

# 猴艾滋病急性期肠粘膜相关淋巴组织 NK 细胞表型及功能

吴芳新, 王 卫, 刘克剑, 丛 喆, 赵长城, 熊 竞, 苏爱华, 鞠 斌, 魏 强

(中国医学科学院医学实验动物研究所, 卫生部人类疾病比较医学重点实验室,  
国家中医药管理局人类疾病动物模型三级实验室, 北京 100021)

**【摘要】** 目的 研究猴艾滋病毒感染急性期恒河猴肠道相关淋巴组织(mucosal associated lymphoid tissues, MALTs)NK 细胞亚群和功能变化。方法 SIV 静脉感染恒河猴后, 定期进行动物感染指标测定, 并在感染后不同时间点取肠组织, 分离派氏淋巴结单个核细胞(peyer's patch mononuclear cells, PPMC)和粘膜固有层单个核细胞(lamina propria mononuclear cells, LPMC), 进行 T 细胞和 NK 细胞表面抗体染色, 流式分析。结果 SIV 感染急性期 MALTs CD56<sup>C</sup>CD16<sup>+</sup> NK 细胞亚群比例增幅明显, 同时细胞毒性功能增强; CD56<sup>-</sup>CD16<sup>-</sup> NK 细胞亚群数量减少, 功能无明显变化; CD56<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>和 CD56<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup> NK 细胞数量比例略有增加趋势, 但免疫调节功能显著降低。结论 SIV 感染急性期恒河猴肠道 MALTs 中 NK 细胞脱颗粒作用增强, 表型功能呈现出较强可塑性。该研究对探索艾滋病粘膜免疫机理、抗病毒治疗及药物研发具有参考意义。

**【关键词】** SIV 感染; 恒河猴; 肠道粘膜相关淋巴组织; NK 细胞; 脱颗粒作用

**【中图分类号】** R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2012)06-0037-06

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2012.06.009

## Changes of Phenotype and Functions of NK Cells in Gut Associated Lymphoid Tissues from Rhesus Monkey Infected with SIV during Acute Phase

WU Fang-xin, WANG Wei, LIU Ke-jian, CONG Zhe, ZHAO Chang-cheng, XIONG Jing, SU Ai-hua, JU Bin, WEI Qiang  
(Key Laboratory of Human Diseases Comparative Medicine, Ministry of Health; Institute of Medical Laboratory Animal Science, Chinese Academy of Medical Sciences; Key Laboratory of Human Diseases Animal Models, State administration of Traditional Chinese medicine, Beijing 100021, China)

**【Abstract】 Objective** To study the phenotype and functions of NK cells in mucosal associated lymphoid tissues (MALTs) from rhesus monkeys infected with SIV during acute phase. **Methods** four rhesus monkeys were inoculated with SIVmac239. Plasma viral load and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio were detected at regular intervals. To obtain mucosal associated lymphoid tissues, ileum of animals was collected by operations at different times after inoculation. Then, mononuclear cells from this tissue were stained with antibodies, and detected with flow cytometry. **Results** CD56<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup> in MALTs were expanded in numbers and the degranulation functions were enhanced during acute phase of SIV infection. The ratio of DN NK cells were reduced but their functions showed unchangeable. The ratio of DP NK cells and CD56<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup> NK cells increased slightly, but the immunoregulation functions were decreased. **Conclusions** The degranulation cytotoxicity

**【基金项目】** 国家科技重大专项课题(2012ZX10001-007-008 和 2012ZX10004-501); 基本业务费课题(DWS201112)。

**【作者简介】** 吴芳新(1986-), 女, 硕士生, 比较医学专业。

**【通讯作者】** 魏强, 教授, 博士生导师, 研究方向: 实验动物病毒学。E-mail: weiqiang0430@sohu.com。

potential of NK cells from gut associated lymphoid tissues (MALTs) from SIV infected rhesus monkey were enhanced during acute phase. This study plays an important role in the exploration of mucosal immunologic mechanism of SIV infection.

**【Key words】** SIV infection; Rhesus monkey; Mucosal associated lymphoid tissues; NK cells; Degranulation

艾滋病感染中,肠道粘膜是艾滋病毒(human/simian immunodeficiency virus, HIV/SIV)的主要复制库和藏匿场所<sup>[1]</sup>。艾滋病粘膜免疫机制逐渐成为近年研究热点。自然杀伤细胞(natural killer cells, NK cells)作为天然免疫系统主要效应细胞,其抗 HIV/SIV 感染和控制疾病进程中的重要作用已在大量研究中得到证实<sup>[2-4]</sup>。但这些研究多局限于外周循环。现已有文献报道了人与恒河猴肠道粘膜 NK 细胞的存在<sup>[5-6]</sup>,同时提出 SIV 感染慢性期 NK 细胞向肠道归巢的可能性。

本研究针对粘膜组织 NK 细胞的亚群分布及其抗 HIV/SIV 感染的效应潜能缺乏系统研究的现状,通过对 SIV 感染恒河猴早期不同时间点回肠粘膜相关淋巴组织(mucosal associated lymphoid tissues, MALTs)NK 细胞进行多色流式分析,旨在尝试了解 SIV 感染急性期肠道 NK 细胞所发挥的作用和地位,该研究为探索艾滋病粘膜免疫机理、抗病毒治疗及药物研发提供相关数据参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

健康中国恒河猴 4 只,购自北京协尔鑫生物资源研究所[SCXK(京)2005-2005],体重 3~5 kg,用商品化膨化饲料饲养。实验前经体检无异常,经血清学间接免疫荧光抗体检查法(IFA)排除猴免疫缺陷病毒(SIV)、猴逆转录 D 型病毒(SRV-1, 2, 5)、猴 T 淋巴细胞性 I 型病毒(STLV-1)和猴 B 病毒(BV)的感染。动物饲养及相关实验在动物生物安全三级实验室(ABSL-3)实验室中进行[SYXK(京)2009-0003]。毒株及感染实验

感染毒株为 SIVmac239,由美国 Aaron Diamond 艾滋病研究中心 Preston A. Marx 博士惠赠,本实验

室扩增制备。动物静脉注射 1 mL 病毒液,约含病毒  $10^4$  TCID<sub>50</sub>。四只动物感染后肠道组织取材实验设计见表 1。

### 1.2 SIVmac239 感染恒河猴外周血病毒载量的测定

Trizol 法提取血浆中病毒 RNA, Taqman 探针 RT-PCR Kit (Qiagen, 204243)测定血浆病毒 RNA 载量,详细方法见参考文献<sup>[7]</sup>。

### 1.4 恒河猴肠道派氏淋巴结淋巴细胞的分离

动物腹部手术或安乐处死,取恒河猴回肠下段肠道 5 cm,除去附着的脂肪和结缔组织,沿肠道腹中线将肠壁剪开;将展开的肠组织用 5% 双抗无血清 1640 培养基清洗 3 次,去除肠壁粘液和肠道内容物,在解剖镜下挑出派氏淋巴结;剪下的派氏淋巴结用含 1mM DTT(二硫苏糖醇, DL-Dithiothreitol)的 Dhanks' 溶液室温处理 15 min,之后通过机械处理和细胞筛(BD 公司, 70  $\mu$ m, 尼龙)过滤得到派氏淋巴结淋巴细胞;5% 双抗无血清 1640 培养基清洗 2 次,重悬,计数后调细胞浓度至  $1 \times 10^6$ /mL。

### 1.5 恒河猴肠道固有层淋巴细胞的分离

将除去派氏淋巴结的肠组织剪成 0.5 cm<sup>2</sup> 小块,置于含 0.75 mmol/L EDTA 的 Hanks' 缓冲液(HE, HBSS-EDTA buffer)的培养瓶中,37℃ 300 rpm 摇床孵育 30 min,更换新的 HE 缓冲液,重复此步骤 3 次,去除上皮细胞。将剩余肠组织转移入培养皿,剪成 1~2 mm<sup>2</sup> 大小,将剪碎的肠组织转移入含 15 U/mL 胶原酶的 RPMI-1640 培养基(cell release medium, CRM)的培养瓶中,37℃ 300 rpm 摇床孵育 30 min,收集上清,更换新的 CRM,重复此步骤 2 次。将所得细胞经细胞筛过滤,5% 双抗无血清 1640 培养基洗 2 次,重悬,计数并调细胞浓度至  $1 \times 10^6$ /mL。

表 1 动物感染后肠组织取材与安乐时间表

Tab. 1 Schedule of operation and euthanasia of SIV-infected animals

编号/天数 Animals ID/days	第 1 天 1 d	第 3 天 3 d	第 5 天 5 d	第 7 天 7 d	第 14 天 14 d	第 28 天 28 d
3-2	手术 Operation	—	—	—	—	—
3-3	—	手术 Operation	—	—	安乐死 euthanasia	—
3-4	—	—	手术 Operation	—	—	—
3-5	—	—	—	手术 Operation	—	安乐死 euthanasia

### 1.6 细胞染色处理与流式检测

取  $1 \times 10^6$ /mL 细胞悬液 1 mL 加入流式管, 1500 rpm 离心 6 min, 弃上清, 留管底约 100  $\mu$ L 液体进行 T 细胞或 NK 细胞各种流式抗体标记。T 细胞染色组标记 anti-CD3、anti-CD4 和 anti-CD8 荧光抗体; NK 细胞染色组标记 anti-CD3、anti-CD8、anti-CD16、anti-CD56、anti-CD69 和 anti-CD107a 荧光抗体(抗体详情参见表 2)。加入抗体后将管底细胞轻轻悬起, 室温避光孵育 20 min; 2 mL PBS 洗 2 次, 每次 1500 rpm, 6 min; 最后用 400  $\mu$ L 1% 多聚甲醛的 PBS 重悬。应用 BD FACS Canto I 流式细胞仪获取数据, 每样品获取细胞 50000 个; Flowjo 7. 6. 3 软件分析流式数据。

表 2 细胞染色标记所用抗体详情

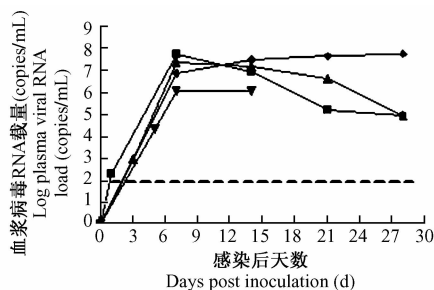
Tab.2 Information of antibodies using for cell staining

抗体名称 Antibody	克隆号 Clone	公司 Company
PE-Cy <sup>TM</sup> 7 Mouse anti-human CD3	SP34-2	BD Bioscience
Percep-Cy5. 5 anti-human CD4	L200	BD Bioscience
APC-Cy <sup>TM</sup> 7 Mouse anti-human CD8	RPA-T8	BD Bioscience
Percep-Cy5. 5 anti-human CD16	3G8	BioLegend
APC anti-human CD56	MEM-188	BioLegend
FITC mouse anti-human CD69	FN50	BD Bioscience
PE anti-human CD107a	eBioH4A3	eBioscience

## 2 结果

### 2.1 SIVmac239 感染恒河猴血浆病毒载量和外周血 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值结果

在 SIVmac239 感染后不同时间点分别检测四只动物血浆病毒载量水平和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值变化趋势, 见图 1。感染后 1 ~ 7 d 内病毒载量值均可检测到, 并且急剧升高, 其中 3-2 和 3-3 在第 7 天载量达到峰值, 在  $10^7 \sim 10^8$  copies/mL 之间, 其余两只动物血浆病毒载量水平也达到了  $10^6$  copies/mL 以上。3-5 在感染后 7 ~ 28 d 过程中, 病毒载量水平缓慢持续上升, 至检测终点 28 d 达到  $10^7 \sim 10^8$  copies/mL, 且



没有下降趋势。3-2 和 3-3 的血浆病毒载量在达到峰值后的逐渐下降, 直到第 28 天依然维持在  $10^4 \sim 10^5$  copies/mL 之间波动。外周血 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值在感染后一周内也基本呈现下降趋势, 感染后第 14 天, 全部倒置, 14 ~ 21 d 持续降低, 第 21 天三只动物都达到最低点, 在 0. 20 ~ 0. 35 之间(3-3 第 14 天安乐), 直到感染后第 28 天 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值才略有回升。

### 2.2 SIV 感染早期恒河猴外周及肠粘膜相关淋巴组织 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值变化趋势比较

为更进一步了解感染早期肠道粘膜免疫系统的变化, 分别对感染后不同时间点动物取材所得派氏淋巴结和肠粘膜固有层的 T 细胞进行流式检测, 同时与外周血 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 平均值变化进行比较分析。伴随 SIV 感染, 外周及肠粘膜相关淋巴组织 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值变化趋势见图 2。SIV 感染早期阶段肠道粘膜组织 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值降幅显著, 并且在派氏淋巴结和粘膜固有层变化趋势相似。感染后 3 ~ 14 d CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值大幅下降, 感染后第 14 天达到最小值, 派氏淋巴结为 0. 048, 粘膜固有层为 0. 005。至第 28 天, 比值略有回升, 派氏淋巴结为 0. 356, 而粘膜固有层为 0. 029。粘膜固有层 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值较派氏淋巴结低, 且降至最小值以后回升幅度有限。此外, 粘膜固有层中 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值明显低于派氏淋巴结。MALTs CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值整体变化趋势与外周血一致, 但外周血 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值倒置程度较小。

### 2.3 SIV 感染早期恒河猴肠道 NK 细胞各亚群比例变化

按照传统 NK 细胞分群标志, 恒河猴肠道 NK 细胞存在四种表型, 分别为 CD56<sup>+</sup> CD16<sup>-</sup>、CD56<sup>+</sup> CD16<sup>+</sup> (double positive, DP)、CD56<sup>-</sup> CD16<sup>+</sup> 和 CD56<sup>-</sup> CD16<sup>-</sup> (double negative, DN)。SIV 急性感染

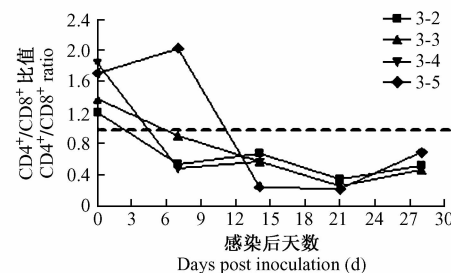


图 1 SIVmac239 感染恒河猴后血浆病毒载量和外周血 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值变化趋势

Fig. 1 The changes of viral loads and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> in peripheral blood after SIVmac239 infection

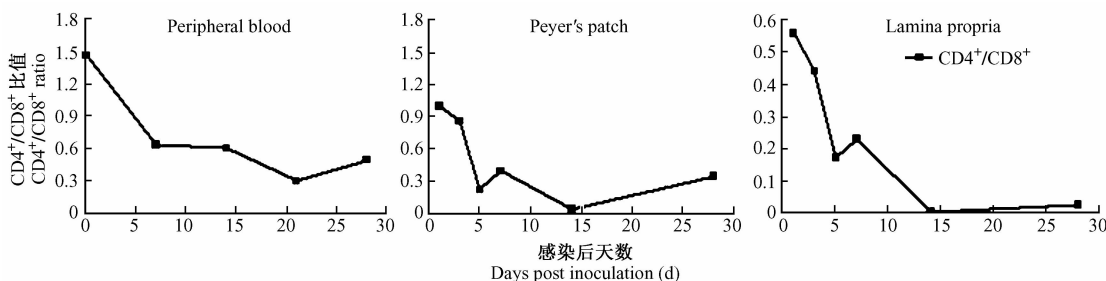


图 2 SIVmac239 感染恒河猴后外周和粘膜相关淋巴组织 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值变化趋势

Fig. 2 The changes of CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> of peripheral blood and mucosal associated lymphoid tissues in the Chinese-original rhesus macaques infected with SIVmac239

28 d 以内,派氏淋巴结 DN NK 细胞比例大幅下降,此外其他三个亚群都呈现出不同程度的增加趋势。SIVmac239 感染后 1~28 d,派氏淋巴结 DN NK 细胞亚群比例整体为下降趋势,由 88.0% 减少为 28.3%,3-3 和 3-5 两只动物前后降幅也都在 20~35% 之间。其他 3 个亚群以 CD56<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup> NK 亚群比例增幅最大,3-3 在第 3~14 天之间由 9.5% 增至的 21.8%,3-5 也由第 7 天的 3.2% 上升至第 28 天的 32.1%,增幅显著。CD56<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup>和 DP NK 细胞比例略呈现出增加趋势,感染后不同时间点 3-3 和 3-5 中该亚群比例约增加 5% 左右,与 CD56<sup>-</sup>CD16<sup>+</sup> 相比增幅不明显。粘膜固有层各 NK 细胞亚群变化趋势与派氏淋巴结相似(数据未显示)。

2.4 SIV 感染急性期恒河猴肠道 NK 细胞功能改变

SIVmac239 感染不同天数,流式检测肠道 NK

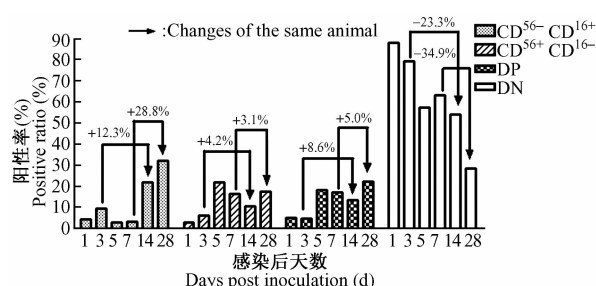


图 3 SIV 感染急性期肠道派氏淋巴结 NK 细胞亚群比例变化

Fig. 3 Changes of NK cell subsets in peyer's patch during acute phase of SIVmac239 infection

注:“→”指同一只动物不同时间点前后变化  
Note:“→” means changes of the same animal between different time point

细胞脱颗粒细胞毒性表面标志 CD107a 和分泌细胞因子早期活化标志 CD69 表达水平,见图 4。

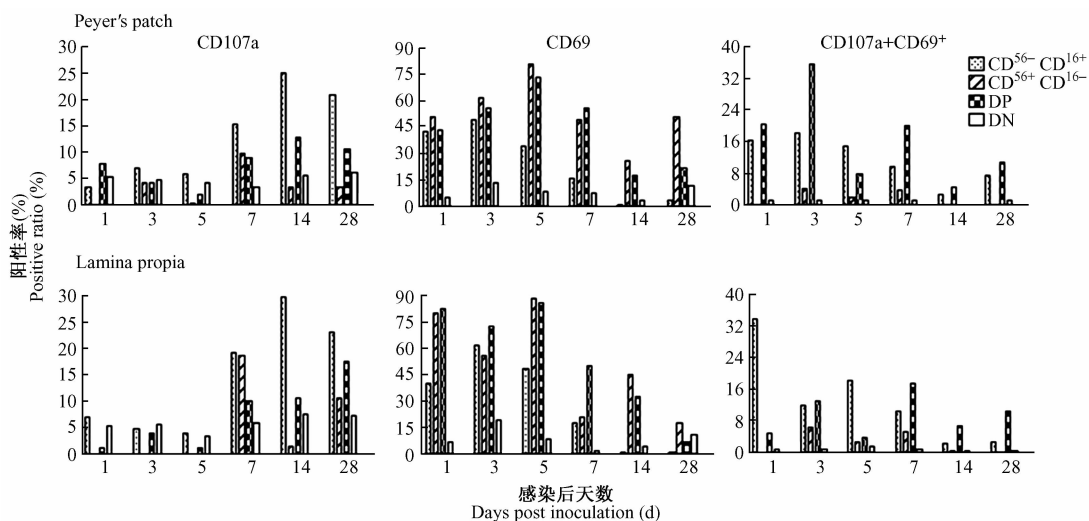


图 4 SIV 感染早期肠道各 NK 细胞亚群细胞毒性和免疫调节功能的变化

Fig. 4 Changes of cytotoxicity and immune regulation of different NK cell subsets

SIV 感染早期, 派氏淋巴结中,  $CD56^- CD16^+$  NK 细胞  $CD107a$  表达水平大幅增高, 由 3.6% 上升到 25.1%,  $CD69$  表达水平逐渐下降, 由 41.8% 减至 0.7%,  $CD107a$  和  $CD69$  共表达比例逐渐下降, 由 16.4% 下降为 2.7%。 $CD56^+ CD16^-$  NK 细胞  $CD107a$  表达水平呈现略有增加的趋势,  $CD69$  表达水平 1~5 d 升高, 由 50% 升高到 80.2% 而 7~14 d 逐渐降低为 25.2%,  $CD107a$  和  $CD69$  共表达维持在较低水平, 无明显变化。

DP NK 细胞  $CD107a$  和  $CD69$  单表达水平呈现相反的变化趋势, 感染后 1~5 d  $CD107a$  表达水平由 7.9% 降为 2.0%,  $CD69$  表达水平由 42.9% 升高至 73%, 7~28 d,  $CD107a$  表达水平明显增高, 而  $CD69$  表达水平却显著下降, 感染最初 DP NK 细胞中  $CD107a$  和  $CD69$  共表达水平较高, 而随着感染的发生二者共表达的比例也由原来的 20~30% 减少为 10% 以下。DN NK 细胞中  $CD107a$  和  $CD69$  表达一直维持在较低水平, 且基本无变化。

与派氏淋巴结相比, 固有层中 NK 细胞各亚群功能也呈现出相似变化趋势, 但  $CD69$  表达水平普遍高于派氏淋巴结。

### 3 讨论

近年来粘膜系统的天然免疫机制逐渐成为 AIDS 研究领域的热点。由于粘膜固有层中存在大量高表达 CCR5 的记忆性  $CD4^+$  T 细胞, 肠道粘膜成为 HIV/SIV 的主要复制库和储存池<sup>[4]</sup>。本研究通过对 SIV 急性感染期中国恒河猴肠道相关淋巴组织 NK 细胞亚群表型和功能变化的分析, 得到了肠道粘膜部位 NK 细胞各个亚群在抗 SIV 急性感染中的表型和功能变化的整体趋势。按照外周血 NK 细胞分群标志  $CD16$  和  $CD56$ , 肠道 NK 细胞包括四种表型, 与外周血以  $CD16^+ CD56^-$  NK 细胞为主不同, 肠道组织主要包括 DN 和  $CD56^+$  NK 细胞,  $CD16^+ CD56^-$  NK 细胞数量较少。此外, 肠道 NK 细胞还包括一小群 DP NK 细胞, 有关印度恒河猴肠道 NK 细胞亚群文献曾提及该群细胞<sup>[8]</sup>, 但其在黏膜部位的功能以及分化发育地位尚需要进一步研究验证。

在本研究中, SIV 急性感染期 NK 细胞各亚群比例变化最明显的是 DN 和  $CD56^- CD16^+$  NK 细胞。DN NK 细胞所占比例大幅下降, 同时  $CD56^- CD16^+$  NK 细胞比例增加显著。病毒载量结果显示, 感染后 14~28 d 动物进入 SIV 急性感染期, 且

第 14 天外周血和肠粘膜相关淋巴组织  $CD4^+/CD8^+$  比值降至最低点; 结合功能分析可以看出, 感染 28 d 以内,  $CD56^- CD16^+$  NK 细胞  $CD107a$  表达水平升高,  $CD69$  表达下调, 说明其脱颗粒作用介导的细胞毒性功能明显增强, 而其活化分泌细胞因子免疫调节功能却明显降低, 同时  $CD107a$  和  $CD69$  共表达降低表明该 NK 细胞亚群双功能性能力降低。因此急性感染期肠道  $CD56^- CD16^+$  NK 细胞数量增加且脱颗粒细胞毒性功能增强, 双功能性潜能减弱, 这与急性期参与肠道杀伤病毒感染靶细胞有很大相关性, 此外也暗示了病毒感染所诱导的细胞毒性功能。而 DN NK 细胞虽然数量减少, 但功能上一一直维持低水平细胞毒性或免疫调节作用, 文献中曾推测 DN NK 细胞可能属于其他 NK 细胞亚群的前体细胞<sup>[9,10]</sup>, 与本实验结果有异曲同工之处。

此外, 肠道相关淋巴组织中 DP NK 细胞在 SIV 急性感染中的功能变化值得一提。这群双阳性 NK 细胞的功能尚未有相关报道, SIV 急性感染期 DP NK 细胞数量略有增加。 $CD107a$  和  $CD69$  表达水平结果显示, 感染后 1~5 d 其细胞毒性功能减弱而免疫调节能力增强, 7~28 d 功能潜能却呈现出相反的变化趋势, 细胞毒性功能转而增强; 并且随着感染天数增加, 双功能性潜能逐渐减弱。这些特征也都暗示 DP NK 细胞亚群可能处于功能尚未分化完全阶段, SIV 病毒感染和复制可能影响或诱导其功能潜能的进一步分化。

$CD56^+ CD16^-$  NK 细胞亚群在本研究中比例变化并不显著, 其在正常动物体内以分泌细胞因子为主<sup>[8]</sup>。随着感染天数的增加,  $CD69$  表达呈现下调趋势, 说明其免疫调节功能逐渐减弱; 而细胞毒性功能有个别时间点较高, 但变化无规律性。文献报道 SIV 慢性感染期外周血  $CD56^+$  NK 细胞数量增加且脱颗粒作用增强, 并且高表达肠道归巢受体  $\alpha 4\beta 7$ , 推测大量细胞毒性单功能或双功能的 NK 细胞归巢至肠道粘膜<sup>[8]</sup>。结合本研究数据分析, SIV 病毒急性感染可能在抑制 NK 细胞免疫调节功能正常发挥的同时, 直接导致其发挥脱颗粒作用杀伤病毒感染靶细胞。这也是 SIV 感染中肠粘膜部位  $CD4^+$  T 细胞比例急剧下降的重要原因之一。

既往研究表明, NK 细胞表型和功能具有较强可塑性<sup>[10,11]</sup>。SIV 急性感染中粘膜 NK 细胞表型功能的变化也暗示了其免疫功能与各亚群所处的发育地位及其所在部位的病毒感染状况有很大关联。

这些数据为研究天然免疫如何控制 SIV 病毒在粘膜部位的复制提供了新的视角, HIV/SIV 感染中诱导 NK 细胞免疫功能可能成为未来疫苗研究或免疫治疗的新趋势。此外, 本研究不足之处在于动物数量较少。由于灵长类实验动物的伦理原则、肠道粘膜特殊解剖部位以及组织取材途径等限制性因素, 实验动物数量受到一定程度的制约。但本项研究在动物数量较少的基础上, 旨在了解艾滋病急性感染对肠道粘膜部位影响, 同时获得 NK 细胞各亚群比例和功能的整体变化趋势, 为更深入的粘膜抗病毒免疫机制研究奠定基础。

#### 参考文献:

- [ 1 ] Marina Cella, Anja Fuchs, William Vermi, et al. A human natural killer cell subset provides an innate source of IL-22 for mucosal immunity[J]. *Nature*. 2009, 457(7230): 722 - 725.
- [ 2 ] Martin MP, Qi Y, Gao X, et al. Innate partnership of HLA-B and KIR3DL1 subtypes against HIV-1[J]. *Nat Genet*. 2007, 39(6): 733 - 740.
- [ 3 ] Martin MP, Gao X, Lee JH, et al. Epistatic interaction between KIR3DS1 and HLA-B delays the progression to AIDS. *Nat Genet*. 2002, 31(4): 429 - 434.
- [ 4 ] Pereira LE, Johnson RP, Ansari AA. Sooty mangabeys and rhesus macaques exhibit significant divergent natural killer cell responses during both acute and chronic phases of SIV infection [J]. *Cell Immunol*. 2008, 254(1): 10 - 19.
- [ 5 ] Chinen H, Matsuoka K, Sato T, et al. Lamina propria c-kit<sup>+</sup> immune precursors reside in human adult intestine and differentiate into natural killer cells[J]. *Gastroenterology*. 2007, 133(2): 559 - 573.
- [ 6 ] Wira CR, Fahey JV, Sentman CL, et al. Shen L. Innate and adaptive immunity in female genital tract: cellular responses and interactions[J]. *Immunol Rev*. 2005, 206:306 - 335.
- [ 7 ] Hofmann-Lehmann R, Swenerton RK, Liska V, et al. Sensitive and robust one-tube real-time reverse transcriptase-poly-merase chain reaction to quantify SIV RNA load: comparison of one-versus two-enzyme systems[J]. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2000, 16(13): 1247 - 1257.
- [ 8 ] Reeves RK, Gillis J, Wong FE, et al. CD16-natural killer cells: enrichment in mucosal and secondary lymphoid tissues and altered function during chronic SIV infection[J]. *Blood*. 2010, 115(22): 4439 - 4446.
- [ 9 ] Reeves RK, Evans TI, Gillis Jacqueline, et al. Simian Immunodeficiency Virus Infection Induces Expansion of  $\alpha 4\beta 7^{+}$  and Cytotoxic CD56<sup>+</sup> NK Cells[J]. *Journal of Virology*. 2010, 84(17) 8959 - 8963.
- [ 10 ] Reeves RK, Rajakumar PA, Evans TI, et al. Gut inflammation and indoleamine deoxygenase inhibit IL-17 production and promote cytotoxic potential in NKp44<sup>+</sup> mucosal NK cells during SIV infection[J]. *Blood*. 2010, 118(12): 3321 - 3330.
- [ 11 ] Cella M, Otero K, Colonna M. Expansion of human NK-22 cells with IL-7, IL-2, and IL-1beta reveals intrinsic functional plasticity[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010, 107(24): 10961 - 10966.

[ 修回日期 ]2012-03-31