肝脏NK细胞亚群的异质性

陈雅雯^{1,2}, 田志刚^{1,2}, 彭慧^{1,2*}

1. 中国科学技术大学免疫学研究所, 合肥 230027;

2. 中国医学科学院创新单元, 合肥 230027

* 联系人, E-mail: huipeng@ustc.edu.cn

收稿日期: 2021-12-06; 接受日期: 2022-02-06; 网络版发表日期: 2022-05-09

国家自然科学基金(批准号: 81788101, 81922029, 91542000)、国家重点研发计划(批准号: 2020YFA0804100)和NK细胞研究创新单元(批准号: 2019-I2M-5-073)资助

摘要 自然杀伤(natural killer, NK)细胞自20世纪70年代被发现以来备受关注, 但早期研究多以循环NK细胞作为研究对象. 直到近十年, NK细胞的组织异质性才受到学界重视. 肝脏作为NK细胞含量丰富且异质性的器官, 为研究NK细胞亚群提供了很好的窗口. 肝脏NK细胞由参与血液循环的经典NK细胞和肝脏驻留NK细胞组成, 本文重点介绍肝脏驻留NK细胞与经典NK细胞在发育起源、分化、转录调控、免疫功能等方面的差异, 以期为肝脏区域免疫特性研究提供新的切入点.

关键词 肝脏驻留NK细胞, 经典NK细胞, 发育起源, 转录因子, 病毒感染, 肝细胞癌

自然杀伤(natural killer, NK)细胞是继T细胞、B细胞之后被发现的第三类淋巴细胞, 以其无需致敏直接杀伤肿瘤细胞而得名. 后续研究发现, NK细胞不仅具有抗肿瘤效应, 在抗感染、移植排斥、自身免疫病以及维持母胎耐受中也起到重要作用^[1-3]. NK细胞由于不经历重组激活基因介导的抗原受体基因重排过程, 其活化依赖于胚系基因编码的活化性受体和抑制性受体下游传递的信号之间的平衡, 因而被归入固有免疫系统.

NK细胞在体内广泛分布, 在骨髓中发育成熟后可随血液循环到达外周各组织器官. 以往研究多以人外周血和小鼠脾脏NK细胞为研究对象, 然而越来越多证据表明, NK细胞具有组织异质性. 肝脏作为固有免疫优势器官, 含有数量丰富的NK细胞. 近期

研究发现, 肝脏NK细胞存在两个截然不同的NK细胞亚群: 一群是不参与血液循环且定居在肝窦内的驻留NK细胞(liver-resident NK cell, LrNK cell), 其占肝脏总NK细胞的30%~50%, 也被学界称为肝脏1型固有淋巴细胞(type 1 innate lymphoid cell, ILC1); 另一群则为循环的经典NK细胞(conventional NK cell, cNK cell), 与外周血和脾脏NK细胞相似^[4,5]. LrNK细胞亚群的发现打破了以往将NK细胞均视作循环淋巴细胞的认知局限, 组织驻留NK细胞的概念也随之拓展到其他组织器官. 本文围绕肝脏NK细胞亚群的异质性, 重点阐释LrNK细胞与cNK细胞在发育起源、发育分化、转录调控、免疫功能等方面的差异, 以期为肝脏区域免疫特性研究提供新的视角.

引用格式: 陈雅雯, 田志刚, 彭慧. 肝脏NK细胞亚群的异质性. 中国科学: 生命科学, 2023, 53: 250-261

Chen Y W, Tian Z G, Peng H. Heterogeneity of liver NK cells (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2023, 53: 250-261, doi: [10.1360/SSV-2021-0240](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0240)

1 NK细胞在肝脏的优势分布

NK细胞的鉴定主要依赖于其表面高水平表达的受体. 小鼠NK细胞表面高表达NK1.1, NKp46, CD122和CD94等分子, 但这些受体在特定T淋巴细胞群体中也有一定表达, 因此, 在鉴定时还需排除T细胞谱系特异性标志(CD3或TCR α/β)^[6]. 人NK细胞以CD56⁺CD3⁻表型进行鉴定, 可分为CD56^{bright}和CD56^{dim}两个亚群, CD56^{bright}亚群分泌细胞因子能力强而杀伤功能较弱, CD56^{dim}亚群则具有较强的杀伤功能, 占外周血总NK细胞90%以上^[7].

NK细胞尽管在机体内广泛分布, 但在不同组织器官中丰度差异较大. 在小鼠中, 肝脏NK细胞占肝脏总淋巴细胞的5%~10%, 比例显著高于外周血和淋巴组织中的NK细胞^[8]. 早期研究发现, 小鼠肝脏NK细胞在表型上与外周NK细胞呈现较大差异. 与脾脏和外周血NK细胞相比, 肝脏NK细胞表达较低水平的细胞表面分子Mac-1和CD49b(DX5), 与功能成熟相关的Ly49受体和转录因子Eomes(eomesodermin)也呈现较低表达水平^[9,10]. NK细胞在体内沿着以下四个阶段发育成熟: CD11b^{low}CD27^{low}→CD11b^{low}CD27^{high}→CD11b^{high}CD27^{high}→CD11b^{high}CD27^{low}^[11,12]. 随后研究发现, 以上四个发育阶段在NK细胞中的占比具有组织差异性, 肝脏NK细胞中CD11b^{low}CD27^{low}群体的比例远高于其他脏器^[13]. 尽管肝脏NK细胞在表型上呈现不成熟NK细胞的特征, 但是这群细胞具有较强的效应功能, 甚至比脾脏NK细胞具备更强的杀伤肿瘤细胞的功能^[14]. 同时肝脏NK细胞高表达TRAIL(tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand), 能以TRAIL分子依赖的方式杀伤肝实质细胞^[15]. 随着后续LrNK细胞新亚群的发现, 早期研究观察到的肝脏NK细胞呈现出的上述组织特异性特征可归结于这个独特的细胞亚群的存在.

人类NK细胞在肝脏中也呈现优势分布, 约占肝脏总淋巴细胞数量的30%~50%^[16], 远高于外周血中NK细胞所占比例(10%~15%). 与CD56^{dim}CD16⁺细胞占主导的外周血NK细胞不同, 约一半的肝脏NK细胞为CD56^{bright}CD16⁻, 且相对高表达CD69, HLA-DR和NKp44等分子, 低表达杀伤细胞免疫球蛋白样受体(killer cell immunoglobulin-like receptor, KIR). 由于KIR的表达与人NK细胞杀伤功能呈正相关, 人肝脏总

NK细胞展现出比外周血NK细胞更低的杀伤肿瘤细胞的能力^[17]. 近期研究发现, 人肝脏中也富集了一群不参与血液循环的组织驻留NK细胞^[18], 可能该亚群的存在使肝脏NK细胞总体上与外周血NK细胞相比呈现较大差异.

2 肝脏NK细胞亚群组成

2.1 小鼠肝脏NK细胞亚群组成

稳态下, 小鼠肝脏中的cNK细胞和LrNK细胞处于接近1:1的动态平衡中, 各占CD3⁺NK1.1⁺NKp46⁺细胞的一半左右^[4]. cNK细胞随血液循环游走, 而LrNK细胞长期驻留在肝脏中^[19]. 由于接触的组织微环境不同, 这两群细胞表型差异较大, 这也为区分这两群细胞提供了依据. cNK细胞表面高表达CD49b^[9]和Ly49家族分子^[20], 而LrNK细胞不表达CD49b分子, 低表达Ly49家族分子, 高表达TRAIL分子以及若干cNK细胞不成熟阶段的特征分子^[21], 因此, 学界早期将LrNK细胞看作是cNK细胞发育过程中的一个不成熟阶段. 直至2013年本课题组^[4]首次提出LrNK细胞是一个独立的细胞亚群, 稳态下LrNK细胞和cNK细胞并不会互相转变, CD49a分子可以作为鉴定LrNK细胞亚群的标志物, 该发现为肝脏NK细胞亚群的研究奠定基础. 除CD49a分子以外, CXCR6分子也是LrNK细胞表面特征分子之一^[22], 但NKT细胞和部分T细胞也表达CXCR6^[23]. CD200R1分子凭借其表达稳定性和保守性, 也有望成为新晋的驻留NK细胞表型标志物之一^[24]. 此外, 与cNK细胞相比, LrNK细胞表达较高水平的CXCR3, CD11c, NKG2A/C/E, CD69等分子, 而CD11b和CD62L等分子的表达水平则较低; IL-7R α 在多个ILC家族成员上高表达, 但在LrNK细胞上呈异质性表达(约20%~30%), 在cNK细胞上则几乎不表达^[25,26]; LrNK细胞还高表达嘌呤受体P2X7R^[27], CD39, CD73, LAG3及PD-L1等免疫负调相关分子^[28].

早期对ILC1s的功能定义是不具备杀伤功能但能分泌IFN- γ 等细胞因子的辅助性ILCs. 尽管LrNK细胞被归入到ILC1s, 但本课题组^[25]在体外杀伤实验中发现, LrNK细胞对肿瘤细胞Yac-1的杀伤能力显著强于cNK细胞, 这一发现对ILC亚群的功能定义和LrNK细胞的归类形成挑战. 抗病毒免疫是NK细胞的重要功能之一, 在病毒感染早期, LrNK细胞和cNK细胞均可介

导抗病毒保护应答,但在应答时相上LrNK细胞比cNK细胞更早^[24];在感染进程中,T细胞逐渐成为抗病毒应答的主力军,LrNK细胞由于高表达免疫负调分子,可抑制肝脏T细胞的抗病毒应答,cNK细胞则起到相反的调节作用^[28]。另一方面,尽管免疫记忆长期以来被认为是适应性淋巴细胞的特征,但本课题组^[4]发现,作为固有免疫系统成员的LrNK细胞具有对半抗原的免疫记忆特性,可介导二次免疫应答。LrNK细胞呈现出上述多种功能是否反映出这群细胞本身仍然存在异质性,该问题还有待阐明。

2.2 人类肝脏NK细胞亚群组成

小鼠LrNK细胞的发现,使得学界开始关注人类肝脏中是否也存在类似的细胞亚群。通过借鉴小鼠CD49a分子的研究,Marquardt等人^[29]首次在人类的肝脏中鉴定出一群CD49a⁺ NK细胞,这群细胞归属于CD56^{bright}CD16⁻群体,并且与小鼠LrNK细胞有相似的转录因子表达谱,均高表达T-bet(T-box expressed in T cells)。CD49a⁺ NK细胞在人外周血中几乎不存在,其也仅占人肝脏总NK细胞的一小部分(0.11%~12.7%),因此CD49a⁺ NK细胞可能并不能代表全部的人类LrNK细胞。后续研究发现,小鼠和人的NK细胞转录因子具有种属差异,与小鼠cNK细胞不同,人外周血循环NK细胞几乎都为T-bet^{high}Eomes^{low},而肝脏中近一半NK细胞为T-bet^{low}Eomes^{high}^[16],这群Eomes^{high} NK细胞经肝移植后能在受者病人体内长期存活,并且在表型上高表达CXCR6,CCR5,CD69等分子,而基本不表达CD49a和CD103等分子^[30],暗示该群Eomes^{high}细胞具有组织驻留特性;相比外周血cNK细胞,该亚群与肿瘤细胞孵育后脱颗粒水平更高,提示其具有较强的杀伤肿瘤细胞的潜能,但分泌IFN- γ 能力较低^[16]。2017年,

Yokoyama课题组^[31]通过质谱流式技术也同样发现,肝脏特异性富集T-bet^{low}Eomes^{high} NK细胞亚群,并首次运用CD49e⁻作为人LrNK细胞的鉴定标志,这一发现也得到了其他课题组研究结果的支持。上述研究表明,人类肝脏中确实存在不同于循环cNK细胞的驻留NK细胞群体,其与小鼠LrNK细胞相比既有相似点,也存在差别(表1)。

3 肝脏NK细胞亚群的起源与发育分化

3.1 NK细胞的起源

造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)被认为是机体各类血细胞的初始来源。HSCs最早出现于胚胎小鼠的主动脉-性腺-中肾(aorta-gonad-mesonephros, AGM)区域,之后向胎肝和胎脾转移,在胚胎阶段的较长时间内,胎肝承担机体主要的造血功能;出生后,HSCs主要储存于骨髓中,因此骨髓成为主要的造血器官。胎肝和骨髓也分别被认为是胚胎和成年NK细胞起源的主要场所。

小鼠NK细胞最早出现于胚胎第14.5天(embryonic day 14.5, E14.5)的肝脏中^[32],但并不清楚此时出现的是cNK细胞还是LrNK细胞。根据后续研究报道,E16天胎肝NK1.1⁺CD3⁻细胞大部分为CD49a⁺Eomes⁻^[33],推测胎肝中以LrNK细胞为主,这也提示LrNK细胞的形成在个体发生上可能早于cNK细胞。

HSCs向NK细胞的发育分化是一个多步骤的过程,受到复杂而精细的调控。HSCs先向下游发育成为共同淋巴祖细胞(common lymphoid progenitor, CLP);在小鼠中,CLPs在Nfil3(nuclear factor interleukin-3-regulated)和Tox(thymocyte selection-associated high mobility group box)的驱动下,细胞表面分子CXCR6和 $\alpha 4\beta 7$

表1 小鼠与人肝脏NK细胞亚群特征比较

Table 1 Comparison of NK subpopulations in mice and humans

亚群特征	小鼠		人	
	CD49b ⁺ cNK	CD49a ⁺ LrNK	CD56 ^{dim} NK	CD56 ^{bright} NK
占肝脏总NK细胞的比例	50%~70%	30%~50%	~50%	~50%
循环特性	循环	驻留	循环	部分驻留
表面特征分子	CD49b, CD11b, CD62L, Ly49s	CD49a, TRAIL, CXCR6, CD200R1, CD11c, P2X7R, PD-L1, CD39, CD73, CD69	CD49e, KIRs	CXCR6, CD69, CCR5
转录因子	T-bet, Eomes	T-bet, Hobit	T-bet, Hobit	Eomes

以及转录因子Id2(inhibitor of DNA binding 2))表达上调, Id2抑制T细胞和B细胞发育依赖的转录因子E2A的表达, 从而促进NK细胞和其他ILC亚群的发育^[6,34]. 随后, 在转录因子TCF1(T cell factor 1)的作用下形成早期固有淋巴前体(early innate lymphoid progenitor, EILP), EILPs失去向T细胞和B细胞发育的潜能, 但可发育成为cNK细胞、LrNK细胞在内的ILC家族各成员^[35]. 2014年Klose等人^[36]利用Id2^{Gfp}报告小鼠发现, Lin⁻Id2⁺IL-7Ra⁺α4β7⁺CD25⁻前体细胞可发育为LrNK细胞(即肝脏ILC1s), 肠道ILC1s, ILC2s和ILC3s, 但不能发育成cNK细胞, 因此, 这群前体被命名为共同辅助样固有淋巴祖细胞(common helper innate lymphoid progenitor, CHILP), LrNK细胞也被归入到辅助样ILCs群体中, cNK细胞则属于细胞毒性ILCs^[36]. 与此同时, Constantinides等人^[37]报道一群PLZF^{high}前体细胞具有多种ILCs发育潜能, 但不能发育成cNK细胞和LTi细胞. 然而, 与上述研究不一致的是, 研究者通过构建多转录因子报告小鼠发现, 该小鼠Id2基因的示踪效率高于Id2^{Gfp}报告小鼠, 且Id2⁺PLZF⁺ CHILPs仍可在体内外分化成cNK细胞^[38,39]. 因此, 目前关于cNK细胞与LrNK细胞/ILC1s在发育谱系上的分叉节点仍存在争议.

与小鼠相比, 关于人类NK细胞和ILCs起源的研究相对滞后. 早期研究发现, 人类骨髓中也存在淋巴系发育潜能的CLPs. 在ILCs概念提出之前, 已有证据表明, 在人类次级淋巴组织, 如扁桃体、淋巴结中, 含有处于不同发育阶段的多能前体细胞, 具有向NK细胞、T细胞和树突状细胞发育的潜能^[40]. 近来, Scoville等人^[41]对这些前体细胞通过开展更细致深入的研究发现, Lin⁻CD34⁺CD45RA⁺CD117⁺IL-1R1⁺前体可定向发育成包括NK细胞在内的各ILC亚群, 但不具备向其他类型免疫细胞分化的能力, 这群细胞是目前已知的发育阶段最早的ILCs共同前体. 此外, 在外周血、胎肝、脐带血等部位也存在一群ILCs共同前体, 表型为Lin⁻CD34⁺CD7⁺IL-7R⁺CD117⁺^[42], 由于CD34分子的表达下调往往与细胞分化相关, 这群细胞可能处于Lin⁻CD34⁺CD45RA⁺CD117⁺IL-1R1⁺前体的下游阶段.

3.2 LrNK细胞的肝内原位发育

过去多以成年阶段NK细胞为研究对象, 而骨髓作为成年期主要的造血器官, 骨髓移植可有效重建出NK细胞, 因此, 学界长期以来认为, 外周NK细胞的更新和

补充主要依赖骨髓造血. 然而已有证据表明, NK细胞前体和ILC共同前体也在骨髓以外的组织器官中存在, 如胸腺、次级淋巴组织等^[43,44], 髓外造血前体细胞对组织特异性NK细胞的形成及局部微环境的影响有待探索.

本课题组^[4]在若干年前注意到, 致死辐照小鼠在接受骨髓移植后, LrNK细胞的比例和数量低于正常小鼠, 而cNK细胞能正常产生, 提示骨髓造血可能并非LrNK细胞的主要来源. 由于肝脏是胚胎时期的主要造血器官, 即使至成年阶段, 肝脏仍然保留一定量的HSCs^[45], 因此, 本课题组推测LrNK细胞可能由原位造血前体细胞发育而来. 通过比较胎肝、成年肝脏、骨髓和外周血造血前体细胞发现, 成年小鼠肝脏存在一群类似于胎肝造血干细胞的Lin⁻Sca-1⁺Mac-1⁺(LSM)细胞; 体内转输实验证实, LSM细胞具有向多种淋巴系和髓系细胞发育的潜能, 并能通过中间过渡阶段定向分化成LrNK细胞; LSM细胞表达IFN-γ受体, 在微环境中IFN-γ的刺激下, LSM细胞可加速扩增并向LrNK细胞分化; IFN-γ或其受体缺陷小鼠中, LrNK细胞数量显著减少, 在NKp46⁺细胞条件性缺失Ifng的小鼠中也观察到类似现象, 由于LrNK细胞的数量在cNK细胞缺失小鼠中并无显著变化, 提示LrNK细胞自分泌的IFN-γ可正向调控其肝内发育途径^[46]. 对于人LrNK细胞是否存在类似的发育路径还有待进一步探索.

3.3 肝脏NK细胞亚群的成熟阶段划分

如前所述, 依据CD11b和CD27的表达可将小鼠NK细胞的功能性成熟划分为四个阶段^[11,12], 但这种划分手段是以cNK细胞为依据. 肝脏的cNK细胞与外周相似, 稳态下主要以终末成熟的CD11b^{high}CD27^{low}细胞形式存在, 同时高表达KLRG1和CD43等分子^[9,47]. 但与cNK细胞不同, LrNK细胞稳态下主要以CD11b^{low}CD27^{low}和CD11b^{low}CD27^{high}的细胞群体存在. 本课题组^[48]通过体内外分化实验证明, CD27^{high} LrNK可向CD27^{low} LrNK细胞分化, CD8⁺ T细胞表面CD70分子通过与CD27分子结合促进这一分化过程, 因此CD8⁺ T细胞缺失会使得小鼠体内成熟的CD27^{low} LrNK细胞数量显著减少.

在对人类NK细胞进行成熟阶段划分时, 学界曾将CD56^{bright} NK细胞作为CD56^{dim} NK细胞分化过程中的一个不成熟阶段^[49,50]. 随着CD56表达的下调, CD56^{dim}

NK细胞逐渐获得CD16分子的表达,同时也伴随着细胞毒性的增强,但细胞因子的分泌能力逐渐降低。终末成熟的CD56^{dim} NK细胞高表达CD57和KIRs等分子而低表达NKG2A分子^[51~54]。与该结论一致的是,用CD11b和CD27分子对人外周血、脐带血及蜕膜的CD56^{bright}和CD56^{dim} NK细胞进行成熟阶段划分时,CD56^{bright} NK细胞以不成熟的CD11b^{low}CD27^{low}和CD11b^{low}CD27^{high}群体为主,而CD56^{dim} NK细胞则呈现出CD11b^{high}CD27^{low}的成熟表型^[55]。近期,Viver课题组^[56]也通过单细胞RNA测序发现,人脾脏中CD56^{bright}和CD56^{dim} NK细胞CD27/CD11b的表达也符合以上模式。但人LrNK细胞是否同小鼠LrNK细胞相似,也存在从CD27^{high}向CD27^{low}阶段的发育分化路径仍有待继续研究。

4 肝脏NK细胞亚群依赖不同转录因子

转录因子是决定细胞命运的关键因素。研究者相继发现一系列特征转录因子调控LrNK细胞和cNK细胞的后期发育和维持,这也为LrNK细胞和cNK细胞分别作为独立发育谱系的观点提供了有力支撑。

4.1 T-bet和Eomes

T-bet和Eomes都属于T-box转录因子家族,分别是LrNK细胞和cNK细胞发育所依赖的特征转录因子。稳态下,小鼠LrNK细胞和cNK细胞均高表达T-bet;Eomes在cNK细胞中高表达,但在LrNK细胞上低表达^[57]。Eomes基因缺陷导致cNK细胞大幅减少,而LrNK细胞数量则不受影响^[24,28]。尽管T-bet也能调控cNK细胞的终末成熟^[58,59],但在*Tbx21*(T-bet)^{-/-}小鼠中,LrNK细胞几乎完全缺失,但cNK细胞仍以一定数量存在^[25]。此外,在T-bet过表达的转基因小鼠中,LrNK细胞占肝脏总NK细胞的比例上升至90%,甚至脾脏中Eomes⁻驻留NK细胞数量也大幅上升^[57],提示T-bet可以通过抑制Eomes表达促进LrNK细胞发育。

4.2 Hobit

Hobit(homolog of Blimp1 in T cells)在小鼠LrNK细胞中的表达水平显著高于cNK细胞,Hobit基因缺陷导致NK细胞缺失,但肝脏和脾脏cNK细胞数量不受影响,说明Hobit特异性调控LrNK细胞^[60]。不仅如此,Ho-

bit还能调控其他类型的驻留淋巴细胞,如组织驻留记忆T细胞、NKT细胞,但在这些细胞中,Hobit需要协同转录因子Blimp1发挥调控作用^[60]。在人类中,Hobit在肝脏NK细胞上的表达水平总体低于外周血NK细胞;若对CD56^{bright} NK细胞亚群单独进行分析,肝脏CD56^{bright} NK细胞Hobit的表达水平则略高于外周血CD56^{bright} NK细胞^[61]。鉴于Hobit同时也在人CD56^{dim} cNK细胞上高表达,该转录因子可能并不适合用于区分人LrNK细胞和cNK细胞。

4.3 AhR

AhR(aryl hydrocarbon receptor)是配体依赖的转录因子,在小鼠LrNK细胞中的基因表达和蛋白表达水平均高于cNK细胞。*Ahr*^{-/-}小鼠的LrNK细胞比例和数量均显著降低(约下降1/2~2/3),而cNK细胞的数量和成熟不受影响^[62]。*Ahr*基因缺陷的LrNK细胞呈现出更高的凋亡水平,正常LrNK细胞在体外培养时加入AhR激动剂可有效抑制LrNK细胞凋亡,说明AhR信号对LrNK细胞的存活发挥重要作用^[62]。此外,*Ahr*基因缺陷也会导致ILC3s和Th17细胞的减少^[63]。

4.4 GATA3

GATA3(GATA binding protein 3)是ILCs谱系发育中的一个关键的转录因子^[64]。GATA3可从多个层面影响cNK细胞,一方面促进其从骨髓向外周组织器官的迁移,同时还能促进IFN- γ 的分泌^[65]。在NKp46⁺细胞条件缺失*Gata3*的小鼠中,LrNK细胞数量也显著减少,这可能与GATA3调控其发育分化有关^[65]。

除了以上较为特异的转录因子外,在整个ILCs谱系的发育路径中,还有许多关键的转录因子直接或间接影响着LrNK细胞和cNK细胞的产生,如Nfil3^[66],Mcl1^[67]等。

5 肝脏NK细胞亚群与疾病

尽管大量证据表明,NK细胞在多种肝脏疾病中发挥重要作用,但过去多以小鼠NK1.1⁺CD3⁻细胞和人CD56⁺CD3⁻细胞为研究对象,这些细胞混合了cNK和LrNK细胞。直到近年LrNK细胞新亚群的发现,学者才开始逐渐关注和区分LrNK细胞与cNK细胞的功能特性及其疾病意义。

5.1 肝脏NK细胞亚群在病毒感染中的作用

在病毒感染的不同时相, 肝脏NK细胞亚群常扮演不同的角色(图1). 小鼠巨细胞病毒(murine cytomegalovirus, MCMV)是经典的模拟人CMV感染的模式病毒. 在MCMV介导的急性感染中, cNK细胞和LrNK细胞均可以介导早期的抗病毒免疫应答, 但二者在应答时相上存在差异^[24]. 当肝脏是感染的原发部位时, LrNK细胞在感染12小时后即可产生应答, 在细胞因子IL-12的活化下快速分泌IFN- γ , 发挥抗病毒作用, 而此时cNK细胞尚未活化^[24]. 随着感染时间的延长, cNK细胞通过表面的活化性受体Ly49H直接识别病毒m157蛋白而被激活, 并分泌IFN- γ 介导抗病毒应答. cNK细胞在IL-12, IL-15和IL-18的作用下快速扩增, 细胞数显著增多, 在经历收缩期后逐渐形成稳定的记忆细胞库, 在二次感染时记忆性cNK细胞会迅速介导更强的抗病毒应答, 该记忆过程依赖于Ly49H对m157的识别^[68,69]. 尽管LrNK细胞不表达Ly49H分子, 但也可以产生对MCMV的免疫记忆. 在感染初期, LrNK细胞会在乳酸的作用下发生凋亡而数量减少^[70], 该现象在肿瘤微环境中也存在^[71]; 存活下来的LrNK细胞在IL-12和IL-18的作用下扩增, 但扩增幅度小于cNK细胞, IL-18R⁺ LrNK细胞在经历扩增和收缩期后会形成记忆细胞库, 二次感染时发生记忆应答, 该过程依赖于LrNK细胞对病毒m12蛋白的识别, 但识别m12的受体暂不清楚. 有证据显示, NKR-P1受体家族的分子参与识别m12^[72], 但NK1.1分子作为该家族的一员是否在其中发挥作用尚待明确. 在CMV感染的病人中, NKG2C⁺ NK细胞在识别病毒UL40蛋白后迅速扩增, 逐渐形成免疫记忆^[73], 而这群细胞主要是CD56^{dim} cNK细胞^[74], 肝脏CD56^{bright} LrNK细胞是否也介导对CMV的免疫记忆仍需进一步探究.

淋巴脉络丛脑膜炎病毒(lymphocytic choriomeningitis virus, LCMV)也是常用的病毒感染模型, T细胞在抗LCMV感染中发挥关键作用, 而NK细胞可通过调控T细胞免疫影响感染进程. 本课题组^[28,75]发现, 在LCMV的急性感染(Armstrong毒株)和慢性感染(Clone13毒株)小鼠模型中, 肝脏cNK细胞和LrNK细胞都经历先扩增后恢复的过程, 但二者扮演的角色却不相同. 在肝脏T细胞应答过程中, LrNK细胞通过表面高表达的PD-L1分子与T细胞表面PD-1分子结合, 抑制

图1 肝脏NK细胞亚群在病毒感染中的作用

Figure 1 Different roles that liver NK subpopulations play during viral infection

病毒特异性T细胞的增殖和效应功能; 而cNK细胞则发挥促进T细胞抗病毒应答的作用^[28]. 除了高表达PD-L1以外, LrNK细胞还高表达CD39, CD73等负调分子, 这些分子是否也参与了LrNK细胞的负调过程暂不清楚. 在腺病毒感染时, LrNK细胞可通过NKG2A分子抑制肝脏树突状细胞的活化, 从而间接抑制CD8⁺ T细胞的抗病毒应答, 而cNK细胞不具备该负调功能^[76]. 上述研究提示LrNK细胞可能通过多种机制发挥免疫调节功能.

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)和丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)是典型的亲肝性病毒, 是全球肝脏疾病的重要诱因, 长期感染可导致慢性肝炎、肝纤维化、肝硬化甚至肝癌. NK细胞亚群作为肝脏重要的固有免疫细胞, 在帮助肝脏防御病毒感染的过程中发挥重要作用^[77]. 在小鼠急性HBV感染模型中, cNK细胞而非LrNK细胞可以增强CD8⁺ T细胞抗病毒作用^[78]. 在HBV慢性携带小鼠和慢乙肝病人中, NK细胞上调表达抑制性受体NKG2A, 进而其效应功能受到抑制, 最终无法有效清除病毒^[79]. 与此相似的是, 在急性HCV感染模型中, 小鼠肝脏cNK细胞也高表达NKG2A分子并呈现耗竭状态^[80]; 但在感染早期, cNK细胞快速扩增可以有效控制病毒, 而LrNK细胞的数量无显著变化^[81]. 在慢乙肝病人中, 肝脏及外周CD56^{dim} cNK细胞通过KLRG1分子杀伤星形细胞, 进而抑制肝脏纤维化的发展^[82], CD56^{dim} cNK细胞还能形成HBV特异的NKG2D分子依赖的记忆样NK细胞, 并且高表达CD57, CD69和KLRG1等特征分子^[83]. 有证据表明, 在接受抗病毒治疗的慢乙肝病人中, 外周CD56^{bright}

NK细胞的细胞数目显著增加, 且细胞功能有所恢复^[84]; 但在HBV相关的肝硬化病人中, 外周TRAIL⁺CD56^{bright} NK细胞的高度活化与肝损伤密切相关^[85]. 由于研究手段和样本来源的局限性, 目前并不清楚肝脏中CD56^{bright} LrNK细胞在病毒感染相关疾病中的确切作用.

5.2 肝脏NK细胞亚群与肝细胞癌

大量证据表明, NK细胞在多种肿瘤疾病中发挥重要的抗肿瘤免疫功能. 在小鼠模型中, 通过NK1.1或ASGM1抗体清除NK细胞是探究NK细胞体内抗肿瘤功能的常规手段, 然而, 这些抗体可以同时清除cNK细胞和组织驻留NK细胞(或ILC1). 由于缺少特异性清除NK细胞亚群的抗体, 以及特异性缺失这些细胞群体的动物模型的缺乏, 目前对经典NK细胞和组织驻留NK细胞分别在肿瘤进程中的作用并不十分清楚.

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)作为常见的恶性肿瘤, 是全球癌症相关死亡的重要原因之一. NK细胞可直接杀伤肝癌细胞, 也可通过分泌IFN- γ 抑制HCC进展^[86-88]. 随着HCC进展, 肝脏NK细胞呈现免疫耗竭的状态, 主要表现为整体数量的减少和肿瘤浸润NK细胞表面受体群谱的异常表达和功能下降; 抑制性受体NKG2A^[89], CD96^[90], Tim-3^[91]和TIGIT^[92]等上调表达, 活化性受体CD160^[93]的下调表达与肿瘤浸润NK细胞的杀伤功能和IFN- γ 分泌能力下降密切相关. 免疫负调细胞和肿瘤细胞通过与NK细胞直接接触或分泌抑制性因子导致上述NK细胞的耗竭状态^[88].

随着肝脏NK细胞亚群的异质性组成被揭示, LrNK细胞和cNK细胞的功能分工及其在肝脏疾病中的作用逐渐受到关注. 在小鼠原位HCC模型中, 肝脏总NK细胞数量减少, 尽管LrNK细胞占总NK细胞比例升高, 但绝对数相比正常小鼠呈下降趋势^[91]; 在结肠癌肝转移病人中, 肿瘤区域的CD56^{bright} LrNK细胞数量相比癌旁和正常组织显著减少, 这一现象可能与肿瘤微环境的高乳酸含量导致LrNK细胞代谢紊乱有关^[71].

在HCC病人的肝癌组织中, CD56^{bright} LrNK细胞和CD56^{dim} cNK细胞均上调表达CD49a分子, 这一现象与NK细胞耗竭和疾病预后较差相关^[94]. 功能方面, 同时清除cNK细胞和LrNK细胞后肝癌细胞体内生长加速^[91]. 近期研究者利用Ncr1^{iCre}×Eomes^{fl/fl}小鼠和Hobit^{-/-}小鼠, 分别代表cNK细胞和LrNK细胞缺陷的小鼠, 证实两群细胞在结肠癌肝转移模型中都参与抑制HCC进展, 但LrNK细胞主要在早期阶段抑制肿瘤细胞向肝脏转移, 而cNK细胞在后期肿瘤细胞生长的过程中仍能发挥抑制作用^[95].

6 总结与展望

NK细胞的组织异质性近年来受到学界重视. 肝脏作为NK细胞含量十分丰富的器官, 含有高比例的LrNK细胞, 围绕LrNK细胞发育分化、功能特性等方面取得的系列进展, 使得人们对肝脏区域免疫特性及其形成机制有了更深入了解, 同时也推动了其他组织器官中驻留NK细胞亚群的研究.

尽管肝脏NK细胞亚群异质性的研究取得了较大进展, 但仍存在以下亟待阐明的科学问题. (i) LrNK, cNK细胞与其他ILCs亚群在发育起源上的关系存在争议, 阐明前体细胞在发育图谱上出现分叉的先后顺序, 将揭示ILCs亚群之间在发育谱系上的远近关系. (ii) CD49a⁺驻留NK细胞不仅在肝脏中存在, 也分布于皮肤、子宫、脂肪等组织, 但这些组织驻留NK细胞的组织特异性标志仍不清楚, 塑造其组织特异性特征的环境因素也不明确. (iii) 小鼠中不依赖于转录因子Eomes的NK细胞也被归入到ILC1s, 因此小鼠LrNK细胞被称为肝脏ILC1s, 但人类的LrNK细胞和ILC1s的定义还有待明确. (iv) LrNK细胞在特定疾病中的作用尚不明, 阐明该问题需要借助于发展特异性清除LrNK细胞的抗体或动物模型. (v) 骨髓、胎肝和成年肝脏中都存在能发育成LrNK细胞的造血前体细胞, 在稳态下和疾病中不同来源的造血对于LrNK细胞的贡献也值得深入探索.

参考文献

- 1 Vivier E, Raulet D H, Moretta A, et al. Innate or adaptive immunity? The example of natural killer cells. *Science*, 2011, 331: 44-49
- 2 Mbiribindi B, Harden J T, Pena J K, et al. Natural killer cells as modulators of alloimmune responses. *Curr Opin Organ Transplant*, 2019, 24: 37-

- 3 Moffett A, Colucci F. Uterine NK cells: Active regulators at the maternal-fetal interface. *J Clin Invest*, 2014, 124: 1872–1879
- 4 Peng H, Jiang X, Chen Y, et al. Liver-resident NK cells confer adaptive immunity in skin-contact inflammation. *J Clin Invest*, 2013, 123: 1444–1456
- 5 Sojka D K, 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
- 6 Crinier A, Kerdiles Y, Vienne M, et al. Multidimensional molecular controls defining NK/ILC1 identity in cancers. *Semin Immunol*, 2021, 52: 101424
- 7 Yu J, Freud A G, Caligiuri M A. Location and cellular stages of natural killer cell development. *Trends Immunol*, 2013, 34: 573–582
- 8 Grégoire C, Chasson L, Luci C, et al. The trafficking of natural killer cells. *Immunol Rev*, 2007, 220: 169–182
- 9 Kim S, Iizuka K, Kang H S P, et al. *In vivo* developmental stages in murine natural killer cell maturation. *Nat Immunol*, 2002, 3: 523–528
- 10 Gordon S M, Chaix J, Rupp L J, et al. The transcription factors T-bet and eomes control key checkpoints of natural killer cell maturation. *Immunity*, 2012, 36: 55–67
- 11 Hayakawa Y, Smyth M J. Cd27 dissects mature NK cells into two subsets with distinct responsiveness and migratory capacity. *J Immunol*, 2006, 176: 1517–1524
- 12 Chiossone L, Chaix J, Fuseri N, et al. Maturation of mouse NK cells is a 4-stage developmental program. *Blood*, 2009, 113: 5488–5496
- 13 Wu X, Chen Y, Wei H, et al. Development of murine hepatic NK cells during ontogeny: comparison with spleen NK cells. *Clin Dev Immunol*, 2012, 2012: 1–12
- 14 Lassen M G, Lukens J R, Dolina J S, et al. Intrahepatic IL-10 maintains NKG2A⁺ Ly49⁺ liver NK cells in a functionally hyporesponsive state. *J Immunol*, 2010, 184: 2693–2701
- 15 Ochi M, Ohdan H, Mitsuta H, et al. Liver NK cells expressing trail are toxic against self hepatocytes in mice. *Hepatology*, 2004, 39: 1321–1331
- 16 Harmon C, Robinson M W, Fahey R, et al. Tissue-resident Eomes^{hi} T-bet^{lo} CD56^{bright} NK cells with reduced proinflammatory potential are enriched in the adult human liver. *Eur J Immunol*, 2016, 46: 2111–2120
- 17 Burt B M, Plitas G, Zhao Z, et al. The lytic potential of human liver NK cells is restricted by their limited expression of inhibitory killer Ig-like receptors. *J Immunol*, 2009, 183: 1789–1796
- 18 Male V. Liver-resident NK cells: the human factor. *Trends Immunol*, 2017, 38: 307–309
- 19 Gasteiger G, Fan X, Dikiy S, et al. Tissue residency of innate lymphoid cells in lymphoid and nonlymphoid organs. *Science*, 2015, 350: 981–985
- 20 Filtjens J, Taveirne S, Van Acker A, et al. Abundant stage-dependent Ly49E expression by liver NK cells is not essential for their differentiation and function. *J Leukoc Biol*, 2013, 93: 699–711
- 21 Takeda K, Cretney E, Hayakawa Y, et al. Trail identifies immature natural killer cells in newborn mice and adult mouse liver. *Blood*, 2005, 105: 2082–2089
- 22 Paust S, Gill H S, Wang B Z, et al. Critical role for the chemokine receptor CXCR6 in NK cell-mediated antigen-specific memory of haptens and viruses. *Nat Immunol*, 2010, 11: 1127–1135
- 23 Geissmann F, Cameron T O, Sidobre S, et al. Intravascular immune surveillance by CXCR6⁺ NKT cells patrolling liver sinusoids. *PLoS Biol*, 2005, 3: e113
- 24 Weizman O E, Adams N M, Schuster I S, et al. ILC1 confer early host protection at initial sites of viral infection. *Cell*, 2017, 171: 795–808.e12
- 25 Tang L, Peng H, Zhou J, et al. Differential phenotypic and functional properties of liver-resident NK cells and mucosal ILC1s. *J Autoimmun*, 2016, 67: 29–35
- 26 Vivier E, Artis D, Colonna M, et al. Innate lymphoid cells: 10 years on. *Cell*, 2018, 174: 1054–1066
- 27 Nabekura T, Riggan L, Hildreth A D, et al. Type 1 innate lymphoid cells protect mice from acute liver injury via interferon- γ secretion for upregulating Bcl-xL expression in hepatocytes. *Immunity*, 2020, 52: 96–108.e9
- 28 Zhou J, Peng H, Li K, et al. Liver-resident NK cells control antiviral activity of hepatic T cells via the PD-1-PD-L1 axis. *Immunity*, 2019, 50: 403–417.e4
- 29 Marquardt N, Béziat V, Nyström S, et al. Cutting edge: identification and characterization of human intrahepatic CD49a⁺ NK cells. *J Immunol*, 2015, 194: 2467–2471
- 30 Cuff A O, Robertson F P, Stegmann K A, et al. Eomes^{hi} NK cells in human liver are long-lived and do not recirculate but can be replenished from

- the circulation. *J Immunol*, 2016, 197: 4283–4291
- 31 Aw Yeang H X, Piersma S J, Lin Y, et al. Cutting edge: human CD49e⁺ NK cells are tissue resident in the liver. *J Immunol*, 2017, 198: 1417–1422
- 32 Tang Y, Peitzsch C, Charoudeh H N, et al. Emergence of NK-cell progenitors and functionally competent NK-cell lineage subsets in the early mouse embryo. *Blood*, 2012, 120: 63–75
- 33 Constantinides M G, Gudjonson H, McDonald B D, et al. PLZF expression maps the early stages of ILC1 lineage development. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112: 5123–5128
- 34 Boos M D, 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: 1119–1130
- 35 Yang Q, Li F, Harly C, et al. TCF-1 upregulation identifies early innate lymphoid progenitors in the bone marrow. *Nat Immunol*, 2015, 16: 1044–1050
- 36 Klose C S N, 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: 340–356
- 37 Constantinides M G, McDonald B D, Verhoef P A, et al. A committed precursor to innate lymphoid cells. *Nature*, 2014, 508: 397–401
- 38 Walker J A, Clark P A, Crisp A, et al. Polychromic reporter mice reveal unappreciated innate lymphoid cell progenitor heterogeneity and elusive ilc3 progenitors in bone marrow. *Immunity*, 2019, 51: 104–118.e7
- 39 Xu W, Cherrier D E, Chea S, et al. An Id2RFP-reporter mouse redefines innate lymphoid cell precursor potentials. *Immunity*, 2019, 50: 1054–1068.e3
- 40 Freud A G, Caligiuri M A. Human natural killer cell development. *Immunol Rev*, 2006, 214: 56–72
- 41 Scoville S D, Mundy-Bosse B L, Zhang M H, et al. A progenitor cell expressing transcription factor ROR γ t generates all human innate lymphoid cell subsets. *Immunity*, 2016, 44: 1140–1150
- 42 Lim A I, Li Y, Lopez-Lastra S, et al. Systemic human ILC precursors provide a substrate for tissue ILC differentiation. *Cell*, 2017, 168: 1086–1100.e10
- 43 Vargas C L, Poursine-Laurent J, Yang L, et al. Development of thymic NK cells from double negative 1 thymocyte precursors. *Blood*, 2011, 118: 3570–3578
- 44 Scoville S D, Freud A G, Caligiuri M A. Cellular pathways in the development of human and murine innate lymphoid cells. *Curr Opin Immunol*, 2019, 56: 100–106
- 45 Taniguchi H, Toyoshima T, Fukao K, et al. Presence of hematopoietic stem cells in the adult liver. *Nat Med*, 1996, 2: 198–203
- 46 Bai L, Vienne M, Tang L, et al. Liver type 1 innate lymphoid cells develop locally via an interferon- γ -dependent loop. *Science*, 2021, 371
- 47 Huntington N D, Tabarias H, Fairfax K, et al. NK cell maturation and peripheral homeostasis is associated with KLRG1 up-regulation. *J Immunol*, 2007, 178: 4764–4770
- 48 Bai L, Peng H, Hao X, et al. CD8⁺ T cells promote maturation of liver-resident NK cells through the CD70-CD27 axis. *Hepatology*, 2019, 70: 1804–1815
- 49 Mace E M, Hsu A P, Monaco-Shawver L, et al. Mutations in GATA2 cause human NK cell deficiency with specific loss of the CD56^{bright} subset. *Blood*, 2013, 121: 2669–2677
- 50 Yu J, Mao H C, Wei M, et al. CD94 surface density identifies a functional intermediary between the CD56^{bright} and CD56^{dim} human NK-cell subsets. *Blood*, 2010, 115: 274–281
- 51 Björkström N K, Riese P, Heuts F, et al. Expression patterns of NKG2A, KIR, and CD57 define a process of CD56^{dim} NK-cell differentiation uncoupled from NK-cell education. *Blood*, 2010, 116: 3853–3864
- 52 Freud A G, Yokohama A, Becknell B, et al. Evidence for discrete stages of human natural killer cell differentiation *in vivo*. *J Exp Med*, 2006, 203: 1033–1043
- 53 Lopez-Vergès S, Milush J M, Pandey S, et al. CD57 defines a functionally distinct population of mature NK cells in the human CD56^{dim}CD16⁺ NK-cell subset. *Blood*, 2010, 116: 3865–3874
- 54 Béziat V, Descours B, Parizot C, et al. NK cell terminal differentiation: correlated stepwise decrease of NKG2A and acquisition of KIRs. *PLoS ONE*, 2010, 5: e11966
- 55 Fu B, Wang F, Sun R, et al. CD11b and CD27 reflect distinct population and functional specialization in human natural killer cells. *Immunology*,

2011, 133: 350–359

- 56 Crinier A, Milpied P, Escalière B, et al. High-dimensional single-cell analysis identifies organ-specific signatures and conserved NK cell subsets in humans and mice. *Immunity*, 2018, 49: 971–986.e5
- 57 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: 563–577
- 58 Townsend M J, Weinmann A S, Matsuda J L, et al. T-bet regulates the terminal maturation and homeostasis of NK and V α 14i NKT cells. *Immunity*, 2004, 20: 477–494
- 59 Wang B, Zhou J, Chen Y, et al. A novel spleen-resident immature NK cell subset and its maturation in a T-bet-dependent manner. *J Autoimmun*, 2019, 105: 102307
- 60 Mackay L K, Minnich M, Kragten N A M, et al. Hobit and Blimp1 instruct a universal transcriptional program of tissue residency in lymphocytes. *Science*, 2016, 352: 459–463
- 61 Lunemann S, Martrus G, Goebels H, et al. Hobit expression by a subset of human liver-resident CD56^{bright} natural killer cells. *Sci Rep*, 2017, 7: 6676
- 62 Zhang L H, Shin J H, Haggadone M D, et al. The aryl hydrocarbon receptor is required for the maintenance of liver-resident natural killer cells. *J Exp Med*, 2016, 213: 2249–2257
- 63 Schiering C, Wincent E, Metidji A, et al. Feedback control of AHR signalling regulates intestinal immunity. *Nature*, 2017, 542: 242–245
- 64 Zhong C, Zheng M, Cui K, et al. Differential expression of the transcription factor GATA3 specifies lineage and functions of innate lymphoid cells. *Immunity*, 2020, 52: 83–95.e4
- 65 Ali A K, Oh J S, Vivier E, et al. NK cell-specific GATA3 ablation identifies the maturation program required for bone marrow exit and control of proliferation. *J Immunol*, 2016, 196: 1753–1767
- 66 Seillet C, Huntington N D, Gangatirkar P, et al. Differential requirement for Nfil3 during NK cell development. *J Immunol*, 2014, 192: 2667–2676
- 67 Sathe P, Delconte R B, Souza-Fonseca-Guimaraes F, et al. Innate immunodeficiency following genetic ablation of *McII* in natural killer cells. *Nat Commun*, 2014, 5: 4539
- 68 Sun J C, Beilke J N, Lanier L L. Adaptive immune features of natural killer cells. *Nature*, 2009, 457: 557–561
- 69 O’Sullivan T E, Sun J C, Lanier L L. Natural killer cell memory. *Immunity*, 2015, 43: 634–645
- 70 Dodard G, Tata A, Erick T K, et al. Inflammation-induced lactate leads to rapid loss of hepatic tissue-resident NK cells. *Cell Rep*, 2020, 32: 107855
- 71 Harmon C, Robinson M W, Hand F, et al. Lactate-mediated acidification of tumor microenvironment induces apoptosis of liver-resident NK cells in colorectal liver metastasis. *Cancer Immunol Res*, 2019, 7: 335–346
- 72 Weizman O E, Song E, Adams N M, et al. Mouse cytomegalovirus-experienced ILC1s acquire a memory response dependent on the viral glycoprotein M12. *Nat Immunol*, 2019, 20: 1004–1011
- 73 Hammer Q, Rückert T, Borst E M, et al. Peptide-specific recognition of human cytomegalovirus strains controls adaptive natural killer cells. *Nat Immunol*, 2018, 19: 453–463
- 74 Schlums H, Cichocki F, Tesi B, et al. Cytomegalovirus infection drives adaptive epigenetic diversification of NK cells with altered signaling and effector function. *Immunity*, 2015, 42: 443–456
- 75 Li W, Zhou J, Wang X, et al. CD49a⁺CD49b⁺ NK cells induced by viral infection reflect an activated state of conventional NK cells. *Sci China Life Sci*, 2020, 63: 1725–1733
- 76 Krueger P D, Narayanan S, Surette F A, et al. Murine liver-resident group 1 innate lymphoid cells regulate optimal priming of anti-viral CD8⁺ T cells. *J Leukoc Biol*, 2017, 101: 329–338
- 77 Bertoletti A, Ferrari C. Republished: innate and adaptive immune responses in chronic hepatitis B virus infections: towards restoration of immune control of viral infection. *Postgrad Med J*, 2013, 89: 294–304
- 78 Zheng M, Sun R, Wei H, et al. NK cells help induce anti-hepatitis B virus CD8⁺ T cell immunity in mice. *J Immunol*, 2016, 196: 4122–4131
- 79 Li F, Wei H, Wei H, et al. Blocking the natural killer cell inhibitory receptor NKG2A increases activity of human natural killer cells and clears hepatitis B virus infection in mice. *Gastroenterology*, 2013, 144: 392–401
- 80 Zhang C, Wang X M, Li S R, et al. NKG2A is a NK cell exhaustion checkpoint for HCV persistence. *Nat Commun*, 2019, 10: 1507

- 81 Billerbeck E, Wolfisberg R, Fahnøe U, et al. Mouse models of acute and chronic hepatitis B infection. *Science*, 2017, 357: 204–208
- 82 Wijaya R S, Read S A, Schibeci S, et al. KLRG1⁺ natural killer cells exert a novel antifibrotic function in chronic hepatitis B. *J Hepatol*, 2019, 71: 252–264
- 83 Wijaya R S, Read S A, Truong N R, et al. HBV vaccination and hbv infection induces HBV-specific natural killer cell memory. *Gut*, 2020, 70: 357–369
- 84 Chen T, Zhu L, Shi A, et al. Functional restoration of CD56^{bright} NK cells facilitates immune control via IL-15 and NKG2D in patients under antiviral treatment for chronic hepatitis B. *Hepatol Int*, 2017, 11: 419–428
- 85 Jiang Y, Qin S, Wei X, et al. Highly activated TRAIL⁺ CD56^{bright} NK cells are associated with the liver damage in HBV-LC patients. *Immunol Lett*, 2021, 232: 9–19
- 86 Bugide S, Green M R, Wajapeyee N. Inhibition of enhancer of zeste homolog 2 (EZH2) induces natural killer cell-mediated eradication of hepatocellular carcinoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115: E3509–E3518
- 87 Meng Z, Wang X, Gan Y, et al. Deletion of IFN γ enhances hepatocarcinogenesis in FXR knockout mice. *J Hepatol*, 2012, 57: 1004–1012
- 88 Sun C, Sun H, Xiao W, et al. Natural killer cell dysfunction in hepatocellular carcinoma and NK cell-based immunotherapy. *Acta Pharmacol Sin*, 2015, 36: 1191–1199
- 89 Sun C, Xu J, Huang Q, et al. High NKG2A expression contributes to NK cell exhaustion and predicts a poor prognosis of patients with liver cancer. *Oncoimmunology*, 2017, 6: e1264562
- 90 Sun H, Huang Q, Huang M, et al. Human CD96 correlates to natural killer cell exhaustion and predicts the prognosis of human hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2019, 70: 168–183
- 91 Tan S, Xu Y, Wang Z, et al. Tim-3 hampers tumor surveillance of liver resident and conventional NK cells by disrupting PI3K signaling. *Cancer Res*, 2020, 80: 1130–1142
- 92 Yu L, Liu X, Wang X, et al. TIGIT⁺ TIM-3⁺ NK cells are correlated with NK cell exhaustion and disease progression in patients with hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Oncoimmunology*, 2021, 10: 1942673
- 93 Sun H, Xu J, Huang Q, et al. Reduced CD160 expression contributes to impaired NK-cell function and poor clinical outcomes in patients with HCC. *Cancer Res*, 2018, 78: 6581–6593
- 94 Sun H, Liu L, Huang Q, et al. Accumulation of tumor-infiltrating CD49a⁺ NK cells correlates with poor prognosis for human hepatocellular carcinoma. *Cancer Immunol Res*, 2019, 7: 1535–1546
- 95 Ducimetière L, Lucchiari G, Litscher G, et al. Conventional NK cells and tissue-resident ILC1s join forces to control liver metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, 118: e2026271118

Heterogeneity of liver NK cells

CHEN YaWen^{1,2}, TIAN ZhiGang^{1,2} & PENG Hui^{1,2}

1 Institute of Immunology, University of Science and Technology of China, Hefei 230027, China;

2 Research Unit of NK Cell Study, Chinese Academy of Medical Sciences, Hefei 230027, China

Natural killer (NK) cells have attracted much attention since their discovery in the 1970s; however, earlier studies mainly focused on circulating NK cells. In the past decade, the heterogeneity of NK cells in different tissues has begun to attract increasing attention. As an organ containing abundant and heterogeneous NK cell populations, the liver provides a good window for studying them. It is now commonly accepted that bulk liver NK cells comprise circulating conventional NK cells and liver-resident NK cells. This review summarized and discussed the developmental origin, differentiation, transcriptional regulation, and immune functions of liver-resident NK cells and conventional NK cells, providing new perspectives for studying liver regional immunity.

liver-resident NK cells, conventional NK cells, developmental origin, transcription factor, viral infection, hepatocellular carcinoma

doi: [10.1360/SSV-2021-0240](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0240)

彭慧, 中国科学技术大学特任教授, 博士生导师, 国家自然科学基金优秀青年科学基金获得者. 2006年本科毕业于中国科学技术大学, 2012年博士毕业于中国科学技术大学. 2012~2014年在中国科学技术大学生命科学学院从事博士后研究工作, 2014~2019年先后被聘为特任副研究员、副教授, 2019年11月起任中国科学技术大学生命科学与医学部特任教授. 2015年入选第一届中国科协青年人才托举工程, 获中国免疫学会青年学者奖, 2019年获国家自然科学基金二等奖. 长期从事肝脏免疫学研究, 致力于解析肝脏NK细胞亚群的异质性、发育分化及其在感染和肿瘤等重大疾病中的作用和机制, 发现了肝脏特有NK细胞新亚群, 并围绕其谱系发育和在疾病中的作用取得一系列重要进展, 受到学界认可, 相关成果发表在*Science*, *Immunity*, *Nature Communications*, *The Journal of Clinical Investigation*等国际高水平期刊.