

NKG2A的生物学特性与临床应用

陈艳焦 陈采陶 袁玉 史阳琳 徐玉东 王宇 杨永清*

(上海中医药大学, 岳阳中西医结合医院, 上海市针灸经络研究所, 上海 200030)

摘要 NKG2A是主要表达于自然杀伤(natural killer, NK)细胞表面的抑制性受体, 与NK细胞表面的激活性受体相互竞争, 从而调控NK细胞的活性。近年来, 抑制NKG2A免疫检查点可以恢复NK细胞活性从而杀伤肿瘤细胞, 使得NKG2A成为抗肿瘤治疗的焦点之一。然而诸多研究发现, NKG2A还参与病毒感染、自身免疫等疾病, 具有广阔的潜在临床价值。该文介绍了NKG2A蛋白的生物学特性、组织分布、蛋白功能及其与其他蛋白之间的相互作用, 并重点综述了NKG2A在病毒感染、肿瘤和其他免疫性疾病中的应用, 以期进一步促进NKG2A在相关疾病防治中的临床应用。

关键词 NKG2A; 抑制性受体; 自然杀伤细胞; 肿瘤; 免疫性疾病

Biological Characteristics and Clinical Application of NKG2A

CHEN Yanjiao, CHEN Caitao, YUAN Yu, SHI Yanglin, XU Yudong, WANG Yu, YANG Yongqing*

(Shanghai Research Institute of Acupuncture and Meridian, Yueyang Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200030, China)

Abstract NKG2A is an inhibitory receptor, mainly expressed on the surface of NK cells. The inhibitory and activating receptors compete with each other to regulate the activity of NK cells. Recently, the restored activity of NK cells when the inhibitory receptor NKG2A is blocked has made NKG2A one of the focuses in antitumor therapy. However, emerging clinical evidence shows that NKG2A plays a critical role in regulating viral infections and autoimmune diseases, and NKG2A has broad prospects in clinical applications. The paper presents the basic biological characteristics, tissue distribution, protein-protein interactions and function of NKG2A, as well as its current applications in viral infections, tumors and other immune related diseases. The purpose of the paper is to promote the clinical applications of NKG2A in the prevention and treatment of related diseases.

Keywords NKG2A; inhibitory receptor; natural killer cell; tumor; immune disease

NKG2A是自然杀伤(natural killer, NK)细胞受体家族2(NKG2)的成员之一, 这个家族还包括NKG2B/C/D/E/F^[1], NKG2A是NKG2受体家族的抑制性受体成员, 又被称为自然杀伤细胞凝集素样受体C1(killer cell lectin like receptor C1, KLRC1), 是

NK细胞表面优先表达的跨膜蛋白之一^[2]。NKG2A主要表达在NK细胞表面, 还可以表达在部分T细胞表面^[3]。在人的NK细胞中, 该蛋白与共同表达在NK细胞表面的CD94分子, 由二硫键连接形成异质二聚体复合物NKG2A-CD94后, 与靶细胞上非经典的主要

收稿日期: 2020-11-19 接受日期: 2021-01-26

国家自然科学基金(批准号: 81973951、81973952)、国家重点研发计划(批准号: 2018YFC1704600)、上海市自然科学基金(批准号: 19ZR1451500)、上海市青年科技英才扬帆计划(批准号: 20YF1445300)和上海市卫生健康委员会(批准号: 20194Y0164)资助的课题

*通讯作者。Tel: 021-54592134, E-mail: yyq@shutcm.edu.cn

Received: November 19, 2020 Accepted: January 26, 2021

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81973951, 81973952), National Key R&D Program of China (Grant No.2018YFC1704600), Natural Science Foundation of Shanghai (Grant No.19ZR1451500), Shanghai Sailing Program (Grant No.20YF1445300), and Scientific Research Project of Shanghai Municipal Health Commission (Grant No.20194Y0164)

*Corresponding author. Tel: +86-21-54592134, E-mail: yyq@shutcm.edu.cn

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5514>

组织相容性复合体I(major histocompatibility complex class I, MHC I)类分子HLA-E识别, 诱导级联的抑制信号, 从而抑制NK的细胞毒活性和细胞因子的分泌^[4-5]。

1991年, HOCHINS团队^[6]尝试在NK细胞表面寻找与NK细胞激活的相关受体, 最终在人NK细胞的cDNA文库中发现了NK细胞激活的相关受体, 并命名为NKG2A、B、C和D。两年后, 该团队继续报道了四种受体的基因对比分析以及对它们的功能预测, 但此时NKG2A的功能并不明确。其后, NKG2E^[7]和NKG2F^[8]被陆续发现, 丰富了NKG2受体家族成员。与此同时, 关于NK细胞抑制信号的研究表明, NK细胞抑制信号需要通过靶细胞上MHC I相互作用, 并推测NK细胞表面一定存在相应结合受体, 从而明确NKG2A是抑制信号传递的关键受体, 具有抑制NK细胞活性的功能^[9-10]。此后, 关于NKG2A的研究逐年增多, 特别是近年来, 抑制NKG2A受体功能可以恢复NK或T细胞毒性从而杀伤肿瘤细胞^[11], 并表现出良好的抗肿瘤效应和安全性, 使得NKG2A成为抗肿瘤治疗的焦点之一^[12]。目前的研究表明, NKG2A在病毒感染、自身免疫病等诸多疾病中发挥了重要作用, 具有广阔的潜在临床价值。因此, 本文从NKG2A的生物学特性、组织分布、蛋白功能、与其他蛋白相互作用, 及其在病毒感染、肿瘤、免疫性疾病中的运用进行综述, 以期临床应用提供更多思路。

1 NKG2A的生物学特性

编码人NKG2A的基因为*KLRC1*, 该基因定位于第12号染色体上, 目前已经观察到*KLRC1*具有6个不同亚型的可变剪接转录本(图1A), 其中2个转录本经转录翻译表达氨基酸个数为233的蛋白产物即为NKG2A蛋白; 氨基酸个数为215的蛋白产物为NKG2B, 与NKG2A相比其缺失了96~113段氨基酸; 氨基酸个数为228的蛋白分别为变体C和变体×1, 此两种蛋白是NKG2A的C-端截短体。

NKG2A在结构上属于II型跨膜蛋白^[2,6](图1B), 可分为胞质内N末端区域(1~70氨基酸)、跨膜区域(71~93氨基酸)和膜外区域(94~233氨基酸), 共由233个氨基酸组成, 其结构域位于118~231区间。NKG2A蛋白由7个β折叠、2个α螺旋构成, 2个α螺旋分别位于140~149和160~169区间。NKG2A蛋白有4个糖基化蛋白修饰位点, 分别位于第102、

103、151、180氨基酸, 以及3个二硫键(119~130、147~229和208~221对氨基酸)。NKG2A的第116氨基酸位点与CD94第59氨基酸位点以二硫键结合形成异质二聚体(图1C)^[13]。

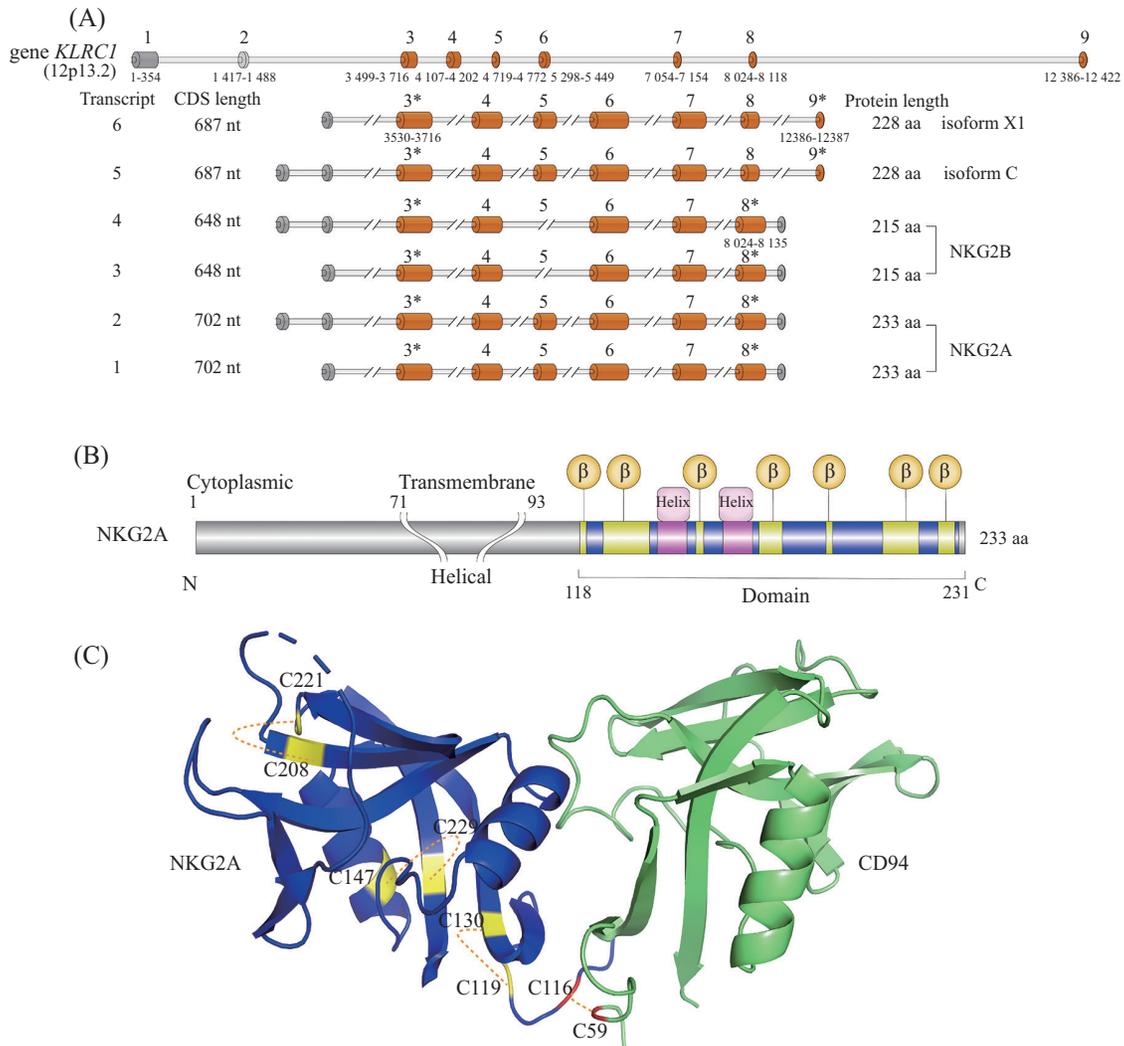
2 NKG2A的组织分布

人类蛋白质图谱(The Human Protein Atlas, <https://www.proteinatlas.org/>)组织分布特异性数据显示, 编码NKG2A的RNA可在人体多个器官组织中检测到, 在血细胞中表达量最高, 其次是骨髓和淋巴结组织、乳房和女性生殖系统等。在血细胞中, NKG2A在NK细胞表达量最高, 其次是T细胞(图2)。据报道, NKG2A只在部分T细胞上表达, 主要包括CD8⁺T细胞^[14]、Th2细胞^[15]以及NKT细胞。

3 NKG2A与其他蛋白相互作用

NKG2A-CD94二聚体与靶细胞表面受体HLA-E(人)或Qa-1b(小鼠)相互作用, 是NKG2A介导NK细胞和部分T细胞发挥抑制功能的中心机制。NKG2A在NK细胞和部分T细胞中发挥抑制功能的方式类似, 以NK细胞为例, NKG2A与CD94共同表达在NK细胞表面, 由二硫键连接形成异质二聚体, NKG2A蛋白N-端位于NK细胞胞质内, 含有2个免疫受体酪氨酸基抑制基序(immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motifs, ITIMs), 可将抑制信号传递到NK细胞内, 但是NKG2A需要结合CD94形成二聚体后才能发挥功能, CD94自身缺乏胞质结构域, 没有信号转导能力, 但它是NKG2A和HLA-E相互作用所必需的蛋白^[17-18]。NKG2A-CD94二聚体具有2个结合界面, 分别位于NKG2A蛋白的114~135和165~170氨基酸区间^[19], NKG2A-CD94识别靶细胞特异性配体HLA-E与Ia类先导序列衍生多肽组成的复合物后, 通过募集蛋白酪氨酸磷酸酶SHP-1和SHP-2, 从而抑制NK细胞对靶细胞的杀伤功能^[20-21]。

STRING 11.0(<https://version-11-0.string-db.org/>)分析结果(图3)表明, NKG2A能够与KLRD1(CD94)以及HLA-E直接结合, 对*PTPN6*基因编码的蛋白酪氨酸磷酸酶1活化具有促进作用^[20], 与自然杀伤细胞免疫球蛋白样受体(killer cell immunoglobulin-like receptor, KIR)如KIR2DL1、KIR2DL3、KIR3DL2、KIR3DL1存在着直接或间接关系, 与人HLA I类组织相容性抗原(A、B、C、G、F)以及B2M微球蛋白



A: 人NKG2A基因*KLRC1*的结构模式图, 图中橘黄色圆柱表示基因编码区域, 浅灰色圆柱表示基因的非编码区域; B: NKG2A一级二级蛋白结构模式图, 图中 β 表示 β 折叠; C: NKG2A与CD94功能域的三级结构模式图, 图中黄色片段表示NKG2A蛋白的二硫键, 红色片段表示NKG2A与CD94之间的二硫键。

A: the gene structure model of human NKG2A/*KLRC1*, the saffron yellow column in the figure represents the region of coding gene sequence, the light grey column in the figure represents the region of non-coding gene sequence; B: the primary and secondary protein structure model of NKG2A, β in the figure represents β sheet; C: the tertiary structure of NKG2A and CD94 domains, the yellow fragment in the figure represents the disulfide bond in NKG2A protein, and the red fragment represents the disulfide bond between NKG2A and CD94.

图1 人源NKG2A基因与蛋白结构

Fig.1 The gene and protein structures of human NKG2A

复合物在抗原提呈过程中存在着直接或间接关系。与*PTPN11*基因编码的非受体酪氨酸蛋白磷酸酶存在相互关系, 可能作用于各种受体和细胞质蛋白酪氨酸激酶的下游, 参与从细胞表面到细胞核的信号转导, 正向调控MAPK信号转导通路, 使GAB1、EGFR脱磷酸化^[22]。

4 NKG2A的功能

NKG2A是NK细胞以及部分T细胞表面的抑制性受体, NKG2A的功能需要通过细胞的功能来体

现。以NK和CD8⁺T细胞为例, NK细胞是先天性免疫细胞中的重要组成部分, 可以直接杀伤靶细胞(被病毒感染的细胞和肿瘤细胞)^[23], 同时还可以分泌大量的细胞因子, 包括干扰素- γ (interferon γ , IFN- γ)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)以及趋化因子如CCL4、CCL5和CCL22等^[24]。NK细胞功能的发挥主要依赖于自身表面抑制性和激活性受体的信号传导, 抑制信号为主导时NK细胞表现为杀伤活性低且

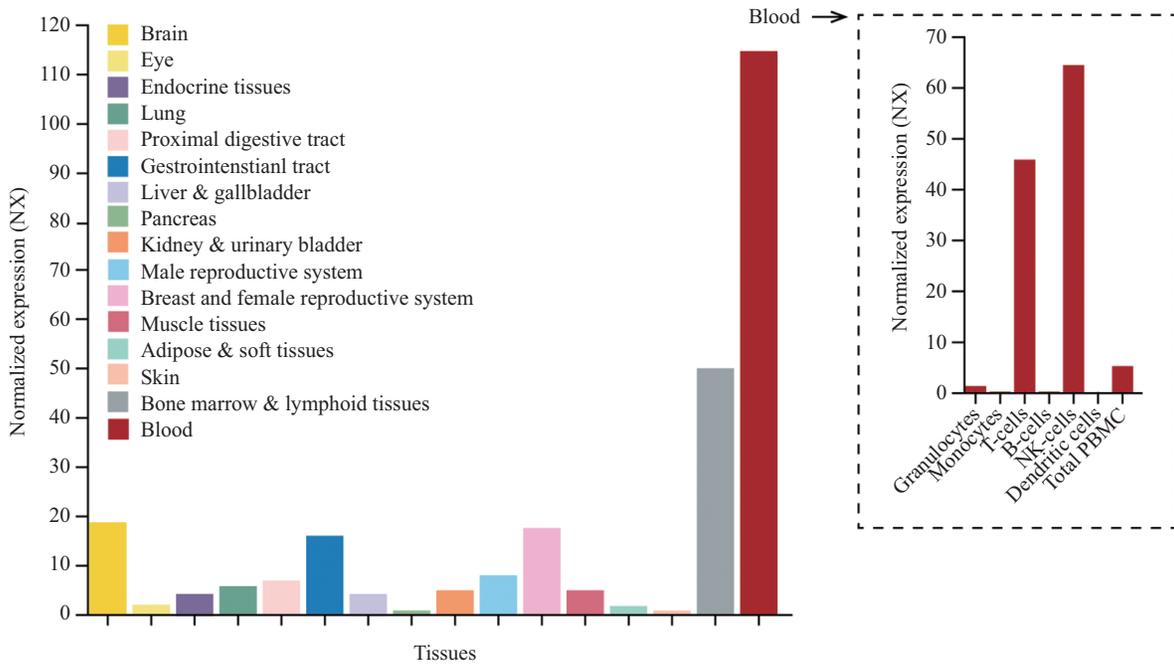


图2 人NKG2A组织分布图(根据参考文献[16]修改)

Fig.2 The tissue distribution of human NKG2A (modified from reference [16])

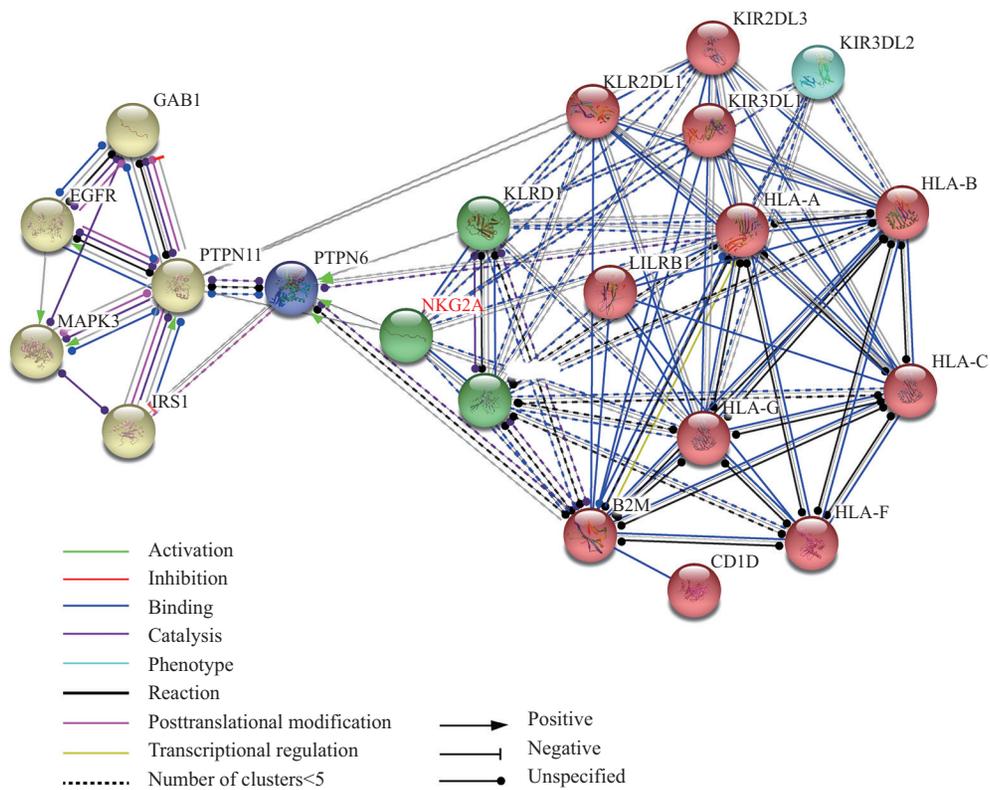


图3 NKG2A与其他蛋白相互作用关系图

Fig.3 Diagram of interaction between NKG2A and other proteins

分泌细胞因子能力低下, 激活信号为主导时NK细胞的杀伤活性增强且细胞因子分泌能力增强^[25]。

NK细胞在骨髓中发育并成熟, 在其成熟的过程

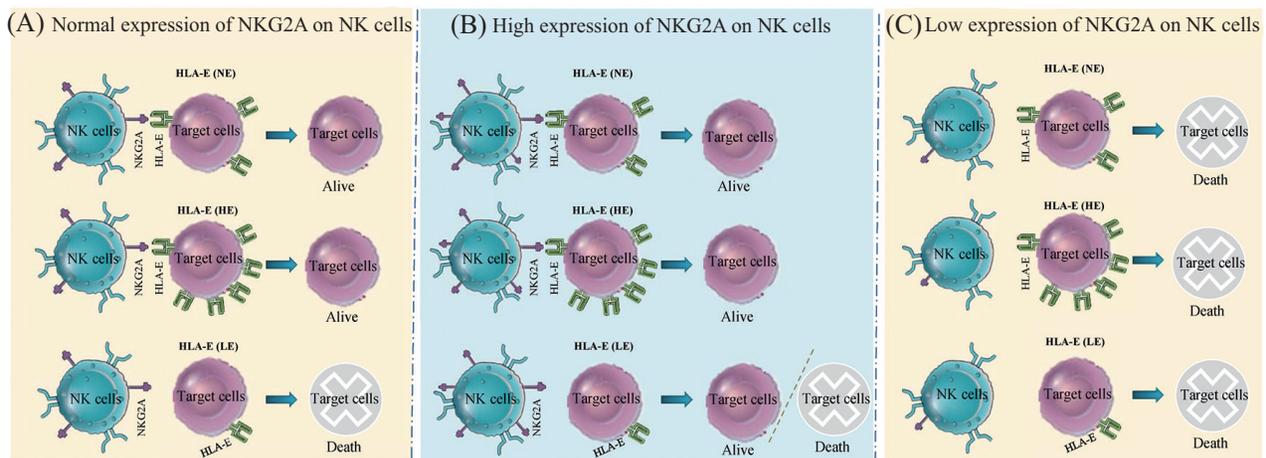
中可随机表达抑制性受体^[26], 成熟后的NK细胞可以不表达, 或者表达一种甚至多种抑制性受体^[27]。表达抑制性受体NKG2A的NK细胞与靶细胞相互作用

方式, 归纳为以下三种情况(图4): (A) NK细胞表面NKG2A正常表达时, NK细胞表面的NKG2A-CD94复合物和靶细胞表面的HLA-E识别, 可抑制激活性受体的竞争信号, 使NK细胞处于抑制状态而不杀伤靶细胞, 此时, 如果靶细胞表面HLA-E表达上调, NK细胞仍然处于抑制状态, 如果HLA-E表达下调, 则无法抑制激活性受体的竞争信号, NK细胞将被激活, 进而杀伤靶细胞; (B) NK细胞表面NKG2A高表达, HLA-E表达正常或表达上调时, 抑制信号为主导, 此时NK细胞处于抑制状态, 而当HLA-E表达下调, 抑制信号仍为主导时, NK细胞处于抑制状态, 但抑制信号为主导时, NK细胞被激活, 进而杀伤靶细胞; (C) NK细胞表面NKG2A低表达时, 不论HLA-E表达正常、上调或下调, 激活信号均为主导信号, NK细胞被激活从而杀伤靶细胞。简言之, NK细胞表面的NKG2A通过与HLA-E相互作用发挥调节NK细胞活性的功能。

CD8⁺T细胞是适应性免疫细胞的重要组成部分, 在清除病原体感染以及肿瘤细胞中起着至关重要的作用。CD8⁺T细胞可通过识别树突状细胞(dendritic cell, DC)递呈的抗原, 活化成具有细胞毒性的T细胞, 特异性地杀伤靶细胞。具体机制为: CD8⁺T细胞的T细胞受体(T cell receptor, TCR)识别DC细胞的HLA-E分子递呈的抗原肽, 识别抗原肽后的CD8⁺T

细胞被激活(图5A), 通过释放颗粒酶、穿孔素等清除被病原体感染的细胞, 并分泌IFN- γ 、TNF- α 等细胞因子^[28-29]。在CD8⁺T细胞活化的过程中, 表达在CD8⁺T细胞表面的NKG2A可与HLA-E分子结合, 从而抑制CD8⁺T细胞的活化过程^[30](图5B)。与此同时, 活化后的CD8⁺T细胞表面NKG2A与靶细胞的HLA-E可进行结合, 从而抑制CD8⁺T细胞对靶细胞的杀伤(图5C)。

此外, NK细胞的功能具有很高的可塑性, 其功能的发挥需要通过整合周围环境中接收到的多个信号来决定。研究发现, 先天性免疫细胞包括DC、粒细胞、巨噬细胞和单核细胞等^[31], 能够提供用于激活NK细胞表面受体的细胞因子或配体, 在调节NK细胞的活性和功能中发挥重要作用^[32]。然而, 这些细胞是否直接或间接作用于NK细胞表面NKG2A受体来发挥作用尚不清楚, 需要进行进一步的研究。与此同时, NK细胞也可以通过自身配体或者分泌细胞因子作用于其他细胞(包括先天性免疫细胞和适应性免疫细胞)。如NKG2A阳性表达的NK细胞可以特异性杀伤未成熟DC^[33], 也可以保护成熟DC免于NK细胞的杀伤^[34]。NK细胞还可以通过多种机制直接影响T细胞的功能^[35-36], 或通过与DC的相互作用间接对T细胞的功能进行调节^[37]。因此, NK细胞在先天性和适应性免疫反应中均发挥着关键作用,

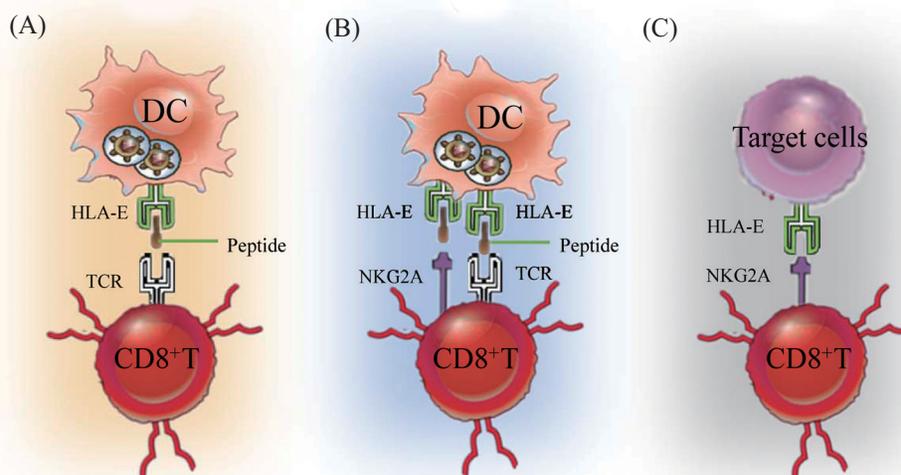


A: NK细胞表面NKG2A正常表达时NK细胞与靶细胞相互作用模式图; B: NK细胞表面NKG2A高表达时NK细胞与靶细胞相互作用模式图; C: NK细胞表面NKG2A低表达时NK细胞与靶细胞相互作用模式图。NE为正常表达简称, HE为高表达简称, LE为低表达简称。

A: the interaction diagram between NK cells and target cells with normal expression of NKG2A on the surface of NK cells; B: the interaction diagram between NK cells and target cells with higher expression of NKG2A on the surface of NK cells; C: the interaction diagram between NK cells and target cells with lower expression of NKG2A on the surface of NK cells. Normal expression is abbreviated as NE, higher expression is abbreviated as HE, lower expression is abbreviated as LE.

图4 NKG2A调控NK细胞与靶细胞相互作用模式图

Fig.4 The interaction diagram between NK cells and target cells regulated by NKG2A



A: DC将HLA-E-抗原肽递呈给CD8⁺T细胞的TCR引起CD8⁺T细胞的活化; B: CD8⁺T细胞表面NKG2A与DC的HLA-E结合可抑制TCR介导的CD8⁺T细胞活化; C: CD8⁺T细胞表面NKG2A与靶细胞表面HLA-E结合可抑制CD8⁺T细胞的杀伤。

A: presentation of HLA-E-peptide by DCs to the TCR of CD8⁺T cells, leads to the activation of CD8⁺T cells; B: engagement of NKG2A on CD8⁺T cells with the HLA-E on DCs inhibits the TCR-mediated activation of CD8⁺T cells; C: engagement of NKG2A on CD8⁺T cells with the HLA-E on target cells inhibits the cytotoxicity of CD8⁺T cells.

图5 NKG2A抑制CD8⁺T细胞活化模式图

Fig.5 The diagram of CD8⁺T cells inhibited by NKG2A

NKG2A受体在NK细胞以及部分T细胞活性调控中的作用将会在多种疾病中得到研究与运用。

5 NKG2A与疾病的关系

5.1 病毒性疾病

当机体感染病毒后,病毒可诱导宿主细胞编码表达与NK和CD8⁺T细胞NKG2A抑制性受体结合的配体,以防止宿主细胞被NK和CD8⁺T细胞杀伤,还可以进一步促进宿主细胞对病毒的复制^[38]。此时通过封闭NKG2A受体可增强NK或T细胞毒性,从而杀伤宿主细胞,并分泌IFN- γ 以帮助机体抵抗病毒的感染。

研究发现,在流感与多瘤病毒感染的小鼠脾脏内,CD8⁺T细胞表面高表达NKG2A-CD94^[39-40],对NKG2A-CD94进行封闭可以修复CD8⁺T细胞对多瘤病毒的细胞毒性反应^[39],其机制与NKG2A参与调控CD8⁺T细胞效应活性(细胞毒性和细胞因子分泌)增强有关^[39,41]。然而,另有研究者提出在流感和腺病毒感染过程中,NKG2A基因敲除小鼠气道及肺泡灌洗液中的炎症细胞增加,炎症因子表达增加,肺损伤严重程度增加^[42]。还有研究者发现,NKG2A基因敲除小鼠更容易感染鼠痘病毒,并提出NKG2A的作用可能与感染的病毒种类或感染的阶段有关^[43]。此外,

有研究者曾观察到在急性期感染A型流感病毒小鼠肺内NKG2A⁺CD8⁺T细胞数量呈现累积性增加趋势,且肺部出现免疫病理性损伤,在急性感染期将具有杀伤活性的CD8⁺T细胞转输至病毒感染的*Qa-1b*基因敲除小鼠体内,反而进一步加重小鼠的肺部损伤,同时,在没有病毒感染的情况下,对小鼠NKG2A进行阻断也加重了小鼠的免疫病理性肺损伤^[44]。

导致上述结果的可能原因:一是由于NKG2A缺失时,观察到CD8⁺T细胞分泌的炎症细胞因子TNF- α 释放增加,从而导致了更为严重的肺损伤;二是由于NKG2A在CD8⁺T细胞上的表达较为滞后,通常在病毒感染后期达到高峰,此时病毒滴度已降低,而急性期对NKG2A进行阻断并不能有效激活CD8⁺T细胞,提示NKG2A在病毒感染中的调控作用窗口期可能在病毒感染的后期^[42]。然而,其确切的机制需要进一步深入的研究。

值得注意的是,近期爆发的新型冠状病毒肺炎(Corona Virus Disease 2019, COVID-19),研究者发现COVID-19患者的CD8⁺T和NK细胞的数量较健康人明显降低,但是两种细胞表面的NKG2A表达均升高。与此同时,治疗后处于恢复状态患者体内的NK和CD8⁺T细胞的数量得以恢复,且NKG2A的表达也明显降低^[45]。前期关于SARS-CoV-2替代宿主

先天免疫应答的机制研究结果表明,正是由于NK和CD8⁺T细胞NKG2A表达的升高,最终导致针对病毒病原体的免疫应答功能衰竭^[46-47],提示COVID-19感染后免疫应答功能衰竭可能与NKG2A有密切联系。

5.2 肿瘤

研究发现,多种肿瘤细胞高表达HLA-E^[48],且肿瘤浸润处的NK和CD8⁺T细胞高表达NKG2A^[49],因此肿瘤局部NKG2A与HLA-E结合能力增强,进而直接抑制NK和CD8⁺T细胞的功能,使肿瘤细胞逃避免疫识别。研究还发现,大部分人类肿瘤细胞缺失经典的MHC I等位基因,从而逃过NK或T细胞的免疫检查^[50],而此时肿瘤细胞表面HLA-E的上调可以进一步帮助其逃过免疫识别^[51]。所以通过下调HLA-E或NKG2A,可以有效地阻止肿瘤细胞的免疫逃逸。

在肿瘤治疗中,阻断NKG2A与HLA-E其中任意一个靶点,皆可以增强NK或T细胞对肿瘤细胞的免疫识别。但与NKG2A相比,HLA-E作为靶点存在两个关键的问题,一是由于HLA-E广泛表达于正常细胞表面,与NKG2A相比特异性不高,二是阻断HLA-E也会阻止其与激活性受体NKG2C相互作用,尽管NKG2C与HLA-E的亲合力比NKG2A与HLA-E低6倍^[21],阻断HLA-E仍然会对NKG2C功能产生影响。而NKG2A选择性地表达于肿瘤病灶内的细胞毒性淋巴细胞上,不参与肿瘤免疫的启动或调节,可能具有更好的潜在应用前景。

近期,通过抑制NKG2A靶点来治疗肿瘤引起了广泛关注^[52-54]。NKG2A抗体Monalizumab(IPH2201, Innate Pharma/AstraZeneca)是一种人源化的IgG4抗体,是一种用于增强抗肿瘤免疫反应的癌症疫苗,其作用是阻断NKG2A与HLA-E的相互作用,抑制肿瘤细胞生长,增加肿瘤患者无进展生存时间。Monalizumab被首次使用在治疗类风湿关节炎的临床试验中,其I/II期临床试验结果表明,初步的安全性数据良好,但结果未达到类风湿关节炎的终点指标,导致进一步的研究开发处于暂停状态^[55]。其后相继开展了Monalizumab治疗妇科恶性肿瘤^[56]和头颈部癌^[11]的临床试验,影像学结果显示,两种肿瘤均没有明显改善,进一步的研究也被终止。但是,Monalizumab在与其他药物联合用药治疗肿瘤时显示出了良好的前景,在40例转移或复发性头颈鳞状细胞癌患者的I/II期临床试验中,Cetuximab(EGFR抗体)+Monalizumab获得了27.5%的总缓解率,Cetux-

imab单独用药的总缓解率仅为13%^[57-59]。除此之外,Dasatinib是一种酪氨酸激酶抑制剂,是目前治疗慢性骨髓性白血病的一线药物,研究发现Dasatinib可特异性抑制NKG2A的表达,使NKG2A的水平维持在非常低的水平,NK细胞毒性实验证明Dasatinib刺激后的NK细胞毒性明显高于其他药物(Imatinib或Nilotinib)^[60],提示NKG2A在抗肿瘤治疗中具有良好的潜在运用价值。

5.3 其他免疫性疾病

在自身免疫病患者中NKG2A的表达普遍下调,如银屑病患者体内循环NK细胞表面NKG2A下调^[61],系统性红斑狼疮患者外周血中 $\gamma\delta$ T细胞表面NKG2A下调^[62],以及格雷夫斯病患者外周血NKG2A⁺NK细胞数量下降,且NKG2A⁺NK细胞数量与促甲状腺激素受体抗体水平呈负相关^[63]。此外,研究发现急性期风湿性关节炎患者外周血T细胞表面NKG2A表达下降,缓解期时NKG2A表达较高且与健康人群相较无差异,同时,急性期患者经肿瘤坏死因子抑制剂治疗后,T细胞表面NKG2A的表达升高^[64]。也有研究者发现,在某些自身免疫疾病中NKG2A的表达是增加的,如在类风湿关节炎患者膝关节滑液中发现NK细胞高表达NKG2A-CD94受体^[65],自身免疫性甲状腺疾病中也发现NKG2A⁺NK细胞增多^[66]。然而引起这种差异的原因目前尚不清楚,需要进行进一步深入研究。

研究显示,NKG2A抗体在免疫相关性疾病中也得到了运用。比如,类风湿关节炎是由滤泡性Th和Th17细胞联合诱导而致病的,此两种细胞对NK细胞的杀伤作用较为敏感,因此利用NKG2A抗体阻断NKG2A受体从而激活NK细胞,可以增强对致病性滤泡性Th和Th17细胞的消除,达到阻止疾病发展的目的^[67]。在小鼠自身免疫性脑脊髓炎模型中,用NKG2A抗体可增强NK细胞对自身反应性T细胞的清除从而减少T细胞浸润和中枢神经系统小胶质细胞活化,与此同时NKG2A抗体对外周淋巴组织中T和B淋巴细胞以及NK细胞的数量或活性均没有影响,因此认为封闭NKG2A的功能可能是治疗此类疾病的一种安全有效的方法^[68]。此外,研究表明阻断NKG2A-CD94与Qa-1的相互作用,能够提高自身免疫性脑脊髓小鼠CD8⁺T细胞的活性,从而阻止了疾病的发展^[14]。

此外,研究表明NKG2A表达在人类活化的Th2

细胞上,而不表达于Th1细胞上^[15]。NKG2A激动性抗体是NKG2A受体特异性激活性抗体,可诱导NKG2A信号传导,起到抑制NK或T细胞活性的作用。使用NKG2A激动剂抗体可以显著抑制Th2细胞分泌IL-4的功能,调节Th1/Th2的平衡,使得Th1的功能得到放大,从而达到抑制炎症反应的目的^[69]。这提示,NKG2A激动性抗体可用于Th2细胞因子占主导地位的疾病中来调节Th1/Th2的平衡,针对NKG2A靶点的调节可能成为治疗Th1/Th2细胞因子失衡疾病的一种方法。

6 展望

NK细胞表面抑制性受体和激活性受体的平衡变化决定细胞的功能状态,其中抑制性受体介导的抑制信号在细胞效应功能发挥中起到了决定性作用^[70]。NK细胞抑制性受体,主要由免疫球蛋白样受体KIR和C型凝集素样受体(如NKG2A)组成,并与MHC I类分子结合发挥抑制作用。其中KIR与MHC I类分子中的HLA-A、HLA-B和HLA-C结合发挥抑制效应,NKG2A与HLA-E结合发挥抑制效应,且NKG2A对MHC I下调的敏感性高于KIR^[71]。所以NKG2A作为NK细胞表面抑制性受体,在调节NK细胞功能中发挥了更为重要的作用。此外,NKG2A不仅可以调控CD8⁺T细胞的活化过程,还可以在CD8⁺T细胞与靶细胞的相互作用中发挥抑制CD8⁺T细胞的功能。所以NKG2A在调控NK与CD8⁺T细胞的活动十分关键,尤其在消除肿瘤和病毒感染细胞中发挥核心作用^[72]。

目前,Monalizumab作为NKG2A受体的封闭抗体药物已在若干肿瘤疾病的临床试验中,展现了一定的治疗效果,但由于其可能存在的耐药性和难以预测的个体反应差异,Monalizumab对目标适应症患者的治疗作用和安全性仍然需要进一步的研究验证。在多种病毒感染性疾病中,NKG2A可作为CD8⁺T细胞毒性的关键负调节剂,可调节其效应功能和病毒感染期间的损伤程度,同时还可以成功清除感染。在其他免疫性疾病中,NKG2A也可作为调节Th1/Th2平衡的有效调控靶点,具有潜在的临床价值。

然而,如何利用NKG2A针对性地调节NK或T细胞的功能,以及NKG2A作用于NK或T细胞如何在疾病中得以运用,仍存在许多亟待解决的问题。如NKG2A表达在NK细胞以及多种T细胞表面,如何

针对性地调控某一特定类型细胞表面的NKG2A;NKG2A调控NK或T细胞,既可调节先天性免疫反应,又可调控适应性免疫反应,如何明确其在不同免疫反应阶段中的确切作用;NK细胞可以通过与DC相互作用从而调控T细胞功能,这是先天免疫与适应性免疫相互作用的关键环节之一,NKG2A受体在其中如何发挥作用等,仍需要未来更深入的研究。这些研究将进一步促进NKG2A在相关疾病防治中的临床应用。

参考文献 (References)

- [1] GLIENKE J, SOBANOV Y, BROSTJAN C, et al. The genomic organization of NKG2C, E, F, and D receptor genes in the human natural killer gene complex [J]. *Immunogenetics*, 1998, 48(3): 163-73.
- [2] YABE T, MCSHERRY C, BACH F H, et al. A multigene family on human chromosome 12 encodes natural killer-cell lectins [J]. *Immunogenetics*, 1993, 37(6): 455-60.
- [3] GUNTURI A, BERG R E, FORMAN J. The role of CD94/NKG2 in innate and adaptive immunity [J]. *Immunol Res*, 2004, 30(1): 29-34.
- [4] BORREGO F, ULBRECHT M, WEISS E H, et al. Recognition of human histocompatibility leukocyte antigen (HLA)-E complexed with HLA class I signal sequence-derived peptides by CD94/NKG2 confers protection from natural killer cell-mediated lysis [J]. *J Exp Med*, 1998, 187(5): 813-8.
- [5] IWASZKO M, BOGUNIA-KUBIK K. Clinical significance of the HLA-E and CD94/NKG2 interaction [J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2011, 59(5): 353-67.
- [6] HOUCHINS J P, YABE T, MCSHERRY C, et al. DNA sequence analysis of NKG2, a family of related cDNA clones encoding type II integral membrane proteins on human natural killer cells [J]. *J Exp Med*, 1991, 173(4): 1017-20.
- [7] ADAMKIEWICZ T V, MCSHERRY C, BACH F H, et al. Natural killer lectin-like receptors have divergent carboxy-termini, distinct from C-type lectins [J]. *Immunogenetics*, 1994, 39(3): 218.
- [8] PLOUGASTEL B, TROWSDALE J. Cloning of NKG2-F, a new member of the NKG2 family of human natural killer cell receptor genes [J]. *Eur J Immunol*, 1997, 27(11): 2835-9.
- [9] LAZETIC S, CHANG C, HOUCHINS J P, et al. Human natural killer cell receptors involved in MHC class I recognition are disulfide-linked heterodimers of CD94 and NKG2 subunits [J]. *J Immunol*, 1996, 157(11): 4741-5.
- [10] COLONNA M, SAMARIDIS J. Cloning of immunoglobulin-superfamily members associated with HLA-C and HLA-B recognition by human natural killer cells [J]. *Science*, 1995, 268(5209): 405-8.
- [11] ANDR P, DENIS C, SOULAS C, et al. Anti-NKG2A mAb is a checkpoint inhibitor that promotes anti-tumor immunity by unleashing both T and NK cells [J]. *Cell*, 2018, 175(7): 1731-43.e13.
- [12] MEZA GUZMAN L G, KEATING N, NICHOLSON S E. Natu-

- ral killer cells: tumor surveillance and signaling [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(4): 1-33.
- [13] KAISER B K, PIZARRO J C, KERNS J, et al. Structural basis for NKG2A/CD94 recognition of HLA-E [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(18): 6696-701.
- [14] LU L, KIM H J, WERNECK M B, et al. Regulation of CD8⁺ regulatory T cells: interruption of the NKG2A-Qa-1 interaction allows robust suppressive activity and resolution of autoimmune disease [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(49): 19420-5.
- [15] FREISHTAT R J, MITCHELL L W, GHIMBOVSCI S D, et al. NKG2A and CD56 are coexpressed on activated TH2 but not TH1 lymphocytes [J]. *Hum Immunol*, 2005, 66(12): 1223-34.
- [16] The Human Protein Atlas: version: 20.1 [EB/OL] (2021-02-24) (2021-03-19). <https://www.proteinatlas.org>.
- [17] IWASZKO M, ŚWIERKOT J, KOLOSSA K, et al. Influence of CD94 and NKG2A variants on susceptibility to rheumatoid arthritis and efficacy of anti-TNF treatment [J]. *Joint Bone Spine*, 2016, 83(1): 75-9.
- [18] PETRIE E J, CLEMENTS C S, LIN J, et al. CD94-NKG2A recognition of human leukocyte antigen (HLA)-E bound to an HLA class I leader sequence [J]. *J Exp Med*, 2008, 205(3): 725-35.
- [19] SULLIVAN L C, CLEMENTS C S, BEDDOE T, et al. The heterodimeric assembly of the CD94-NKG2 receptor family and implications for human leukocyte antigen-E recognition [J]. *Immunity*, 2007, 27(6): 900-11.
- [20] LE DR AN E, V LY F, OLCESE L, et al. Inhibition of antigen-induced T cell response and antibody-induced NK cell cytotoxicity by NKG2A: association of NKG2A with SHP-1 and SHP-2 protein-tyrosine phosphatases [J]. *Eur J Immunol*, 1998, 28(1): 264-76.
- [21] KAISER B K, PIZARRO J C, KERNS J, et al. Structural basis for NKG2A/CD94 recognition of HLA-E [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(18): 6696-701.
- [22] PANNONE L, BOCCHINFUSO G, FLEX E, et al. Structural, functional, and clinical characterization of a novel PTPN11 mutation cluster underlying noonan syndrome [J]. *Hum Mutat*, 2017, 38(4): 451-9.
- [23] COOPER M A, FEHNIGER T A, CALIGIURI M A. The biology of human natural killer-cell subsets [J]. *Trends Immunol*, 2001, 22(11): 633-40.
- [24] ROBERTSON M J. Role of chemokines in the biology of natural killer cells [J]. *J Leukoc Biol*, 2002, 71(2): 173-83.
- [25] KUMAR S. Natural killer cell cytotoxicity and its regulation by inhibitory receptors [J]. *Immunology*, 2018, 154(3): 383-93.
- [26] MANSER A R, WEINHOLD S, UHRBERG M. Human KIR repertoires: shaped by genetic diversity and evolution [J]. *Immunol Rev*, 2015, 267(1): 178-96.
- [27] ANFOSSI N, ANDR P, GUIA S, et al. Human NK cell education by inhibitory receptors for MHC class I [J]. *Immunity*, 2006, 25(2): 331-42.
- [28] ZHANG N, BEVAN M J. CD8⁺ T cells: foot soldiers of the immune system [J]. *Immunity*, 2011, 35(2): 161-8.
- [29] MITTRÜCKER H W, VISEKRUNA A, HUBER M. Heterogeneity in the differentiation and function of CD8⁺ T cells [J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2014, 62(6): 449-58.
- [30] SARANTOPOULOS S, LU L, CANTOR H. Qa-1 restriction of CD8⁺ suppressor T cells [J]. *J Clin Invest*, 2004, 114(9): 1218-21.
- [31] BALD T, PEDDE A M, CORVINO D, et al. The role of NK cell as central communicators in cancer immunity [J]. *Adv Immunol*, 2020, 147(2020): 61-88.
- [32] PAOLINO M, CHOIDAS A, WALLNER S, et al. The E3 ligase Cbl-b and TAM receptors regulate cancer metastasis via natural killer cells [J]. *Nature*, 2014, 507(7493): 508-12.
- [33] 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(6): 1657-66.
- [34] PERSSON C M, ASSARSSON E, VAHLNE G, et al. Critical role of Qa1b in the protection of mature dendritic cells from NK cell-mediated killing [J]. *Scand J Immunol*, 2008, 67(1): 30-6.
- [35] MART N-FONTECHA A, THOMSEN L L, BRETT S, et al. Induced recruitment of NK cells to lymph nodes provides IFN-gamma for T(H)1 priming [J]. *Nat Immunol*, 2004, 5(12): 1260-5.
- [36] ALSPACH E, LUSSIER D M, SCHREIBER R D. Interferon γ and its important roles in promoting and inhibiting spontaneous and therapeutic cancer immunity [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2019, 11(3): 1-20.
- [37] MITTAL D, VIJAYAN D, PUTZ E M, et al. Interleukin-12 from CD103⁺ Batf3-dependent dendritic cells required for NK-cell suppression of metastasis [J]. *Cancer Immunol Res*, 2017, 5(12): 1098-108.
- [38] LANIER L L. Evolutionary struggles between NK cells and viruses [J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(4): 259-68.
- [39] MOSER J M, GIBBS J, JENSEN P E, et al. CD94-NKG2A receptors regulate antiviral CD8⁺ T cell responses [J]. *Nat Immunol*, 2002, 3(2): 189-95.
- [40] MCMAHON C W, ZAJAC A J, JAMIESON A M, et al. Viral and bacterial infections induce expression of multiple NK cell receptors in responding CD8⁺ T cells [J]. *J Immunol*, 2002, 169(3): 1444-52.
- [41] SUVAS S, AZKUR A K, ROUSE B T. Qa-1b and CD94-NKG2a interaction regulate cytolytic activity of herpes simplex virus-specific memory CD8⁺ T cells in the latently infected trigeminal ganglia [J]. *J Immunol*, 2006, 176(3): 1703-11.
- [42] ELY K H, MATSUOKA M, DEBERGE M P, et al. Tissue-protective effects of NKG2A in immune-mediated clearance of virus infection [J]. *PLoS One*, 2014, 9(9): e108385.
- [43] RAPAPORT A S, SCHRIEWER J, GILFILLAN S, et al. The inhibitory receptor NKG2A sustains virus-specific CD8⁺ T cells in response to a lethal poxvirus infection [J]. *Immunity*, 2015, 43(6): 1112-24.
- [44] ZHOU J, MATSUOKA M, CANTOR H, et al. Cutting edge: engagement of NKG2A on CD8⁺ effector T cells limits immunopathology in influenza pneumonia [J]. *J Immunol*, 2008, 180(1): 25-9.
- [45] ZHENG M, GAO Y, WANG G, et al. Functional exhaustion of antiviral lymphocytes in COVID-19 patients [J]. *Cell Mol Immunol*, 2020, 17(5): 533-5.
- [46] YAQINUDDIN A, KASHIR J. Innate immunity in COVID-19 patients mediated by NKG2A receptors, and potential treatment using Monalizumab, Cholroquine, and antiviral agents [J]. *Med*

- Hypotheses, 2020, 140(2020): 109777.
- [47] ANTONIOLI L, FORNAI M, PELLEGRINI C, et al. NKG2A and COVID-19: another brick in the wall [J]. *Cell Mol Immunol*, 2020, 17(6): 672-4.
- [48] ALGARRA I, GARC A-LORA A, CABRERA T, et al. The selection of tumor variants with altered expression of classical and nonclassical MHC class I molecules: implications for tumor immune escape [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2004, 53(10): 904-10.
- [49] VAN MONTFOORT N, BORST L, KORRER M J, et al. NKG2A blockade potentiates cd8 t cell immunity induced by cancer vaccines [J]. *Cell*, 2018, 175(7): 1744-55, e15.
- [50] MCGRANAHAN N, ROSENTHAL R, HILEY C T, et al. Allele-specific HLA loss and immune escape in lung cancer evolution [J]. *Cell*, 2017, 171(6): 1259-71, e11.
- [51] PALMISANO G L, CONTARDI E, MORABITO A, et al. HLA-E surface expression is independent of the availability of HLA class I signal sequence-derived peptides in human tumor cell lines [J]. *Hum Immunol*, 2005, 66(1): 1-12.
- [52] BORST L, VAN DER BURG S H, VAN HALL T. The NKG2A-HLA-E axis as a novel checkpoint in the tumor microenvironment [J]. *Clin Cancer Res*, 2020, 26(21): 5549-56.
- [53] KAMIYA T, SEOW S V, WONG D, et al. Blocking expression of inhibitory receptor NKG2A overcomes tumor resistance to NK cells [J]. *J Clin Invest*, 2019, 129(5): 2094-106.
- [54] MINGARI M C, PIETRA G, MORETTA L. Immune checkpoint inhibitors: anti-NKG2A antibodies on board [J]. *Trends Immunol*, 2019, 40(2): 83-5.
- [55] CREELAN B C, ANTONIA S J. The NKG2A immune checkpoint—a new direction in cancer immunotherapy [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2019, 16(5): 277-8.
- [56] TINKER A V, HIRTE H W, PROVENCHER D, et al. Dose-ranging and cohort-expansion study of monalizumab (IPH2201) in patients with advanced gynecologic malignancies: a trial of the canadian cancer trials group (CCTG): IND221 [J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(20): 6052-60.
- [57] BOREL C, JUNG A C, BURG M. Immunotherapy breakthroughs in the treatment of recurrent or metastatic head and neck squamous cell carcinoma [J]. *Cancers*, 2020, 12(9): 1-19.
- [58] COHEN R B, BAUMAN J R, SALAS S, et al. Combination of monalizumab and cetuximab in recurrent or metastatic head and neck cancer patients previously treated with platinum-based chemotherapy and PD-(L)1 inhibitors [J]. *J Clin Oncol*, 2020, 38(15_suppl): 6516.
- [59] MANGUSO R T, POPE H W, ZIMMER M D, et al. *In vivo* CRISPR screening identifies Ptpn2 as a cancer immunotherapy target [J]. *Nature*, 2017, 547(7664): 413-8.
- [60] CHANG M C, CHENG H I, HSU K, et al. NKG2A down-regulation by dasatinib enhances natural killer cytotoxicity and accelerates effective treatment responses in patients with chronic myeloid leukemia [J]. *Front Immunol*, 2018, 9(2019): 3152.
- [61] SON S W, KIM E O, RYU E S, et al. Upregulation of Fas and downregulation of CD94/NKG2A inhibitory receptors on circulating natural killer cells in patients with new-onset psoriasis [J]. *Br J Dermatol*, 2009, 161(2): 281-8.
- [62] WANG L, KANG N, ZHOU J, et al. Downregulation of CD94/NKG2A inhibitory receptor on decreased $\gamma\delta$ T cells in patients with systemic lupus erythematosus [J]. *Scand J Immunol*, 2012, 76(1): 62-9.
- [63] ZHANG Y, LV G, LOU X, et al. NKG2A expression and impaired function of NK cells in patients with new onset of Graves' disease [J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 24(1): 133-9.
- [64] WALSH C E, RYAN E J, O'FARRELLY C, et al. Differential expression of NK receptors CD94 and NKG2A by T cells in rheumatoid arthritis patients in remission compared to active disease [J]. *PLoS One*, 2011, 6(11): e27182.
- [65] NIELSEN N, PASCAL V, FASTH A E, et al. Balance between activating NKG2D, DNAM-1, NKp44 and NKp46 and inhibitory CD94/NKG2A receptors determine natural killer degranulation towards rheumatoid arthritis synovial fibroblasts [J]. *Immunology*, 2014, 142(4): 581-93.
- [66] ORTEGA-RODR GUEZ A C, MART NEZ-HERN NDEZ R, MONSIV IS-URENDA A, et al. Quantitative and functional analysis of PD-1⁺ NK cells in patients with autoimmune thyroid disease [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2020, 105(11): dgaa569.
- [67] LEAVENWORTH J W, WANG X, WENANDER C S, et al. Mobilization of natural killer cells inhibits development of collagen-induced arthritis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(35): 14584-9.
- [68] LEAVENWORTH J W, SCHELLACK C, KIM H J, et al. Analysis of the cellular mechanism underlying inhibition of EAE after treatment with anti-NKG2A F(ab')₂ [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(6): 2562-7.
- [69] FREISHTAT R J, MOJGANI B, NAZEMZADEH M, et al. NKG2A inhibits TH2 cell effector function *in vitro* [J]. *BMC Pulm Med*, 2007, 7(2007): 1-6.
- [70] CHEN Y, LU D, CHUROV A, et al. Research progress on NK cell receptors and their signaling pathways [J]. *Mediators Inflamm*, 2020, 2020: 6437057.
- [71] CASSIDY S A, CHEENT K S, KHAKOO S I. Effects of peptide on NK cell-mediated MHC I recognition [J]. *Front Immunol*, 2014, 5(2014): 133.
- [72] KOGELBERG H, FEIZI T. New structural insights into lectin-type proteins of the immune system [J]. *Curr Opin Struct Biol*, 2001, 11(5): 635-43.