: 固有淋巴细胞; 细胞因子; 分化; 发育

中图分类号: Q939.91; R392 文献标志码: A

The development and function of innate lymphoid cells

MA Ruo-Yu, GUO Jing, WANG Lie*

(Institute of Immunology, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310058, China)

Abstract: The newly identified innate lymphoid cells (ILCs) are a member of innate lymphocytes which can function as adaptive T cell. As the “mirror image” of T helper cell, they are of high concern recently. ILCs are divided into 3 subsets based on the secretion of distinct cytokines. These subgroups play important role in the immune responses of different tissues respectively, and they are associated with several diseases. Here, we review the classification of ILCs, the development and differentiation of ILCs, the functions of their distinct subgroups, and also their relationship with diseases.

Key words: innate lymphoid cells; cytokine; development; differentiation

一般认为, 在人体中存在着分工明确的两套免疫系统。其中, 固有免疫系统作用广泛, 应答无特异性, 负责在病原微生物入侵后第一时间清除抗原; 获得性免疫系统具有高度特异性, 但响应缓慢, 主要在免疫反应后期对特定抗原进行持续、有效、彻底的清除。长期以来, 人们认为这两种免疫系统间存在着鲜明的界线。然而, 固有免疫的响应高峰维持时间较短, 而获得性免疫却需要数天, 甚至数周才能完全响应, 两者的切换过程中存在“空窗期”。近期发现的固有淋巴细胞 (ILC) 虽是一种固有免疫细胞, 却能够介导获得性免疫相关功能。这类介于固有免疫和获得性免疫之间的细胞很有可能填补了两系统间的空缺, 进一步模糊了固有免疫与适应性免疫之间的界线, 并成为两套免疫系统间交流的重要桥梁。因此, ILC 细胞逐步受到重视, 其相关研究对重新认识免疫系统、构建免疫调控网络有非常

重要的意义。本文对 ILC 的命名、分类、在各器官中的分布、各亚群的功能及其与疾病的联系, 以及 ILC 的发育分化过程进行综述, 以阐明其在免疫系统中的作用和地位。

1 命名与分类

作为固有免疫细胞, ILC 表面没有重排受体, 但也不具有髓系细胞、树突状细胞的表型标志和细胞形态特征。由于 ILCs 产生辅助性 T 细胞 (helper T cell, Th) 相关的细胞因子, 与 Th 细胞在发育和功能上也有很多相似之处, 因而被认为是 Th 细胞的

收稿日期: 2014-10-26; 修回日期: 2014-11-16

基金项目: 国家自然科学基金优秀青年科学基金项目(312222020); 国家自然科学基金面上项目(31170-823); 中央高校基本科研业务费专项资金

*通信作者: E-mail: wanglie@zju.edu.cn

“镜像细胞”。

根据目前较为公认的分类方法^[1], ILCs 可根据分泌细胞因子的不同而分为 3 个亚群: 1 类 ILC 以分泌 IFN- γ 为标志, 包括自然杀伤细胞 (nature killer cell, NK) 和 ILC1; 2 类 ILC 以产生 IL-5、IL-9、IL-13 等 2 类细胞因子为标志; 3 类 ILC 则由淋巴样组织诱导细胞 (lymphoid tissue inducer cell, LTi) 和 ILC3 组成, 以产生 IL-17、IL-22 为标志 (表 1)。其中, 2 类和 3 类 ILC 的研究较多, 定义也较为明确, 而 1 类 ILC 的定义尚不明确。此外, 由于 NK 细胞本身亦存在分类模糊的情况, 因此, ILC1 与 NK 的关系仍有待研究。

1.1 1类ILC

目前, 1 类 ILC 被定义为可产生 IFN- γ , 但不能产生 Th2 或 Th17 相关细胞因子的固有淋巴细胞。1 类 ILC 包括 NK 细胞和 ILC1。目前属于这一类群的细胞均受转录因子 T-bet 的调控, 并表达 NKp46。此外, 除胸腺 NK 细胞 (thymic NK cell, ThyNK)^[2] 外, 所有 1 类 ILC 的发育都需要 IL-15。

NK 细胞于 1975 年首次发现^[3], 主要分布于次级淋巴器官、血液和外周器官中。由于这种固有免疫细胞对肿瘤细胞具有杀伤作用, 因而被命名为自然杀伤细胞。在后续研究中, 发现其对病毒感染的细胞也有杀伤作用。因此, NK 被认为是一种重要的固有杀伤性细胞。NK 细胞可能存在多个亚群, 但由于缺乏特异性标志, 目前没有统一的分类方法。在小鼠中, 常根据定居组织及表面标记不同分为 cNK (conventional NK, 分布在脾脏内)、ThyNK、子宫 NK 细胞 (uterine NK, uNK)、肝脏 NK 细胞等^[4]。

除 NK 细胞外, 还存在其他能够产生 IFN- γ 的 ILC。这些 ILC 也表达 NKp46, 但与 NK 细胞不同, 它们表达 T-bet 而不表达转录因子 Eomes, 因此被认为是独立的亚群。由于能产生 1 类细胞因子, 功能也与 Th1 相似, 因而这群细胞被称为 ILC1。

ILC1 主要分布于肝脏^[5] 和肠道^[6]。由于肠道

寄居的 ILC1 发育需要 Nfil3, 而肝脏中 ILC1 的发育不依赖这一转录因子, 因此, 肝脏和肠道中的 ILC1 被认为是两个不同的亚群^[7]。2014 年在鼠中报道了一种新的肠道 ILC1 (NKp46⁺ T-bet⁺ IL-7R α ⁺ ROR γ t⁻)^[8], 在人体黏膜组织中也发现类似亚群。同时, 在人的扁桃体中也发现了 ILC1 的亚群。除表达 NK 表面标志分子 CD56、NKp46、NKp44 外, 该亚群还表达组织寄居型记忆 T 细胞的标志分子 CD103、CD49a 和 CD101。ILC1 的相关研究较为有限。由于缺乏标志分子, ILC1 与 NK 细胞间的关系尚未明确。此外, ILC1 各亚群之间的关系也较为模糊。

1.2 2类ILC

2 类 ILC 是较早发现的一类固有淋巴细胞, 最早报道于 2002 年^[9], 其特征是产生 2 类细胞因子, 因而又被称为 ILC2。在确认为独立细胞群体前采用了多种名称进行命名。在鼠中发现的自然辅助细胞 (natural helper cell, NHCs)、2 类固有辅助细胞 (innate helper 2 cell, IH2)、nuocytes 均属于这一群体。尽管这些 ILC2 群体间的表面标志不尽相同, 但相互间的关系目前仍在探索中。

2 类 ILC 主要居于黏膜组织, 尤其是肠道和呼吸道中。在肠系膜淋巴结、派氏结、脾脏、肝脏和皮肤^[10] 中也有分布。在人体相应组织中也发现了 ILC2 (LIN⁻IL-7R⁺CD45^{hi}), 以表达 CD161 和 ST2 (IL-33 受体), 高表达前列腺素 D2 受体 CRTH2 为特征^[11]。

ILC2 的定义较为明确, 但其组织特异性仍待进一步研究。

1.3 3类ILC

3 类 ILC 是一组产生 IL-22 和 / 或 IL-17, 发育依赖转录因子 ROR γ t 的固有淋巴细胞。迄今为止, 共发现了三个 3 类 ILC 细胞的独立亚群。

其中, LTi 是最早发现的 3 类 ILC^[12]。1996 年, 在胚胎和新生儿淋巴结中发现了一群 CD45⁺CD4⁺

表1 小鼠的ILC各亚群表型及主调控因子

	ILC亚群	标志	核心转录因子
I类	ILC1	Lin ⁻ CD45 ⁺ NKp46 ⁺ NK1.1 ⁺ IL-12R β ⁺ Eomes ⁻ CD161 ^{+/+}	T-bet
II类	ILC2	Lin ⁻ CD45 ⁺ CD117 ⁺ CD127 ⁺ CD25 ⁺ Thy1.2 ⁺ ST2 ⁺ KLRG1 ⁺	GATA3
III类	NCR ⁺ ILC3	Lin ⁻ CD45 ⁺ CD117 ⁺ CD127 ⁺ NKp46 ⁺ NK1.1 ⁻ NKG2D ⁺ IL-23R ⁺ CCR6 ⁻	ROR γ t
	NCR ⁻ ILC3	Lin ⁻ CD45 ⁺ CD117 ⁺ CD127 ⁺ NKp46 ⁻ NK1.1 ⁻	
	LTi	Lin ⁻ CD45 ⁺ CD117 ⁺ CD127 ⁺ CD4 ^{+/+} CCR6 ^{+/+}	

Lin: CD3 ϵ 、CD5、CD4、CD8a、CD11b、CD11c、CD19、Gr-1、B220、TCR β 、Ter119

CD3⁻的细胞, 这些细胞表达淋巴结和派氏结发育所需的LTβ和IL-2Rγ, 因而得名淋巴样组织诱导细胞。后续研究表明, LTi在成体肠道和淋巴结内也有分布。除CD4⁺亚群外, 在小鼠中LTi也存在CD4⁻的亚群, 而在人体中目前仅发现了CD4⁻的LTi。

除LTi外, 其余3类ILC细胞被称为ILC3。ILC3主要居于黏膜组织, 尤其是肠道。但在脾脏^[13]、淋巴结、胸腺、扁桃腺中也有报道存在。根据是否表达NKp46, 可分为NCR⁺ILC3和NCR⁻ILC3。NCR⁺ILC3产生IL-22但不产生IL-17, 因此也被称为NK22细胞。在人类肠道中也发现了NCR⁺ILC3, 但这群细胞表达NKp44^[14]而非NKp46。而NCR⁻ILC3则主要产生IL-17。此外, 在 mice 中, 大部分NCR⁻ILC3表达CCR6, 因此, 这一细胞群体可能具有异质性。

ILC3的可塑性较高。体外实验发现, 在IL-12和IL-23的刺激下, 可以产生一群下调RORγt^[15]、可分泌IFN-γ的类ILC1细胞, 但在体内尚未报道这样的转化。此外, ILC3的可塑性受环境因素的影响, 并可能具有组织特异性。此外, 在Notch信号^[16]刺激下, NCR⁻ILC3可分化为NCR⁺ILC3。因此, 仍需进行更多研究以探明ILC3中各个亚群之间的关系, 并进一步明确ILC3与ILC1的定义, 以区分两个ILC亚群。

2 功能

2.1 1类ILC

作为细胞毒性的免疫细胞, NK细胞分泌穿孔素和颗粒酶杀伤靶细胞。由于其杀伤作用无MHC限制, 不依赖抗体, 因而在早期快速免疫中发挥重要作用。NK在抗病毒感染、抗肿瘤方面都是重要的效应细胞。除直接杀伤靶细胞外, NK细胞也产生IFN-γ等促炎性因子, 参与早期炎症反应^[17], 其分泌的细胞因子或趋化因子可调节其他免疫细胞的活性。

与cNK不同, ILC1的细胞毒性较弱, 以发挥辅助作用为主。ILC1在肠道炎症中起重要作用。在CD40L诱导产生的小鼠结肠炎中, ILC1通过诱导Th1细胞反应促进组织损伤。而克罗恩氏病(Crohn's disease, CD)^[18]患者的炎性肠道组织大量存在ILC1, 其特征性细胞因子IFN-γ在炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)中起促进炎症发展的作用。然而, 除ILC1外, 肠道中的Th1细胞、

部分ILC3(NCR⁻ILC3^[19])、NK及NK T细胞也可产生IFN-γ。由于目前1类ILC的研究较少, 缺乏有效的区分方法, IBD中产生的IFN-γ的归属仍然存在争议。因此, ILC1在CD中的作用尚待评估。

除IFN-γ外, ILC1还可产生TNF, 在抗胞内感染方面也具有重要作用。有报道指出, 弓形虫(*Toxoplasma gondii*)感染中, ILC1是IFN-γ和TNF-α主要的产生者^[7], 这些细胞因子能招募炎症性单核细胞清除寄生虫。此外, 体外实验表明, 在IL-12和IL-18的刺激下, ILC1可产生IL-2、IL-4、GM-CSF、TNF-α等多种细胞因子, 这表明ILC1可能具有更多功能。

2.2 2类ILC

在各类炎症反应中, ILC2是2类细胞因子重要的早期来源。在木瓜蛋白酶诱导的气道超敏反应模型中^[20], 鼻腔给药后, Rag1^{-/-}小鼠肺内出现嗜酸性粒细胞浸润, 并大量产生黏液, 而ILC2敲除的Rag2^{-/-}Il2rγ^{-/-}小鼠中则没有这种现象。这一实验表明, 肺内气道高敏反应依赖ILC2。这一作用主要是通过2类细胞因子实现的。其中, IL-5起招募嗜酸性粒细胞的作用, 而IL-13控制气道重塑和黏液分泌。病毒诱发^[21]的气道高敏反应也与ILC2有关。在流感A病毒(H3N1)诱导模型中, 向不能发生高敏反应的Il13^{-/-}小鼠回输ILC2会导致病毒诱导的气道高敏反应, 这提示ILC2在哮喘中可能具有重要作用。

在肠道中, ILC2也有类似作用。在恶唑酮诱导的结肠炎模型中^[22], ILC2响应IL-25, 促进肠道炎症的产生。在溃疡性结肠炎患者的肠道中也发现了ILC2, 且2类细胞因子IL-4、IL-5和IL-13与这种炎症性肠病的严重程度有关^[23]。以上结果初步表明ILC2在IBD中有促进作用, 但这一疾病同时也是Th2细胞介导的, 因此, 它在其中扮演的角色仍需进一步探索。

有报道指出, ILC2在皮肤炎症中也起促进作用^[24]。值得注意的是, 这一反应不依赖获得性免疫。此外, 这一过程依赖胸腺基质淋巴细胞生成素(thymic stromal lymphopoietin, TSLP)而不依赖ILC2通常响应的IL-25和IL-33。ILC2在人体皮肤炎症中的作用未见报道, 但在特应性皮炎患者的皮肤中有更多ILC2的存在。

在激活Th2细胞介导的过敏反应过程中, ILC2也扮演着重要角色。一方面, ILC2在过敏反应早期起重要作用。ILC2能快速响应IL-25、IL-33、

TSLP 等上皮细胞分泌的因子, 协同 Th2 细胞产生 2 类细胞因子, 并招募嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、肥大细胞以及产生 IgE 的 B 细胞, 从而促进炎症。另一方面, ILC2 促进 Th 细胞的激活。ILC2 产生的 IL-13 虽不能直接激活 Th2, 却可以通过促进肺部激活的 DC 进入引流淋巴结, 使 naive T 细胞向 Th2 方向分化, 从而产生获得性 Th2 细胞免疫^[20]。ILC2 分泌的 IL-4 可以直接促进 Th2 的功能, 其表达的 MHC II 也有助于起始 Th 细胞反应。

ILC2 在肠道抗寄生虫感染中可能有非常重要的保护性免疫作用。在肠道巴西日圆线虫 (*Nippostrongylus brasiliensis*) 感染模型中, IL-25 诱导 ILC2 产生 IL-13 并抵抗寄生虫感染。尽管在此模型中 Th2 也可分泌该细胞因子, 但实验发现, 对缺乏 IL-4 和 IL-13 的 Rag2^{-/-} 小鼠过继回输野生型的 CD4⁺T 细胞后, 感染不能被清除, 这表明 IL-13 产生的主要来源是 ILC2 而非 Th 细胞^[24]。ILC2 还产生上皮生长因子家族的双调蛋白, 在巴西日圆线虫感染中, 这一细胞因子招募嗜酸性粒细胞, 替代性激活巨噬细胞, 在组织修复方面起到重要作用。另一方面, 有趣的是, 这种 IL-25 诱导的寄生虫驱除过程不依赖获得性免疫^[25]。然而, ILC2 在其他寄生虫感染中的作用研究较少, 因此, ILC2 在抗寄生虫免疫中的重要性仍需进一步评估。

2.3 3类ILC

在胚胎期, LTi 产生淋巴毒素 $\alpha 1\beta 2$, 调控次级淋巴器官淋巴结和派氏结的发育^[26]。同时, LTi 通过核因子 κB 受体活化因子配体 (receptor activator for nuclear factor- κB ligand, RANKL) 诱导胸腺上皮细胞表达自身免疫调节因子 (autoimmune regulator, AIRE), 从而促进胚胎胸腺的发育。而在成体内, LTi 在淋巴组织的重建中起重要作用。在肠道炎症中, LTi 促进产生独立的淋巴滤泡和淋巴滤泡前体的发育; 在病毒感染后, 则促进外周淋巴结的重建和脾脏结构的恢复。另一方面, LTi 高表达的 CD30L 和 OX40L 是 CD4⁺ 记忆 T 细胞的重要信号, 研究表明 LTi 促进 CD4⁺ 记忆性 T 细胞的记忆保持和存活。此外, 在肠道免疫中, LTi 产生的 IL-17A 和 IL-22 可能也有一定作用, 但尚待进一步研究。

ILC3 在肠道免疫中发挥着相当重要的作用。一方面, 在肠道稳态中, ILC3 起保护肠道上皮、抵抗感染的作用。在健康的哺乳动物中, 肠道上皮能将肠道中的大量共生菌限制在肠腔和上皮表面, 是重要的免疫屏障。ILC3 产生的 IL-22 可与肠上皮

细胞表达的受体结合, 通过激活 JAK-STAT 通路^[27], 促进上皮细胞的维持和增殖, 从而保持上皮屏障的完整性。同时, IL-22 可以诱导产生抗微生物因子 RegIII β 和 RegIII γ , 限制共生菌与上皮细胞的接触, 避免产生肠道炎症。这一作用已在白色念珠菌 (*Candida albicans*)^[28] 和柠檬酸杆菌 (*Citrobacter Rodentium*)^[29] 感染模型中得到验证。此外, NCR⁻ ILC3 高表达 MHC II^[30], 可以向 CD4⁺ T 细胞提呈抗原。但 ILC3 缺乏共刺激分子, 因此能够抑制 CD4⁺ T 细胞的响应, 避免 T 细胞与肠道共生菌之间不恰当的免疫反应。在鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhimurium*) 感染模型中, CCR6⁺ T-bet⁺ ILC3 还能产生 IFN- γ , 保护上皮屏障^[31]。除 T 细胞外, ILC3 对固有免疫细胞也有调控作用。肠道 ILC3 产生 GM-CSF, 可维持结肠内 DC 的数量, 并促进其分泌 IL-10, 进而抑制肠道炎症^[32]。另一方面, 与 Th17 细胞相同, 在肠道炎症中, ILC3 起促炎症作用, 这一作用主要是通过其产生的 IL-17 完成的。在肝螺旋杆菌 (*Helicobacter hepaticus*) 感染模型中, NCR⁻ ILC3 是 IL-17A 的重要来源, 招募中性粒细胞, 增强炎症, 摧毁肠道屏障, 从而诱导肠道的急性感染和自身免疫病。然而, ILC3 的作用在炎症反应早期较为明显, 通过快速产生大量 IL-17 起始反应, 而 Th17 对于反应后期细胞因子水平的维持可能作用更大。

这种双向调控在肠道疾病, 尤其是 IBD 相关黏膜感染中也有体现。缺乏 IL-22 的小鼠更易患 IBD^[33], 而在抗 CD40 抗体^[34] 或肝螺旋杆菌^[20] 诱导的结肠炎模型中, 产自 NCR⁻ ILC3 的 IL-17A 起到保持炎症的作用。在人体中, 也发现了类似的现象: 在 IBD 患者肠道中, IL-17 表达水平增高; 组织检测则发现, 克罗恩氏病患者的肠道中聚集大量 CD127⁺CD56⁻ ILC3^[31], 并是肠道 IL-17A 的重要来源。全基因组相关研究数据也显示, 患者中存在 IL-23/IL-17 通路相关的 IL-23R、IL12B、JAK2 和 STAT3 遗传易感性位点^[35]。这些结果表明, 在 IBD 中, ILC3 扮演非常重要的角色。尽管以往研究认为在 IBD 中 Th17 是 IL-17/IL-22 的主要来源, 但不能完全解释这些细胞因子的来源。因此, 这种双向调控为 IBD 的机制提供了新的思路, 但仍需要进一步研究 Th17 细胞与 ILC3 在肠道疾病中功能的联系与差异。

除炎症和免疫调节外, ILC3 还具有辅助 B 细胞的作用。最近, 在脾脏边缘区发现一类表型类似

NCR⁺ ILC3 的 ILC (Lin⁻CD127⁺NKp46⁺CD56⁺)。这类 ILC3 可以通过产生 BAFF、APRIL、CD40L 和 DLL1 激活边缘区 B 细胞, 并促进其向浆细胞分化。同时, 这群 ILC3 还可释放 GM-CSF, 招募中性粒细胞, 从而促进胸腺非依赖性抗体的产生^[13]。

3 ILC 的发育与分化

3.1 ILC 前体细胞的发育

与 T、B 细胞相同, ILC 也来源于共同淋巴样祖细胞 (common lymphoid progenitor, CLP), 这一过程需要 Notch 通路的参与。ILC 的发育地点目前尚无专门的研究。但有研究指出, 在无胸腺的 Foxn-1 裸鼠中 ILC2 仍可正常发育。此外, 进化研究表明, 类似胸腺的结构出现晚于类似 ILC 的细胞。因此, ILC 前体的发育应该是在骨髓中完成的, 而不需要进入胸腺^[25]。

缺乏 Id2 时, T、B 细胞的发育可以继续, 但 ILC 的发育不能进行。Id2 调控的 E 蛋白决定前体细胞发育为 ILC 还是获得性淋巴细胞。有研究则提出, NK 细胞的发育可能不依赖这一转录因子, 而是 Id3 的补偿机制^[36]。因此, NK 的发育可能是独立的。

NKP (NK progenitor) 细胞的存在支持这一观点。它是 NK 细胞的独立前体, 尚未有 NKP 分化发育为其他 ILC 的报道。目前, 对 CLP 发育到 NKP 的过程仍然知之甚少。此外, 与其他 ILC 不同, NK 细胞的发育场所并不局限于成体骨髓和胚肝。体外分化实验表明, 来自外周淋巴器官和非淋巴器官的前体细胞均可分化为成熟的 NK 细胞^[37], 这也揭示了 NK 细胞可能与 ILC1 及其他辅助性 ILC 亚群细胞在发育上的关系较远。

辅助性 ILC 的发育分化过程尚未明确, 但已发现的几种前体细胞为这个过程提供了重要线索。

在骨髓和胚肝中发现的辅助性 ILC 共同前体 CHILP^[8] (common helper ILC progenitor) 是除 NK 外所有 ILC 的前体细胞。这一细胞表达 CLP 相关标志分子 CD117、Sca-1 和 CD27 等, 是由 CLP 发育形成的, 且不表达成熟 ILC 的特征性标志分子。分化实验表明, CHILP 不能分化为 T、B 或 NK 细胞, 但可分化为 ILC2 的特异性前体 ILC2P 以及所有其他 ILC 亚群。这一结果进一步表明, NK 与 ILC1 之间的关系可能较远。

随后发现的 ILCP^[38] (ILC progenitor) 是一类高表达转录因子 PLZF 的 ILC 前体细胞, 该细胞存在

于胚肝和骨髓。单细胞培养表明 ILCP 可生成多种 ILC1、2 和 3, 但不能分化为 NK 和 LTi。此外, 由于 ILCP 与 CHILP 表达相同的标志分子, 因此, ILCP 很有可能是由 CHILP 分化形成的。同时, 该研究也指出, ROR γ ^{hi}PLZF⁻ 的细胞很可能是 LTi 的前体。这一结果也对 LTi 与 ILC3 的关系形成挑战。

ILC2P 是 ILC2 特有的前体细胞^[39]。这种前体细胞发现于骨髓, 持续性高表达 ILC2 的特征性转录因子 GATA3。在新生小鼠的肠道中只有少量 ILC, 在出生 2 个月内, ILC2 的数目出现稳定增长, 表明 ILC2P 存在从骨髓向肠道迁移并分化为成熟 ILC2 的过程。这一过程伴随维甲酸相关孤儿受体 α (retinoid acid receptor related orphan receptor α , ROR α) 表达升高, 并需要趋化因子 CCR9, 但研究未指明 ILC2P 与其他器官中 ILC2 的关系。目前尚未有证据表明 ILC1 和 ILC3 也具有种系特异性的前体细胞, 但这两个亚群可能也遵从这种发育模式。

上述前体细胞提示了一条从 CLP 到 ILC 的发育途径 (详见图)。然而, 这几种 ILC 前体细胞间的关系还未得到详细证明。此外, 目前在 CLP 中尚未发现 Id2 表达的诱导信号, 这一信号可能存在于骨髓微环境中, 但仍需要实验验证。

3.3 ILC 的分化

当 ILC 特异的前体细胞发育完成后, 在转录因子的调控下, ILC 开始向各亚群分化, 并获得相应功能, 最终成为成熟的 ILC。

这种分化受到内源的转录因子调控。其中, 主调控因子 (master regulator) 起着至关重要的作用。若敲除这些因子, 则 ILC 前体无法成为相应的成熟 ILC。同时, 这些因子也是区分 ILC 各亚群的重要标志。有趣的是, 这些主要转录因子与 Th 细胞各亚群的转录因子分别对应, 这一现象为“镜像细胞”理论提供了支持。其中, 与 Th1 相似, T-bet 是 1 类 ILC 的主调控因子, 但也有观点认为 NK 的主调控因子是 Eomes^[40]。2 类 ILC 与 Th2 具有同样的主调控因子 GATA3。3 类 ILC 则与 Th17 具有共同的主调控因子 ROR γ ^t。必须注意的是, 主调控因子不一定是亚群的特异性转录因子。例如, GATA3 对 ILC3 也有调控作用^[41], 而 T-bet 被发现影响某些 ILC3 的发育 (CCR6⁻ROR γ ^t)^[16]。

除调控发育外, 这些主要转录因子对 ILC 亚群的功能也有一定调控作用。对于在 ILC1 中, T-bet 与其产生 IFN- γ 的能力相关。而在成熟的 ILC2 中, GATA3 维持 2 类细胞因子受体表达和相关细胞因

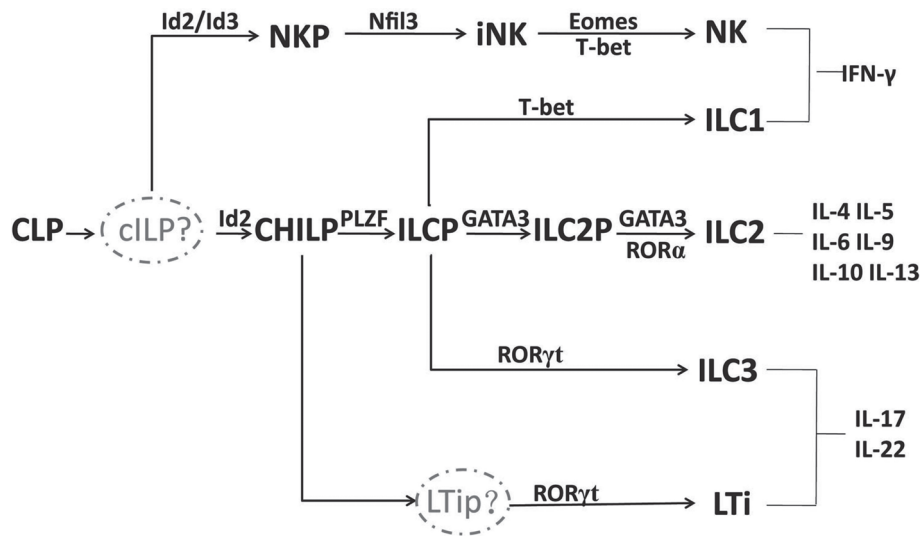


图1 ILC的发育分化过程及主要调控因子

子的产生。在 NCR^- ILC3 向类 ILC1 转换的过程中, 出现了 $\text{ROR}\gamma\text{t}$ 的下调, 这表明 $\text{ROR}\gamma\text{t}$ 与 3 类 ILC 功能的维持相关。但这些功能调控的相关机制仍在研究中。

除主调控因子外, 还存在其他一些因子辅助调控 ILC 亚群分化, 并可能影响其功能。已报道的调控因子包括 *Nfil3*、*TCF-1* 和 *AhR*。

其中, *Nfil3* 对 NK 细胞、ILC2 和 ILC3 的分化都十分重要。若敲除 *Nfil3*, 则 CHILP 大量减少, ILC 三个亚群的分化均受阻滞, 并易发生肠道和肺内感染^[42]。*Tcf7* 编码的 *TCF-1* 促进 ILC2 的发育。研究表明, 敲除 *TCF-1* 后, 小鼠缺乏 ILC2; 在体外, *TCF-1* 可通过 Notch 通路促进前体细胞向 ILC2 的发育^[43]。另一研究则指出, 这一转录因子与 ILC2 产生 2 类细胞因子的能力也相关。此外, 该研究也发现, *TCF-1* 对于 NCR^+ ILC3 的发育也有一定作用^[44]。*AhR* (aryl hydrocarbon receptor) 则促进 ILC3 的分化发育, 并可阻止 $\text{IL-1R1}^{\text{hi}}$ 的 ILC3 向 NK 发育^[45]。

这些转录因子的发现对于研究 ILC 相关功能分化以及亚群区分方面有重要意义, 但不同转录因子选择性诱导不同 ILC 亚群分化的机制仍然未知。此外, 目前的研究主要着眼于转录因子对 ILC 前体细胞发育的影响, 对于功能相关的转录因子研究很少, 因此, ILC 到底是如何发挥其功能还是一个谜。

另一方面, 外源的环境信号对于 ILC 亚群的分化也起重要作用。研究表明, 不同 ILC 亚群的功能

依赖不同的细胞因子。ILC1 产生 $\text{IFN-}\gamma$ 和 TNF 分别依赖 IL-15 和 IL-12, ILC2 的增殖和细胞因子产生依赖 IL-25 和 IL-33, 而 IL-23 和 IL-1 β 则对 ILC3 产生 IL-17A 和 IL-22 的能力至关重要。在特定 ILC 亚群的分化过程中, 这些细胞因子的受体也明显高表达, 其共刺激因子和下游的 JAK/STAT 通路和 Myd88 通路可能也参与 ILC 功能分化的调控^[46]。此外, 不同 ILC 亚群具有不同的代谢调控机制。一项研究表明, 在缺乏维生素 A 时, 小鼠肠道内的 ILC3 数量减少, IL-17 和 IL-22 分泌量下降, 而 ILC2 数量上升, 相关细胞因子分泌增加^[47]。目前这方面的研究尚处于起步阶段, 需要更多数据以构建调控网络。此外, 在这一时期, ILC 也完成了向不同器官迁移, 但对这一过程目前我们知之甚少。迁移的具体时期、所需转录因子和调节信号均未知。

4 结语

作为具有获得性免疫相关功能的固有免疫细胞, ILC 受到了极大关注。这一领域的探索有助于增加人们对获得性免疫和固有免疫的认识, 并进一步填补免疫调控网络的空白, 其研究对于免疫学的发展具有重要意义。并且, 由于具有快速响应的能力, ILC 在免疫早期和免疫平衡中可能发挥着非常重要的功能, 这为疾病机制研究和治疗提供了新思路。

然而, 必须指出, ILC 的研究存在很大的困难。一方面, 尽管已经发现了很多标志物, 但 ILC 亚群

仍然缺乏有效的区分方法。ILC 的组织特异性强, 对新发现的 ILC 归类存在困难, 其亚群之间的关系也不明确。另一方面, ILC 细胞数量很少, 且没有选择性剔除 ILC 的方法, 因此难以单独研究 ILC 的功能和作用机制。此外, 由于 ILC 与 Th 细胞亚群通过相同细胞因子发挥功能, 因此, 有必要区分 ILC 和 Th 细胞在免疫应答和感染过程中的不同作用, 以阐明两者的免疫学上的意义及调控细胞因子的来源。未来的研究也需要更好地定义 ILC 与适应性免疫系统间的相互作用, 从而使人们了解免疫应答的整个过程。此外, 调节性 ILC 亚群在免疫后期可能仍存在未发现的作用, 因而需要进一步探索。

[参 考 文 献]

- [1] Spits H, Artis D, Colonna M, et al. Innate lymphoid cells--a proposal for uniform nomenclature. *Nat Rev Immunol*, 2013, 13(2): 145-9
- [2] Vosshenrich CA, García-Ojeda ME, Samson-Villéger SI, et al. A thymic pathway of mouse natural killer cell development characterized by expression of GATA-3 and CD127. *Nat Immunol*, 2006, 7(11): 1217-24
- [3] Kiessling R, Klein E, Pross H, et al. "Natural" killer cells in the mouse. II. Cytotoxic cells with specificity for mouse Moloney leukemia cells. Characteristics of the killer cell. *Eur J Immunol*, 1975, 5(2): 117-21
- [4] Sojka DK, Plougastel-Douglas B, Yang L, et al. Tissue-resident natural killer (NK) cells are cell lineages distinct from thymic and conventional splenic NK cells. *Elife*, 2014, 3: e01659
- [5] Daussy C, Faure F, Mayol K, et al. T-bet and Eomes instruct the development of two distinct natural killer cell lineages in the liver and in the bone marrow. *J Exp Med*, 2014, 211(3): 563-77
- [6] Fuchs A, Vermi W, Lee JS, et al. Intraepithelial type 1 innate lymphoid cells are a unique subset of IL-12- and IL-15-responsive IFN- γ -producing cells. *Immunity*, 2013, 38(4): 769-81
- [7] Seillet C, Huntington ND, Gangatirkar P, et al. Differential requirement for Nfil3 during NK cell development. *J Immunol*, 2014, 192(6): 2667-76
- [8] Klose CS, Flach M, Möhle L, et al. Differentiation of type 1 ILCs from a common progenitor to all helper-like innate lymphoid cell lineages. *Cell*, 2014, 157(2): 340-56
- [9] Hurst SD, Muchamuel T, Gorman DM, et al. New IL-17 family members promote Th1 or Th2 responses in the lung: *in vivo* function of the novel cytokine IL-25. *J Immunol*, 2002, 169(1): 443-53
- [10] Kim BS, Siracusa MC, Saenz SA, et al. TSLP elicits IL-33-independent innate lymphoid cell responses to promote skin inflammation. *Sci Transl Med*, 2013, 5(170): 170ra16
- [11] Mjösberg JM, Trifari S, Crellin NK, et al. Human IL-25- and IL-33-responsive type 2 innate lymphoid cells are defined by expression of CRTH2 and CD161. *Nat Immunol*, 2011, 12(11): 1055-62
- [12] Withers DR. Lymphoid tissue inducer cells. *Curr Biol*, 2011, 21(10): R381-82
- [13] Magri G, Miyajima M, Bascones S, et al. Innate lymphoid cells integrate stromal and immunological signals to enhance antibody production by splenic marginal zone B cells. *Nat Immunol*, 2014, 15(4): 354-64
- [14] Glatzer T, Killig M, Meisig J, et al. ROR γ ⁺ innate lymphoid cells acquire a proinflammatory program upon engagement of the activating receptor NKp44. *Immunity*, 2013, 38(6): 1223-35
- [15] Vonarbourg C, Mortha A, Bui VL, et al. Regulated expression of nuclear receptor ROR γ t confers distinct functional fates to NK cell receptor-expressing ROR γ ⁺ innate lymphocytes. *Immunity*, 2010, 33(5): 736-51
- [16] Klose CS, Kiss EA, Schwierzeck V, et al. A T-bet gradient controls the fate and function of CCR6-ROR γ ⁺ innate lymphoid cells. *Nature*, 2013, 494(7436): 261-5
- [17] Vivier E, Raulet DH, Moretta A, et al. Innate or adaptive immunity? The example of natural killer cells. *Science*, 2011, 331(6013): 44-9
- [18] Bernink JH, Peters CP, Munneke M, et al. Human type 1 innate lymphoid cells accumulate in inflamed mucosal tissues. *Nat Immunol*, 2013, 14(3): 221-9
- [19] Buonocore S, Ahern PP, Uhlig HH, et al. Innate lymphoid cells drive interleukin-23-dependent innate intestinal pathology. *Nature*, 2010, 464(7293): 1371-75
- [20] Halim TY, Steer CA, Mathä L, et al. Group 2 innate lymphoid cells are critical for the initiation of adaptive T helper 2 cell-mediated allergic lung inflammation. *Immunity*, 2014, 40(3): 425-35
- [21] Bartemes KR, Iijima K, Kobayashi T, et al. IL-33-responsive lineage⁻CD25⁺CD44^{hi} lymphoid cells mediate innate type 2 immunity and allergic inflammation in the lungs. *J Immunol*, 2012, 188(3): 1503-13
- [22] Camelo A, Barlow JL, Drynan LF, et al. Blocking IL-25 signalling protects against gut inflammation in a type-2 model of colitis by suppressing nuocyte and NKT derived IL-13. *J Gastroenterol*, 2012, 47(11): 1198-211
- [23] Fuss IJ, Heller F, Boirivant M, et al. Nonclassical CD1d-restricted NK T cells that produce IL-13 characterize an atypical Th2 response in ulcerative colitis. *J Clin Invest*, 2004, 113(10): 1490-7
- [24] Voehringer D, Reese TA, Huang X, et al. Type 2 immunity is controlled by IL-4/IL-13 expression in hematopoietic non-eosinophil cells of the innate immune system. *J Exp Med*, 2006, 203(6): 1435-46
- [25] Walker JA, Barlow JL, McKenzie AN. Innate lymphoid cells--how did we miss them? *Nat Rev Immunol*, 2013, 13(2): 75-87
- [26] Lane PJ, McConnell FM, Withers D, et al. Lymphoid tissue inducer cells: bridges between the ancient innate and the modern adaptive immune systems. *Mucosal Immunol*, 2009, 2(6): 472-7
- [27] Guo X, Qiu J, Tu T, et al. Induction of innate lymphoid cell-derived interleukin-22 by the transcription factor STAT3 mediates protection against intestinal infection.

- Immunity, 2014, 40(1): 25-39
- [28] De Luca A, Zelante T, D'Angelo C, et al. IL-22 defines a novel immune pathway of antifungal resistance. *Mucosal Immunol*, 2010, 3(4): 361-73
- [29] Zheng Y, Valdez PA, Danilenko DM, et al. Interleukin-22 mediates early host defense against attaching and effacing bacterial pathogens. *Nat Med*, 2008, 14(3): 282-9
- [30] Sawa S, Lochner M, Satoh-Takayama N, et al. ROR γ ⁺ innate lymphoid cells regulate intestinal homeostasis by integrating negative signals from the symbiotic microbiota. *Nat Immunol*, 2011, 12(4): 320-6
- [31] Takayama T, Kamada N, Chinen H, et al. Imbalance of NKp44⁺NKp46⁻ and NKp44⁻NKp46⁺ natural killer cells in the intestinal mucosa of patients with Crohn's disease. *Gastroenterology*, 2010, 139(3): 882-892.e3
- [32] Mortha A, Chudnovskiy A, Hashimoto D, et al. Microbiota-dependent crosstalk between macrophages and ILC3 promotes intestinal homeostasis. *Science*, 2014, 343(6178): 1249288
- [33] Zelenkiewicz LA, Yancopoulos GD, Valenzuela DM, et al. Innate and adaptive interleukin-22 protects mice from inflammatory bowel disease. *Immunity*, 2008, 29(6): 947-57
- [34] Eken A, Singh AK, Treuting PM, et al. IL-23R⁺ innate lymphoid cells induce colitis via interleukin-22-dependent mechanism. *Mucosal Immunol*, 2013, 7(1): 143-54
- [35] Kaser A, Lee AH, Franke A, et al. XBP1 links ER stress to intestinal inflammation and confers genetic risk for human inflammatory bowel disease. *Cell*, 2008, 134(5): 743-56
- [36] Boos MD, Yokota Y, Eberl G, et al. Mature natural killer cell and lymphoid tissue-inducing cell development requires Id2-mediated suppression of E protein activity. *J Exp Med*, 2007, 204(5): 1119-30
- [37] Yu J, Freud AG, Caligiuri MA. Location and cellular stages of natural killer cell development. *Trends Immunol*, 2013, 34(12): 573-82
- [38] Constantinides MG, McDonald BD, Verhoef PA, et al. A committed precursor to innate lymphoid cells. *Nature*, 2014, 508(7496): 397-401
- [39] Hoyler T, Klose CS, Souabni A, et al. The transcription factor GATA-3 controls cell fate and maintenance of type 2 innate lymphoid cells. *Immunity*, 2012, 37(4): 634-48
- [40] Shih HY, Sciumè G, Poholek AC, et al. Transcriptional and epigenetic networks of helper T and innate lymphoid cells. *Immunol Rev*, 2014, 261(1): 23-49
- [41] Yagi R, Zhong C, Northrup DL, et al. The transcription factor GATA3 is critical for the development of all IL-7R α -expressing innate lymphoid cells. *Immunity*, 2014, 40(3): 378-88
- [42] Seillet C, Rankin LC, Groom JR, et al. Nfil3 is required for the development of all innate lymphoid cell subsets. *J Exp Med*, 2014, 211(9): 1733-40
- [43] Yang Q, Monticelli LA, Saenz SA, et al. T cell factor 1 is required for group 2 innate lymphoid cell generation. *Immunity*, 2013, 38(4): 694-704
- [44] Mielke LA, Groom JR, Rankin LC, et al. TCF-1 controls ILC2 and NKp46⁺ROR γ ⁺ innate lymphocyte differentiation and protection in intestinal inflammation. *J Immunol*, 2013, 191(8): 4383-91
- [45] Hughes T, Briercheck EL, Freud AG, et al. The transcription factor AHR prevents the differentiation of a stage 3 innate lymphoid cell subset to natural killer cells. *Cell Rep*, 2014, 8(1): 150-62
- [46] Seillet C, Belz GT, Mielke LA. Complexity of cytokine network regulation of innate lymphoid cells in protective immunity. *Cytokine*, 2014, 70(1): 1-10
- [47] Spencer S P, Wilhelm C, Yang Q, et al. Adaptation of innate lymphoid cells to a micronutrient deficiency promotes type 2 barrier immunity. *Science*, 2014, 343(6169): 432-47